

**UNIVERSITE DE OUGADOUGOU**  
Unité de Formation et de Recherche/ Sciences  
de la Vie et de la Terre

N° d'ordre:

-----  
Laboratoire de Physiologie Animale



Thèse présentée en vue de l'obtention du Doctorat d'Université

Spécialité : Sciences Biologiques Appliquées

Option : Physiologie de la Reproduction

par

**Wéré PITALA**

**DYNAMIQUE FOLLICULAIRE ET SUIVI DE LA  
GESTATION PAR ECHOGRAPHIE CHEZ LE ZEBU  
GOUDALI AU BURKINA FASO**

Devant le jury :

**Président du jury : Professeur Laya SAWADOGO** (UFR/SVT, Université de Ouagadougou, Burkina)

**Membres du jury : Professeur Jean François BECKERS** (FMV, Université de Liège, Belgique)

**Professeur Abdoulaye GOURO** (Université de Niamey, Niger)

**Professeur Marie-Claude VIGUIER-MARTINEZ** (Un. F. Rabelais Tours, France)

**Professeur Hamidou BOLY** (IDR, Université Polytechnique de Bobo, Burkina)

22 janvier 2005

## Dédicace

A la mémoire de mon père ;

A ma mère ;

A mes frères, sœurs et à tous ceux ou toutes celles qui me sont cher (es).

Au peuple togolais pour le sacrifice concentré à ma formation.

Au peuple burkinabé pour l'hospitalité lors de cette formation.

## REMERCIEMENTS

Le Professeur **Laya SAWADOGO** m'a fait l'honneur de m'accueillir dans son laboratoire de Physiologie Animale de UFR/SVT. Le soutien constant et la confiance qu'il m'a apporté pour la réussite de ce travail. Je suis particulièrement reconnaissant de m'avoir offert la chance et les moyens de réaliser cette thèse. Qu'il trouve ici le témoignage de ma très profonde gratitude.

Le Professeur **Hamidou BOLY**, promoteur de la thèse a réussi à éveiller mon intérêt sur le chemin de la recherche dans les domaines de l'endocrinologie et des biotechnologies de la reproduction. Sa longue expérience dans ces domaines m'a été d'un précieux secours. Pendant ces années il a fait preuve d'une inépuisable patience et d'une grande compréhension. Je voudrais l'assurer toute ma reconnaissance.

Je voudrais remercier très sincèrement le Professeur **Jean François BECKERS** pour avoir accepté de faire le rapport de cette thèse et de faire partie de jury.

La présence du Professeur **Abdoulaye GOURO** au jury m'offre l'occasion de lui exprimer toute ma reconnaissance pour avoir accepté être un des rapporteurs de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Professeur **Marie-Claude VIGUIER-MARTINEZ** de l'Université François-Rabelais de Tours en France d'avoir accepté de participer à ce jury.

Je voudrais aussi exprimer toute ma gratitude au projet CIUF/SPA de la coopération belge pour le soutien financier à la réalisation de ce travail. Je suis reconnaissant aux auteurs de cette coopération, en particulier au Professeur **Pascal LEROY** pour son dynamisme et son dévouement envers les pays en voie de développement.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma gratitude et mon respect au Laboratoire de Physiologie de la Reproduction de la Faculté de Médecine Vétérinaire à l'Université de Liège en Belgique. Mes remerciements s'adressent également aux différents membres de l'équipe et particulièrement aux docteurs Noélita MELO DE SOUSA, BANGA-MBOGO Henri, Bouchra EL AMIRI, et la secrétaire madame Raja FARES avec qui j'ai pu bénéficier de leurs conseils judicieux et de leurs critiques constructives.

Je suis très reconnaissant au Professeur **Sita GUINKO**, qui a accepté ma candidature pour la formation doctorale en Sciences Biologiques Appliquées. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Aux enseignants du département de Biologie et Physiologie Animales plus particulièrement les Professeurs KABRE B. Gustave, GENDA Wendengoudi, Drissa SANOU Raymond BELEMTUGRI, Youssouf OUEDRAOGO, Lamine OUEDRAOGO, Youssouf OUATTARA et Antoine SANOU qui m'ont prodigué de nombreux et utiles conseils, je les en remercie vivement.

Que le Docteur **ZONGO Moussa** trouve ici l'expression de ma profonde admiration. Il m'a conseillé et n'a jamais cessé de me venir en aide dans la réalisation de ce travail.

Au Professeur BERE Augustin du département de Microbiologie Biochimie, dont les conseils ont été précieux pour la réalisation de ce document, qu'ils trouvent ici l'expression de mes remerciements.

Au Professeur Jeanne MILLOGO/RASOLODIMBY, coordinatrice des enseignements du troisième cycle, j'ai bénéficié de votre part des conseils d'encouragements et surtout d'une bienveillant attention. Veuillez accepter mon profond respect.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous les étudiants doctorants, ingénieurs et docteurs, de passage de ce laboratoire avec qui j'ai travaillé, il s'agit particulièrement de Albert SOUDRE (doctorant IDR), Guillaume M. SANON (doctorant IDR), Tony LAKOUETENE (doctorant IDR), Rahasmané SANFO (doctorant UFR/SVT), Salimata POUSGA (Doctorant en Suède), Issouf COULIBALY (ingénieur IDR), BA Yaya (ingénieur IDR), Mansour WANDAOGO (ingénieur IDR), Wayimin A. SANOGO (ingénieur IDR), DA Marcelle (ingénieur IDR), HIEN Ollo Chérubin (docteur) et BENGALY Zakaria (docteur).

Que mes collègues et aimés, Bale BAYALA, Maurice OUEDRAOGO, Magloire BOUGOU, qu'ils trouvent ici l'expression de ma sympathie pour les moments agréables passés ensemble au laboratoire.

J'exprime ma reconnaissance et mon profond respect à Monsieur et Madame TIENDREBEOGO, à mes amis Mamadou OUANGO, Lassana INAME, Mamoudou KAKAMBEGA, Lacina KIENDREBEOGO, Oussény KABORE, Jean Baptiste KABORE, Allassane DAMBELE, Arsène DIALLA, Séidou DIALLA et Monique TASSAMBEDO pour leur collaboration et leur soutien durant mon séjour.

Merci à tous les membres de l'UFR / SVT avec qui j'ai maintenu durant ces années des rapports conviviaux et travailleurs.

A mes parents, qui m'ont permis de vivre ces études, m'ont supporté en tant qu'étudiant et encouragé toutes ces années de doctorat, qu'ils soient assurés de ma gratitude.

## SOMMAIRE

|   |    |
|---|----|
| INTRODUCTION GENERALE.....  | 1  |
| PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....                                  | 4  |
| Chapitre 1 : physiologie de la reproduction de la vache.....                  | 5  |
| I- le cycle sexuel de femelle bovine.....                                     | 5  |
| I.1- Définition du cycle sexuel.....  | 5  |
| I.2- Les différentes phases du cycle sexuel.....                              | 5  |
| I.2.1- Le pro-œstrus.....   | 5  |
| I.2.2- L'œstrus.....  | 6  |
| I.2.3- Le post-œstrus.....  | 6  |
| I.3- Interrelations et régulation du cycle.....                               | 7  |
| II- le développement folliculaire chez la vache.....                          | 8  |
| II.1- Les aspects morphologiques du développement folliculaire.....           | 9  |
| II.1.1- Les étapes du développement folliculaire.....                         | 9  |
| II.1.1.1- La phase de multiplication.....                                     | 9  |
| II.1.1.2- La phase de croissance folliculaire.....                            | 9  |
| II.1.1.3- La phase de maturation.....   | 10 |
| II.1.2- La dynamique de la croissance folliculaire.....                       | 10 |
| II.1.2.1- L'évolution en fonction de l'âge.....                               | 11 |
| II.1.2.2- La cinétique de la croissance folliculaire.....                     | 11 |
| II.1.2.3- Mécanisme de régulation du nombre de follicules<br>ovulatoires..... | 12 |
| II.2- L'ovulation.....  | 15 |
| II.3- L'atrésie.....  | 15 |
| II.4- Le corps jaune.....   | 16 |
| III- LA MAITRISE DES CYCLES SEXUELS CHEZ LES BOVINS.....                      | 17 |
| III.1- Le principe de la maîtrise des cycles sexuels.....                     | 17 |
| III.2- Méthodologie de la maîtrise des cycles sexuels chez les bovins .....   | 18 |
| III.2.1- Les progestagènes.....   | 18 |
| III.2.2- La progestérone.....   | 18 |
| III.2.3- Les prostaglandines F2 $\alpha$ .....                                | 18 |
| III.2.4- Les associations GnRH/PGF2 $\alpha$ ou Ovsynch.....                  | 19 |
| Chapitre 2 : LA GESTATION.....  | 20 |

|  |    |
|--|----|
| I- PRINCIPALES ETAPES DU DEVELOPPEMENT .....                                       | 20 |
| I.1- La période de l'œuf.....  | 20 |
| I.2- La période embryonnaire.....  | 21 |
| I.3- la période fœtale.....  | 21 |
| II- LE PLACENTA ET LA PLACENTATION.....  | 23 |
| II.1- Anatomie.....  | 23 |
| II.2- Structure histologique.....  | 24 |
| II.3- Physiologie de la gestation.....   | 25 |
| II.3.1- Endocrinologie de la gestation.....  | 25 |
| II.3.2- Les modifications physiologiques et morphologiques de la gestation...25    |    |
| II.4- Diagnostic de gestation.....   | 26 |
| II.4.1- Définition des paramètres de diagnostic de gestation.....                  | 26 |
| II.4.2- Méthodes de laboratoire.....   | 27 |
| II.4.2.1- Dosage de la progestérone.....   | 27 |
| IV.4.2.2- Dosage des œstrogènes.....   | 28 |
| IV.4.2.3- Dosage des protéines spécifiques (PSP) ou associées à la gestation ..... | 28 |
| II.4.2.4- Early Pregnancy Factor.....  | 29 |
| II.4.3- Méthodes cliniques.....  | 30 |
| II.4.3.1- Palpation rectale.....   | 30 |
| Chapitre 3: L'ECHOGRAPHIE DANS LA REPRODUCTION DE LA VACHE.....                    | 32 |
| I- PRINCIPES DE L'ECHOGRAPHIE.....   | 32 |
| I.1- L'onde ultrasonore et sa propagation.....                                     | 32 |
| I.1.1- Production et réception de l'onde sonore.....                               | 32 |
| I.1.2- Propagation de l'onde.....  | 33 |
| I.1.3- La réflexion des ultrasons.....   | 33 |
| I.1. 4- L'atténuation des ultrasons.....   | 34 |
| I.1.5- La résolution des ultrasons.....  | 35 |
| I.2 Méthodes d'analyse des échos.....  | 36 |
| I.3- Les sondes.....   | 37 |
| I.4- Les images des structures rencontrées en mode B.....                          | 37 |
| I.5- Les artéfacts.....  | 38 |
| II- L'ECHOGRAPHIE EN REPRODUCTION CHEZ LA VACHE.....                               | 39 |
| II.1- Les structures ovariennes.....   | 39 |

|  |    |
|--|----|
| II.2- L'utérus.....  | 39 |
| II.3- L'échographie du fœtus.....  | 39 |
| DEUXIEME : PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE.....   | 40 |
| Chapitre 1 : MATERIEL ET METHODES.....   | 41 |
| I- MATÉRIEL.....   | 41 |
| I.1- Zone expérimentale.....   | 41 |
| I.2- Animaux.....  | 41 |
| I.3- Le matériel échographique.....  | 43 |
| I.3.1- L'échographe.....   | 43 |
| I.3.2- La sonde.....   | 43 |
| II- MÉTHODES.....  | 43 |
| II.1- Induction d'œstrus .....   | 43 |
| II.2- Détection des chaleurs.....  | 44 |
| II.3- Méthodologie de l'examen échographique des ovaires .....                       | 44 |
| II.3.1- Préparation et contention des animaux.....                                   | 44 |
| II.3.2- Fréquences des examens.....  | 45 |
| II.4- Insémination artificielle et évaluation de la fertilité à l'œstrus induit..... | 45 |
| II.5- Méthodologie de diagnostic de gravidité par échographie.....                   | 46 |
| II.5.1- Fréquence des examens.....   | 46 |
| II.5.2- Les éléments caractéristiques recherchés.....                                | 46 |
| II.6- Les enregistrements d'images échographiques.....                               | 47 |
| II.7- Analyses statistiques.....   | 47 |
| Chapitre 2: RESULTATS.....   | 49 |
| I- OBSERVATIONS DE L'ŒSTRUS INDUIT .....   | 49 |
| I.1- Le début et la durée moyenne des chaleurs.....                                  | 49 |
| I.2- Comportement sexuel.....  | 50 |
| I.3- Taux de fertilité en insémination artificielle.....                             | 50 |
| II- LA DYNAMIQUE FOLLICULAIRE A L'ŒSTRUS INDUIT.....                                 | 51 |
| II.1- Les images échographiques des follicules.....                                  | 50 |
| II.2- La population folliculaire.....  | 52 |
| II.3- La croissance des follicules dominants.....                                    | 53 |
| II.4- Détermination du moment d'ovulation.....                                       | 55 |
| III- DIAGNOSTIC ET SUIVI DE LA GRAVIDITÉ PAR ECHOGRAPHIE.....                        | 56 |
| III.1- Les images obtenues.....  | 56 |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| III.2- Qualités de la méthode.....  | 58 |
| III.3- Croissance du conceptus..... | 59 |
| Chapitre 3 : DISCUSSION.....        | 62 |
| CONCLUSION.....                     | 71 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                 | 73 |



## LISTES DES FIGURES

|  |    |
|--|----|
| FIGURE 1 : Contrôle neuro-endocrinien du cycle oestral .....   | 8  |
| FIGURE 2 : Notion de vagues folliculaires .....  | 12 |
| FIGURE 3 : Unité foeto-placentaire présentant les cotylédons et le fœtus .....   | 24 |
| FIGURE 4 : Diagnostic précoce de gestation chez la vache par dosage de la progestérone ..  | 28 |
| FIGURE 5 : Réflexion de type miroir et réfraction du fuseau ultrasonore à l'interface entre<br>deux milieux.....   | 34 |
| FIGURE 6 : Images des différents modes sur l'écran.....  | 36 |
| FIGURE 7 : Femelles zébu Goudali.....  | 42 |
| FIGURE 8 : Répartition du délai d'apparition des œstrus chez les femelles zébu Goudali après<br>traitement de synchronisation et d'ovulation .....         | 49 |
| FIGURE 9 : Image échographique d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' .....  | 51 |
| FIGURE 10 : Image échographique d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' .....   | 52 |
| FIGURE 11 : Variation du nombre de follicules observés (Moyenne $\pm$ écart type) en fonction<br>du temps chez les vaches du Groupe 1 ( n = 4).....        | 53 |
| FIGURE 12 : Dynamique de la de croissance de follicule dominant chez les vaches zébu<br>'Goudali' entre la fin du traitement et l'ovulation constatée..... | 54 |
| FIGURE 13 : Image échographique d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' .....   | 55 |
| FIGURE 14 : Image échographique d'un fœtus 40 jours post-insémination. ....  | 56 |
| FIGURE 15 : Image échographique d'un fœtus 45 jours post-insémination. ....  | 57 |
| FIGURE 16 : Image échographique de la tête d'un fœtus 80 jours post-insémination. ....   | 57 |
| FIGURE 17 : Courbe de croissance du diamètre externe du crâne (moyenne $\pm$ écart type) chez<br>le fœtus zébu x Holstein (n = 16) .....                   | 59 |
| FIGURE 18 : Courbe de croissance du diamètre du tronc (moyenne $\pm$ écart type) chez le<br>fœtus zébu x Holstein (n = 16) .....                           | 60 |
| FIGURE 19 : Image échographique d'une gestation de 120 jours .....   | 61 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| Tableau I: Principales caractéristiques de follicules bovins aux différents stades de son évolution.....        | 10 |
| Tableau I : Chronologie du développement de l'embryon bovin .....   | 22 |
| Tableau III : Développement du fœtus bovin .....  | 22 |
| TABLEAU IV : Vitesse du son dans les différents tissus .....  | 33 |
| TABLEAU V : Coefficient d'atténuation dans divers milieux à 1 MHz .....   | 35 |
| TABLEAU VI : Résolution et profondeur d'exploration pour quelques longueurs d'ondes fréquemment utilisées ..... | 35 |
| TABLEAU VII : Taux de fertilité selon l'état corporel.....  | 50 |
| TABLEAU VII : Diagnostic de gestation chez 64 femelles zébus .....  | 58 |

## LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

% : pourcentage

°C : degré Celsius

AMPc : acide mono-phosphate cyclique

Apaf-1: apoptic protease-activating factor-1

ARN : acide ribonucléique

cm : centimètre

DG : diagnostic de gestation

ECF : early conception factor

EGF : epidermal growth factor

EIA : enzymo-immuno-assay

ELISA : Enzym Linked Immunosorbent Assay

En : exactitude négative

Ep : exactitude positive

EPF : early pregnancy factor

FGF : fibroblast growth factor

Fn : fiabilité négative

Fp : fiabilité positive

FSH : folliculo-stimulating hormone

GF : growth factor

GH : growth hormone

GnRH: gonadotrophin releasing hormone

GVB : germinative vesicle breakdown

Hz : Hertz

MHz : Méga Hertz

IA : insémination artificielle

IGF : insulin growth factor

IGFBPs : insulin-like growth binding proteins

im : intramusculaire

j : jour

kg : kilogramme

LH : luteinizing hormone

m : mètre

MAD : matière azoté digestible  
mg : milligramme  
ml : millilitre  
mm : millimètre  
n : nombre  
ng : nanogramme  
PAF : patelet activating factor  
PAG : protéines associées à la gestation  
PGF2 $\alpha$  : prostaglandine F2  $\alpha$   
PMSG : pregnant mare serum gonadotropin  
PP : post-partum  
PRL : prolactine  
PSPB : Pegnancy Specific Protein B  
RIA : radio-immuno-assay  
sec : seconde  
TGF $\beta$  : transforming growth factor $\beta$   
TIR : test inhibition rosette  
UF : unité fourragère  
UI : unité internationale  
Vpn : valeur prédictive négative  
Vpp : valeur prédictive positive  
 $\mu$ g : microgramme  
 $\mu$ m: micromètre

## RESUME

L'échographie transrectale avec une sonde linéaire 6 MHz a été utilisée pour suivre la dynamique folliculaire chez 8 femelles zébu 'Goudali' (*Bos indicus*) au Burkina Faso après synchronisation de chaleurs et d'ovulation. Les femelles ont été réparties en trois groupes selon l'utilisation ou non de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et de la PMSG : Groupe 1 : utilisation d'implant Crestar combiné à la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et à la PMSG; Groupe 2 : utilisation d'implant Crestar combiné à la PMSG et Groupe 3 : utilisation d'implant Crestar combiné à la  $\text{PGF}_{2\alpha}$ . L'échographie a été réalisée au moment du retrait, et ensuite à 4 heures d'intervalle entre la 28<sup>ème</sup> et 56<sup>ème</sup> heure après le retrait de l'implant. Au début des chaleurs soit en moyenne  $30,4 \pm 4,9$  heures après le retrait des implants, une moyenne de  $4,1 \pm 1,3$  follicules ayant un diamètre moyen de 5-6 mm a été observé pour les trois groupes. Une moyenne  $1,1 \pm 0,4$  follicule dominant ( $> 8$  mm) a été également observé à partir de la 38<sup>ème</sup> heure. Le diamètre moyen des follicules a été de  $11,80 \pm 0,96$  mm. Les premières ovulations ont été observées entre 22 et 26 heures après le début des chaleurs, soit 52 à 56 heures après la fin du traitement.

Des diagnostics de gestation ont été réalisés chez 64 femelles zébu au 28<sup>ème</sup> et 40<sup>ème</sup> jours post-insémination par échographie transrectale. Au 28<sup>ème</sup> jour l'exactitude globale a été de 92,2 %. Les fiabilités ont varié de 89,3 % et 94,4 %, respectivement pour les diagnostics de gestation positif et négatif. Au 40<sup>ème</sup> jour, l'exactitude globale a été de 98,4%. La croissance fœtale a été appréciée chez 16 femelles gestantes par les mensurations fœtales notamment les diamètres du crâne et du tronc du 45 au 120<sup>ème</sup> jour de gestation. Au 45<sup>ème</sup> jour de gestation, le diamètres du crâne et du tronc ont été respectivement de  $1,8 \pm 0,1$  cm et  $1,4 \pm 0,3$  cm. Au 120<sup>ème</sup> jour, ces valeurs ont été de  $6,5 \pm 0,6$  cm et  $5,8 \pm 0,5$  cm.

Ces résultats permettent de mieux comprendre la physiologie de la reproduction du zébu Goudali, précisent la période d'insémination artificielles et facilitent le suivi de la gestation.

Mots clés : zébu Goudali, échographie, reproduction, gestation, ovulation, synchronisation

## ABSTRACT

Transrectal ultrasonography with a 6 MHz linear-array transducer used to follow follicular dynamics in 8 females zebu 'Goudali' to Burkina Faso (*Bos indicus*) after synchronization of oestrus and ovulation. The females were left again in three groups according to use or not of the PGF2 $\alpha$  and of the PMSG: Group 1: use of Crestar implant combined with the PGF2 $\alpha$  and with the PMSG; Group 2: use of Crestar implant combined with the PMSG and Group 3: use of Crestar implant combined with the PGF2 $\alpha$ . Ultrasonography was carried out at the time of the withdrawal, and then with 4 hours interval between the 28th to 56th hour after the withdrawal of the implant. At the beginning on average of oestrus is  $30.4 \pm 4.9$  hours after the withdrawal of the implants, an average of  $4.1 \pm 1.3$  follicles having 5-6 mm diameter was observed for the three groups. An average  $1.1 \pm 0.4$  dominant follicle (8 mm) were observed starting from the 38th hour. The average diameter of the follicles was  $11.80 \pm 0.96$  mm. The first ovulations were observed enters 22 and 26 hours after the beginning of oestrus, that is to say 52 to 56 hours after the end of the treatment.

Pregnancy diagnoses were carried on in 64 zebu females at 28 and 40 days post-insemination with transrectal ultrasonography. At day 28, the overall accuracy for pregnancy was 92.2 %. The predictive values varied from 89.3 % to 94.4 % respectively for the diagnoses of positive and negative pregnancy. At day 40, the overall accuracy was 98.4%. The fetal growth was monitored in 16 pregnant females from to days 45 to 120 postinsemination. The main fetal measurements concerned cranial and trunk diameter. At day 45 of pregnancy, the cranial and trunk diameters were respectively  $1.8 \pm 0.1$  cm and  $1.4 \pm 0.3$  cm. At day 120, the values were  $6.5 \pm 0.6$  cm and  $5.8 \pm 0.5$  cm, respectively.

These results give better knowledge of zebu Goudali physiology of reproduction, precise the right period of artificial insemination and follow up of pregnancy

Key words: zebu Goudali, ultrasonography, reproduction, pregnancy, ovulation, synchronization

## INTRODUCTION GENERALE

La biologie de la reproduction animale suscite un intérêt de plus en plus croissant sous les tropiques et particulièrement en Afrique. En effet, de nombreux animaux domestiques représentent un excellent modèle d'étude comparative et de compréhension des mécanismes de physiologie fondamentale de la reproduction mais aussi disposent de potentialités très intéressantes à exploiter pour le développement des productions animales.

La connaissance des profils hormonaux chez les animaux domestiques européens et américains a été à la base de nombreuses méthodes de maîtrise des cycles des bovins en particulier. La découverte des gonadotropines (GnRH, FSH et LH), des stéroïdes (progestérone) et des prostaglandines (PGF2 $\alpha$ ) a été à la base de la mise en place de plusieurs protocoles de maîtrise des cycles pour l'application des biotechnologies de la reproduction (insémination artificielle et transfert d'embryon). Le contrôle de l'œstrus et de l'ovulation en vue de la synchronisation passe nécessairement par la connaissance de la physiologie ovarienne. Le début de l'œstrus et le déclenchement de l'ovulation sont associés à un ensemble d'évènements cellulaires (croissance folliculaire et lutéolyse) et hormonaux (FSH, LH, œstrogène et progestérone).

La physiologie ovarienne et foeto-placentaire chez les animaux domestiques a été abondamment étudiée chez les bovins de race européenne (*Bos taurus*) (Pierson et Ginther, 1988a ; Roche et Boland, 1991 ; Badinga et al., 1994, Drion et al., 2000 ; Hanzen et al., 2000a ; Sousa et al., 2002a). Les informations précises concernant la dynamique folliculaire et la physiologie de gestation chez le zébu (*Bos indicus*) et ses croisés restent encore limitées (Figueiredo et al., 1997 ; Gambini et al., 1998) et plus particulièrement chez le zébu d'Afrique. La physiologie de reproduction des zébus vivant sous les tropiques n'est pas identique à celle des taurins européens, et les études rapportent des différences portant sur les caractéristiques du tissu lutéal (Pathiraja et al., 1986), le diamètre du follicule dominant (Barros et al., 1995 ; Figueiredo et al., 1997), la longueur de l'œstrus (Madrano et al., 1996) et le moment d'ovulation (Pinheiro et al., 1998).

La plupart des travaux effectués sur les animaux domestiques sous les tropiques portent sur la description du comportement sexuel et la détermination de certains paramètres zootechniques tels que les taux de fécondité, de prolificité ou de renouvellement du troupeau (Rakha et al., 1970 ; Ralambofiringa, 1978 ; Yenikoye et al., 1981 ; Boly et al., 1993).

D'autres reposent sur des observations de comportement sexuel et des palpations rectales (Boly *et al.*, 2003), les profils de la progestérone ou de la LH (Voh *et al.*, 1987 ; Meyer *et* Yesso, 1991 ; Zongo *et al.*, 2001a). Plusieurs auteurs s'accordent à reconnaître que les cycles sexuels sont irréguliers et présentent des signes en général très discrets (Agba, 1975 ; Messine *et al.*, 1993) et les allongements excessifs des intervalles entre les vèlages (Ruiz-Cortés *et* Olivera-Angel, 1999).

L'insuffisance des connaissances sur la physiologie de la reproduction des zébus en Afrique entraîne le plus souvent une application de certains protocoles de biotechnologies de la reproduction selon les normes européennes (Chicoteau *et al.*, 1990 ; Boly *et al.*, 1993 ; Cissé, 1993 ; Messine *et al.*, 1993). Les résultats obtenus sont peu intéressants et peuvent expliquer les faibles taux de réussite ou de pénétration des biotechnologies simples en Afrique. En effet les synchronisations d'œstrus et d'ovulation ne sont pas toujours accompagnées par un suivi d'activité ovarienne ou des cinétiques hormonales chez les zébus d'Afrique (Zongo *et al.*, 2001a ; Boly *et al.*, 2003). Souvent il existe une dissociation entre  
Introduction Générale  
chaleuses pendant la puberté et le post-partum).

La dynamique de la croissance folliculaire chez le zébu Goudali mérite donc d'être précisée. La dynamique de la gestation du même zébu doit être bien connue pour des raisons d'ordre technique et économique justifiant la recherche précoce et/ou précise et le déroulement normal de la gravidité. L'échographie en temps réel ou l'imagerie médicale est particulièrement bien adaptée à l'étude de la différenciation des follicules ovariens et aux événements cellulaires pendant de la gestation. L'application de l'échographie transrectale en temps réel à l'étude de la reproduction chez les bovins représente une percée technologique qui a révolutionné la connaissance de la biologie de la reproduction. La nouvelle information de recherches produite par la formation d'images ultrasoniques a clarifié la nature des processus reproducteurs complexes des bovins comprenant essentiellement la dynamique folliculaire, la fonction du corps jaune (Hanzen *et* Delsaux, 1987 ; Rajamahendran *et al.*, 1994 ; Filteau *et* DesCôteaux, 1998 ; Garil *et al.*, 2000 ; Van Eerdenburg *et al.*, 2002) et le développement fœtal (Decante, 1990 ; Filteau *et* DesCôteaux, 1998 ; Norgueira *et al.*, 2002). L'échographie rend possible la visualisation des changements morphologiques de l'utérus, améliore la précision du diagnostic lors des pathologies ovariennes et utérines (Pierson *et* Ginther, 1988b ; Rajamahendran *et al.*, 1994 ; Hanzen *et al.*, 1993 ; Pierson *et* Adams, 1998), l'identification de gestation jumellaire, voire la détermination du sexe du fœtus.

La présente étude se propose de mieux connaître la physiologie ovarienne du zébu Goudali par le suivi de la croissance folliculaire par la méthode d'imagerie médicale et la



méthode d'observations visuelles des chaleurs après les traitements de synchronisation des chaleurs et de l'ovulation par les progestagènes associés à la prostaglandine (estrumate) et à la PMSG afin de déterminer avec plus de précision la période de l'ovulation. Elle vise en outre à déterminer les paramètres du diagnostic précoce de gestation entre le 28<sup>ème</sup> jour et le 40<sup>ème</sup> jour post-insémination. Enfin elle s'intéresse à l'étude de la croissance fœtale durant le premier trimestre de la gestation par l'échographie.

Avant de présenter les résultats et la discussion, un rappel bibliographique permettra de mettre l'accent sur la physiologie de la reproduction, de la gestation et le principe d'utilisation des ondes ultrasonores.

## **PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE 1 : PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION DE LA VACHE

### I- LE CYCLE SEXUEL DE LA FEMELLE BOVINE

Chez les femelles des Mammifères domestiques la fonction de reproduction a une activité cyclique régulière après la puberté (période de la mise en route des gonadotropines hypophysaires). Cette activité est interrompue soit par la gestation soit les problèmes pathogènes.

#### I.1- Définition du cycle sexuel

Le cycle sexuel est l'ensemble des événements cellulaires (évolution du follicule ovarien) hormonaux et comportementaux qui s'établissent à la puberté et se succèdent régulièrement et cycliquement. Les modifications morphologiques et physiologiques qui accompagnent cette cyclicité dépendent du fonctionnement de l'ovaire régulé par ses propres sécrétions hormonales, elles-mêmes sous la dépendance étroite des hormones hypothalamo-hypophysaires.

La vache est une espèce à cycle polyoestrien de type continu, c'est-à-dire manifestant des cycles œstraux et ovulatoires qui se succèdent à intervalles réguliers. La durée moyenne du cycle sexuel est sensiblement égale à 21 jours (Agba, 1975 ; Thibier, 1976 ; Levasseur et Thibault, 1980 ; Gouro et Yénikoye, 1991) avec des variations allant de 17 à 24 jours. Il existe des variations selon les conditions du milieu (température, photopériode, alimentation et état sanitaire) et la race.

#### I.2- Les différentes phases du cycle sexuel

Dans la pratique, on distingue deux phases centrées autour de l'œstrus, période au cours de laquelle les femelles acceptent les chevauchements et sont fécondes (Vaissaire, 1977).

##### ***I.2.1- Le pro-œstrus***

C'est la période de croissance folliculaire qui précède l'œstrus. Elle est variable selon les espèces. Chez les bovins sa durée moyenne est de 5 jours (Drion *et al.*, 1996).

Au cours de cette phase, l'endocrinologie est marquée par une concentration de bas niveau de progestérone et une importante sécrétion de  $17\beta$ -œstradiol (Palmer, 1985).

##### ***I.2.2- L'œstrus***

C'est la période de déhiscence du follicule mûr. Elle est caractérisée par les modifications du comportement de la femelle qui recherche le mâle et accepte le chevauchement. Les femelles sont très agitées, répondent en ce moment aux sollicitations des mâles par une immobilisation, avec adoption de position de monte. Les lèvres vulvaires sont turgescentes, congestionnées et laissent couler un liquide filant, visqueux, translucide : la glaire cervicale. Le col est entre-ouvert ou dilaté et l'utérus contractile (Pessinaba, 1977, Meyer et Yesso, 1991). La détection de cette période œstrale doit être considérée comme un facteur important pour la gestion de la reproduction.

Cette période est variable selon les races, le milieu et la présence du mâle. Elle dure en moyenne 10 heures chez le zébu avec des variations allant de 1,3 à 20 heures (Vaca et *al.*, 1985 ; Johnson et Oni, 1986) et 8 heures chez les taurins en zone soudano-sahélienne (Traoré et Bako, 1984). Les races taurines européennes ont des œstrus plus longs en moyenne 18 à 19 heures pour les vaches et 16 heures pour les génisses (Crapelet et Thibier, 1973; Levasseur et Thibault, 1980). Lorsque le mâle est en permanence avec les femelles, la durée de l'œstrus n'est que de moitié comparativement à ce qui est observé lorsque les femelles sont séparées des mâles (Galina et Arthur, 1990).

L'ovulation est sous le contrôle de la LH, cependant cette hormone n'intervient dans l'ovulation que lorsque l'ovaire est au préalable sensibilisé par la gonadostimuline FSH.

L'ovulation a lieu 6 à 14 heures après la fin de l'œstrus.

### ***1.2.3- Le post-œstrus***

Il correspond à la mise en place et au développement du corps jaune par métaplasie du follicule ayant libéré l'ovocyte. Après ovulation, l'antrum du follicule vide est envahi par des capillaires sanguins. L'hormone folliculo-stimulante la FSH et l'hormone lutéinisante la LH y stimulent la prolifération et l'infiltration des cellules de la thèque et de la granulosa (Smith, 1986). La synthèse de l'ARN nécessaire à la fabrication de la progestérone est stimulée. Les cellules deviennent polyédriques et hypertrophiées et sont chargées d'un pigment jaune qui est à l'origine de la dénomination du corps jaune qui sécrète la progestérone. Pendant cette phase, l'oviducte revient au stade de repos, mais l'utérus est à sa phase d'activité maximale, le myomètre et l'endomètre continuent à s'hypertrophier, la paroi augmente de volume et redevient musculéux à la palpation. Le vagin se décongestionne, son épithélium se desquame (Pessinaba, 1977).

Cette phase lutéale dure plus longtemps, environ 12 à 14 jours chez la vache. Elle se termine par une involution du corps jaune marqué par une diminution voire un arrêt de la production de progestérone par le corps jaune, une involution de l'utérus et du col. Sur le plan endocrinologique cette phase est caractérisée par la sécrétion de la progestérone et de l'œstrone par l'ovaire.

### I.3- Interrelations et régulation du cycle œstral

Il existe une relation chronologique entre les composantes du cycle sexuel (comportement sexuel, remaniement ovarien et les événements hormonaux). L'harmonie de cet ensemble biologique complexe que constitue le cycle sexuel ne saurait être assurée sans les mécanismes de contrôles et rétrocontrôles.

La sécrétion de progestérone en phase lutéale influence directement la sécrétion des gonadotropines hypophysaires FSH et LH : lors de l'évolution terminale du follicule, la progestérone favorise, durant quelques heures le phénomène d'ovulation. En effet, le taux basal de progestérone associé aux œstrogènes présents en phase pro-œstrale, entraîne le pic de gonadotropines nécessaires à déclencher la cascade d'évènements menant à l'ovulation. Après l'ovulation, son effet s'inverse et, parallèlement à la lutéinisation du follicule, la progestéronémie s'élève. Les pulses de LH sont irréguliers et sont alors d'amplitude plus grande que celle observée lors de la phase folliculaire. La sécrétion de FSH ne semble pas quant à elle perturbée par la progestérone. En fin de phase lutéale et en absence de gestation, les cellules endométriales libèrent une substance de nature acide arachidonique de la famille des prostaglandines,  $PGF2\alpha$  qui intervient dans la lutéolyse. Cette dégradation du corps jaune va lever l'action inhibitrice de la progestérone au niveau central et permettre le redémarrage du cycle sexuel. La très faible concentration de progestérone plasmatique favorise la croissance finale du follicule à antrum. Les niveaux de base de FSH et de LH constitue le « moteur », l'énergie au bon déroulement du cycle d'où le nom de niveaux toniques (figure 1).

L'ocytocine enfin, synthétisée au niveau des grandes cellules du corps jaune en fin de phase lutéale, participe à la libération de la prostaglandine endométriale par contraction active des fibres du myomètre. De manière réciproque, la libération de  $PGF2\alpha$  stimule dès lors la libération d'ocytocine lutéale, ce qui constitue une véritable boucle catalytique qui précipite la lutéolyse. Enfin, les œstrogènes issus du follicule préovulatoire induisent la synthèse des récepteurs à ocytocine au niveau endométrial, renforçant ainsi l'efficacité de la lutéolyse initiée.

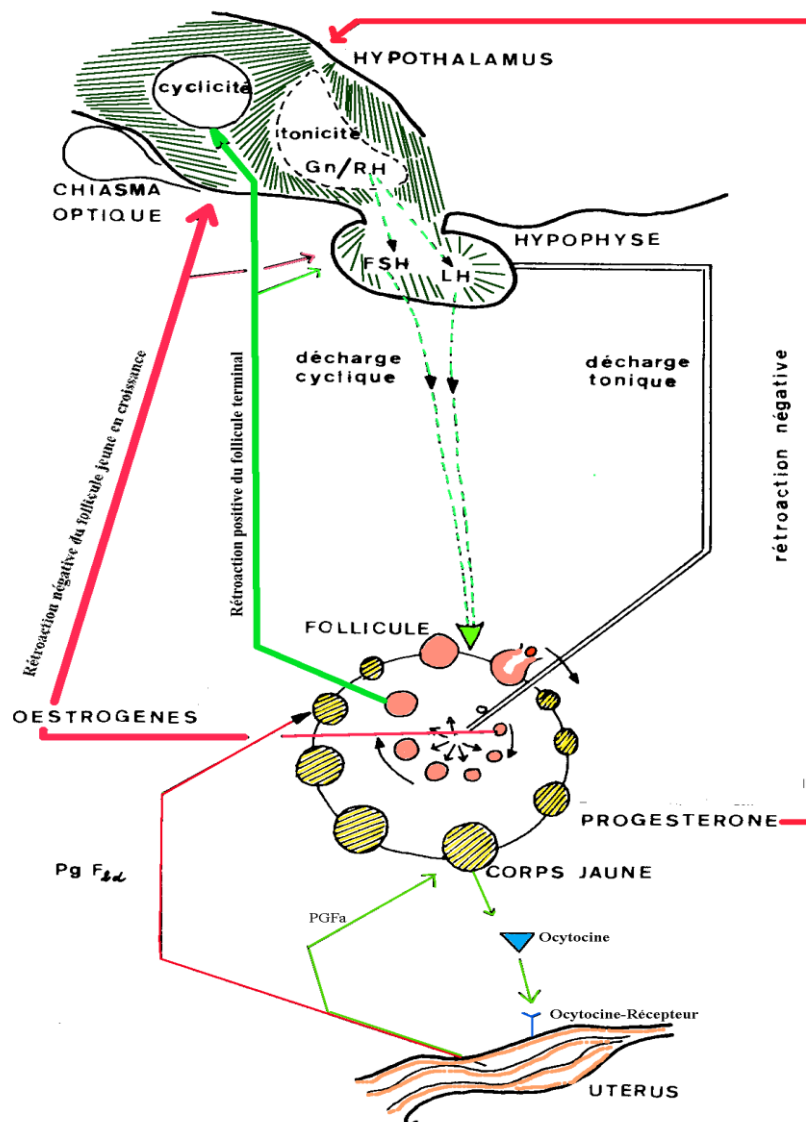


FIGURE 1: Contrôle neuro-endocrinien du cycle œstral (Levasseur et Thibault, 1980)

## II- LE DEVELOPPEMENT FOLLICULAIRE CHEZ LA VACHE

L'ovaire des Mammifères, organe de stockage des ovocytes formés au cours de la vie fœtale, est le siège des modifications histologiques et hormonales importantes. Ces modifications témoignent ou participent à quatre événements essentiels de la reproduction à savoir : la croissance des follicules, la régulation du nombre de follicules ovulatoires, l'ovulation et la formation du corps jaune. Ces différentes fonctions ovariennes sont liées à l'évolution d'une même entité morphologique et fonctionnelle qu'est le follicule ovarien, réceptacle de l'ovocyte.

La folliculogénèse est la succession des différentes étapes du développement du follicule depuis le moment où il sort du stock, constitué pendant la vie embryonnaire lors de l'ovogénèse, jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation ou à son involution. L'ovogénèse est l'ensemble des processus qui président à la formation et au développement des gamètes femelles ou ovules, aptes à être fécondés. La croissance de l'ovocyte est concomitante de celle du follicule.

## II.1- Les aspects morphologiques du développement folliculaire

### II.1.1- Les étapes du développement folliculaire

Les étapes du développement folliculaire sont au nombre de trois : la phase de multiplication, la phase de croissance et la phase de maturation. Ces étapes sont indissociables du développement et de la maturation de l'ovocyte (ovogénèse) que les follicules renferment.

#### II.1.1.1- la phase de multiplication

Sitôt établie la différenciation sexuelle embryonnaire, soit vers le 47<sup>ème</sup> jour de la gestation chez la vache, les cellules germinales primordiales encore appelées cellules souches d'origine extra-embryonnaire colonisent, après migration au travers de l'embryon le long du mésentère dorsal de l'intestin postérieur, la crête génitale et donnent naissance aux ovogonies. Les facteurs impliqués dans cette migration sont de nature mécanique et chimique (Snow et Monk., 1983 ; Furjimoto et *al.*, 1985). Les cellules germinales souches se multiplient entre le 60<sup>ème</sup> et le 170<sup>ème</sup> jours de gestation (Wandji, et *al.*, 1992). A cette même période, quelques cellules endothéliformes et une membrane conjonctive dite basale, future membrane de Slavjanski, viennent entourer l'ovocyte primaire formant ainsi les follicules primordiaux d'où s'échapperont les follicules destinés à se développer et dont quelques-uns seulement arriveront à maturité. Cette phase de multiplication est, chez la plupart des mammifères, terminée avant ou peu après naissance. L'importance du stock folliculaire ainsi constitué dépend de l'espèce (235 000 chez la vache) de la race, de l'individu ou du stade de reproduction (Peters, 1976; Betteridge et *al.*, 1989; Driancourt, 1991).

#### II.1.1.2-La phase de croissance folliculaire

Cette phase de croissance ne concerne que 10 % du stock folliculaire (Hanzen et *al.*, 2000b). Elle est comprise entre le moment où le follicule quitte la réserve folliculaire et celui de l'ovulation. La durée de l'évolution folliculaire varie selon les espèces. Elle est de 100-120 jours chez la vache. Cette phase se caractérise par des modifications ovocytaires

(augmentation du volume et des synthèses en acides nucléiques et en protéines) ainsi que folliculaires. Le développement folliculaire est continu et comprend les stades de follicule primordial, qui évolue en le follicule primaire, le follicule secondaire, le follicule tertiaire ou cavitaire et le follicule mûr ou de De Graaf (Tableau I et annexe 1).

Tableau I: Principales caractéristiques de follicules bovins aux différents stades de son évolution

|                                   | Nombre de cellules folliculaires  | Formation de...   | Diamètre folliculaire (µm) | Diamètre ovocytaire (µm) |
|-----------------------------------|---|---|----------------------------|--------------------------|
| Primordial                        | 3 cellules aplaties   | Membrane basale   | 30-50                      | 20-35                    |
| Primaire                          | Un couche de cellules cuboïdales  | Membrane de Slavjanski  | 40-60                      | 30-40                    |
| Secondaire                        | Couches multiples de cellules   | Zone pellucide, Thèques   | 200-300                    | 60                       |
| Tertiaire                         | Couches multiples de cellules   | Cumulus oophorus  |                            | 100-130                  |
| Stade préovulatoire ou "de Graaf" | Couches multiples de cellules<br>Différenciation des cellules folliculaires en cellules de granulosa et cumulus | Acquisition de la compétence ovocytaire<br>Reprise de la méiose | 2.10 <sup>4</sup>          | 150                      |

### II.1.1.3- La phase de maturation

Cette phase représente l'ensemble des modifications qui se réalisent à trois niveaux : nucléaire, cytoplasmique et membranaire permettant l'acquisition par l'ovocyte de l'aptitude à être reconnu par le spermatozoïde, à assurer la formation de pronuclei paternel et maternel et à permettre grâce à ses réserves (ARNm, ribosomes, protéines élaborées pendant la phase de croissance), le début du développement embryonnaire. Elle est induite par le pic ovulatoire de FSH. La maturation de l'ovocyte et les facteurs qui régulent ce processus chez les bovins ont fait l'objet d'études détaillées (Bever et *al.*, 1997; Taft, 1999). Elle implique des modifications nucléaires, cytoplasmiques et membranaires pour que l'ovocyte soit fécondable.

### II.1.2- La dynamique de la croissance folliculaire

A la naissance la population des follicules ovariens est constituée par les follicules de la réserve ovarienne variable selon les espèces. Elle peut varier de façon considérable entre individus d'une même espèce appartenant ou non à des races différentes. Le nombre de



follicules en croissance représentent toujours une faible proportion de l'effectif folliculaire total.

### II.1.2.1- L'évolution en fonction de l'âge

Chez tous les mammifères, plus l'âge augmente, plus l'effectif des différentes catégories de follicules diminue. Dès la puberté, régulièrement, un certain nombre de follicules quittent leur réserve pour subir une évolution soit vers l'ovulation soit vers l'atrésie. Le rythme selon lequel les follicules quittent la réserve paraît être de type journalier et leur nombre dépend de l'importance de celle-ci. C'est ainsi que chez la vache, le nombre de follicules qui débutent la croissance atteint un maximum entre l'âge de 2 à 3 ans puis décroît régulièrement par la suite (Saumande, 1991).

### II.1.2.2- La cinétique de la croissance folliculaire.

Ces dernières années, la mise au point par l'échographie a permis de lever la controverse existante et de décrire de manière plus précise la cinétique de la croissance folliculaire. De nombreuses études échographiques ont confirmé la théorie des vagues folliculaires selon laquelle le développement folliculaire apparaît sous la forme de croissance et de régression successives de plusieurs follicules (Ireland et Roche, 1987; Rajamahendran et *al.*, 1994).

Au cours du cycle sexuel, les vagues de croissance folliculaire sont observées pendant la période préovulatoire et la phase dioestrale du cycle chez la vache (Fortune, 1994). Une à quatre vagues par cycle ont été décrites. Lors d'un cycle, on peut observer 2 à 3 vagues de croissance folliculaire terminale (Ginther et *al.*, 1989; Driancourt, 1991). Si trois vagues sont observées, elles débutent habituellement aux jours 2, 9 et 16 du cycle (Savio et *al.*, 1988; Sirois et Fortune, 1988; Knopf et *al.*, 1989; Driancourt et *al.*, 1991; Adams, 1994). Si celui-ci n'en comporte que deux, elles apparaissent aux jours 2 et 11 du cycle (Figure 2). Selon que le cycle comprendra deux ou trois vagues de croissance folliculaire, les caractéristiques de certaines phases du cycle vont varier: pour la durée du cycle de 19,7 et 21,5 jours; pour la durée de la phase lutéale de 16,7 et 18 jours; pour le début de la deuxième vague de croissance folliculaire de 10,7 et de 9,4 jours après l'ovulation; pour la taille du premier follicule dominant de 14,4 et de 12,8 mm; pour l'intervalle entre le moment où émerge le follicule dominant de la troisième vague et l'ovulation de 11 et de 7 jours (Ginther et *al.*, 1989; Lavoit et Fortune., 1990; Mialot et *al.*, 2001). Ce schéma de la croissance folliculaire est plus étudié au cours du cycle sexuel, a également été décrit lors d'autres états physiologiques telle la période prépubertaire (Hopper et *al.*, 1993), postpartum (Rajamhendran et Taylor, 1990; Savio et *al.*, 1990; Perry et *al.*, 1991) et au cours de la superovulation (Grasso et *al.*, 1989; Savio et *al.*, 1991; Calder et Rajamahendran, 1992;

Robertson et *al.*, 1993). Il en est de même durant les 45 voire 70 premiers jours de la gestation (Guilbault et *al.*, 1986 ; Savio et *al.*, 1990 ; Tylor et Rajamahendran 1991). L'échographie nous offre la possibilité d'obtenir un diagnostic plus précis de plusieurs états pathologiques de l'utérus et des ovaires (Fissore et *al.*, 1986; Kahn et Leidl, 1989 ; Kahn, 1990 ; Farin et *al.*, 1992).

La durée de la croissance folliculaire depuis la sortie de la réserve jusqu'à l'ovulation est de 5 à 6 mois chez la vache (Cahill et Mauléon, 1980).

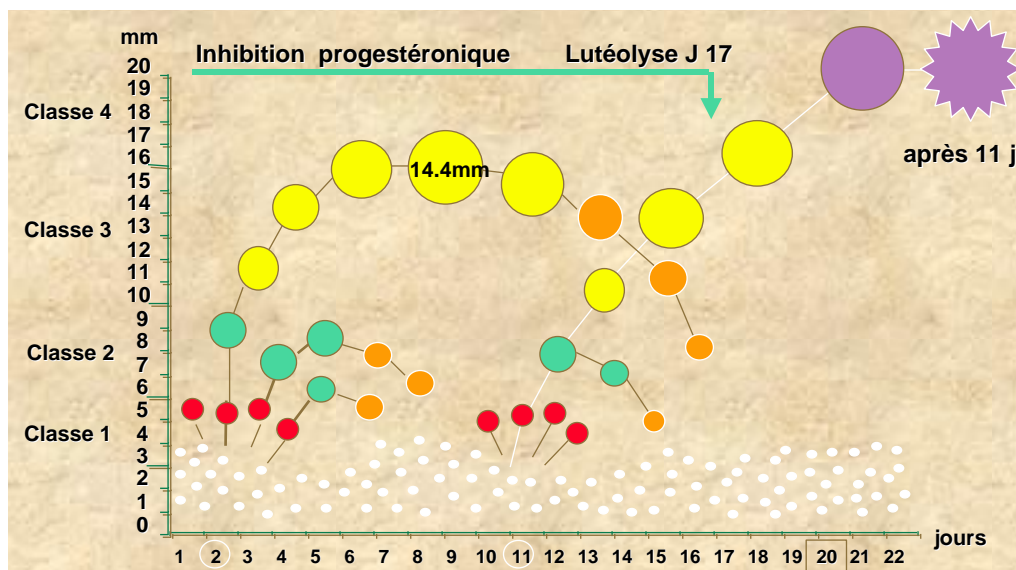


FIGURE 2 : Notion de vagues folliculaire (Lucy et *al.*, 1992)

### II.1.2.3- Mécanisme de régulation du nombre de follicules ovulatoires

Les facteurs responsables de la mobilisation initiale des follicules sont complexes. On invoque la proximité des vaisseaux, de terminaisons nerveuses ou encore de corps jaune et de gros follicules (Greewald et Terranova, 1989). Une fois sorti du pool de la réserve, le développement jusqu'au stade follicule primaire semble être sous la dépendance des facteurs intra ovariens qui ne sont pas encore parfaitement identifiés. Parmi ceux-ci ont été évoqués, les cybernines, l'EGF (Epidermal Growth Factor) (Jone et *al.*, 1982), le FGF (Fibroblast Growth Factor) (Gospodarowicz et Bridwell, 1977), le TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor) (Skinner et *al.*, 1987) et les somatomédines (IGI et IGFII pour Insulin Growth factor (Davoren et Hsueh, 1986). Les premiers interviennent dans la multiplication cellulaire, tandis que les somatomédines ainsi que l'insuline se comporteraient comme agonistes des hormones gonadotropes dans la stéroïdogénèse (Davoren et *al.*, 1985). Outre l'action de ces facteurs

intra ovariens, il apparaît de plus en plus admis aujourd'hui que les hormones gonadotropes hypophysaires notamment la FSH puissent intervenir durant la première période de la croissance du follicule, plus précisément dès que le follicule comporte une quarantaine de cellules folliculaires. Il faut noter en effet que le nombre de follicules primordiaux entament leur développement juste avant la puberté probablement grâce à des niveaux élevés des gonadotropines en cette période de la vie. Pour expliquer comment parmi les follicules qui quittent le pool des follicules primordiaux, un seul d'entre eux à chaque cycle se développe jusqu'à l'ovulation Di Zerega et Hodgen, (1980); Goodman et Hodgen (1983) ont proposé pour les primates trois concepts: recrutement, sélection et dominance. Si ces trois concepts concernent tous les mammifères, ils n'opèrent pas de façon rigide. Ils permettent de comprendre le rôle du follicule dans la fertilité. Ce mécanisme de développement folliculaire est associé à des changements dans l'expression de RNAm codant pour les récepteurs aux gonadotropines et pour les enzymes de la stéroïdogénèse (Xu et *al.*, 1995a et b). Chez les bovins, ces concepts ont fait l'objet de plusieurs revues (Ireland et Roche, 1987; Greenwald et Ror, 1994; Ginther et *al.*, 1996; Ireland et *al.*, 2000).

#### *La phase de recrutement*

Le recrutement est la phase de départ au cours de laquelle les follicules quittent le pool de réserve. La croissance folliculaire est continuellement initiée au niveau du pool de réserve et une fois que les ovocytes en sont recrutés, ils évolueront séquentiellement soit vers l'ovulation, soit vers l'atrésie. L'initiation de la croissance folliculaire ne dépend pas d'une influence émanant des gonadotrophines mais plutôt d'un signal encore inconnu d'origine probablement intra-ovarienne. Le concept de recrutement englobe l'entrée en croissance terminale d'un groupe de follicules gonadodépendants (Roche et Boland, 1991; Fortune, 1994); la taille minimum des follicules au recrutement est donc la taille maximale atteinte en l'absence d'hormones gonadotropes FSH et LH (2 mm). Certains facteurs locaux sont également suspectés : proximité de terminaisons vasculaires, nerveuses, de corps jaunes ou de gros follicules. Chez les bovins, des vagues folliculaires sont précédées ou accompagnées d'une petite élévation de FSH, et si cette élévation est empêchée ou retardée, la vague folliculaire est empêchée ou retardée (Adams et *al.*, 1993). Le développement des follicules est influencé par les stéroïdes issus de l'ovaire. Le développement des follicules ovulatoires dépend d'un fin équilibre entre les gonadotrophines FSH et LH et les hormones stéroïdes et tout changement inapproprié de leurs taux respectifs mène par la suite à l'atrésie. D'autres facteurs influencent le nombre de follicules quittant chaque jour la réserve: l'état corporel de l'animal, la quantité et la qualité de son alimentation et l'étape du cycle de reproduction.

### *La phase de sélection*

L'aptitude de certains follicules à atteindre l'ovulation plutôt que l'atréisie repose sur le principe de coexistence d'un stade bien précis du développement de ces follicules avec un taux approprié des gonadotropines sériques et des stéroïdes. Un grand nombre d'hormones interviennent ainsi que certains facteurs de croissance (GF):

- Hormones hypophysaires: FSH, LH, GH, PRL;
- progestérone, 17 $\beta$ -oestradiol, androgènes;
- inhibine, activine, folistatine;
- facteurs de croissance: IGF, EGF, TGF $\beta$ .

L'atréisie joue un rôle important dans la sélection (Saumande, 1991). Le follicule alors sélectionné évolue alors vers la phase ovulatoire, suite à son acquisition d'un nombre plus élevé de récepteurs à FSH au niveau de sa granuleuse. Des études menées par Fortune et *al.* (2001) chez les bovins ont montré que ce follicule est caractérisé par sa grande capacité à produire l'oestradiol.

### *La phase de dominance*

La dominance fait suite à la sélection, le follicule dominant étant le seul qui soit capable de provoquer la régression des follicules en croissance ou d'inhiber la croissance d'autres follicules (Hodgen, 1982; Ko et *al.*, 1991) et d'ovuler dans un environnement hormonal approprié (Gong et *al.*, 1993). Bien que les taux circulants de FSH diminuent, le follicule dominant survit par un mécanisme d'auto-stimulation interne consistant en une amplification de la synthèse d'IFG-1-oetrogène dépendant, cet IFG-1 stimulant à son tour l'aromatation des androgènes en œstrogènes. De plus, l'enrichissement de la granuleuse en récepteurs à la LH contribue à maintenir une concentration élevée en AMPc dans les cellules folliculaires, facteur favorable à la croissance du follicule dominant (Webb et *al.*, 1992). Cette dominance consiste également en une régulation du nombre d'ovulation lors de chaque cycle propre à chaque espèce. Chez la vache le nombre d'ovulations est généralement de un et rarement deux. Il y a lieu de noter que cette régulation intervient pendant les quatre à dix derniers jours de l'évolution folliculaire c'est-à-dire durant les phases de croissance et de maturation.

Le déterminisme complexe de cette croissance semble s'effectuer en 2 phases. La première débutant lors de l'entrée en croissance à partir de la sortie du stock des follicules primordiaux jusqu'à la taille de 5-6 mm, correspondant à un développement continu; elle est dite "gonado-indépendante". Ce sont essentiellement des facteurs intra-ovariens dont

l'activine qui la contrôle; l'influence de l'alimentation et de l'état corporel avec leurs médiateurs IGF, insuline, leptine semble essentielle sur cette période. La seconde, "gonado-dépendante", correspond au développement cyclique des follicules de 5-6 mm jusqu'à l'atrésie ou l'ovulation. Les hormones hypophysaires gonadotropes sont indispensables ainsi que des facteurs produits localement dans les ovaires: l'inhibine, les IFG, et certaines IGFBP. La variation des concentration intra-folliculaires de certains stéroïdes et de facteurs de croissance conditionne l'évolution du follicule vers l'ovulation ou l'atrésie.

## II.2- L'ovulation

L'ovulation est un phénomène biologique complexe correspondant à la transformation méiotique de l'ovocyte, à la rupture du follicule dominant n'ayant pas subi l'atrésie et à la libération d'un ou de plusieurs gamètes prêts à être ovulés (Driancourt, 2001). La rupture de la paroi folliculaire fait suite à une augmentation de la vascularisation ovarienne, à une dissociation enzymatique des fibres de la collagène de la thèque puis à des phénomènes de nécrose et de contraction des fibres musculaires lisses de la thèque interne. Le follicule a alors la taille maximale. La libération de l'ovocyte ne peut se faire que lorsque sa maturation est terminée; ce phénomène est la conséquence du pic préovulatoire de LH et de FSH dont la décharge a été possible parce que la sécrétion de la progestérone par le corps jaune avait régressé et que le follicule dominant sécrétait une quantité élevée d'œstrogène.

## II.3- L'atrésie

L'atrésie est synonyme de l'involution folliculaire, et constitue le devenir de la majorité (environ 99 %) (Monniaux et *al.*, 1999; Hanzen et *al.*, 2000b) des follicules présents dans l'ovaire des mammifères. Elle joue donc indirectement un rôle très important dans la régulation du taux d'ovulation. L'atrésie correspond à la régression du follicule jusqu'à la disparition complète dans le stroma ovarien. Sa durée, ses causes et son mécanisme sont mal connus faute de détection précoce et fiable. Sur le plan fonctionnel, la distinction des follicules atrétiques peut être réalisée par la détermination du rapport de leur concentration en oestradiol/progestérone ou oestradiol/ocytocine (Ireland et Roche, 1982; Meidan et *al.*, 1992).

Différentes études ont précisé le moment préférentiel d'apparition de l'atrésie (Lussier et *al.*, 1987; Hirshfield, 1991). Elles sont basées sur l'analyse du temps nécessaire pour doubler le nombre de cellules de la granuleuse visibles au travers de la grande coupe d'un follicule. La fréquence des follicules atrétiques augmente avec le nombre de cycles de multiplications cellulaires. Elle est maximale au moment de la formation de l'antrum chez la

chatte tandis que chez la femme et la vache sa fréquence est la plus élevée au cours des stades suivant la formation de l'antrum. Ce nombre dépend davantage de la taille du follicule ovulatoire que de la taille du follicule antral. Le stade ultime de l'atrésie du follicule est caractérisé par son écrasement et l'invasion de l'antrum par les fibres conjonctives. Les gonadotropines empêchent l'apoptose des cellules de granulosa en inhibant l'expression du facteur de transcription p53 et des facteurs mitochondriaux Bax et Apaf-1 (apoptotic protease-activating factor-1) impliqués dans la cascade apoptotique. Une part au moins de l'action de FSH et LH passe par l'induction de facteurs de croissance ou/et leurs récepteurs. Dans les follicules en développement terminal, l'entrée en apoptose des cellules de la granulosa est étroitement contrôlée par les concentrations plasmiqes des gonadotropines. Lors de la sélection folliculaire, toute diminution de FSH, même légère et temporaire peut déclencher l'apoptose des cellules de la granulosa dans les follicules de la cohorte dont l'équilibre local entre facteurs pro- et anti-apoptotique est défavorable. Dans les cellules en tout début d'atrésie, l'augmentation précoce des concentrations intrafolliculaires d'IFBP-2 contribuerait à accélérer l'involution du follicule et à accentuer le mécanisme de sélection.

#### II.4- Le corps jaune

Le follicule rompu se transforme en une glande spéciale, appelée corps jaune, dont le produit de sécrétion principal est la progestérone. Dès sa rupture, le follicule présente en son centre une petite hémorragie menant à un coagulum fibrino-hémorragique. L'apex se cicatrise ensuite et se referme. La qualité du corps jaune est tributaire de l'état du follicule dont il provient. Les cellules progestatives se remplissent de gouttelettes de phospho-amino lipides et d'un pigment caroténoïde, la lutéine, qui donne au corps jaune sa couleur caractéristique. Ainsi constitué, le corps jaune est donc un massif de cellules à activité glandulaire présentant la structure et la fonction d'une glande endocrine. Le corps jaune est constitué de deux types cellulaires :

- les grandes cellules dérivées de la granulosa ayant une activité stéroïdogène prononcée avec la présence du pigment caroténoïde donnant au corps jaune sa couleur, présence de granule sécrétoires (ocytocine en début de cycle et relaxine en fin de gestation);
- les petites cellules dérivées des cellules de la thèque interne, dépourvues de granules sécrétoires, sensibles à l'AMPc et LH.

L'évolution du corps jaune est variable suivant que l'ovulation a été suivie ou non de la fécondation. Dans le premier cas, il donne lieu au corps jaune gestatif ou de gestation dont la durée d'activité s'étant sur une période plus ou moins longue de la gestation et variable suivant

les espèces. Le maintien du corps jaune durant la gestation dépend à la fois de l'inhibition de la lutéolyse et du maintien des stimuli lutéotropes. Dans le second cas on parle du corps jaune périodique ou cyclique en rapport avec la durée du cycle œstral. On qualifie de métaœstrus la période de mise en place du corps jaune et de dioestrus sa période d'activité sécrétoire. Chez la vache le métaœstrus (période de mise en place du corps jaune) est de 3 - 4 jours et la dioestrus (période d'activité sécrétoire) 13 - 14 jours de durée. Le corps jaune périodique régresse progressivement par : une oblitération de capillaire, une dégénérescence graisseuse des cellules, une augmentation du tissu conjonctif qui étouffe les éléments glandulaires. Il se transforme en un amas conjonctivo-fibreux, masse blanchâtre ou jaunâtre, le "corps albicans" qui ne semble jouer aucun rôle physiologique. La transformation d'un corps jaune cyclique en un corps jaune gestatif nécessite un "signal embryonnaire"; celui-ci est précoce ou tardif selon les espèces. Il survient environ au 16<sup>ème</sup> jour chez la vache.

### III- LA MAITRISE DES CYCLES SEXUELS CHEZ LES BOVINS

#### III.1- Le principe de la maîtrise des cycles sexuels

Les cycles sexuels étant très variables, les traitements de maîtrise des cycles sexuels ont pour objectif de rationaliser le travail au moment de la mise à la reproduction afin de pallier à la détection des chaleurs, d'accélérer le progrès génétique par application des biotechnologies de la reproduction (insémination artificielle et transplantation embryonnaire) et de programmer ou planifier les périodes de reproduction. La progestérone constitue l'élément régulateur du cycle. Elle agit par rétroaction négative au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire, entraînant une baisse du taux circulant des hormones gonadotropes accompagnées d'une réduction de la croissance folliculaire. Par contre, sa chute en fin du cycle ou en fin du traitement, provoque une augmentation progressive du taux de la FSH, des œstrogènes et de la LH, par conséquent la maturation folliculaire finale et l'ovulation. La synchronisation de l'œstrus repose essentiellement sur deux principes : l'établissement de la phase lutéale artificielle par administration de progestérone ou de progestagènes, le contrôle de la phase lutéale normale par administration de prostaglandines qui provoquent la lutéolyse éventuelle. Dans l'un ou comme dans l'autre cas, le mécanisme fondamental est : la disparition, au niveau plasmatique et interstitiel de la progestérone ou de progestagènes qui permet la réapparition des chaleurs ou de l'ovulation. De récents travaux réalisés en Europe ont proposé différents schémas de maîtrise (Odde, 1990; Nebel et Josbst, 1997; Diskin et *al.*, 2001; Thatcher et *al.*, 2001; Grimard et *al.*, 2003).



## III.2- Méthodologie de la maîtrise des cycles sexuels chez les bovins

### III.2.1- Les progestagènes

Le norgestomet (17-a-acetoxy-11- $\beta$ -méthyl-19-norpreg-4-ène,3,20,dione) est utilisé sous forme d'implants. Les implants se présentent sous forme de capsule contenant 3mg de norgestomet mis en place sous la peau de l'oreille. Ces implants sont mis en place pendant 9 à 12 jours. Le traitement est complété par l'administration simultanée de 5 mg de valérate d'œstradiol (œstrogène) par voie intramusculaire. Le jour du retrait de l'implant une injection de 200 à 600 UI de PMSG est associée pour mieux stimuler l'ovaire. L'effet FSH et LH de PMSG va soutenir la croissance folliculaire terminale, la production endogène d'œstrogènes et va favoriser l'ovulation (Chupin et *al.*, 1977; Petit et *al.*, 1979).

### III.2.2- La progestérone

La progestérone est utilisée sous forme de spirale vaginale. Cette spirale renferme 1,55 g de progestérone et d'une capsule intravaginale de 10 mg de benzoate d'œstradiol. La capsule, préalablement enduite d'une pommade antiseptique, est placée dans le vagin pendant 12 jours. L'association œstrogène + progestérone en début du traitement exerce un retrocontrôle négatif et diminue les concentrations circulantes de FSH (effet des œstrogènes) et LH (effet de la progestérone) provoquant l'atrésie du follicule dominant. Ceci permet le redémarrage d'une nouvelle vague de croissance folliculaire 3 à 5 jours plus tard (Bo et *al.*, 1991, 1994; Burke et *al.*, 2000; Rhodes et *al.*, 2002). Dans les 24 heures qui suivent le retrait, le taux plasmatique de progestérone chute à 0,5 ng/ml. Le traitement est complété par injection intramusculaire de 200 à 600 UI de PMSG le jour du retrait de la spirale.

### III.2.3- Les prostaglandines F2 $\alpha$

L'effet lutéolytique de la prostaglandine F2 $\alpha$  a été précisé par Lauderdale et *al.* (1974). La prostaglandine F2 $\alpha$  et ses analogues représentent d'excellents agents de synchronisation de l'oestrus chez des femelles cyclées. Les protocoles de synchronisation conseillés comportent deux injections de 11-14 jours d'intervalle. La chronologie de modifications hormonales qui suit cette formule de traitement à double injection montre que la plupart des femelles présentent des chaleurs entre 48 et 96 heures après la deuxième injection et peuvent être inséminées à 72 et 96 heures. En effet, si les PGF2 $\alpha$  agissent sur la durée du corps jaune, elles n'ont pas d'effet direct sur la croissance folliculaire. Au moment de la lutéolyse, le follicule dominant présent dans l'ovaire n'est pas à un stade précis de développement, ce qui explique l'étalement des chaleurs après traitement ( Mialot et *al.*, 1999; Driancourt, 2001).

### III.2.4- Les associations GnRH/PGF2 $\alpha$ ou Ovsynch

L'idée de synchroniser les vagues de croissance folliculaire avant l'administration de PGF2 $\alpha$  a conduit à utiliser le GnRH. Le protocole classique est le suivant: injection de GnRH à J0, PGF2 $\alpha$  7 jours plus tard, GnRH 48 heures après l'injection de PGF2 $\alpha$  (Twagiramungu et *al.*, 1994 et 1995; Pursley et *al.*, 1995). En fonction du stade du gros follicule, la GnRH provoque soit l'atrésie soit l'ovulation ou la lutéinisation des gros follicules présents dans l'ovaire au moment du traitement et une nouvelle vague de croissance folliculaire émerge dans les 3-4 jours. Une injection de PGF2 $\alpha$  au 7<sup>ème</sup> jour après la première injection de GnRH entraîne la lutéolyse au moment où un follicule dominant est présent et celui-ci devient préovulatoire. L'injection de GnRH 48 h après celle de PGF2 $\alpha$  provoque un pic de LH et l'ovulation 24 à 32 heures plus tard pour 87 à 100 % des vaches (Pursley et *al.*, 1995; Thatcher et *al.*, 2001).

## CHAPITRE 2 : LA GESTATION

La gestation est le développement de l'œuf depuis la fécondation jusqu'à la parturition. Ce développement se décompose en trois périodes:

- la période de l'œuf ou période de vie libre, s'étend du moment de la fertilisation jusqu'à l'éclosion blastocytaire d'une durée de 9 à 10 jours après la fécondation;
- la période embryonnaire, correspond à l'organogenèse, du 10<sup>ème</sup> jour au 45<sup>ème</sup> jour (2<sup>ème</sup> mois) (Committee on Reproductive Nomenclature, 1972);
- la période fœtale, correspond au développement fœtal; elle s'étend de la fin de la période embryonnaire à la parturition (2<sup>ème</sup> mois au 9<sup>ème</sup> mois)
- La durée de la gestation peut se définir comme le temps écoulé entre le moment de la fécondation et celui de la mise bas. Chez la vache le temps moyen de gestation est de 9 mois (280 jours) en moyenne et variable de 270-292 jours (Jainudeen et Hafez, 1987). Cette durée est influencée par la race, le sexe du fœtus, la génétique de la vache et du taureau, la température environnementale, le nombre de fœtus et la nutrition. (Angus: 273-282 jours; Le Holstein: 278-282 jours; Brahman: 292 jours).

La gestation crée chez la femelle un état physiologique nouveau et entraîne une série de modifications morphologiques et comportementales.

### I- PRINCIPALES ETAPES DU DEVELOPPEMENT

#### I.1- La période de l'œuf

Sitôt après la fertilisation, l'œuf entame sa mitose. La première mitose donne lieu à la formation de 2 cellules embryonnaires ou blastocytes de même volume et correspondant à la moitié du volume de la cellule initiale. Les divisions se succèdent donnant successivement 4-8-16-32 blastomères de plus en plus petits au fur et à mesure qu'ils se multiplient. Il se forme ainsi une véritable boule cellulaire appelée morula, le stade 16-32 blastomères est atteint vers la fin du quatrième jour chez la vache et c'est à ce moment qu'elle franchit la jonction utéro-tubaire. Déjà au stade 8 cellules, les blastomères, légèrement inégaux se distinguent en micromères et en macromères. Par la suite, la ségrégation des blastomères de la morula en deux sous-populations distinctes se réalise:

- la première, constituée de 1 à 2 petites cellules internes, apolaires, constitue l'ébauche du bouton embryonnaire et donnera lieu à l'embryon et une partie des ses annexes: amnios, allantoïde, sac vitellin;

- la seconde, est formée d'un groupe plus nombreux de cellules, externes, polarisées, plus hautes qui constitue l'ébauche du trophoblaste à partir duquel se développera le placenta.

A ce stade l'embryon, entouré par la zone pellucide, est désigné sous le nom de blastocyste. Le stade blastocyste est défini par la présence d'une cavité centrale, le blastocèle, entouré par une assise cellulaire appelée trophoctoderme ou trophoblaste et par un petit groupe de cellules situées sous le trophoctoderme, le disque embryonnaire.

A cette période de développement ovulaire vont se succéder la période embryonnaire et la période fœtale.

### I.2- La période embryonnaire

Elle est très importante. Toute modification du milieu au cours de cette période peut interférer gravement sur le développement et se trouver à l'origine de diverses embryopathies.

Dès lors la croissance est très rapide et les parties extra-embryonnaires s'allongent de façon considérable. Pendant toute cette période qui précède l'implantation, l'embryon envahit la cavité utérine. Encore logé dans la partie apicale de la corne vers le 10<sup>ème</sup> jour, il occupe les deux tiers de celle-ci vers le 16<sup>ème</sup> jour et sa totalité vers le 18<sup>ème</sup> jour. Dès le 18<sup>ème</sup> jour, les extrémités de l'embryon commencent à dégénérer et à se nécroser. Ainsi jusqu'au 18<sup>ème</sup> jour l'embryon mène une vie libre. Ce processus s'amplifie et s'arrête vers le 35<sup>ème</sup> jour en regard des extrémités de l'allantoïde. C'est au 30<sup>ème</sup> jour qu'apparaissent les premières ébauches de villosités placentaires. Très vite, elles couvrent de façon diffuse la totalité du chorion, mais dès le 33<sup>ème</sup> jour, les bouquets de villosités situés en regard des caroncules utérines deviennent plus importants et s'engrènent dans les cryptes des caroncules pour former les ébauches de cotylédons (Tableau II).

### I.3- la période fœtale

Elle constitue la période de croissance. Le placenta est alors définitivement constitué et c'est à son niveau que s'effectuent les échanges foeto-placentaires (Tableau III).

Tableau II: Chronologie du développement de l'embryon (et leurs annexes) bovin (Hagen-Picard et *al.*, 2002)

| Principaux évènements   | Temps en h après le début des chaleurs | Jours |
|---|--|-------|
| Début des chaleurs  | 0 h                                    | J0    |
| Décharge de LH  | 10 h (8-12h)                           | J0    |
| Insémination  |  |       |
| Ovulation   | 30-32 h                                | J1    |
| Oviducte  |  |       |
| Fécondation   |  |       |
| Accolement des spermatozoïdes à la membrane de l'œuf-activation | 33 h                                   |       |
| Fusion des pronuclei  | 45 h                                   |       |
| Stade 2 cellules  | 46-56                                  | J2    |
| Stade 4 cellules  | 50-66 h                                |       |
| Stade 8 cellules  | 60-90 h                                | J3    |
| Stade 16-32 cellules  | 90-125 h                               | J4    |
| Utérus  |  |       |
| Morula (32-64 cellules)   | 120-145 h                              | J6    |
| Jeune blastocyste   | 140-175 h                              | J7    |
| Blastocyste   | 160-210 h                              | J8-J9 |
| Blastocyste sortie de la zone pellucide                         |  | J10   |
| Début de l'élongation du blastocyste                            |  | J11   |
| Constitution du disque embryonnaire (0,3 mm)                    |  |       |
| Longueur × largeur blastocyste: 10 × 1,5 mm                     |  | J13   |
| Longueur blastocyste: 20 mm                                     |  | J15   |
| Longueur blastocyste: 50 mm                                     |  | J16   |
| Longueur blastocyste: 150 mm                                    |  | J17   |
| Longueur blastocyste: 400 mm                                    |  | J18   |
| Longueur blastocyste: 1 m                                       |  | J30   |
| Ebauche villosités placentaires                                 |  | J30   |
| Formation des cotylédons  |  | J33   |

Tableau III : Développement du fœtus bovin (Hagen-Picard et *al.*, 2002)

| Stade    | Longueur du fœtus | Observations   |
|----------|-------------------|--|
| 35 jours | 14-15 mm          | Œil bordé de replis<br>Cou développé<br>Doigts reconnaissables aux 4 membres                                   |
| 1,5 mois | 3 cm              | Ebauches mammaires<br>Pavillons auriculaires bien dessinés   |
| 2 mois   | 6-7 cm            | Paupières soudées<br>Organes génitaux externes reconnaissables (clitoris, scrotum)<br>Ongles aux 4 membres     |
| 3 mois   | 14-15 cm          | Oreilles détachées<br>Taches pigmentées à l'emplacement futur des cornes<br>Compartiments gastriques distincts |

|        |          |  |
|--------|----------|--|
| 4 mois | 25 cm    | Mamelles distinctes (femelle)<br>Ongles plus fermes                                |
| 5 mois | 40 cm    | Pigmentation du corps sauf extrémités des membres<br>Descente testiculaire achevée |
| 6 mois | 46 cm    | cils   |
| 7 mois | 60 cm    | Yeux pigmentés à découvert<br>Pigmentation complète y compris les extrémités       |
| 8 mois | 63-75 cm | Fourrure courte  |
| 9 mois | 80 cm    | Toupillon au tour de la que  |

## II- LE PLACENTA ET LA PLACENTATION

Le placenta est une structure spécialisée, résultant de l'apposition intime des tissus maternels et fœtaux et qui permet les échanges nutritifs entre la mère et le fœtus. Le placenta joue de plus un rôle d'évacuation des déchets, permet les échanges respiratoires et protège le fœtus contre les bactéries et les substances toxiques. Il possède enfin un rôle endocrine très important pour maintenir l'équilibre hormonal de la gestation.

La situation topographique du placenta et sa structure varient avec les espèces. Cette variation résulte du type d'implantation de l'œuf. La structure du placenta peut ainsi être étudiée sur un double plan anatomique et histologique.

### II.1- Anatomie

Le placenta dépend du développement des membranes fœtales et surtout de la membrane la plus externe: le chorion qui est un sac clos. Sa face externe, lisse en début de gestation, se couvre par la suite de villosités, cônes vasculaires et mésenchymateux, qui occupent toute la surface chez certaines espèces ou qui se rassemblent sur des espaces plus limités chez d'autres. Du point de vue anatomique, la classification dépend de l'étendue et de la répartition des connexions entre l'utérus et le chorion: placenta diffus (chevaux, truies), placenta localisé cotylédonaire (bovins, petits ruminants, girafe, cervidés), localisé zonaire (carnivores) et localisé discoïde (lapins, primates, rongeurs). Le placenta des ruminants est cotylédonaire (figure 3). Le cotylédon est une excroissance de la muqueuse utérine. Le nombre de caroncules ou de cotylédons varie selon les espèces. Chez la vache on observe entre 70 à 150 cotylédons, la brebis (80 à 100 cotylédons), la girafe (160 à 180 cotylédons) (Bjorkman, 1982).

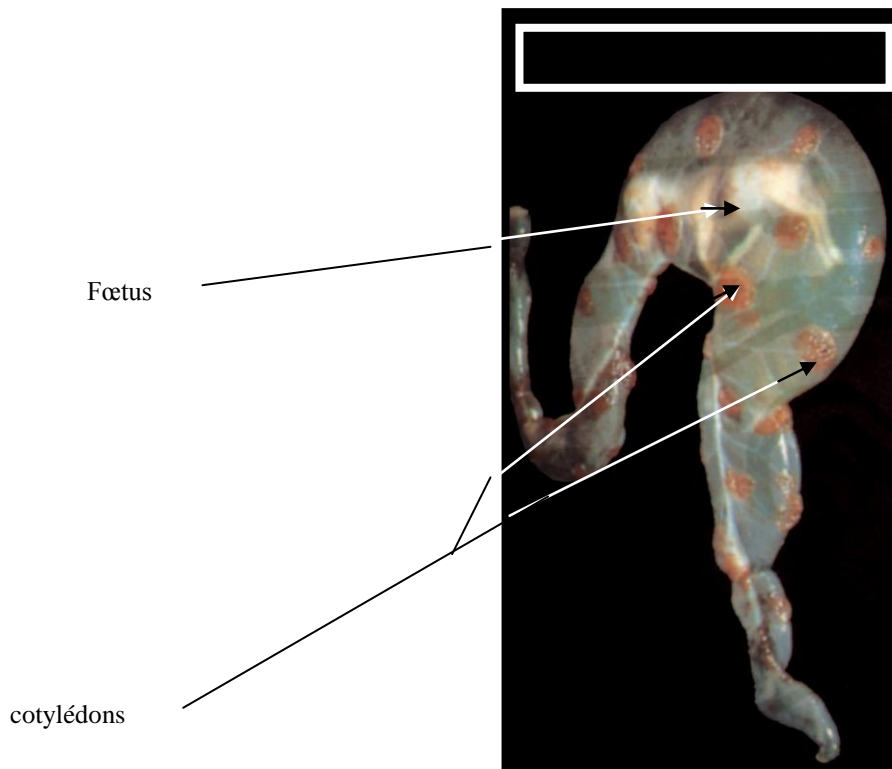


FIGURE 3 : Unité foeto-placentaire présentant les cotylédons et le fœtus (Sousa et *al.*, 2002b)

## II.2- Structure histologique

Sur le plan histologique, la classification repose sur le nombre de couches histologiques qui se trouvent entre la circulation maternelle et la circulation fœtale. Elle distingue quatre types de placentas: les placentas de type épithélio-chorial (bovins, équins, porcins), sydesmo-chorial (petits ruminants), endothélio-chorial (carnivores) et hémochorial (femme, primates, rongeurs). Les placentas épithélio-choriaux sont caractérisés par la présence de six couches histologiques entre les deux circulations maternelle et fœtale. Il s'agit de l'endomètre de l'endothélium, du tissu conjonctif et de l'épithélium du côté fœtal d'une part et d'autre part de l'épithélium, du tissu conjonctif et de l'endothélium du côté maternel. Ces placentas sont également qualifiés d'indécidus car la délivrance est due à un simple décollement des deux épithéliums contigus; après l'expulsion du placenta, la muqueuse utérine reste intacte.



### II.3- Physiologie de la gestation

L'organisme de la femelle gravide présente des modifications physiologiques, chimiques et biologiques. Il s'établit un changement dans le mode de fonctionnement endocrinien, ainsi qu'une transformation de la tonicité neuro-végétative.

#### II.3.1- Endocrinologie de la gestation

Pendant la gestation, la fonction endocrinienne des différents tissus d'origine maternelle et foeto-placentaire comprennent la production des facteurs de croissance (Insuline-like Growth Factor, Epidermal Growth Factor), de plusieurs hormones (progestérone, oestrogènes, prostaglandines, prolactine), et de protéines diverses (Early Pregnancy Factor, Interféron tau, Protéines Spécifiques ou Associées à la Gestation). Plusieurs de ces molécules peuvent être impliquées dans les processus biologiques associés à l'implantation, à l'établissement de la gestation et au maintien du corps jaune au début de la gestation (Hagen-Picard *et al.*, 2002).

Au cours de la gestation, le taux de la progestérone reste élevé, le maintien du corps jaune est indispensable à l'installation et à la poursuite de la gravité durant les premiers jours de la gestation. Chez la vache gestante, les concentrations d'oestrogènes restent faibles tout au long de la gestation, sauf le sulfate d'œstrone dont le taux s'élève à partir du 90<sup>ème</sup> jour.

Le placenta des bovins ne secrète pas de gonadotropines chorioniques, il secrète en revanche, plusieurs protéines de la famille des glycoprotéines du groupe des protéases aspartiques, protéines connues sous le nom de PSPB (Pregnancy Specific Protein B) et de PAG (Pregnancy Associated Protein) (Beckers *et al.*, 1980; Zoli *et al.*, 1992b).

#### II.3.2- Les modifications physiologiques et morphologiques de la gestation

Les besoins nutritionnels de la vache gestante augmentent et le bilan azoté est positif suite aux synthèses organiques réalisées par le fœtus à partir des matériaux fournis par l'organisme maternel. L'utérus présente une série de modifications de forme, de volume, de poids, de situation, de rapport et d'aspect. Chez la vache, où l'uniparité est de règle, le développement plus important de la corne gravide rend l'utérus asymétrique dès le 2<sup>ème</sup> et surtout le 3<sup>ème</sup> mois de la gestation. Les rapports de l'utérus avec les viscères abdominaux et la paroi abdominale se modifient au fur et à mesure que se poursuit l'état gravidique; il se loge entre la face droite du rumen et la paroi abdominale chez la vache. Du fait de l'extension utérine, les ovaires deviennent plus difficilement accessibles. L'augmentation de poids de l'utérus et sa distension s'accompagnent d'un amincissement de la paroi musculaire intéressant principalement la couche musculaire longitudinale. Suite à ces modifications le

vagin s'allonge progressivement et le col utérin finit par se situer en avant du bord antérieur de pubis. Le col est obturé par un mucus consistant, très épais, produit de sécrétion des glandes cervicales. La vagin est pâle et les parois ont tendance à s'accoler en raison de la viscosité des sécrétions; le vagin s'hypertrophie vers la fin de la gestation. L'ovaire est porteur d'un corps jaune gestatif dont la durée d'activité fonctionnelle va jusqu'à la deuxième moitié de la gestation chez la vache. Chez la vache, les cotylédons augmentent de volume dès la formation du chorion; ils augmentent de poids et de taille. Les mamelles s'hypertrophient progressivement et en fin de gestation, par suite de ce qu'il est convenu d'appeler l'inhibition gravidique, les tissus pelviens s'œdématisent et les ligaments sacro-sciaux se ramollissent et s'affaissent.

## II.4- Diagnostic de gestation

### II.4.1- Définition des paramètres de diagnostic de gestation

Pour pouvoir comparer les diverses méthodes de diagnostic, il faut s'appuyer sur différents indices objectifs. Les critères qui permettent d'évaluer la qualité d'un test sont les suivants : la précocité, la facilité de mise en œuvre (la commodité) le coût, la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative.

Humblot et Thibier (1984) évaluaient les qualités des méthodes de gestation selon leur précocité, leur exactitude et leur fiabilité. La précocité est d'autant meilleure que le diagnostic se rapproche du jour de la fécondation. Les mêmes auteurs définissent l'exactitude pour un diagnostic positif (Ep) comme la relation exprimée en pourcentage entre le nombre de diagnostics positifs exacts et le nombre de vaches diagnostiquées gestantes; l'exactitude pour un diagnostic négatif (En) comme la relation exprimée en pourcentage entre le nombre de diagnostics négatifs exacts et le nombre de vaches diagnostiquées non gestantes. La fiabilité est définie comme le rapport en pourcentage entre le nombre de diagnostics positifs (F p)ou négatifs (F n) et le nombre de femelles réellement gestantes ou non gestantes.

Laplanche et *al.* (1987) ont défini ces indices. La sensibilité d'un test évalue sa capacité à détecter les animaux positifs. Parmi les animaux réellement gestants, elle détermine le pourcentage des animaux qui ont été diagnostiqués positifs par le test utilisé. La spécificité du test évalue sa capacité à détecter les animaux négatifs. Parmi les animaux réellement non-gestants, elle détermine le pourcentage des animaux qui ont été diagnostiqué non-gestants par le test utilisé. La valeur prédictive positive (VPP) ou fiabilité pour un diagnostic positif (Fp) est définie comme la probabilité pour un animal d'être gestant quand le résultat du test a été

déclaré positif. La valeur prédictive négative (VPN) ou la fiabilité des diagnostics négatifs (Fn) est la probabilité d'être non-gestant pour un animal dont le résultat est négatif au test.

Il convient de rappeler l'antagonisme existant habituellement entre la précocité du test et l'exactitude des diagnostics positifs, ceci du fait en effet du risque d'interruption de gestation; plus la précocité est élevée et moins l'exactitude des diagnostics des gestation sera grande.

## II.4.2- Méthodes de laboratoire

### II.4.2.1- Dosage de la progestérone

Le rôle indispensable de la progestérone dans le maintien de la gestation est connu depuis longtemps et a été à la base du développement de premières méthodes de diagnostic hormonal. Au cours de l'œstrus la concentration de la progestérone varie de 0,3 à 0,6 ng/ml, puis s'élève progressivement à partir des 3<sup>ème</sup>-4<sup>ème</sup> jours, pour atteindre un maximum (environ 6 à 9 ng/ml) entre les 7<sup>ème</sup> et 10<sup>ème</sup> jour du cycle (Beckers et *al.*, 1975). Cette concentration reste stable jusqu'aux environs des 17<sup>ème</sup>-18<sup>ème</sup> jours, pour ensuite chuter brutalement suite à la lutéolyse induite par la prostaglandine F2 $\alpha$  ( McCracken et *al.*, 1972). En cas de fécondation, le taux de progestérone se maintient et surtout ne régresse pas (Humblot et Dalla Porta, 1984). Ainsi donc la présence d'un taux de progestérone > 2 ng/ml au moment où l'œstrus doit normalement réapparaître constitue une très forte présomption en faveur d'un état gravide entre le 19<sup>ème</sup> et le 24<sup>ème</sup> jours après l'insémination artificielle ou la saillie. Le dosage peut se faire par la méthode radio-immunologique (RIA) ou immuno-enzymatique (EIA) ou encore ELISA soit dans le plasma soit dans le lait entier soit dans le lait écrémé soit dans la crème (Derivaux et Ectors, 1980). Cette méthode est meilleure pour confirmer les animaux non-gestants que gestants parce que l'exactitude des résultats négatifs (94 à 100 %) est supérieure à celle des positifs (77 à 88 %) (Zaied et *al.*, 1979; Laing et *al.*, 1979; Laitinen et *al.*, 1985). Ces exactitudes dépendent de la qualité des prélèvements, de l'importance de la mortalité embryonnaire tardive, de la régularité des cycles mais aussi de la concentration minimale prise en considération pour déclarer l'animal gravide (figure 4).

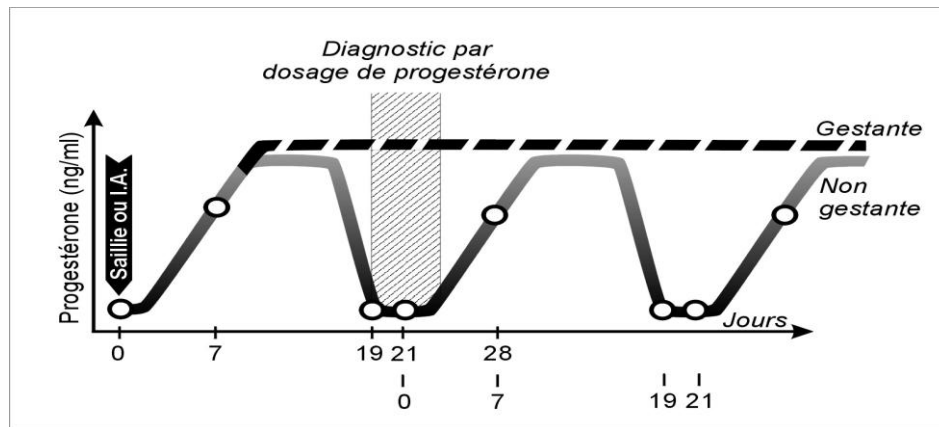


FIGURE 4: diagnostic précoce de gestation chez la vache par dosage de la progestérone: période de prélèvement par rapport au cycle œstral (Sousa et *al.*, 2002b)

#### IV.4.2.2- Dosage des œstrogènes

Chez la vache, la synthèse d'œstrogènes (œstrone, œstradiol 17- $\beta$ , sulfate d'œstrone) est faible pendant la première moitié de la gravidité. Les concentrations plasmatiques d'œstrogène non-conjugués (œstrone et œstrone, œstradiol 17- $\beta$ ) restent à des niveaux indétectables jusqu'aux environs du 100<sup>ème</sup> jour de gestation (Hirako et *al.*, 2000), tandis que les concentrations de la forme conjuguée (sulfate d'œstrone) augmentent graduellement à partir du 90<sup>ème</sup> jours de gestation (Dobson et *al.*, 1993; Takahaki, 1997; Zhang et *al.*, 1999), pour atteindre un maximum à environ 10 jours avant la mise bas (Zhang et *al.*, 1999). Les concentrations maximales de sulfate d'œstrone rapportées par différents auteurs varient de 7,1 ng/ml à 13,4 ng/ml dans le cas des gestations simples, et de 9,3 ng/ml à 16,7 ng/ml chez des femelles ayant des gestations multiples (Dobson et *al.*, 1993; Takahashi et *al.*, 1997; Zhang et *al.*, 1999). Le dosage du sulfate d'œstrone peut se faire par la méthode RIA ou EIA sur de prélèvements de sang (Dobson et *al.*, 1993; Takahashi, 1997) ou de lait (Holdsworth et *al.*, 1982; Humblot et Thibier, 1984)

En conclusion, chez la vache, le diagnostic de gestation par la mise en évidence de sulfate d'œstrone est tardif. Un résultat négatif peut exprimer un état de non-gestation mais n'exclut pas une gestation débutante. Cependant ce dosage permet d'assurer la vitalité fœtale durant la période qui couvre les deux derniers tiers de la gestation.

#### IV.4.2.3- Dosage des protéines spécifiques ou associées à la gestation

Les glycoprotéines associées à la gestation (PAG), aussi connues sous le nom de protéines spécifiques de la gestation (PSPB) ou protéines sériques de la gestation (PSP60) (Bulter et *al.*, 1982; Zoli et *al.*, 1992a; Mialon et *al.*, 1993) constituent une grande famille des

glycoprotéines appartenant à la sous-classe des protéinases aspartiques (Xie, 1991). Les PAGs les mieux connues aujourd'hui (groupe 1; Green et *al.*, 2000) sont synthétisées par les cellules binucléées présentes dans les couches superficielles du trophoctoderme (Zoli et *al.*, 1992b). Dès le début de la gestation, le placenta synthétise toute une série de protéines spécifiques ou associées à la gestation. Lorsque ces protéines sont sécrétées dans le sang maternel à des niveaux détectables, elles présentent un intérêt pour le diagnostic de gestation et de la fonction placentaire. Elles ont été proposées pour le diagnostic de gestation pour la première fois chez les bovins par Bulter et *al.* (1982); Zoli et *al.* (1991); Mialon et *al.* (1994) et Osman et *al.* (1997). Leur dosage RIA permet un diagnostic précoce de gestation ainsi que l'étude de la mortalité embryonnaire précoce ou tardive (Sasser et *al.*, 1986; Humblot et *al.*, 1988; Szenci et *al.*, 1998). Chez la vache gestante, les concentrations de PAG sont détectables au plutôt à partir des 19<sup>ème</sup> - 22<sup>ème</sup> jours après la conception, pour atteindre des concentrations de 3 à 6 ng/ml aux alentours des 33<sup>ème</sup> - 37<sup>ème</sup> jours de gestation (Perenyi, et *al.*, 2002).

#### II.4.2.4- Early Pregnancy Factor

Dès 1970, il a été émise une hypothèse selon laquelle la pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte donnerait lieu à la production d'une substance, la zygotine (Cavanagh et *al.*, 1982) qui dans les premières heures du développement de l'œuf, stimulerait la production par l'ovaire porteur d'un corps jaune d'un facteur appelé EPF (Early Pregnancy Factor). La précocité de ce signal et les possibilités que pouvait apporter la mise au point d'un diagnostic aussi précoce de la gestation ont suscité de très nombreuses tentatives d'isolement de ce facteur (Cavanagh, 1984; Wilson et *al.*, 1984) et de développement de techniques capables de révéler sa présence dans la circulation maternelle (Morton et *al.*, 1974; Rolfe, 1984. Morton et *al.* (1974), furent les premiers à mettre en évidence son existence dans le sérum de souris quelques heures après la fécondation. Sur la base de cette même technique, dite Test d'Inhibition de la Rosette (TIR), l'EPF a été mis en évidence dans le sang maternel de plusieurs espèces: souris, femme, brebis, vache, jument, lapin. Etant donné que ce test (TIR) est difficile à mettre en œuvre pour la réalisation du diagnostic de gestation en routine, un nouveau test immunologique et calorimétrique (Early Conception Factor ou ECF test) a été développé aux Etats Unis (Concepto Dignostics, Knoxville, TN, USA). Le test ECF<sup>TM</sup> est réputé capable d'identifier 94 % à 95 % des vaches non gestantes entre le 6<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour de gestation dans le lait, et entre le 6<sup>ème</sup> et le 90<sup>ème</sup> jour de gestation dans le sérum.

Malgré les résultats préliminaires encourageants, les recherches qui ont été entreprises en vue d'établir un diagnostic très précoce de gestation par utilisation aussi bien du TIR que

du test ECF<sup>TM</sup> n'ont pas abouti à un résultat satisfaisant. Selon Cordoba et *al.* (2001), le diagnostic de gestation chez la vache par utilisation du test ECF<sup>TM</sup> présente comme caractéristiques principales une sensibilité de 86 %, une spécificité de 4 %, une exactitude de 46 %, ainsi que des valeurs prédictives positives et négative de 49 % et 23 % respectivement.

#### II.4.3- Méthodes cliniques

Les méthodes cliniques de diagnostic de gestation les plus utilisées chez les bovins sont la palpation rectale et l'échotomographie. Nous réserverons à notre dernière (étude expérimentale) partie l'étude détaillée du diagnostic précoce et de suivi échographie de la gravité chez les femelles zébus.

##### II.4.3.1- Palpation rectale

Elle repose sur l'examen manuel de l'appareil génital, en particulier de l'utérus, à travers la paroi rectale. Elle a pour but de mettre en évidence les modifications morphologiques associées à l'état de gestation. Le diagnostic de gestation est basé sur la mise en évidence d'un ou plusieurs éléments caractéristiques d'un utérus gravide à savoir la fluctuation des liquides de gestation, la palpation des membranes fœtales, la palpation de l'embryon et du fœtus, la palpation des cotylédons, de l'artère utérine et du corps jaune gestatif. C'est une méthode simple, pratique d'application, précoce et économique qui requiert de la part de l'opérateur une connaissance exacte de l'anatomie normale des organes génitaux, de leur situation, de leur rapport chez les sujets gravides. Elle suppose la connaissance des modifications physiologiques survenant au cours du cycle œstral et de gestation mais également la symptomatologie des principales pathologies liées à la gestation. Des auteurs soulignent que la fiabilité de diagnostic n'est pas significativement supérieure lorsque l'on palpe l'amnios ou les membranes par rapport à la simple sensation de fluctuation. Ainsi pour Ball et Abbit (1978), cette dernière méthode seule est plutôt à retenir et doit être réalisée de préférence au cours de la période de 52-72<sup>ème</sup> jour. Les cornes utérines doivent être examinées sur toute leur longueur et en particulier l'extrémité de la corne supposée gravide en début de gestation car la vésicule se trouve à ce niveau. Il peut être utile, lors d'un diagnostic aux jours 35-40, de recourir à la rétroversion de l'utérus qui permet de comparer les deux cornes et qui évite toute pression traumatisante sur l'utérus. Les différents critères servant au diagnostic de gestation par voie transrectale ne sont pas tous utilisables en même temps; de plus il faut parfois plusieurs signes pour poser un diagnostic fiable en particulier en début de gestation. Ainsi on peut résumer de la façon suivante: avant le 70<sup>ème</sup> jour, il faut s'intéresser soit au corps jaune et

à la fluctuation, soit au glissement des membranes ou à la cavité amniotique en dernier recours. Après le 60<sup>ème</sup> jour, l'asymétrie des cornes est nette puis le fœtus et les placentomes sont distingués à partir du 75<sup>ème</sup> jour et les variations des artères utérines médianes à partir de 100 jours constituent les critères les plus fiables. Différents auteurs se sont demandés quelle était la période idéale pour établir un diagnostic de gestation par voie transrectale. Ils soulignent tout d'abord que l'expérience est un atout primordial et qu'il existe deux moments critiques: jusqu'au 60<sup>ème</sup> jour et au moment du 6<sup>ème</sup> mois. ". Ainsi, dans la pratique, on peut établir un diagnostic par palpation transrectale dès 42 jours chez les génisses et 49 jours chez les pluripares dans 80 % des cas. Pour les 20 % restants, un deuxième examen est nécessaire 3 à 4 semaines plus tard.

Cependant, ces manipulations doivent être effectuées avec beaucoup de douceur et de précaution pour éviter de blesser le rectum mais aussi pour éviter tout avortement en particulier en début de gestation (6-8 semaines).

## CHAPITRE 3: L'ECHOGRAPHIE DANS LA REPRODUCTION DE LA VACHE

### I- PRINCIPES DE L'ECHOGRAPHIE

L'échographie est une technique d'investigation complémentaire qui permet de visualiser la structure, les contours et les rapports des organes internes pleins non calcifiés en utilisant leur capacité à absorber ou à réfléchir les ultrasons. Le signal transmis correspondant aux différentes structures rencontrées (écho) sera analysé par un ordinateur et restitué en temps réel sur l'écran.

Le mot "échographie" de façon littérale signifie " graphe ou visualisation des échos ".

#### I.1- l'onde ultrasonore et sa propagation

Le son est une énergie qui se propage dans un milieu sous la forme d'une série d'ondes de pressions successives. En un point donné se succèdent surpression et dépression.

L'onde sonore peut être représentée par une équation de sinussoïde:

$$V = \lambda \times F$$

V: vitesse de propagation

F: fréquence

$\lambda$ : longueur d'onde

Exemples de vitesse: - tissus mous : 1540 m / sec; - air : 331 m / sec; - os : 3100 m / sec

Les ultrasons sont de très hautes fréquences bien supérieures à celles audibles par l'oreille humaine (20 à 20 000 Hz). La fréquence des ultrasons employée en échographie varie de 1 à 20 MHz (1 MHz = 1 000 000 cycles par seconde). Leurs applications en médecine reposent sur l'effet Doppler et l'échographie.

#### I.1.1- Production et réception de l'onde sonore

Ces ultrasons sont produits par effet piézo-électrique, c'est-à-dire par application d'une différence de potentiel alternative à un cristal capable de se contracter et de se dilater en produisant ainsi des ondes sonores. A l'inverse, le cristal, frappé par des ondes sonores peut aussi se contracter et se dilater, ce qui engendre une différence de potentiel entre les deux faces et un influx électrique que l'on peut mesurer. Le cristal piézo-électrique est donc à la fois émetteur et récepteur. Il est contenu dans une sonde qu'on appelle transducteur.

La sonde est munie d'un cristal à propriétés piézo-électriques qui émet et reçoit les ondes sonores. Après réflexion des faisceaux incidents sur des interfaces du milieu qu'il traverse, les échos reçus sont transformés en impulsions électriques par la sonde. Celles-ci



sont alors traitées électroniquement par l'appareil, et visualisées suivant les différents modes (mode A, mode B et mode TM).

### I.1.2- Propagation de l'onde

Dans un milieu donné, la vitesse de propagation de l'onde ultrasonore est fonction : des caractéristiques de l'onde:  $V = \lambda f$  et de l'impédance acoustique  $Z$ , ou résistance du milieu à la propagation de l'onde:  $V = Z/d$  ( $d$  est la densité du milieu).

Plus les tissus sont denses, plus ils sont compressibles et conductifs (Begon, 1990) (tableau IV).

TABLEAU IV : Vitesse du son dans les différents tissus (Legrand et Carlier, 1981)

| Tissus ou matériaux | Vitesse du son (m/s) |
|---------------------|----------------------|
| Air                 | 331                  |
| Eau                 | 1495                 |
| Tissu mou           | 1540                 |
| Reins               | 1561                 |
| Muscles             | 1585                 |
| Os                  | 4080                 |

### I.1.3 La réflexion des ultrasons

Lorsqu'un faisceau ultrasonore franchit une interface entre deux milieux d'impédances acoustiques différentes, une partie des ultrasons est réfléchi (formation d'échos), alors que le reste des ultrasons franchi l'interface et se trouve réfracté dans le second milieu (Figure 5). C'est la partie réfléchi de l'onde qui va former l'image ultrasonore (Begon, 1990).

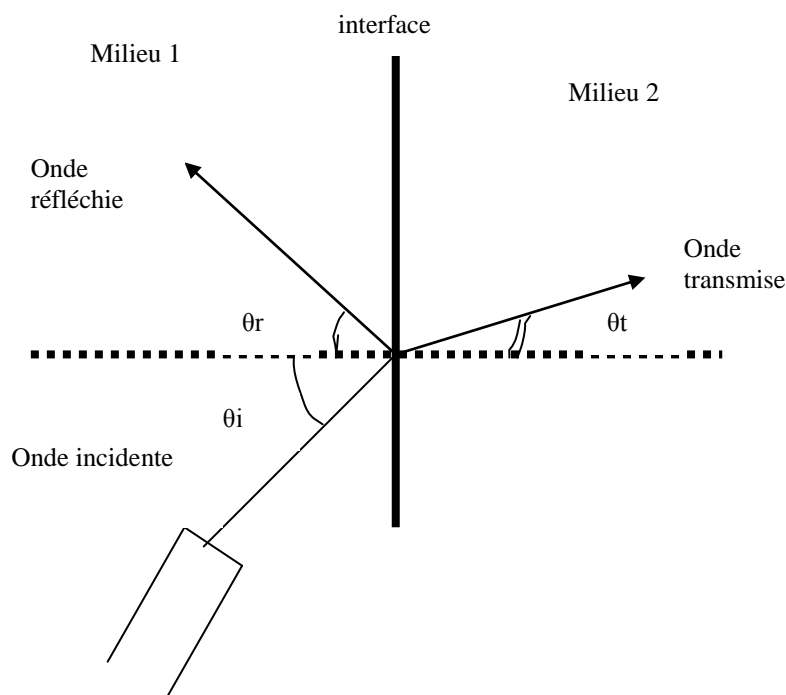


FIGURE 5 : Réflexion de type miroir et réfraction du faisceau ultrasonore à une interface entre deux milieux.

#### I.1. 4- L'atténuation des ultrasons

Au fur et à mesure de sa propagation dans l'organisme, le faisceau d'ondes s'atténue. L'atténuation est fonction de la fréquence des ultrasons utilisés et de la nature du milieu traversé.

- Fréquence des ultrasons: l'atténuation est d'autant plus élevée que la fréquence de l'onde est élevée. Par exemple on observe 50 % d'atténuation du faisceau tous les 0,5 cm pour une onde de 5 MHz / tous les 2 cm pour 2,5 MHz / tous les 4 cm pour 1 MHz. Plus la fréquence du faisceau est élevée, moins le faisceau est pénétrant.
- Nature des milieux traversés: l'atténuation est proportionnelle à la densité du milieu (tableau V), et inversement proportionnelle à l'impédance de ce milieu. Le faisceau est fortement atténué par l'os ou l'air, mais bien transmis par l'eau.

TABLEAU V : Coefficient d'atténuation dans divers milieux à 1 MHz (Carniel, 1987)

| Tissus ou matériaux | Coefficient d'atténuation | Relation avec la fréquence |
|---------------------|---------------------------|----------------------------|
| Eau                 | 0,0022                    | F <sup>2</sup>             |
| Sang                | 0,18                      |                            |
| Foie                | 0,95                      | F                          |
| Rein                | 1,00                      |                            |
| Os                  | 20                        | F-F <sup>3</sup>           |
| Poumon              | 40                        |                            |

### I.1.5- La résolution des ultrasons

Le pouvoir de résolution est la capacité de l'appareil à différencier deux points proches l'un de l'autre. On distingue la résolution axiale et la résolution latérale suivant que les deux points sont respectivement dans un axe parallèle ou perpendiculaire à l'axe du faisceau incident. La résolution conditionne la précision de l'image échographique.

La résolution latérale est d'autant meilleure que la fréquence est élevée, et que le faisceau d'ondes est étroit. La résolution axiale est au maximum égale à  $2\lambda$  ou  $2V/F$ . Les faisceaux les plus résolutifs sont de fréquence élevée (Tableau VI). La fréquence de l'onde ultrasonore influence donc la résolution (meilleure si la fréquence est élevée), et la pénétration de l'onde (meilleure si la fréquence est basse).

TABLEAU VI : Résolution et profondeur d'exploration pour quelques longueurs d'ondes fréquemment utilisées (Begon, 1990).

| Fréquences (MHz) | Résolution (mm) |          | Profondeur moyenne d'exploration |
|------------------|-----------------|----------|----------------------------------|
|                  | Axiale          | Latérale |                                  |
| 2,5              | 1               | 3        | 29                               |
| 3,5              | 1               | 2        | 22                               |
| 5                | <1              | <2       | 14                               |
| 7,5              | 0,5             | 1        | 7                                |

En résumé il existe des interactions entre les ultrasons et les tissus. Ces interactions concernent:

- la réflexion : elle est fonction de l'impédance acoustique et de l'angle d'incidence entre l'onde et le tissu (si l'impédance augmente entre deux tissus, la réflexion augmente; si l'angulation augmente, la réflexion diminue);
- la réfraction: variation de la longueur d'onde lors du passage d'un milieu à l'autre. Elle peut être à l'origine d'artéfacts avec pour conséquences la perte de résolution et la localisation incorrecte d'une structure;

- l'absorption: force de friction entre particules, chaleur;
- la diffusion: correspond à une réflexion dans toutes les directions.

## I.2- Méthodes d'analyse des échos

Selon les modalités de l'analyse des échos, captés par le transducteur, on distingue les modes A, B et M ou TM (Figure 6).

Le **mode A** (Amplitude): à un instant  $t$ , les échos formés lorsque les ultrasons rencontrent des interfaces sont enregistrés et représentés par des déflexions d'une ligne de base. La hauteur de chaque pic est proportionnelle à l'intensité de l'écho, sa position est fonction de la profondeur à laquelle il s'est formé. Il traduit sur l'écran l'intensité de l'écho retour par une amplitude en ordonnée et le délai d'émission-réception par une distance en abscisse (distance sonde-interface). Ce mode est rarement employé. Il permet la détection des vésicules embryonnaires chez la brebis, la jument et la vache (Archilong et Diehl, 1982) ou chez la truie.

Le **mode B** (Brillance): Le plan balayé par le faisceau ultrasonore est représenté sur un moniteur de télévision sous la forme d'une multitude de points. L'intensité de chaque point est proportionnelle à l'amplitude de l'écho correspondant. On obtient sur l'écran une image à deux dimensions, noire et blanche avec toute l'échelle des gris. Leur émission est réalisée soit par une sonde à déplacement manuel (temps différé) soit une sonde munie d'une juxtaposition d'émetteurs-récepteurs (temps réel). C'est le mode le plus utilisé chez la vache, la jument et le carnivore.

Le **mode M ou TM** (Temps Mouvement): Après avoir sélectionné un axe sur l'image donnée par le mode B, l'opérateur peut observer sur l'écran les mouvements des structures tissulaires le long de cette ligne. Ce mode concerne surtout l'échocardiographie.

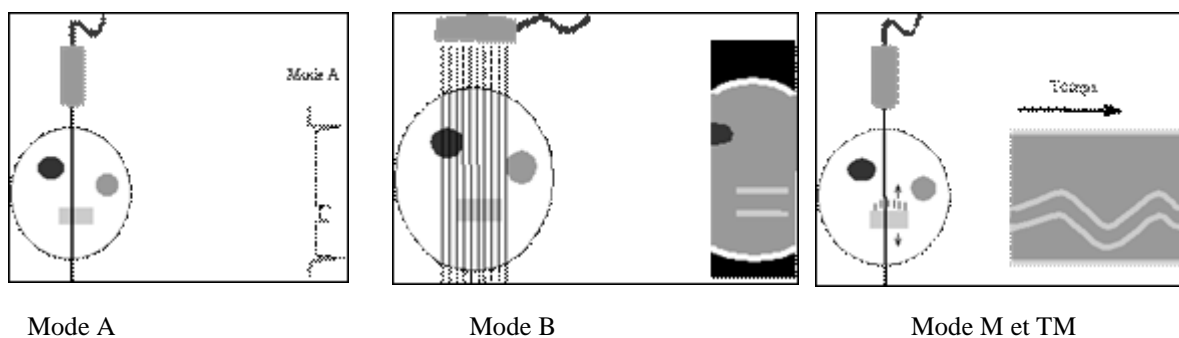


FIGURE 6 : Images des différents modes sur l'écran des différents modes

### I.3- Les sondes

Une sonde est un instrument qui convertit l'énergie d'une forme en une autre. Une sonde d'ultrasons avec des cristaux piézo-électriques convertit l'énergie électrique en énergie mécanique en produisant des ondes d'ultrasons, et inversement l'énergie acoustique émise en énergie électrique. L'émission d'ondes longitudinales consiste en une alternance de zones de compression et de raréfaction selon un principe de vibration (1 % du temps est consacré à la transmission et 99 % du temps à la réception). Les sondes ou transducteurs sont de deux types: les sondes barrettes ou linéaires et les sondes sectorielles (Carniel, 1987).

Les sondes linéaires contiennent plusieurs cristaux piézo-électriques placés en ligne droite. L'image obtenue sur l'écran est rectangulaire. La partie proximale de l'objet échographié est bien visible, ce qui présente un atout pour l'échographie obstétricale.

Les sondes sectorielles ont une aire de contact petite qui convient mieux à l'échographie chez les carnivores domestiques. Les sondes sectorielles mécaniques possèdent un ou rarement plusieurs cristaux animés d'un mouvement rotatif, tandis que pour les sondes sectorielles électroniques, un ordinateur déclenche de façon régulière la production des ultrasons par les cristaux. Une sonde sectorielle donne une image tridimensionnelle sur l'écran (Ginther et *al.*, 1989).

### I.4- Les images des structures rencontrées en mode B

- Les liquides homogènes ne contiennent pas de particules solides ou tissulaires en suspension (urine, bile, liquides des annexes fœtales, liquides folliculaires, ...). Les structures liquidiennes étant des transmetteurs sonores excellents, ils apparaissent comme des zones sans écho (anéchoïques) même à saturation, c'est-à-dire à amplification maximale. Ils sont noirs sur l'écran.
- Les liquides hétérogènes contiennent des particules solides ou tissulaires en suspension (pus, débris nécrotiques, sang, ...). Ils sont à l'origine d'échos de structure que l'on peut mettre en valeur à gain élevé (Carniel, 1987). Ainsi, cette identification qualitative d'un liquide fait toujours intervenir son étude à amplification croissante du gain.
- Le tissu mou est caractérisé par la répartition homogène des échos, qui apparaissent dans une zone des gris à réglage du gain. Le parenchyme de chaque organe présente une échogénicité caractéristique, basée sur sa densité tissulaire et identifiée par l'intensité et la répartition des échos. Les masses graisseuses sont les tissus les plus échoïques, faciles à

identifier car ils entraînent une atténuation franche en profondeur. Le placenta est plus blanc que l'utérus qui est plus blanc que les ovaires.

- Les structures solides sont des formations denses (os, cartilage...), qui ont une impédance acoustique élevée et qui réfléchissent pratiquement toute l'énergie sonore. Leur surface apparaît hyperéchogène sur l'écran, suivie d'une zone dépourvue d'écho qui correspond à la forte atténuation du faisceau sonore. Les gaz sont présents dans le tube digestif en quantité très variable. Sur le plan sémiologique ils se comportent comme des solides, et ne transmettent pas l'onde sonore.

- L'interface et parois: l'interface est une séparation entre deux structures non matérialisée par une paroi histologique. Elle se traduit par une ligne échogène entre deux tissus d'échogénéités différentes, qui n'est visible que si le faisceau d'ondes lui est parallèle. La paroi histologique (veine porte, vésicule biliaire...) est matérialisée sur l'écran par une ligne échogène semblable à l'interface, mais restera visible également si le faisceau ne lui est pas perpendiculaire.

- Les gaz et l'air, se comportent comme les solides donnant des images blanches sur l'écran.

#### I.5- Les artéfacts

L'artéfact est un élément présent sur l'image échographique, qui ne correspond pas à une interprétation réelle des structures échographiées. On distingue différents types :

- la réverbération se produit quand un intense faisceau réfléchi vient lui-même se réfléchir sur l'interface entre l'animal et la sonde. Il pénètre à nouveau dans les tissus et sur l'écran se dessine une seconde image de l'interface située deux fois plus loin que la première. Cette image peut se répéter pour donner une succession de traits blancs qui masquent l'image des structures sous-jacentes.
- Les cônes d'ombres sont des images en forme de cône, au sein desquelles n'apparaît pas l'image réelle des tissus sous-jacents. Elles sont observées;
- le renforcement postérieur : lorsque le faisceau d'ultrasons traverse un milieu peu échogène, il est peu atténué. Immédiatement sous celui-ci, le faisceau est plus intense et l'échogénicité est plus marquée par rapport aux tissus adjacents situés à la même profondeur;
- l'image en miroir peut s'observer quand l'onde traverse les interfaces très échogènes qui la réverbèrent. Les ultrasons parviennent avec du retard à la sonde, et l'échographe les traduit en formant une seconde image en arrière de la première (annexe 2).

## II- L'ECHOGRAPHIE EN REPRODUCTION CHEZ LA VACHE

### II.1- Les structures ovariennes

- Les follicules sont des structures remplies de fluide qui semblent noires. Le corps jaune est un tissu hétérogène, qui apparaît gris moyen.
- Les ovaires anormaux peuvent contenir des structures comme les corps jaunes et/ou les follicules kystiques.

### II.2- L'utérus

- L'utérus non gravide ressemble à une poire échogène, légèrement oblique, dont les contours sont toujours plus échogènes que le contenu.
- L'utérus gravide révèle la présence intra-utérine d'une structure anéchogène à bord net, coupée sur plusieurs sections par le faisceau, il est probable que ce soit une vésicule embryonnaire visible dans la lumière utérine (Decante, 1990). L'amnios est rempli de fluide, qui apparaît noir tandis que la membrane amniotique est blanc lumineux. Le fœtus est décrit dans le blanc moyen et les nuances du gris. Le développement des structures anatomiques de l'embryon et du fœtus a fait l'objet des études mené par Kahn (1989, 1990).

### II.3- L'échographie du fœtus

L'échographie est une technique qui permet de mettre en évidence la viabilité du fœtus par les battements cardiaques, de connaître l'âge et la taille de ce dernier et enfin de déterminer son sexe (Curran et *al.*, 1989). Chez le fœtus mâle, le tubercule génital s'allonge et migre crânialement vers la base du cordon ombilical pour former le futur pénis et les tubercules labio-scrotaux se forment en scrotum situé entre les postérieurs. Chez le fœtus femelle, le tubercule génital s'accroît fort peu et forme le futur clitoris, les tubercules labio-scrotaux se forment en grandes lèvres, au tour de la vulve, l'ensemble reste en position caudale, sous la queue, juste en avant de l'anus. Sur les images échographiques, les ébauches du pénis, de la vulve ou des trayons sont hyper-échogènes et leur identification se fait grâce à leur localisation. Pour le mâle, l'ébauche du pénis juxta caudalement l'attache abdominale du cordon ombilical dès le 56<sup>ème</sup> jour de gestation en moyenne; le scrotum es visible au environ de 60 jours de gestation entre les postérieurs du fœtus; les testicules ne sont observables qu'à partir de 100 jours de gestation et sont moins échogènes qu'autres parties. Pour la femelle, l'ébauche de la vulve est visible sous la queue du fœtus à partir de 54 jours de gestation en moyenne; les futurs trayons, situés en arrière du cordon ombilical forment 4 taches échogènes (Kahn,1990); sont plus importants et plus rapidement visibles.

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**



## CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES

### I- MATÉRIEL

#### *I.1- Zone expérimentale*

La présente étude a été menée en milieu périurbain de Ouagadougou, dans la zone soudano-sahélienne du Burkina Faso (12°22' latitude nord et 1°31' longitude ouest). Cette zone jouit d'un climat de type nord soudanien, caractérisé par une saison sèche de novembre à mai et une saison des pluies de juin à octobre (600 à 800 mm/an). La température moyenne est de 33°C, avec des minima de 8°C à 20°C de décembre en janvier et des maxima de 34°C à 40°C de mars en avril. L'amplitude moyenne de la photopériode est de 1 heure 27 minutes avec un maximum de 12 heures 45 minutes d'éclairement le 21 juin et un minimum de 11 heures 16 minutes le 21 décembre.

Le relief est très peu accidenté. La végétation est de type savane arborée à arbustive dominée par les graminées telles que: *Pennisetum, Cenchrus, Aristida et Brachiara* et de ligneux comme: *Combretum, Lanea, Parkia et vitellaria*. Les sols sont ferrugineux et riches en potassium et calcium.

#### I.2- Animaux

Pour cette étude, quatre-vingt quatre (84) femelles zébus (*Bos indicus*) variété Goudali (figure 7) de 4 à 6 ans et de poids compris entre 255 à 354 kg issus de trois exploitations ont été concernées. Les animaux ont subi les contrôles sanitaires contre les maladies réputées contagieuses au Burkina Faso, notamment la tuberculose, la brucellose et le charbon bactérien. Le programme national de prophylaxie contre les grandes épizooties est régulièrement suivi. Le déparasitage contre les helminthes, avec du Mébendazole à 10 mg/kg est réalisé en début et fin de saison des pluies. La lutte contre les tiques et autres arthropodes est plus fréquente en saison des pluies soit en moyenne 2 pulvérisations mensuelles de Deltaméthrine à 0,050 p.1000. Toutes les femelles présentent état corporel acceptable.

L'élevage des bovins de la zone périurbaine est de type semi-intensif. Avec un parcours quotidien de 7 heures (entre 8 heures et 13 heures le matin, et 15 heures et 17 heures l'après midi) sur pâturage naturel et complété par une ration constituée de graines de coton (1,9 UF et 241,0 MAD), de son de blé (1,4 UF et 212,4 MAD) ou encore de la drêche de

brasserie (0,3 UF et 71,6 MAD) et de la paille de sorgho ou de mil selon la disponibilité. L'eau est disponible à volonté. Les femelles ont été diagnostiquées non gestantes par palpation rectale et par échographie.



FIGURE 7 : Femelles zébu Goudali

### I.3- Le matériel échographique

#### I.3.1- L'échographe

L'échographe utilisé est un appareil à balayage ultrasonore portable de modèle 200 Vet (Pie Medical 6227, Philipsweg 1, Maastricht, Pays-Bas), équipé pour notre étude d'une sonde à balayage linéaire. L'appareil a été relié à un ordinateur qui permet d'enregistrer les différents échotomogrammes grâce à une carte Matrox (Matrox Graphics, Quebec, Canada).

#### I.3.2- La sonde

Il s'agit d'une sonde linéaire transrectale, d'une fréquence de 6 MHz permettant une pénétration sans atténuation des échos distaux sur environ 6 cm.

## II- MÉTHODES

### II.1- Induction d'œstrus

La maîtrise des cycles a été réalisée à l'aide de progestagène de synthèse (implants crestar), de prostaglandine (chloprostenol) et de PMSG. Les femelles zébu Goudali sont soumises à un protocole d'induction d'œstrus et d'ovulation associant l'implant Crestar à la prostaglandine  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ) et à la PMSG comme suit :

- Jour 0 : Pose de l'implant Crestar®, Intervet, (3 mg de Norgestomet, France) par voie sous-cutanée sous le pavillon de l'oreille et injection intramusculaire (i.m.) de 2 ml de solution huileuse de Valérate d'œstradiol, Intervet (3,8 mg).
- Jour 8 : Injection intramusculaire (i.m.) de 2 ml de prostaglandine (Cloprostenol, Estrumate™, Intervet, 500 mcg/2ml, France).
- Jour 10 : Retrait de l'implant et injection intramusculaire (i.m.) de 400 U.I. de pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) (Folligon®, Intervet, France) qui correspond à la fin du traitement.

## II.2- Détection des chaleurs

La détection des chaleurs est réalisée de façon continue par observations visuelles continues des modifications comportementales et organiques après le retrait des implants, pendant une période de 72 heures. Les critères majeurs de détection de l'œstrus retenus sont l'acceptation du chevauchement et l'immobilisation de la femelle lorsqu'elle est chevauchée par une autre femelle du groupe (Ponsart et Humblot, 2002). Les paramètres étudiés ont été le délai d'apparition et la durée des chaleurs. Le délai d'apparition des chaleurs a été défini comme le temps s'écoulant entre le retrait de l'implant et l'observation des premiers chevauchements acceptés. Le début de l'œstrus a été défini comme le moment du premier chevauchement observé. La fin de l'œstrus a été définie comme le moment du dernier chevauchement observé, sans que d'autres chevauchements ne soient observés dans les 12 heures suivantes (White et Wettemann, 2000).

Le nombre moyen des chevauchements a été calculé chez 35 des 84 femelles soumis aux traitements. Ces femelles ont été choisies au hasard avant le début de l'expérimentation.

## II.3- Méthodologie de l'examen échographique des ovaires

### II.3.1- Préparation et contention des animaux

L'échographe, est posé sur une table roulante, placé proche et à gauche de l'opérateur pour faciliter la manipulation au cours de l'examen. Tous les réglages (gains, éclairages, contrastes) sont fixés pour la durée des expériences. Les femelles, en position debout ont été placées dans un couloir de contention pour faciliter la réalisation de l'examen. Le rectum est vidé des matières fécales afin d'éviter l'entrée de l'air qui peut s'interposer entre la sonde et l'ovaire. Après localisation de la position des ovaires par une simple exploration transrectale, la sonde est introduite et maintenue au moyen du pouce, de l'index et du majeur tandis que la manipulation de l'ovaire et son maintien contre la sonde a été assurée par l'annulaire et l'auriculaire.

L'examen échographique des ovaires chez les femelles zébu 'Goudali' a été réalisé par voie transrectale du faite que chez les bovins, la profondeur des organes génitaux ne permet pas leur visualisation par l'extérieur selon la technique décrite par Quirk et *al.* (1986); par Pierson et Ginther (1988). La sonde est maintenue en contact étroit avec les parois du rectum afin de réduire la distance entre la sonde et l'ovaire et de diminuer l'atténuation du faisceau sonore. Pour chaque ovaire examiné, une ou plusieurs rotations de la sonde de long en large ont été nécessaires pour que toute la surface de l'ovaire soit observée afin de déterminer le

nombre de follicules présents dans l'ovaire. La disposition anatomique de l'appareil génital de la vache, permet une coupe transversale des ovaires lorsque la sonde subie une rotation à droite ou à gauche.

Les dimensions des follicules sont mesurées après gel de l'image à l'aide d'instrument métrique incorporé à l'échographe (caliper). Le diamètre d'un follicule a été déterminé en positionnant les repères échographiques de mesure sur la paroi interne du follicule. Il s'agissait de la mesure de la cavité folliculaire et non du follicule lui-même. Les follicules apparaissent comme des zones noires plus ou moins bien circonscrites, anéchogènes, limitées par une paroi mince. Le diamètre folliculaire moyen est calculé comme la moyenne obtenue pour le plus petit et le plus grand diamètres. L'ovulation folliculaire a été caractérisée par la méthode de Wettemann *et al.* (1998) selon laquelle lorsqu'un follicule ovulatoire est présent à une observation et disparaît partiellement ou totalement à l'observation suivante, l'ovulation est considérée comme ayant eu lieu entre les deux périodes. Cette ovulation est indirectement mise en évidence par la disparition du follicule préovulatoire ou la réduction brutale de son diamètre entre ces deux périodes (Sirois et Fortune, 1990). Le moment de l'ovulation a été défini par rapport à la fin du traitement ou au début de l'œstrus.

Le seuil de détection des follicules de l'échographe utilisé est de 1 mm.

### II.3.2- Fréquences des examens

Les échographies ont été réalisées le jour de la pose des implants, au moment du retrait, et ensuite à une fréquence de 4 heures entre la 28<sup>ème</sup> et la 56<sup>ème</sup> heure après le retrait de l'implant selon les procédés décrits par Diop *et al.* (1993); White et Wettermann (2000). Les ovaires ont été re-examinés 7 jours après l'ovulation pour déterminer le nombre et la taille des corps jaunes.

### II.4- Insémination artificielle et évaluation de la fertilité à l'œstrus induit

Pour des raisons pratiques, les inséminations ont été réalisées à la 48<sup>ème</sup> et 72<sup>ème</sup> heures après la fin du traitement. Les inséminations ont été réalisées avec la semence congelée des taureaux 'Holstein' dont la fertilité est réputée bonne (Linalux, Ciney, Belgique) avec un taux de réactivité de 80 %. Le diagnostic de gestation a été effectué par échographie 28 jours après la deuxième insémination. Toutes les gestations ont été confirmées par palpation rectale 60 jours après l'insémination artificielle (IA) et par la mise-bas.

### II.5- Méthodologie de diagnostic de gestation par échographie

Après localisation des cornes par palpation, la sonde a été introduite dans le rectum.

Celle-ci est posée sur la muqueuse du plancher du rectum. La progression de la sonde dans l'ampoule permet de visualiser les organes sous-jacents. On visualise tout d'abord la vessie, puis le col et le corps utérin en maintenant la sonde horizontale. En inclinant la sonde d'un côté, puis de l'autre, les cornes utérines sont successivement mises en évidence (Chaffaux et *al.*, 1982; Chaffaux et *al.*, 1988; Hanzen et Laurent, 1991; Chastant-Maillard et *al.*, 2002). Elles sont alors coupées longitudinalement par le faisceau d'ultrasons qui balayent toute la longueur des deux cornes utérines.

#### II.5.1- Fréquence des examens

Le diagnostic de gestation a été effectué aux 28<sup>ème</sup> et 40<sup>ème</sup> jours post-insémination. Les femelles qui ont été diagnostiquées positives ont été ensuite examinées de nouveau aux 45<sup>ème</sup>, 80<sup>ème</sup>, 100<sup>ème</sup> et 120<sup>ème</sup> jours post-insémination en vue d'un suivi de la croissance fœtale.

#### II.5.2- Les éléments caractéristiques recherchés

Les éléments caractéristiques de la gestation qui ont fait l'objet de notre étude sont:

- la présence d'un liquide utérin aqueux (zones complètement anéchogènes) correspondant aux liquides allantoidiens et/ou amniotiques;
- un conceptus (échogène);
- les battements cardiaques du conceptus
- les enveloppes placentaires;
- les cotylédons.

Pour ce qui est de l'étude de la croissance fœtale durant le premier trimestre de gestation, les images les plus représentatives observées sur l'écran de l'échographe ont été d'abord gelées pour faire les différentes mensurations du fœtus (diamètre du crâne et diamètre du tronc), puis enregistrées sur l'ordinateur pour d'éventuelles autres analyses.

Tout comme les autres tests de diagnostics de gestation nos résultats sont évalués selon les critères habituellement utilisés en épidémiologie animale. Il s'agit essentiellement de l'exactitude et de la fiabilité.

## II.6- Les enregistrements d'images échographiques

Les enregistrements des différentes images sur un ordinateur ont été possibles grâce à une carte graphique. La carte graphique a été connectée sur une sortie vidéo du moniteur de l'échographe. Les échotomogrammes les plus représentatifs ont été gelés pour effectuer les mensurations nécessaires puis enregistrés à l'ordinateur pour des analyses d'images plus affinées.

## **II.7- Analyses statistiques**

Les principaux paramètres calculés dans le protocole d'induction des chaleurs ont été le délai d'apparition des chaleurs, le taux de synchronisation et le taux de fertilité afin d'estimer l'efficacité du traitement.

Le taux de synchronisation (pourcentage) est le rapport du nombre de vaches vues en chaleurs sur le nombre total de vaches traitées et le taux de fertilité (pourcentage) est le rapport du nombre de vaches devenues gestantes sur le nombre de vaches inséminées.

Les critères de qualité du protocole de la méthode de diagnostic de gestation par échographie aux 28<sup>ème</sup> et 40<sup>ème</sup> jours ont été appréciés par son exactitude et par sa fiabilité.

L'exactitude a été définie comme l'aptitude à détecter les femelles gestantes ou non gestantes. L'exactitude des diagnostics positifs (en pourcentage) a été calculée comme le rapport du nombre de la situation 'a' sur la somme des nombres de la situation 'a' et de la situation 'd'. L'exactitude des diagnostics négatifs (en pourcentage) a été calculée comme le rapport du nombre de la situation 'c' sur la somme des nombres de la situation 'c' et de la situation 'b'. L'exactitude globale (en pourcentage) a été calculée comme le rapport de la somme des situations 'a' et 'c' sur le nombre total des femelles diagnostiquées. La fiabilité a été définie comme la probabilité qu'une femelle déclarée gestante puisse mettre bas ou qu'une femelle déclarée non gestante soit vide. La fiabilité des diagnostics positifs (en pourcentage) a été calculée comme le rapport du nombre de la situation 'a' sur la somme des nombres de la situation 'a' et de la situation 'b'. La fiabilité des diagnostics négatifs (en pourcentage) a été calculée comme le rapport du nombre de la situation 'c' sur la somme des nombres de la situation 'c' et de la situation 'd'.

a : le diagnostic de gestation s'est révélé exact (vrai positif) ;

b : le diagnostic de gestation s'est révélé inexact (faux positif) ;

c : le diagnostic de non gestation s'est révélé exact (vrai négatif);

d : le diagnostic de non gestation s'est révélée inexact (faux négatif).

Les résultats ont été exprimés en moyenne  $\pm$  écart type et les différences considérées comme significatives au seuil de probabilité de 5 % ( $P < 0,05$ ). L'étude des relations entre les différentes variables de la dynamique folliculaire (nombre de follicules et leurs dimensions, le moment d'ovulation) a été réalisée par les logiciels Excel 1998 et Statistica 6.0. Les effets des différents facteurs de variations ont été appréciés par l'analyse de variance non orthogonale de Friedman (ANOVA) à effet fixe.



## CHAPITRE 2: RESULTATS

### I- OBSERVATIONS DE L'ŒSTRUS INDUIT

#### I.1- Le début et la durée moyenne des chaleurs

Les premiers signes des chaleurs ont été observés en moyenne à  $30,4 \pm 4,9$  heures, avec des variations allant de la 23<sup>ème</sup> et la 44<sup>ème</sup> heures après la fin du traitement. La Figure 7 montre la répartition des délais d'apparition des chaleurs. Pendant la période de 72 heures après l'arrêt du traitement, le taux d'induction de chaleurs est de 96 % (81/84). Le moment de survenue de chaleur n'a pas été influencé par le poids des animaux

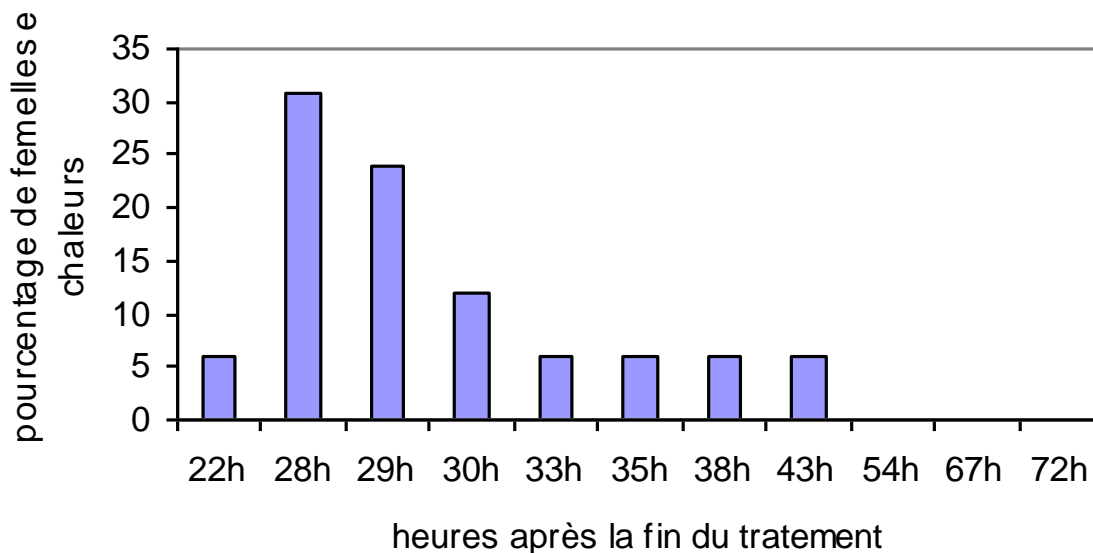


FIGURE 8: Répartition du délai d'apparition des œstrus chez les femelles zébu Goudali après traitement de synchronisation et d'ovulation associant les progestagènes, prostaglandine et la PMSG

Sur les 61 femelles chez lesquelles la durée moyenne de l'œstrus a pu être calculée, plus des 3/4 environ 80 % (49/61) ont une durée d'œstrus comprise entre 11 heures et 14 heures. Chez ces femelles, la durée moyenne de l'œstrus est de  $12,10 \pm 2,40$  heures, avec des extrêmes allant de 6 et 16 heures. Cette durée est variable selon le poids des animaux avec

une tendance à la hausse chez les femelles de plus de 300 kg, mais cette variation n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ).

### I.2- Comportement sexuel

Le comportement sexuel des femelles zébu Goudali au cours de l'œstrus induit par les progestagènes commence par une réduction de la prise alimentaire, de la rumination, puis s'en suivent d'autres signes comportementaux tels que les chevauchements des congénères et les modifications organiques (tuméfaction de la vulve, ramollissement du col, contractilité des cornes).

Chez les 35 femelles choisies au hasard parmi les 84 synchronisées, le nombre moyen de chevauchements a été de  $12,70 \pm 9,80$ ; avec des variations allant de 3 à 36. Sur 35 femelles, 11 % (4/35) ont accepté entre 20 et 36 chevauchements, 54 % (19/35) entre 10 et 20 et 34 % (12/35) entre 3 et 10 chevauchements.

### I.3- Taux de fertilité en insémination artificielle

Le taux de gestation obtenu après induction de l'œstrus chez les femelles zébu Goudali est de 43 % (36/84). Ce taux varie suivant les conditions d'élevage (alimentation, habitat) *via* le poids des femelles (Tableau VII). Chez les animaux de plus de 300 kg, 2 cas de gemellarité ont été observés .

TABLEAU VII : Taux de fertilité selon le poids.

| <i>Poids</i> | Effectif | Positif | Taux de fertilité (%) |
|--------------|----------|---------|-----------------------|
| < 300 kg     | 54       | 20      | 37                    |
| > 300 kg     | 30       | 16      | 53                    |

## II- LA DYNAMIQUE FOLLICULAIRE A L'ŒSTRUS INDUIT

### II.1- Les images échographiques des follicules

Les animaux ont été repartis en trois groupes selon l'utilisation ou non de la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et de la PMSG :

Groupe 1 : utilisation des progestagènes combinés à la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  et à la PMSG (n = 4);

Groupe 2 : utilisation des progestagènes combinés à la PMSG seule (n = 2);

Groupe 3 : utilisation des progestagènes combinés à la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  seule (n = 2).

Il n'existe pas de différence significative dans les événements folliculaires entre les différents groupes avant et après ovulation. La figure 9 montre six follicules de diamètre compris entre 2 et 3 mm d'une femelle du Groupe 1.

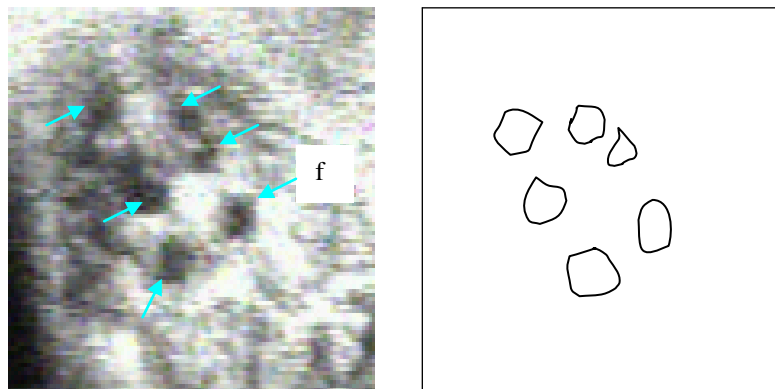


FIGURE 9 : Echographie d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' (Groupe 1) 21 heures après la fin du traitement; les zones indiquées en flèche montrent les follicules en évolution..

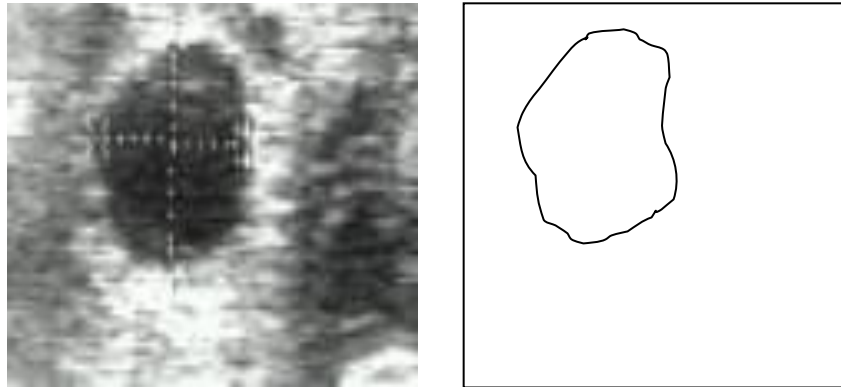


FIGURE 10. Image échographique d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' (Groupe 1) présentant un follicule dominant de forme plus ou moins sphérique 44 heures après la fin du traitement.

Le deuxième jour après la fin du traitement, les premières images observées montrent la présence d'une vague de follicules tertiaires de diamètre compris entre 2 et 3 mm (Figure 9). Le nombre moyen de follicules observés à cette période n'a pas différé en fonction des groupes ( $5,8 \pm 2,2$  ;  $3,5 \pm 0,7$  et  $4,5 \pm 0,7$  respectivement pour les Groupes 1, 2 et 3,  $p > 0,05$ ).

## II.2- La population folliculaire

Au début des chaleurs soit  $30,4 \pm 4,9$  heures après le retrait des implants, une moyenne de  $4,1 \pm 1,3$  follicules ayant un diamètre de 5-6 mm ont été observés pour les trois groupes. Le nombre de follicules en croissance diminue dans le temps. En moyenne,  $1,1 \pm 0,4$  follicules dominants dont le diamètre est supérieur à 8 mm (Figure 10) sont observés chez 6 femelles à partir de la 36<sup>ème</sup> heure après la fin du traitement (Figure 11). Chez les deux autres femelles, le nombre et le diamètre des follicules dominants n'ont pas pu être déterminés.

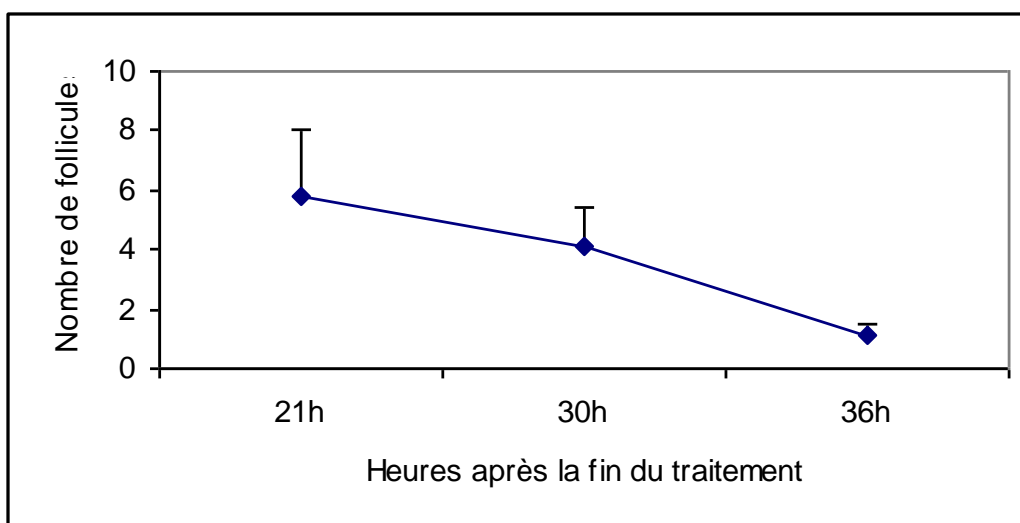


FIGURE 11: Variation du nombre de follicules observés (Moyenne  $\pm$  écart type) en fonction du temps chez les vaches du Groupe 1 (n = 4)

### II.3- La croissance des follicules dominants

La mesure de la taille des follicules dominants des observations est représentée par les courbes de la Figure 12. Ces courbes de croissance des follicules dominants présentent une allure similaire chez les trois différents groupes. Chaque courbe présente trois phases : une phase croissante linéaire, une phase de croissance plus ou moins constante représentée en plateau et une phase de décroissance qui correspond à la période d'ovulation. La phase linéaire présente des pentes de 0,20 mm/h; 0,28 mm/h et 0,36 mm/h respectivement pour le Groupe 1, le Groupe 2 et le Groupe 3. Les résultats montrent que les follicules dominants du Groupe 3 croît plus rapidement que les deux autres groupes, mais cette différence n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). La taille maximale atteinte par les follicules ovulatoires est en moyenne  $11,80 \pm 0,96$  mm de diamètre (n = 6).

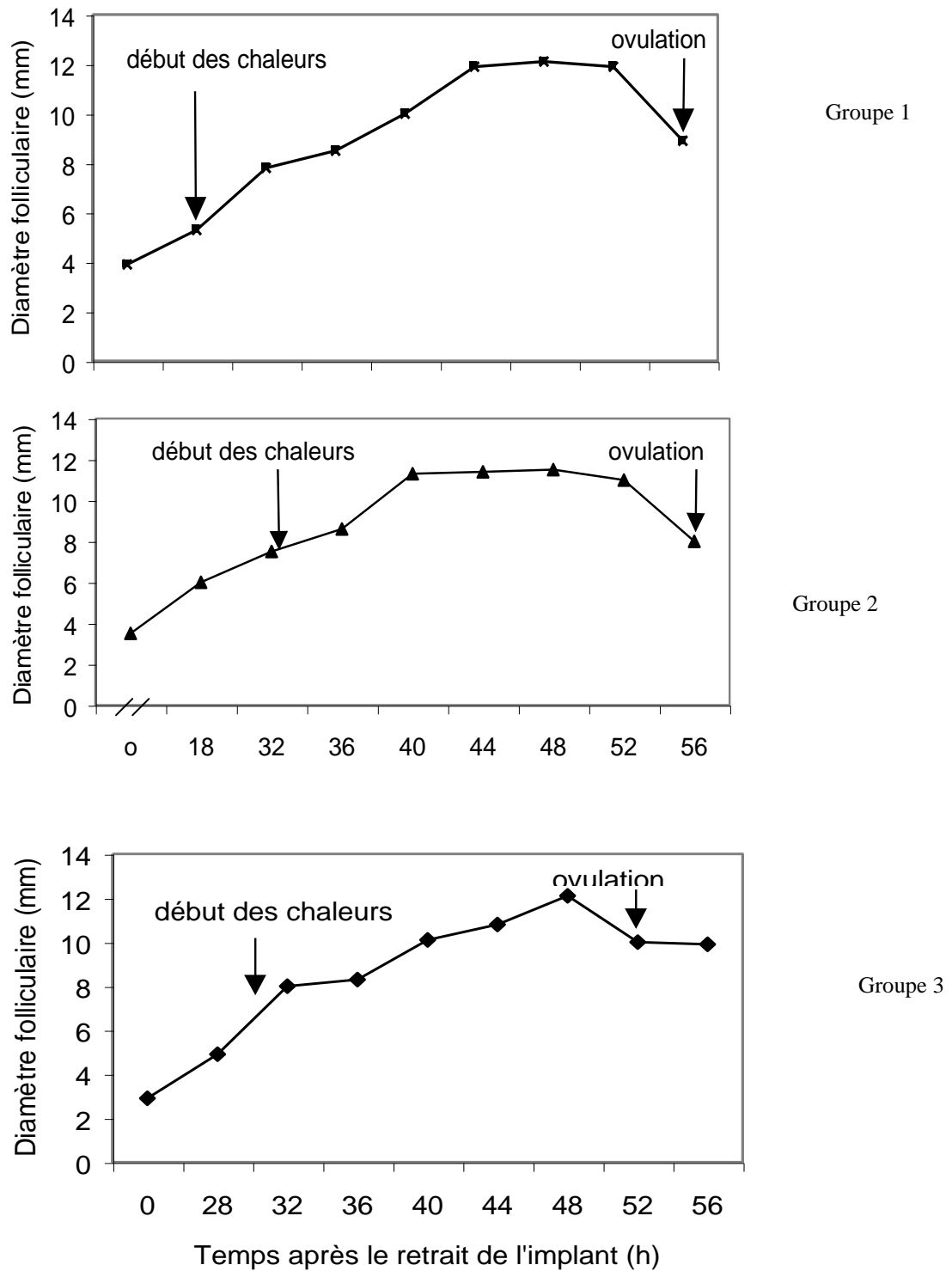


FIGURE 12 : Dynamique de la de croissance de follicule dominant chez les vaches zébu 'Goudali' entre la fin du traitement et l'ovulation constatée.

#### II.4- Détermination du moment d'ovulation

Les premières ovulations ont été observées entre 22 heures et 26 heures après le début des chaleurs, soit 52 à 56 heures après la fin du traitement. La Figure 13 montre un corps jaune échogène le jour de l'ovulation.

Le taux d'ovulation est de 75 % des cas par la présence d'au moins un corps jaune à une période < 7 jours après la fin du traitement. Chez 25 % des femelles restantes, l'ovulation n'a pas pu être mise en évidence par échographie au moment de l'œstrus. Les différentes images obtenues par échographie ont montré que l'ovulation a débuté par les follicules de plus de 10 mm de diamètre. Chez 67 % des femelles, les ovulations se sont manifestées sur l'ovaire droit. L'image échographique obtenue au cours de cette période révèle la présence de corps jaunes mesurant en moyenne 15 mm de diamètre pour les trois groupes. Un des corps jaunes observés chez une femelle appartenant au groupe 1 a présenté une cavité centrale. Chez une autre femelle appartenant au même groupe, un corps jaune a été observé sur chaque ovaire. Cependant, pour cette vache, un seul follicule dominant avait été mesuré jusqu'à l'ovulation. Il n'y a pas de différence significative du diamètre des corps jaunes entre les groupes ( $P > 0,05$ ).

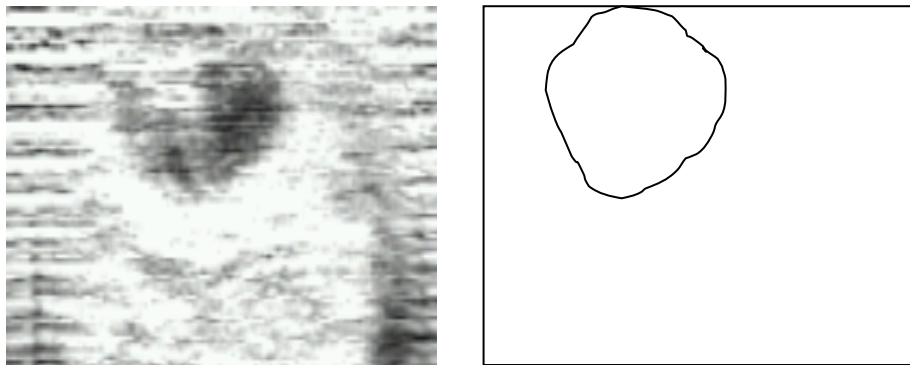


FIGURE 13 : Image échographique d'un ovaire d'une vache zébu 'Goudali' (Groupe 1) après ovulation, soit 60 heures après la fin du traitement. Une structure peu échogène est observée à l'intérieur de la cavité correspondant au follicule (*corpus hemorrhagicum*).

### III- DIAGNOSTIC ET SUIVI DE LA GRAVIDITÉ PAR ECHOGRAPHIE

#### III.1- Les images obtenues

Parmi les soixante quatre femelles inséminées à la 48<sup>ème</sup> et à la 72<sup>ème</sup> heures après le retrait de l'implant, 28 ont été en gestation et ont vélé en fin d'observation ; 36 sont restées non gravides. Ces chiffres ont servi à calculer l'exactitude et la fiabilité de diagnostics de gestation pratiqués aux 28<sup>ème</sup> et 40<sup>ème</sup> jours.

Le diagnostic de gestation est établi sur la base de la reconnaissance des images correspondant aux liquides contenus dans les vésicules embryonnaires et/ou embryons. L'observation d'une zone anéchogène plus ou moins circulaire dans l'utérus (vésicule embryonnaire) est faite à partir du 28<sup>ème</sup> jour post-insémination. L'embryon ou le fœtus, tache échogène au sein de la zone anéchogène, a été détecté à partir du 40<sup>ème</sup> jour de gestation (Figure 14).

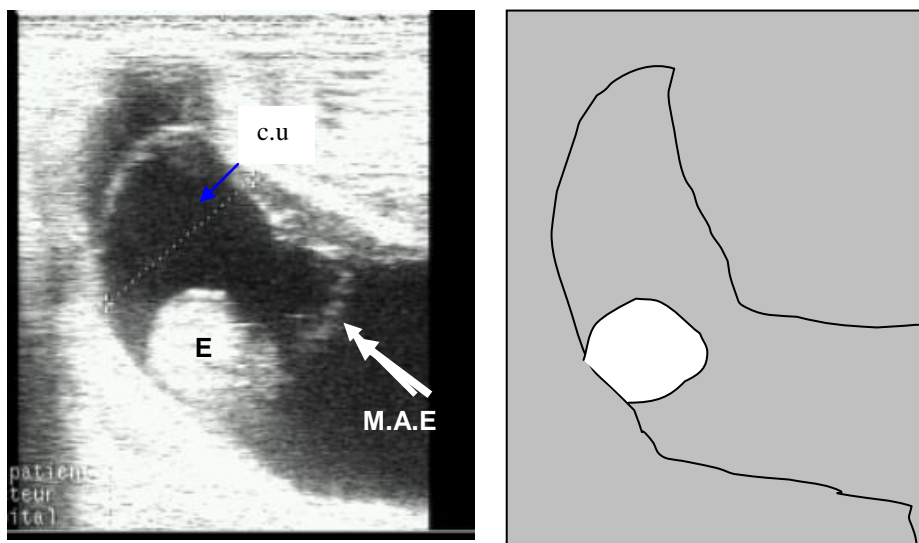


FIGURE 14: Image échographique d'un fœtus 40 jours post-insémination. E : indique l'embryon très échogène. c.u : corne utérine contenant le liquide amniotique très anéchogène. La flèche blanche indique la membrane amniotique (M.A.) qui entoure l'embryon. la distance entre les deux croix blanches est de 3,6 cm.



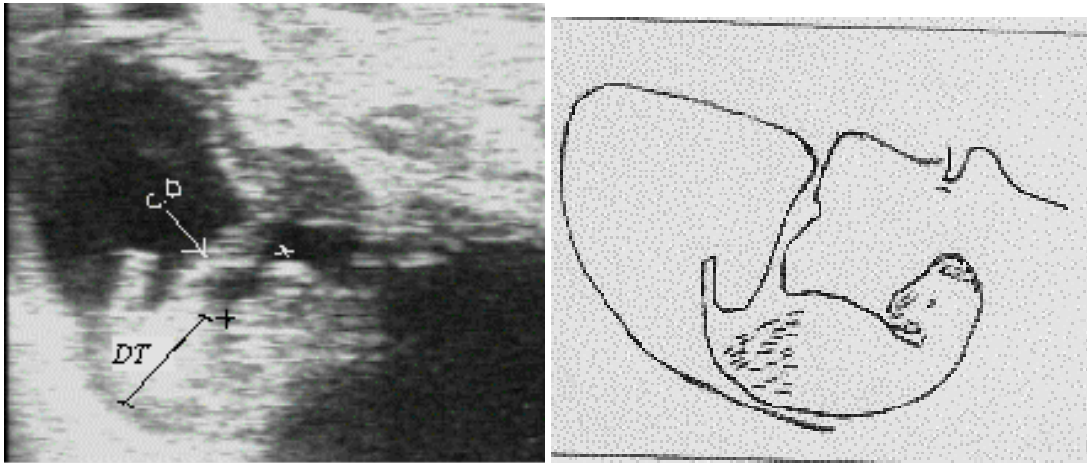


FIGURE 15 : Image échographique d'un fœtus 45 jours post-insémination. c.o. indique le cordon ombilical ; + indique la délimitation du crâne. La distance entre les deux croix blanche est de 1,4 cm.

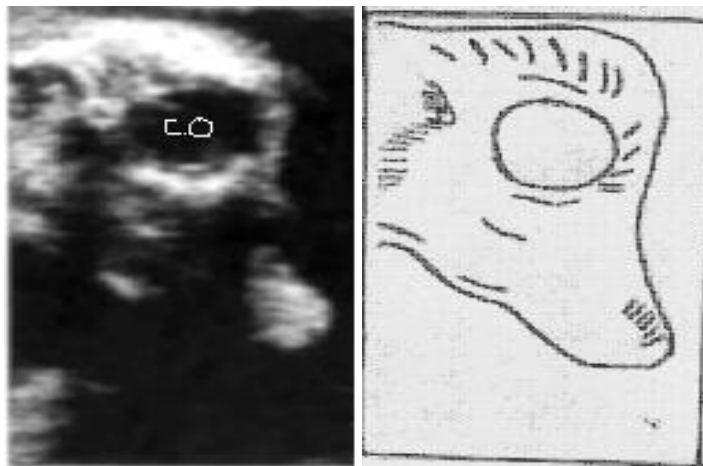


FIGURE 16 : Image échographique de la tête d'un fœtus 80 jours post-insémination. CO

indique la cavité oculaire. Le diamètre externe du crâne est de 2,27 mm

### III.2- Qualités de la méthode

Les résultats des diagnostics de gestation réalisés pendant les deux périodes (28<sup>ème</sup> et 40<sup>ème</sup> jour après la dernière insémination) sont consignés dans le tableau VIII. L'exactitude globale ainsi que les exactitudes des diagnostics de gestation positif et négatif sont plus élevés au 40<sup>ème</sup> jour comparativement au 28<sup>ème</sup> jour. De même, la fiabilité des diagnostics de gestation positif et négatif ont augmenté respectivement de 89,3 % à 96,4 % et de 94,4 % à 100 %. Ces résultats ont été confirmés par les vêlages entre les mois de novembre 2002 et de janvier 2003.

TABLEAU VIII : Diagnostic de gestation chez 64 femelles zébus de type racial Goudali par échographie transrectale (sonde linéaire de 6 MHz).

|   | Jours post-insémination |                        |
|---|-------------------------|------------------------|
|   | 28 <sup>ème</sup> jour  | 40 <sup>ème</sup> jour |
| Diagnostic de gestation exact (a)       | 25                      | 27                     |
| Diagnostic de gestation inexact (b)     | 3                       | 1                      |
| Diagnostic de non gestation exact (c)   | 34                      | 36                     |
| Diagnostic de non gestation inexact (d) | 2                       | 0                      |
| Exactitude des DG positifs              | 92,6 %                  | 100 %                  |
| Exactitude des DG négatifs              | 91,9 %                  | 97,3 %                 |
| Exactitude globale                      | 92,2 %                  | 98,4 %                 |
| Fiabilité des DG positifs               | 89,3 %                  | 96,4 %                 |
| Fiabilité des DG négatifs               | 94,4 %                  | 100 %                  |

DG : diagnostic de gestation.

a : vrai positif ; b : faux positif ; c : vrai négatif ; d : faux négatif.

Exactitude des DG positifs :  $a/(a+d) \times 100$  ; Exactitude des DG négatifs :  $c/(c+b) \times 100$  ;

Exactitude globale :  $(a+c)/(a+b+c+d) \times 100$  ; Fiabilité des DG positifs :  $a/(a+b) \times 100$  ;

Fiabilité des DG négatifs :  $c/(c+d) \times 100$ .

### III.3- Croissance du conceptus

En fonction de la rotation de la sonde et de la position de fœtus, il a été possible de visualiser certains organes (cordon ombilical) et structures osseuses fœtales (crâne), à partir du 45<sup>ème</sup> jour de gestation (Figure 15). Au 80<sup>ème</sup> jour de la gestation, la cavité oculaire est nettement mise en évidence (Figure 16) et au 100<sup>ème</sup> jour l'ossification des côtes a été nette.

La croissance des fœtus croisés zébu × Holstein est appréciée par la mesure de deux principaux paramètres: le diamètre externe du crâne (Figure 17) et celui du tronc (Figure 18). Au 45<sup>ème</sup> jour post-insémination, les diamètres du crâne et du tronc sont respectivement de  $1,8 \pm 0,1$  cm et  $1,4 \pm 0,3$  cm. Au 120<sup>ème</sup> jour, ces valeurs sont de  $6,5 \pm 0,6$  cm et  $5,8 \pm 0,5$  cm (n = 16), respectivement pour le crâne et le tronc.

La croissance du crâne et du tronc est fortement corrélée à l'âge du fœtus. Les coefficients de corrélation pour les diamètres du crâne ( $r = 0,97$ ) et du tronc ( $r = 0,98$ ) avec l'âge du fœtus ont été significatifs ( $P < 0,05$ ). En outre, cette étude a montré qu'entre le 45<sup>ème</sup> et le 120<sup>ème</sup> jours de gestation, le crâne croît ( $0,62$  mm/jour) plus vite que le tronc fœtal ( $0,59$  mm/jour) ( $P < 0,05$ ).

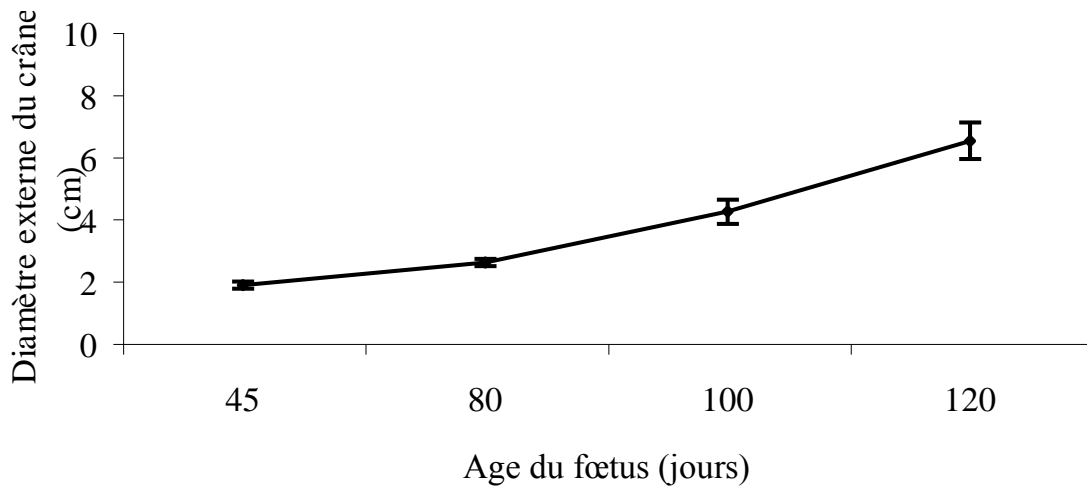


FIGURE 17: Courbe de croissance du diamètre externe du crâne (moyenne  $\pm$  écart type) chez le fœtus zébu x Holstein (n = 16) durant les quatre premiers mois de gestation.

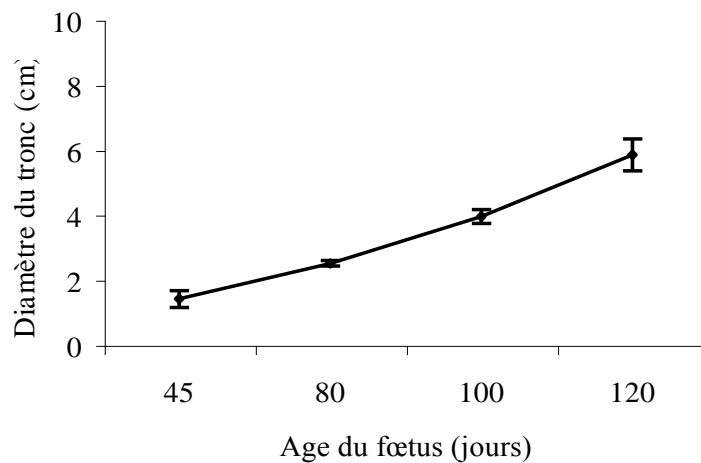


FIGURE 18: Courbe de croissance du diamètre du tronc (moyenne  $\pm$  écart type) chez le fœtus zébu x Holstein (n = 16) durant les quatre premiers mois de gestation.

A partir du 120<sup>ème</sup> jour de gestation, la taille et la position de l'utérus ne permettent pas le balayage systématique en entier du fœtus par la sonde, ce qui empêche la mensuration des différentes parties des fœtus. Durant cette période le fœtus est très éloigné de la sonde, on ne peut alors observer que de volumineux cotylédons et un utérus contenant une grande quantité de liquide (figure 19).

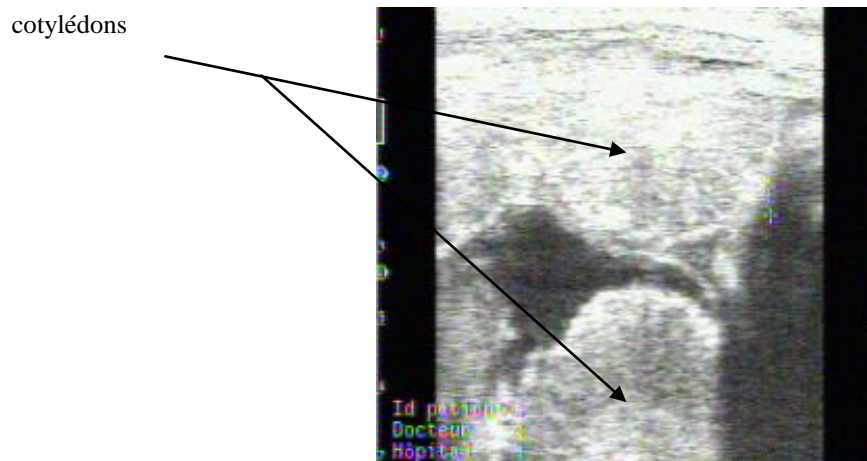


FIGURE 19: Image échographique d'une gestation de 120 jours montrant les cotylédons anéchogènes

### CHAPITRE 3 : DISCUSSION

Le taux d'induction d'œstrus des femelles zébu Goudali traitées aux implants crestar associées à la prostaglandine et à la PMSG est similaire aux taux rapportés par Ouedraogo *et al.* (1996) et Zongo *et al.* (2001b) chez les femelles zébu Azawak au Burkina Faso (64-100 %) et par Pinheiro *et al.* (1998) chez les femelles zébus Nelore traitées à la prostaglandine d'une part et au norgestomet, au valérate d'œstradiol (NEV) d'autre part. Cependant, Lopez *et al.* (1981) ; Mbaye et N'Diaye (1993) sur le zébu Gobra traité aux implants; Corbet *et al.* (1999) chez les génisses Brahman ont obtenu des taux inférieurs à 90 %.

Le délai d'apparition des chaleurs observé chez les femelles zébu Goudali au cours de cette étude est similaire à celui ( $32,0 \pm 1,1$  heures) rapporté par Tegegne *et al.* (1989) chez les femelles zébu Boran soumises à la synchronisation des chaleurs par la prostaglandine et proche de ( $34,0 \pm 1,5$  heures) observé par Twagiramungu *et al.* (1993) à l'issue d'une synchronisation par les implants crestar. Ce délai est inférieur aux délais rapportés par Ouedraogo *et al.* (1996) chez les zébu Azawak après induction des chaleurs par les implants (51 heures 40 minutes) et de  $62,5 \pm 11,2$  heures après le retrait de l'implant rapporté par Pinheiro *et al.* (1998) chez les femelles zébu Nelore au Brésil. La durée moyenne de l'œstrus chez les femelles zébus Goudali soumises au protocole de synchronisation de chaleurs et de l'ovulation se situe dans les valeurs limites rapportées par Voh *et al.* (1987) chez les vaches zébus Bunaji et Goudali pendant la saison sèche. Les résultats de cette étude se situent également dans l'intervalle estimé de 4,6 à 12,5 heures par la méthode Heat Watch (DDX INC, USA; Walker *et al.*, 1996; Dransfield *et al.*, 1998 ; Mathew, 1999 ) et de 9,4 à 15,6 heures d'après les observations de Britt *et al.* (1996). La durée moyenne de l'œstrus de l'étude est proche de la durée de  $14,9 \pm 0,6$  heures observée chez les génisses zébus Hariana et Sachiwal par Singh *et al.* (1998). Mais elle est cependant supérieure à celle rapportée par Johnson et Oni (1986) chez Bunaji cross au Nigeria ( $8,2 \pm 2,8$  heures); Mattoni *et al.* (1988) chez les femelles Small East African Zebu en Ethiopie (2,5 à 7,4 heures); Rae *et al.* (1999); de 5 à 6,8 heures par Lents *et al.* (2000) chez qui, le comportement œstral a été surveillé sans interruption avec un système radiodétection aux USA.

Nos résultats peuvent s'expliquer par l'administration de valérate d'œstradiol à la pose des implants. Leur injection augmente le pourcentage de chaleurs induites, en réduit la durée ainsi que le délai nécessaire à leur apparition.

Le comportement d'œstrus et les modifications organiques au cours des chaleurs

induites par les progestagènes associés à la prostaglandine et à la PMSG chez les femelles zébu Goudali sont plus intenses et plus évidentes que les chaleurs naturelles chez les femelles Goudali (Zakari, 1981; Voh *et al.*, 1987) de même que chez les femelles zébu maure et vaches Ndama sur chaleurs dites synchronisées par la PGF<sub>2</sub> $\alpha$  qui ne sont pas toujours accompagnées d'écoulements vulvaires de mucus (Cissé, 1993). Selon Thimonier *et al.* (1975) et Roche *et al.* (1981), l'injection de la prostaglandine F<sub>2</sub> $\alpha$  48 heures avant le retrait des implants détruirait les corps jaunes persistants et favoriserait la précision de la synchronisation en baissant la concentration de la progestérone et en induisant un œstrus précoce. L'augmentation du degré de synchronisation s'est prouvée par les modifications physiologiques observées au niveau vaginal, l'augmentation de l'hydratation du mucus et du tractus génital consécutive à l'élévation des concentrations d'œstradiol se traduit par une augmentation de l'impédance électrique vaginale, qui peut être testée à l'aide de dispositifs qui s'implantent à l'intérieur de la vulve. Ces dispositifs ont été étudiés par Kitwood *et al.* (1993); toute fois les dispositifs présentent des risques d'inflammation et sont peu pratiques (Saumande, 2000; Firk *et al.*, 2002). L'acceptation du chevauchement est un signe spécifique de l'œstrus, mais ne serait observé que dans 37 à 53 % des cas (VanEerdenburg *et al.*, 1996; Lyimo *et al.*, 2000). Le nombre de chevauchements est très variable selon les études. Cette variabilité se situe au niveau de la durée du chevauchement, de l'œstrus et du nombre de femelles en œstrus simultanément (3-4 vaches et plus). La durée d'un chevauchement est en moyenne comprise entre 2,5 et 3,5 seconde (Dransfield *et al.*, 1998; Stevenson *et al.*, 1998; Xu *et al.*, 1998; Mathew, 1999; At-Taras et Sphahr, 2001). En général, les vaches en chaleurs, sur le point de l'être ou qui viennent de l'être sont moins propices à chevaucher une autre femelle en chaleurs (Diskin et Sreenan, 2000). Des études ont montré que ce nombre de chevauchements varie de 3 à 138 (Allrich, 1993; Rae *et al.*, 1999) lorsque l'on utilise des systèmes électroniques à pression sensible pour repérer les chevauchements.

Du fait de la variabilité importante de la durée et de l'intensité de l'œstrus, l'efficacité de la détection des chaleurs par observations visuelles varie environ entre 50 et 70 % pour la plupart des auteurs (Stevenson *et al.*, 1996; Paccard, 2001), même si d'autres auteurs rapportent une efficacité supérieure (Leblanc *et al.*, 1998). Pour améliorer la détection, des taureaux vasectomisés ou de femelles androénisées ont été testés (Mortimer *et al.*, 1990; Nix *et al.*, 1998). La présence de ces animaux semble faciliter la détection des chaleurs surtout quand le nombre de vaches en chaleurs au même moment est faible (Mortimer *et al.*, 1990). Pour tenir compte des différents signes de chaleurs, VanEerdenburg *et al.* (1996) ont mis au point une échelle de points pour les modifications comportementales observées lors de

l'œstrus. En considérant qu'une vache est en chaleur à partir de 100 points cumulés en 24 heures, ils obtiennent une efficacité de détection de 74 % en appliquant deux périodes d'observation journalière de 30 minutes (annexe 3).

Le taux de fertilité chez les femelles zébu Goudali après œstrus induit par les implants crestar associé à la prostaglandine et à la PMSG s'inscrit dans les limites (40-50 %) rapportées par Mbaye et *al.* (1989) et Mbaye et Ndiaye (1993) sur le zébu Gobra . Le taux obtenu dans cette expérience se rapproche de la fertilité des vaches à viande après insémination sur œstrus naturel (taux de mise-bas = 47 %) rapporté par Humblot (1991). Le succès des inséminations artificielles de cette étude est comparable à celui de 43,8 rapporté par Cécyre et *al.* (2001). Par contre ces résultats sont inférieurs à ceux rapportés par; Adeyemo et *al.* (1979), Hardine et *al.* (1980) sur les femelles zébu et taurines; Lokhande et *al.* (1984) sur les métis *Bos indicus* × *Bos taurus*; Humblot et *al.* (1994); Mialot et *al.* (1998) sur la race taurine européenne. La comparaison des traitements sur de grands nombres d'animaux montre dans ce cas que les combinaisons pogestagènes/prostaglandines et PMSG donnent en moyenne de meilleurs résultats (détection des chaleurs, taux de gestation) que les autres traitements (prostaglandines seules, GnRH/prostaglandines). Mais les différences ne vont pas toutes dans le même sens dans tous les élevages. Ceci est probablement dû aux caractéristiques des troupeaux mis à l'expérimentation. Le taux de gestation est aussi très dépendant de l'état physiologique de l'animal avant le traitement. Divers auteurs ont mis en évidence ce phénomène (Beal et *al.*, 1984; Odde, 1990; Grimard et *al.*, 1992).

Le suivi de la dynamique des différentes populations folliculaires a pu être effectué par échographie avec une sonde de 6 MHz sur les femelles zébu Goudali. Les résultats sur le nombre et la taille minimale des follicules observés dans les trois groupes de traitement ne présentent pas de différences statistiquement significatives. Ils sont comparables à ceux décrits par Edmondson *et al.* (1986); Sirois et Fortune (1990); Lucy et *al.* (1992) et Desaulniers et *al.* (1995). Les attributs d'images de l'antrum des follicules reflètent des valeurs absolues et relatives de leur échostructure.

Comparativement aux protocoles de dosage de la progestérone et de la LH, l'échographie présente l'avantage de donner sans délai des informations sur l'état physiologique des ovaires, de fournir une estimation correcte du nombre des follicules impliqués dans la croissance préovulatoire et de pouvoir estimer le nombre de corps jaunes, synonyme du nombre d'ovulations. Chez les vaches zébu 'Goudali', une moyenne de 3,5 à 5,8 follicules de diamètre compris entre 2 et 3 mm a été observée juste après le retrait de



l'implant. En effet, l'injection du valérate d'œstradiol au moment de la pose d'un implant à progestagènes semble entraîner l'atrésie de tout follicule dominant présent au moment de l'insertion de l'implant, empêchant leur ovulation et induisant l'émergence d'une nouvelle vague de croissance folliculaire (Adams, 1994; Bo *et al.*, 1994; Diskin *et al.*, 2001). L'échographie sous-évalue de 2 à 3 mm environ le diamètre anatomique du follicule (Quirk *et al.*, 1986; Mc Dougall *et al.*, 1995). Cela s'explique par le fait qu'en échographie, c'est seulement la taille de l'antrum qui est mesurée. Certains auteurs ont obtenu une corrélation comprise entre 80 et 97 % entre les dimensions mesurées au moyen d'une sonde de 5 MHz et celles mesurées au microscope (Pierson et Ginther, 1987a). Le nombre moyen de follicules dominants observé au cours de cette étude est légèrement supérieur au nombre de follicules dominants observé au cours d'un cycle naturel caractérisé généralement par un seul follicule dominant en moyenne. Cette augmentation concernant le nombre de follicules dominants s'explique probablement par l'administration de la PMSG au retrait des implants dans les Groupes 1 et 2. Selon Hanlon *et al.* (1996), Ramirez-Godinez *et al.* (2000) la PMSG par ses activités FSH/LH, favorise la croissance et la maturation folliculaires et augmente le nombre de follicules non atrétiques. Grâce à l'échographie, on a pu observer la croissance des follicules et montrer que ce sont les follicules de plus de 10 mm de diamètre qui poursuivent le processus de maturation finale. La taille maximale atteinte par les follicules pré-ovulatoires chez les zébus 'Goudali' ( $11,80 \pm 0,96$  mm) est comparable à la valeur de  $10,8 \pm 0,7$  mm enregistrée sur les génisses de race zébu Sistani en Iran (Niasari-Naslaji *et al.*, 1999). Cette valeur est également semblable à celles rapportées par Viana *et al.* (2000) chez les vaches zébus Gir ayant présentées quatre vagues de croissance folliculaire. Ces auteurs ont observé une taille maximale de  $10,8 \pm 2,5$  mm pour le follicule ovulatoire de la première vague ;  $9,8 \pm 1,0$  mm pour la deuxième vague ;  $9,0 \pm 0,8$  mm pour la troisième vague et enfin  $13,3 \pm 1,0$  mm la quatrième vague. Toutefois, la valeur moyenne estimée reste inférieure à la valeur de la taille des follicules pré-ovulatoires observée chez les bovins *Bos taurus* européens, laquelle varie entre 15 et 18 mm (Pierson et Ginther, 1988a; Savio *et al.*, 1988; Knopf *et al.*, 1989). Les différences de taille des follicules pré-ovulatoires observées chez les zébus et les races taurines européennes semblent être liées à différents facteurs tels que l'état nutritionnel (Roche et Boland, 1991) et surtout la taille des ovaires de la femelle zébu, rapportés comme étant plus petits que ceux des taurins européens (Agba, 1975). Nos résultats montrent que la croissance des follicules ovariens dont le diamètre est supérieur ou égal à 5 mm appartiennent à une même vague folliculaire. Ils soutiennent le modèle décrit par Irlande

et Roche (1987) concernant le développement du follicule dominant pendant le cycle œstral. Les analyses statistiques ont montré que les différents facteurs (nombre de follicules, taille de follicules dominants et de corps jaunes, moment de l'ovulation) ne sont pas significativement influencés par les traitements.

Chez les vaches zébu 'Goudali', l'intervalle entre le début des chaleurs et l'ovulation déterminée par échographie (entre 22 heures et 26 heures) s'accorde à ceux obtenus par Thiam (1989) chez le zébu Gobra ( $25,6 \pm 2,8$  heures après le début des chaleurs) et par Mukasa-Mugerwa et Mattoni (1988) chez le zébu éthiopien (25,8 heures après le début des chaleurs). Ces données sont également similaires à celles de Pinheiro *et al.* (1998) qui a obtenu une moyenne de  $26,6 \pm 0,4$  heures chez les femelles zébus Nelore sur œstrus induit ou naturel. Par contre, cette valeur est inférieure à l'intervalle de 28 heures à 32 heures après le début des chaleurs obtenu sur des races taurines européennes (Hansel et Echterkamp, 1972) ainsi qu'aux  $32,0 \pm 4,7$  heures obtenues sur des croisées Angus x Hereford (Wettemann *et al.*, 1998). Différents facteurs vasodilatateurs sont impliqués dans l'ovulation dont l'histamine, la bradykinine, l'angiotensine II, de même que la prostaglandine PGE $2\alpha$ , la PAF (Platelet Activating Factor) et la PGI $2$ . Des fenestrations se forment au niveau des parois des capillaires : des cellules sanguines et du liquide s'en échappent. La thèque externe devient œdémateuse de par cette diffusion du plasma. La précocité de l'ovulation observée chez les zébus Goudali pourrait s'expliquer par une réponse différenciée aux traitements d'induction d'œstrus utilisés ou par le raccourcissement des mécanismes hormonaux impliqués dans son déclenchement chez les femelles zébus. Cette précocité peut également s'expliquer par l'administration de valérate d'œstradiol à la pose des implants. D'une manière générale, il paraît que leur injection en début du traitement inducteur favorise à l'arrêt de ce traitement, la présence d'une concentration minimale de progestérone d'origine endogène, condition favorable à la libération optimale de l'hormone lutéotrope LH. D'après Mukasa-Mugerwa (1989), le pic d'œstrogènes chez les femelles zébus Brahman intervient approximativement 24 heures avant l'œstrus, tandis qu'il intervient respectivement 8 heures et 16 heures avant l'œstrus chez les femelles Hereford et chez les croisées Hereford x Brahman. La sécrétion précoce du pic d'œstrogènes serait à l'origine de l'ovulation précoce des zébus Brahman. La précocité d'ovulation dans les groupes 1 et 2 s'expliquerait par l'injection de prostaglandines 48 heures avant la fin du traitement car les prostaglandines ont une action lutéolytique. La conséquence de cette lutéolyse est l'initiation de la maturation terminale du follicule dominant et l'enclenchement des évènements liés à l'ovulation.

Par rapport à la palpation manuelle, l'examen échographique est plus précis pour

confirmer la présence (degré d'exactitude: 85 à 91 % vs 73 à 88 %) ou l'absence (degré d'exactitude: 78 à 88 % vs 70 à 93 %) d'un corps jaune (Pieterse et *al.*, 1990). L'échographie est significativement plus performante pour la détection des follicules de diamètre supérieur à 10 mm, puisque ces derniers ont été diagnostiqués dans 96 % des cas par échographie et dans 72 % des cas par palpation manuelle (Kahn et Leidl, 1989; Pieterse et *al.*, 1990). La dynamique de la croissance des follicules dominants étudiée chez le zébu Goudali au cours de l'œstrus induit par les progestagènes associés ou non à la prostaglandine et à la PMSG est semblable à celle des taurins européens observée par Pierson et Ginther (1988); Driancourt et *al.*, (1988) et des zébus brésiliens rapportée par Figueiredo et *al.* (1997). Au fur et à mesure que le follicule dominant augmente de taille, le diamètre des autres follicules de la même vague demeure statique ou diminue. Ces derniers, appelés follicules atrétiques, sont appelés à disparaître. Ces follicules atrétiques ne sont identifiables cytologiquement que chez les follicules tertiaires par la mise en évidence de pycnose (Hirshfield, 1989) ou d'apoptose dans les cellules de la granuleuse (Hughes et Gorospe, 1991) ou par de processus dégénératif au niveau de l'ovocyte (Kruip et Dielema, 1982). La granulosa disparaît progressivement et le cumulus se dissocie tout ceci entraînant leur disparition sur l'écran de l'échographe.

Selon Kinder et *al.* (1996), l'application des implants contenant des progestagènes à des doses plus élevées que les taux physiologiques peuvent à leur retrait induire le développement de follicules ovariens dont la croissance est plus rapide que la croissance normale. Ces follicules peuvent alors devenir persistants du fait d'un état de développement trop avancé de l'ovocyte au moment de l'ovulation, associé à une libération des pics de LH plus fréquents et à des concentrations plus élevées de 17 $\beta$ -estradiol. Il est clair de beaucoup des signaux qu'une certaine variation de la réponse ovulatoire ou de superovulatoire du bétail est attribuable au statut folliculaire de l'animal avant le traitement: la présence de follicule dominant fonctionnel au début du traitement peut avoir comme conséquence une réponse diminuée. En France, Ede (1999) ont perforé le plus grand follicule 2 jour avant traitement commençant la superovulation et ont conclu que le procédé améliorerait la production et la qualité de fécondation. Par contre au Brésil, chez la femelle Nelore, Gradela et *al.* (1999) ont rapporté que le déplacement du follicule dominant 2 jours avant le traitement de superovulation n'a pas augmenté la réponse ovarienne mais a amélioré la viabilité d'embryon.

L'interprétation des résultats de diagnostic de gestation par échographie dépend du stade de gestation auquel le diagnostic a été posé, des critères de diagnostic de gestation retenus, de la fréquence d'émission de la sonde échographique, de la fréquence de la mortalité

embryonnaire précoce ou tardive, ainsi que l'âge de l'animal. Le présent travail a décrit l'utilisation de l'échographie à l'aide d'une sonde transrectale de 6 MHz pour le diagnostic de gestation chez les femelles zébus. L'existence des zones anéchogènes noires, indicatives de la présence de liquide amniotique, telles des vésicules embryonnaires, a été perçue au niveau des zones déclives de l'utérus à partir du 28<sup>ème</sup> jour post-insémination. Ces résultats corroborent les observations rapportées par Chaffaux *et al.* (1986), lesquels ont détecté la présence des vésicules embryonnaires à partir du 35<sup>ème</sup> jour de gestation. En utilisant une sonde de 5 MHz, Curran *et al.* (1986) ont pu détecter la présence de la vésicule embryonnaire plus précocement, soit  $12,7 \pm 0,4$  jours après insémination, avec des extrêmes allant du 11<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> jour en faisant des diagnostics quotidiens. Cependant, selon Hanzen *et al.* (1993), au début de la gestation (10<sup>ème</sup>-14<sup>ème</sup> jours), des zones circulaires anéchogènes peuvent être mises en évidence aussi bien chez les vaches en gestation (moyenne = 5,1) que chez les vaches non gravides (moyenne = 3,5). En effet, l'accumulation de liquides à l'intérieur de l'utérus peut aussi être observée en absence de gestation, notamment pendant la période de l'œstrus et au début de la phase lutéale ainsi qu'au cours de différents états pathologiques de l'appareil génital telles que les métrites (Palmer et Driancourt, 1980; Pierson et Ginther, 1987; Kastélic *et al.*, 1989; Chastant-Maillard *et al.*, 2002;). Il est utile en cas de doute de vérifier par échographie le caractère fonctionnel du corps jaune sur l'ovaire ipsilatéral ou de rechercher le présence de l'embryon. Curran *et al.* (1986) ont pu détecter l'embryon dans la corne ipsilatérale au corps jaune dès  $21,3 \pm 0,3$  jours post-insémination, avec des extrêmes allant de 20 à 24 jours. Une observation plus tardive de l'embryon (entre 27 et 30 jours après insémination) a été décrite par Pierson et Ginther (1984) et par Fissore *et al.* (1988) au moyen d'une sonde de 5 MHz.

L'exactitude globale de l'échographie transrectale utilisée au cours du présent travail est passée de 92,2 % à 98,4 % entre le 28<sup>ème</sup> et le 40<sup>ème</sup> jours post-insémination. Ceci confirme le fait que plus on avance dans la gestation, plus la vésicule amniotique et/ou l'embryon sont faciles à détecter. Ces résultats sont conformes aux observations rapportées par différents auteurs (Fissore *et al.*, 1988; Chaffaux *et al.*, 1988; Szenci *et al.*, 1995), lesquels ont décrit une exactitude de 92 à 98 % au-delà de 30 jours de gestation. Par contre, nos résultats sont légèrement inférieurs à l'exactitude globale de 100 % atteinte à partir du 35<sup>ème</sup> jour de gestation chez des vaches d'origine européenne âgées de moins de 7 ans (Hugues et Davies, 1989; Hanzen et Laurent, 1991) et ayant eu moins de 7 vêlages (Hugues et Davies, 1989).

Les taux de 92,6 % d'exactitude pour le diagnostic de gestation positif, et de 94,4 % pour la fiabilité du diagnostic de gestation négatif étaient dus à deux diagnostics faux négatifs

observés au 28<sup>ème</sup> jour de gestation. Dans une étude réalisée en 1995, Szenci et collaborateurs ont montré qu'après le 24<sup>ème</sup> jour de gestation, plus l'utérus est en position crâniale par rapport à l'os pelvien, plus on risque de ne pas détecter l'embryon (faux négatif). Les cas douteux observés pendant le premier mois de gestation pourraient aussi être attribués au fait que pendant cette période l'utérus a une forme plus tortueuse, étant plus difficile à balayer systématiquement par la sonde transrectale de l'échographe (Szenci *et al.*, 1995). En outre, Pieterse (1998), a démontré que c'est seulement à partir du 25<sup>ème</sup> jour, que les vésicules contenant des liquides amniotiques deviennent plus facile à distinguer à l'intérieur de l'utérus bovin. Il faut également noter que l'un des facteurs pouvant affecter la précision du diagnostic de gestation est sans doute le moment de la gestation où l'examen reproducteur est effectué. Théoriquement, plus on avance dans la durée de la gravité, plus la vésicule amniotique et l'embryon occupent de l'espace dans l'utérus et plus ils sont faciles à détecter.

La faible exactitude du diagnostic de gestation négative (91,9 %) ainsi que la faible fiabilité du diagnostic de gestation positif (89,3 %) observées au 28<sup>ème</sup> jour post-insémination pourraient être liées au nombre relativement élevé des résultats faux positifs (3/64). Ce résultat pourrait s'expliquer par des mortalités embryonnaires précoces ou par une qualité limitée de l'image échographique obtenue, laquelle peut résulter d'un contact médiocre entre la sonde et la muqueuse digestive (Chaffaux *et al.*, 1982). La présence de l'embryon ou du fœtus doit toujours être recherchée pour vérifier l'existence des battements cardiaques.

La fiabilité du diagnostic de gestation négatif obtenue au cours de cette étude expérimentale a augmenté de 94,4 % au 28<sup>ème</sup> jour à 100 % au 40<sup>ème</sup> jour, ce qui indique que toutes les vaches zébus diagnostiquées vides au 40<sup>ème</sup> jour post-insémination ont été réellement non gravides. Ces résultats sont légèrement supérieurs à ceux décrits par Szenci *et al.* (1998), lesquels ont obtenu une fiabilité de 95,3 % et de 98,3 %, respectivement pour le 39<sup>ème</sup>-42<sup>ème</sup> et pour le 44<sup>ème</sup>-45<sup>ème</sup> jours de gestation.

Plusieurs études ont été consacrées à la détermination de l'âge du fœtus bovin par la mesure de ses structures anatomiques (White *et al.*, 1985; Hugues et Davies, 1989; Kähn, 1989). Dans cette étude, l'utilisation d'une échographie transrectale avec l'aide d'une sonde linéaire de 6 MHz s'est avérée une bonne méthode pour quantifier la croissance fœtale entre le 45<sup>ème</sup> et le 120<sup>ème</sup> jours de gestation. Les mensurations avant le 45<sup>ème</sup> jour ont été difficiles à réaliser, car les différentes structures du fœtus n'ont pu être différenciées qu'à partir du 45<sup>ème</sup> jour. Des résultats plus précoces ont été obtenus par Curran *et al.* (1986); ces derniers ont pu distinguer la colonne vertébrale ainsi que les membres antérieurs et postérieurs des fœtus âgés de 29 à 31 jours.

Concernant la croissance du tronc, les résultats obtenus chez les fœtus croisés zébu x Holstein étaient inférieurs à ceux rapportés par White *et al.* (1985) et par Kähn (1989, 1990) chez les fœtus des races taurines de grand format. En outre, les vitesses de croissance du diamètre du tronc et du crâne mesurées entre le 45<sup>ème</sup> et le 120<sup>ème</sup> jours de gestation (0,62 mm/jour et 0,59 mm/jour, respectivement) sont inférieures à celles trouvées par Pierson et Ginther (1984), lesquels ont rapporté un taux de croissance global de 1 mm à 1,1 mm par jour. Ces résultats semblent plaider pour une vitesse de croissance inférieure chez les fœtus originaires de croisements avec les races bovines d'origine africaine, comparativement aux fœtus originaires de races taurines d'origine européenne. La mesure du diamètre du tronc et du crâne sont des prédicateurs de l'âge de la gestation, mais moins précis que la longueur de l'embryon (Chevalier, 1988).

A partir du 120<sup>ème</sup> jour de gestation, l'utérus est devenu plus volumineux et a pris une position très profonde, ne permettant plus un balayage systématique du fœtus en entier. Cette caractéristique de la gestation chez la vache empêche un suivi de la croissance fœtale durant la deuxième moitié de la gestation.

## CONCLUSION

Comme un outil de recherche, l'échographie transrectale a apporté des innovations importantes dans le domaine de la reproduction des bovins en particulier. La dynamique de la croissance folliculaire du zébu Goudali a pu être précisée grâce à l'échographie transrectale muni d'une sonde linéaire de 6 MHz. Elle a permis de mieux prévoir le moment optimum d'ovulations (52 à 56 heures après la fin du traitement) et la taille des follicules dominants ( $11,80 \pm 0,96$  mm).

La dynamique de la gestation a fait également l'objet de notre étude. L'échographie transrectale offre de larges applications dans le suivi de la gestation :

- Cette méthode est à la fois précoce (28<sup>ème</sup> jours post insémination) et fiable car elle permet de diagnostiquer en moyenne 89,3 % et de 94,4 % respectivement pour les animaux gestants et non-gestants avec une exactitude globale de 92,2 % au 28<sup>ème</sup> jour.

- l'étude du développement morphologique de la vésicule embryonnaire, de l'embryon, du fœtus et le diagnostic des malformations fœtales. Les mensurations de l'embryon ou du fœtus sont un indicateur du stade de la gestation.

De nos jours il existe plusieurs méthodes d'étude de la physiologie ovarienne et de diagnostic de gestation chez la vache: les méthodes dites de laboratoire reposant sur la mesure des concentration des hormones et les méthodes dites cliniques comprenant la palpation transrectale et l'échographie. Comparativement aux méthodes de laboratoire, l'échographie donne des résultats immédiats. Le dosage de la progestérone, le dosage des protéines placentaires et l'échotomographie sont toutes des techniques précoces de gestation, mais l'échotomographie est la seule méthode qui donne les résultats sans délai.

Cette étude a permis de souligner des inconvénients et des limites de l'échographie. Elle ne donne aucun renseignement sur la qualité de l'ovocyte qui l'une des conditions indispensable de la fécondation. Elle est peu efficace au delà de 120 jours de gestation.

Dans l'espèce bovine, comme dans la plupart des autres espèces des Mammifères, le développement folliculaire et le déroulement de la gestation sont commandés principalement par un système intégré de rétroaction impliquant l'hormone gonadotrophin realising (GnRH) de l'hypothalamus, l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH) (de l'hypophyse) et les stéroïdes (œstrogènes, androgènes et progestérone) et les protéines sécrétées par les ovaires et le placenta. Pour mieux comprendre la physiologie ovarienne des femelles des animaux domestiques en Afrique et du zébu Goudali en particulier, il serait envisageable d'entreprendre une étude qui associerait l'échographie aux dosages de certaines

hormones de la reproduction notamment la LH et l'œstradiol d'une part pour l'étude de la dynamique folliculaire et d'autre part la progestérone et les protéines associées à la gestation pour le diagnostic de gestation.



## BIBLIOGRAPHIE

ADAMS G.P., 1994. Control of ovarian follicular Wave dynamics in cattle: implication for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*, **41**: 19-24.

ADAMS G.P., KOT K., SMITH C.A. & GINTHER O.J., 1993. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*; **30**: 259-271.

ADEYEMO O., AKPOKODJE U.U. & ODILI P.I., 1979. Control of estrus in *Bos indicus* and *Bos taurus* Heifers with Prostaglandin F<sub>2α</sub>. *Theriogenology* 12: 255.

AGBA K.C., 1975. Particularités anatomiques et fonctionnelles des organes génitaux de femelle zébu. *Thèse doct. Vétérinaire*. Dakar, n° 12; 138p.

ALLRICH R.D., 1993. Estrus behavior and detection in cattle, *Vet. Clin. North. Am. Food Animal practice* **9**: 249-262.

ARCHIBONG A.E. & DIEHL J.R., 1982. Evaluation of an ultrasonic amplitude depth analysis technique for pregnancy diagnosis in the cow. *Am. J. Vet. Res.*, **43**: 711-714.

AT-TARASE.E. & SPAHR S.L., 2001. Detection and characterization of estrus in dairy cattle with an electronic heatmont detector and an electronic activity tag. *J. Dairy Sci.*, **84**: 792-798.

BADINGA L., THATCHER W.W., WILCOX C.J., MORRIS G., ENTWISTLE K. & WOLFENSON D., 1994. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentration of estradiol-17 $\beta$ , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, **42**: 1263-1274.

BALL L. & ABBITT B., 1978. Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and foetal abortion in the bovine X<sup>ème</sup> Congrès Mondial de Buiatrie (Mexico). Abstract book: 41-42.

BARROS C.M., FIGUEIREDO R.A. & PINEIRO O.L., 1995. Estrus, ovulação e dinâmica follicular em zebuínos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, **19**: 9-22.

BEAL W.E., GOOD G.A. & PETERSON L.A., 1984. Estrus synchronisation and pregnancy rates in cyclic and nocylic beef cows and heifers treated with synchro-mate B or norgestomet and alfa prostaglandine. *Theriogenology*, **22**: 59-63.

BECKERS J.F, BALLMAN P., ECTORS F. & DERIVAUX J., 1975. Le dosage radioimmunologique de la progestérone plasmatique chez la vache. *C.R. Acad. Sci. Paris*, **280**: 335-338.

BECKERS J.F., FROMONT-LIENARD C., VAND DERZWALMEN P., WOUTERS-BALLMAN P. & ECTORS F., 1980. Isolement d'une hormone placentaire bovine présentant une activité analogue à la prolactine et l'hormone de croissance. *Ann. Médi. Vét.*, **126**: 584-601.

BEGON D., 1990. De l'échomagie à l'échoscience. conférence Savenor 2 mai 1990. L'échographie en pratique canine.

BETTERIDGE K.J., SMITH C., STUBBINGS R.B., XU K.P. & KING W.A., 1989. Potential genetic improvement of cattle by fertilization of oocytes in vitro. *J. Reprod. Fert.*, **38** : 87-98.

BEVERS MM., DIELEMAN SJ., VAN DEN HURK R. & IXADYAR F., 1997. Regulation and modulation of oocyte maturation in the bovine. *Theriogenology*, **47**: 13-22.

BJORKMAN N., 1982. Placentação. In: Dellman HD, Brown EM. (eds); *Histologica Veterinária*. 1. ed. rio de Janeiro: Guanabara-Kkoogan, **2**: 278-294.

BO G.A., ADAMS G.P., PIERSON R.A., TRIBULO H.E., CACCIA M. & MAPLETOFT R.J., 1994. Follicular wave dynamics after estradiol 17 $\beta$  treatment of heifers with or without progestagen implant. *Theriogenology*, **41**: 1555-1569.

BO G.A., PIERSON R.A. & MAPLETOFT R.J., 1991. The effect of oestradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with synchro-mate-B implants. *Theriogenology*, **36**: 169-183.

BOLY H., COULIBALY I., PITALA W., BA Y. & SAWADOGO L., 2003. Comportement sexuel et maturation folliculaire chez la femelle zébu Goudali au Burkina Faso. *Revue Africaine de santé et des productions animales*, **1**: 102-107.

BOLY H., KOUBATE A., VIGUIER-MATINEZ MC. & YENIKOYE A., 1993. Gestation et reprise de l'activité sexuelle après le part chez la brebis Djallonké, "mossi". *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **45**: 631-636.

BURKE C. R., DAY M. L., BUNT C. R., MACMILLAN K. L., 2000. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.*, **78**: 145-151.

BUTLER J.E., HAMILTON W.C., SASSER R.G., RUDER C.A., HASS G.M. & WILLIAMS R.J., 1982. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol Reprod* **26**: 925-933.

CAHILL L.P. & MAULEON P., 1980. Influence of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J. Reprod. Fert.*, **58**: 321-328.

CALDER M. & RAJAMAHENDRAN R., 1992. Follicular growth, ovulation and embryo recovery in dairy cows given FSH at the beginning or middle of the estrous cycle. *Theriogenology*, **38**: 1163-1174.

CARNIEL P., 1987. Données de bases de l'échographie. *Point Vét.*, **105**: 199-212.

CAVANAGH A.C., 1984. Production *in vitro* of mouse early pregnancy factor and purification to homogeneity. *J. Reprod. Fertil.*, **71**: 481-592.

CAVANAGH A.C., MORTON H., ROLFE B.E., GIDLEYBAIRD A.A., 1982, Ovum factor : a first signal of pregnancy ? *Am. J. Reprod. Immunol.*, **2**, 97-101.

CECYRE D., DESCOTEAUX L. & BOUCHARD E., 2001. Evaluation d'un protocole de synchronisation de l'ovulation, avec insémination artificielle sur rendez-vous, utilisant la GnRH et la PGF2 $\alpha$  chez la vache. *Le médecin vétérinaire du Québec*, **31**: 130-133.

CHAFFAUX S., BIANCI M., HEDGE G.V., REDDY G.N.J. & THIBIER M., 1988. L'échographie en temps réel par voie transrectale : intérêt pour le diagnostic de gestation chez la vache. *Rec. Méd. Vét.*, **164** : 101-108.

CHAFFAUX S., RADDY G.N.S., VALON F. & THIBIER M., 1986. Transrectal real time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and monitoring embryonic mortality in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **10** : 193-200.

CHAFFAUX S., VALLON F. & MARTINEZ J., 1982. Images échographiques du produit de conception chez la vache. *Bull. Acad. Vét. France*, **55** : 213-221.

CHASTANT-MAILLARD S., BOIN E., CONSTANT F., MIALOT J.P., GRIMARD B. & DRUART X., 2002. Images échographiques de la gestation chez la vache. Gestation. In : Journées Européennes de la *Société Française de Buiatrie*, Paris, France, 29-31 octobre 2002. Paris, France, p. 186-195.

CHEVALIER, F., 1988. Echographie de l'appareil génital des femelles domestiques. *Recueil Médecine Vétérinaire*, **164**: 81-100.

CHICOTEAU P., THOMBIANO D., BOLY H. & CLOE C.L., 1990. Contribution à l'étude de puberté chez les bovins de la race Baoulé. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, **43**: 535-539.

CHUPIN D., PELOT J. & PETIT M., 1977. Induction et synchronisation de l'ovulation chez les femelles de race à viande. In: Physiologie et pathologie de la reproduction, *Journées ITEB-UNCEIA, Paris*: 45-49.

CISSE A.B., 1993. Synchronisation des chaleurs chez les vaches N'dama et zébu Maure avec la prostaglandine F2 $\alpha$ . *Actualité scientifique. Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants. Les nouvelles éditions Africaines du Sénégal* : 21-26.

COMMITTEE ON REPRODUCTIVE NOMENCLATURE, 1972. Recommendations for standardising bovine reproductive terms. *Cornell Veterinarian*, **62**:216-237.

CORBET N.J. , MILLER R.G., BINDON B.M., BURROW H.M., D'OCCHIO M.J., ENTWISTLE K.W., FITZPATRICK L.A., WILKINS J.F. & KINDER J.E., 1999. Synchronization of estrus and fertility in zebu beef heifers treated with three estrus synchronization protocols. *Theriogenology*, **51**: 647-658.

CORDOBA M.C., SARTORI R. & FRICKE P.M., 2001. Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **84** : 1884-1889.

CRAPELET C. & THIBIER M., 1973. Maîtrise des cycles sexuels chez les bovins. *In Rapport d'activités ser. Tech. U.N.C.E.I.A. (Paris)* : 147-181.

CURRAN S., KASTELIC J.P. & GINTHER O.J., 1989. Determining sex of the bovine by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim. Repro. Sci.*, **19** : 217-227.

CURRAN S., PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **189** : 1289-1294

DAVOREN B.J. & HSUEH A. J.W., 1986. Growth hormone increases ovarian levels of immunoreactive somatomedinC/insulin-like growth factor in vivo. *Endocrinology*, **118**: 888 (abst.).

DAVOREN B.J., HSUEH A. J.W. & CHOH HAO L.I., 1985. Somatomedin C augments FSH-induced differentiation of cultured rat granulosa cells. *Anim. J. Physiol. Sci.*, **249**, E 26.

DECANTE F., 1990. Le diagnostic de gestation par échographie en clientèle rurale bovine. *Bull. GTZ*, **4**: 45-51.

DELAHAUT P., SULON J., ECTORS F. & BECKERS J.F., 1997. Le diagnostic de la reproduction: fertilité, gestation, anœstrus. Dossier Biotechnologie animale-1 *Cahier Agricult.*, **6**: 137-148.

DERIVAUX J. ECTORS F., 1980. Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. *Edi. Point Vet.*

DESAULNIERS D.M., LUSSIER J.G., GOFF A.K., BOUSQUET D. & GUILBAULT L.A., 1995. Follicular development and reproductive endocrinology during a synchronized estrous cycle in heifers and mature cows displaying contrasting superovulatory responses. *Domestic Animal Endocrinology*, **12**: 117-131.

DIOP P.E.H., BOUSQUET D. & KING W.A. 1993. Folliculogénèse et endocrinologie chez des Taures holstein superovulées. *Actualité scientifique. Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants. Les nouvelles éditions Africaines du Sénégal* : 449-457.

DISKIN M. G., & SREENAN J.M., 2000. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.* **40** : 481–491.

DISKIN M.G, SREENAN J..M. & ROCHE J.F., 2001. Controlled breeding systems for dairy cows. In: M.G. Diskin (ed), Fertility in the high producing dairy cow. *British Society of Animal Science*, **26**: 175-193.

DI ZEREGA G.D. & HODGEN G.D., 1980. Folliculogenes in the primate ovarian cycle. *Endocr. Rev.*, **2**: 27-59.

DOBSON H., ROWAN T.G., KIPPAX I.S& HUMBLLOT P., 1993. Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. *Theriogenology*, **40** : 411-425.

DRANSFIELD M.B.G., NEBEL R. L., PEARSON R. E., & WARNICK L. D., 1998. Timing of Insemination for dairy cow identified in estrus by radiotelemetric estrus detection system. *J. Dairy Sci.* **81**: 1874-1882.

DRIANCOURT M.A., 1991. Follicular dynamics in sheep and cattle. *theriogenology*, **35**: 55-79.

DRIANCOURT M.A., 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, **55**: 1211-39.

DRIANCOURT M.A, GOUGEON A., ROYERE D. & THIBAUT C., 1991. La fonction ovarienne . In Thibault C, Levasseur MC. INRA, *la reproduction chez les mammifères et l'homme*, 273-298.

DRIANCOURT M.A., ANDRIEU D. & THATCHER W.W., 1998. Suivi de la croissance folliculaire par échographie au cours des cycles naturels et stimulés chez la vache. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, **164**: 109-114.

DRION P.V., BECKERS J.F., ECTORS F.J., HANZEN C., HOUSTAIN P. & LONERGAN P., 1996. Régulation de la croissance lutéale: 1. Folliculogénèse et atresie. *Le point Vétérinaire*, vol. **28**, numéro spécial "reproduction des ruminants": 881-891.

DRION P.V., BECKERS J.F., DERKENNE F. & HANZEN Ch., 2000. Mise au point relative à la croissance folliculaire chez la vache. 2. Mécanisme hormonaux de la croissance folliculaire. *Annale de Médecine Vétérinaire*, **144**: 385-404.

EDE P. , 1999. Effect of the puncture of the largest follicle on embryo yield after superovulation in dairy cattle. *AETE*: 148.

EDMONDSON A.J., FISSORE R.A., PASHEN R.L. & BONDURANT R.H., 1986. The use of ultrasonography for the study of bovine reproductive tract. I. Normal and pathological ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci*, **12**: 157-165.

FARIN P.W., YOUNGQUIST R.S., PAREET J.R. & GARVERICK H.A., 1992. Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows. *JAVMA*, **200**: 1085-1089.

FIGUEIREDO R.A., BARROS C.M., PINHERO O.L. & SOLER J.M.P., 1997, Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Therigenology*, **47**: 1489-1505.

FILTEAU V. & DESCOTEAUX L., 1998. Valeur prédictive de l'utilisation de l'appareil échographique pour le diagnostic précoce de la gestation chez la vache laitière. *Le Médecin Vétérinaire du Québec*, **28**: 81-85.

FIRK R., STAMER E., JUNGE W. & KRIETER J., 2002. Automation of estrus detection in dairy cows: a review. *Livestock prod. Sci.*, **75**: 219-232.

FISSORE R.A., EDMONDSON A.J., PASHEN R.J. & BONDURANT R.H., 1986. The use of ultrasonography for the study of bovine reproductive tract. II. Non-pregnancy and pathological conditions of the uterus. *Anim. Reprod. Sci.*, **12**: 167-177.

FISSORE R.A., EDMONDSON A.J., PASHEN R.L. & BONDURANT R.H., 1988. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. I Normal and pathology ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci.*, **12** : 167-177.

FORTUNE J.E., 1994. Ovarian follicle growth and development mammals. *Biol. Reprod.*, **50** : 225-232.

FORTUNE J.E., RIVERA G.M., EVANS A.C.O. & TURZILLO A.M., 2001. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biology of Reproduction*, **65**: 648-654.

FUJIMOTO T., YOSHINAGA K. & KONO I., 1985. Distribution of fibronectin on the migratory pathway of primordial germ cells in mice. *Anat. Rec.*, **50**: 271-278.

GAMBINI A.L.G., MOREIRA M.B.P., CASTILHO C. & BARROS C.M., 1998. Desenvolvimento follicular e sincronização da ovulação em vacas Gir. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, **22**: 201-210.

GALINA C.S. & ARTHUR G.H., 1990. Review on cattle reproduction in the tropics. Part IV: Oestrus cycles. *Anim. Breeding*, **58**: 697-707.



GARIL G., TOUZE J.L., BOUTTIER A., PIGNON R., SAUMANDE J., 2000. L'échographie transrectale: outil de contrôle de l'activité ovarienne chez la chèvre. *Elevage et Insémination*, **299**: 3-11.

GINTHER O.J., KOT K., KUILCK L.J., MARTIN S. & WILTBANK M.C., 1996. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J. reprod. Fert.*, **108**: 271-279.

GINTHER O.J., KASTELIC J.P. & KNOPF L., 1989. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci*, **20**: 187-200.

GONG J.G., BRAMLY T.A. & WEBB R., 1993. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod. Fertility*, **97**: 247-254.

GOODMAN A.C. & HODGEN G.D., 1983. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. *Recent Prog. Horm. Res.*, **39**: 1-73.

GOSPODAROWICZ D. & BRIDWELL C.R., 1977. Effect of fibroblast and epidermal growth factor on ovarian cell proliferation "in vitro". *Endocrinology*, **100**, 1108 (abst.).

GOURO A.S. & YENIKOYE A., 1991. Etude préliminaire sur le comportement d'œstrus et la progestéronémie de la femelle zébu (*Bos indicus*) Azawak au Niger. *Revue Ele. Med. Vet. Pays trop.*, 44 (1): 100-101.

GRASSO F., GUILBAULT LA, ROY GL. & LUSIE JG., 1989. Ultrasonic determination of ovarian follicular development in superovulated heifers pretreated with FSH-P at beginning of estrous cycle. *Theriogenology*, **31**: 1209-1220.

GREEN J.A., XIE S., QUAN X., BAO B., MATHALAGAN N., BECKERS J.F. & ROBERTS R.M., 2000. Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biol. Reprod*, **62**: 1624-1631.

GREENWALD G.S. & TERRANOVA P.F., 1989. Follicular selection and its control. In the physiology and reproduction ed. E. Knobil and J. Neill et al. *Raven press, Ltd., New York*, **11**, 387.

GREENWALD GS. & ROY SK., 1994. Follicular development and its control. *The physiology of reproduction* (2th edition). Knobil E and Neill JD. Raven Press Ltd. New York: 626-692.

GRIMARD B., HUMBLLOT P. & THIBIER M., 1992. Synchronisation de l'œstrus chez la vache charolaise: effet de la parité et de la cyclicité. Prétraitement sur les taux d'induction d'ovulation et de gestation. *Elevage et Insémination*, **247**: 9-15.

GUILBAULT LA., DUFOUR JJ., THATCHER WW., DROST M. & HAIBEL GK., 1986. Ovarian follicular development during early pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, **78**: 127-135.

HAGEN-PICARD D., GAYRARD V. & BERTHELOT X., 2002. Développement embryonnaire et fœtal , immunologie de la gestation et applications à la mortalité embryonnaire. *Gestation* , Société Française de Buiatrie; 80-94.

HANLON D.W. , WILLIAMSON N.B. , WICHTEL J.J. , CRAIGIE A.L. & PFEIFFER D.U., 1996. The effect of estradiol benzoate administration on estrus response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology* **45**: 775-785.

HANSEL W. & ECHTERMkamp S.E., 1972. Control of ovarian functions in domestic animals. *Am. Zool.*, **12**: 225-243.

HANZEN C. & DELSAUX B., 1987. Use of transrectal B-Mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. *Vét. Rec.*, **121** : 200-202.

HANZEN C. & LAURENT Y., 1991. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans

l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, **135** : 481-487.

HANZEN C., LAURENT Y. & JAKOVLJEVIC S., 1993. Application de l'échographie en reproduction bovine 2. L'utérus gestant et non-gestant. *Ann. Méd. Vét.*, **137** : 93-101.

HANZEN CH., LOURTIE O. & DRION P.V., 2000b. Le développement folliculaire chez la vache I. Aspects morphologiques et cinétiques. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **144**: 223-235.

HANZEN CH., PIETERSE M., SCENCZI O., DROST M., 2000a. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cows by ultrasonography and palpation per rectum. *The Veterinary Journal*, **159**: 161-170

HARDIN D.R., WARNICCK A.C., SCHULTZ R.H. & FIELDS M.J., 1980, Artificial insemination of subtropical commercial beef cattle following synchronization with cloprostenol. *Theriogenology*, **14**: 244-249.

HIRAKO M., TAKAHASHI H. & TAKAHASHI T., 2000. Oestrone sulfate commences an increase around 50 days of gestation in bovine peripheral blood. *Reprod. Fertil. Dev.*, **12**: 351-354.

HIRSHFIELD A.N., 1989. Recuse of atretic follicles in vitro and in vivo. *Biol. Reprod.*, **40**: 181-190.

HIRSHFIELD A.N., 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Inter. Rev. Cytol.*, **124**: 43-101.

HODGEN GD., 1982. The dominant ovarian follicle. *Fertil steril.*, **38**: 281-300.

HOLDSWORTH R.J., HEAP R.B., BOOTH J.M. & HAMON M., 1982. A rapid direct radioimmunoassay for the measurement of estrone sulfate in the milk of dairy cows and its use in pregnancy diagnosis. *J. Endocr.*, **95**: 7-12.

HOPPER H.W., SILCOX R.W., BYERLEY D.J. & KISER T.E., 1993. Follicular development in prepubertal heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, **31**: 7-12.

HUGHES F.M. & GOROSPE W.C., 1991. Biochemical identification of apoptosis in granulosa cells: evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*, **31**: 2415-2424.

HUGUES E.A. & DAVIES D.A.R., 1989. Practical uses of ultrasound in early pregnancy in cattle. *Vet. Rec.*, **124** : 456-458.

HUMBLOT P. & DALLA PORTA M.A., 1984. Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reprod. Nutr. Dev.*, **24**: 529-541.

HUMBLOT P. & THIBIER M., 1984. Evaluation comparée des méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins. *Elev. Insém.*, **200**: 3-18.

HUMBLOT P., 1991. Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants. *Rec. Med. Vet.*, **167**: 193-202.

HUMBLOT P., CAMOUS S., MARTAL J., CHARLEREY J., JEANGUYOT N., THIBIER M. & SASSER R.G., 1988. Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, **83**: 215-223.

HUMBLOT P., JEANGUYOT N., GERMAIN S., COSQUER R. & CHEVALLIER A., 1994. Facteurs de variation de l'induction et de la synchronisation de l'œstrus chez la vache allaitante. In: Enquête Synchro-Avenir. *U.R.C.O., U.N.C.E.I.A.* Pp.49.

IRELAND J.J. & ROCHE J.F., 1982. Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormone, steroids in follicular fluid and gonadotrophin receptors. *Endocrinology*, **111**: 20-77.

IRELAND JJ. & ROCHE JF., 1987. Hypothesis regarding development of dominant follicles in heifers during the bovine estrous cycle. In: JF Roche, D. O'Callaghan (eds) *Follicular Growth and Ovulation Rate in Farm Animals*, Martinus Nijhot, The Hague: 1-18.

IRELAND JJ., MIHM M., AUSTIN E., DISKIN MG. & ROCHE JF., 2000. Historical perspective of turnover of dominant follicles during the bovine estrous cycle: key concept, studies, advancements, and terms. *J. Dairy Sci.*, **83**: 1648-1658.

JAINUDEEN M.R. & HAFEZ, E.S.E, 1987. Gestation, prenatal physiology and parturition. *Reproduction in farm animals*. Lea & hafez., 229-261.

JOHNSON A.O. & ONI O.O., 1986. Oestrus detection by mounts received in Friesian × Bunaji and Bunaji heifers. *Journa of Agricultural Science*, **107** : 67-69.

JONES P.B.C., WELSH JR.T.H. & HSUEH A. J.W., 1982. Regulation of ovarian progestin production by epidermal growth factor in cultured rat granulosa cells. *J. Biol. Chem.*, **257**: 1268.

KAHN W. & LEIDL W., 1989. Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. In : *Diagnostic Ultrasound and Animal*

KAHN W., 1989. Sonographic fetometry in bovine. *Theriogenology*, **31** : 1105-1121.

KÄHN W., 1990. Sonographic imaging of bovine fetus. *Theriogenology*; **33** (2): 385-396.

KASTELIC J.P., CURRAN S., PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1988. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology*; **29** : 39-54.

KINDER J.E., KOJIMA F.N., BERGFELD E.G., WEHRMAN M.E. & FIKE K.E., 1996. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *J. Anim. Sci.*, **74**: 1424-1440.

KIWOOD S.E., PHILLIPS C.J.C. & WEISE M., 1993. Use of vaginal mucus impedance meter to detect estrus in cows. *Theriogenology*, **40** : 559-569.

KNOPF L., KASTELIC J.P., SCHALLENBERGER E. & GINTHER O.J., 1989. Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest. Anim. Endocrin.*, **6**: 111-119.

KO J.C.H., KASTELIC J.P. & DELCAMPO M.R., 1991. Effet of dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fert.*, **91**: 511-516.

KRUIP TAM. & DIELEMAN S.J., 1982. Macroscopic classification of bovine follicles and its validation by micromorphological and steroid biochemical procedures. *Reprod. Nutr. Develop.*, **22**: 465-473.

LAING J.A., EASTMAN E.A.K. & BOUTFLOWER J.C., 1979. The use of progesterone concentration in milk and plasma for pregnancy diagnosis in cattle. *Br. Vet. J.*, **135** : 204-209.

LAININEN J., REMES E., TENHUNEN M., HANNINEN O. & ALANKA M., 1985. Milk progesterone in Finnish dairy cows: a field study on the control of artificial insemination and early pregnancy. *Br. Vet. J.*, **141**: 297-307.

LAPLANCHE A., COM-NOUGUE C. & FLAMANT R., 1987. Méthodes de statistiques appliquées à la recherche clinique. Ed. Flammarion. *Méd. Sci.*

LAUDERDALE J.W., SEGUIN B.E., STELLFLUG J.R., CHENAULT J.R., THATCHER W.W., VINCENT C.K. & LOYANCANO A.F., 1974. Fertility of cattle following PGF<sub>2</sub>α injection. *J. Anim. Sci.*, **38**: 964-967.

LAVOIR M., FORTUNE J.E., 1990. Follicular dynamics in heifers after injection of PGF<sub>2</sub>α during the first wave of follicular development. *Theriogenology*, **33**: 270 (abstract).

LEBLANC S.J., LESLIE K.E., CELEN H.J., KELTON D.F. & KEEFE G.P., 1998. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin f<sub>2</sub> alpha. *Journal Dairy Science*, **81**: 375-381.

LEGRAND JJ. & CARLIER B., 1981. Bases physiques de l'échotomographie, *Rec. Med. Vet.*, **157** : 553-559.

LENTS C.A., WHITE F.J., LALMAN D.L. & WETTEMANN R.P., 2000. Effects of body condition of beef caws at calving and protein supplementation of estrous behavior and follicle size. *Animal Science Research Repport*: 164-168.

LEVASSEUR M.C. & THIBAUT C., 1980. Reproductive life cycle. In: Reproduction in farm animals. *E.S.E Hafez*. Philadelphia, Lea & Febiger.

LOKHANDE S.M., IMANDAR D.R., JOSHI B.M., BHOSREKAR M.R., HUMBLLOT P. & THIBIER M., 1984. Progestogen and prostaglandin-combined treatments of estrus in post-partum crossbred (*Bos indicus* × *Bos taurus*) or zebu cows. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.* **37** : 73.

LOPEZ-BARBELLA S., MARTINEZ LA., GAVALDON LL., FALCON MC. & MAZZARI G., 1981. Synchronization of oestrus with norgestomet and prostaglandin F2 $\alpha$  in beef cattle. *Trop. Anim. Prod.*; **6**: 101-104.

LUCY M.C., SAVIO J.D., BADINGA L., DE LA SOTA R.L. & THATCHER W.W., 1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci*, **70**: 3615-3626.

LUSSIER J., MATTON P. & DUFOUR J.J., 1987. Growth rates of follicles in the ovary of cow. *J. Reprod. Fert.*, **81**: 301-307.

LYIMO Z. C., NIELEN M., OUWELTJES W., KRUIP T. A. M. & VAN EERDENBURG F. J. C. M., 2000. Relationship Among Estradiol, Cortisol and Intensity of Estrous Behavior in Dairy Cattle. *Theriogenology*, **53**: 1783-1795.

MADRANO E.A., HERNANDEZ O., LAMOTHE C. & GALINA C.S., 1996. Evidence of asynchrony in the onset of signs of oestrus in zebu cattle treated with a progestogen ear implant. *Research in Veterinary Science*, London, **60**: 51-54.

MATHEW S.R., 1999. Electronic monitoring of mounting behavior in beef cattle on pasture. *Can. Vet. J.*; 40, 11: 796-798.

MATTONI M., MUKASA-MUGERWA E., GECCHINI G. & SAVONI S., 1988. The reproductive performance of East Africa (*Bos indicus*) zebu cattle in Ethiopia : Estrus cycle length, duration, behavior and ovulation time. *Theriogenology*. **30** : 961-971.

MBAYE M. & NDIAYE M., 1993. Etude des chaleurs et de la fertilité après un traitement de maîtrise de la reproduction chez la vache zébu Gobra. In : *Actualité Scientifique*: 27-37.

MBAYE M., DIOP P.E.H. & NDIAYE M., 1989. Etude du cycle sexuel chez la vache race N'Dama. In: *Atelier Reprod. Bétail Trypanot. Afrique* (FAO-RAF/88/100) Banjul: 34-35.

MC CRACKEN J.A, CARLSON J.C., GLEW M.E., GODING J.R. BAIRD D.T., GREEN K. & SAMUELSSON B., 1972. Prostaglandine F2 identified as luteolytic hormone of sheep. *Nat. New Biol.*, **238**: 129-134.

MC DOUGALL S., BURKE C.R. & MACMILLAN K.L., 1995. Pattern of follicular development during périods of anaovulation in pasture-fed dairy cows after calvaing. *Resarch in Veterinary Science*, **58**: 212-216.

MEIDAN R., ALTSTEIN M. & GIRSH E., 1992. Biosynthesis and release of oxytocin by granulosa cells derived from preovulatory bovine follicles. Effects of forskolin and insulin-like growth factor-1. *Biol. Reprod.*, **46**: 715-720.

MEIDAN R., ALTSTEIN M. & GRISH E., 1992. Biosynthesis and release of oxytocin by granulosa cells derived from preovulatory bovine follicles. Effects of forstkolin and insulin-like growth factor-1. *Biol. Reprod.*, **46**: 715-720.

MESSINE O. MBAH D.A., SAINT-MARTIN G., 1993. Synchronisation de l'oestrus chez les femelles zébus Goudali au C.R.Z. de Wakwa (Cameroun). *Actualité Scientifique* (as). Maîtrise de reproduction et amélioration génétique des ruminants. Apports des technologies nouvelles: 13-19.



MEYER C. & YESSO P, 1991. Courbe de progestérone plasmatique du cycle oestral chez les races taurine trypanotolérantes de Côte d'Ivoire. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.*; **44** (2): 193-198.

MIALON M.M., RENAND G., CAMOUS S., MARTAL J. & MENISSIER F., 1993. Peripheral concentrations of 60-kD pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, **33**: 269-282.

MIALON M.M., RENAND G., CAMOUS S., MARTAL J. & MENISSIER F., 1994. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy serum protein (PSP60) in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, **34** : 65-72.

MIALOT J.P., 2003. Efficacité des traitement de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *INRA Production Animale*,**16**: 211-227.

MIALOT J.P., CONSTANT F., CHASTANT-MAILLARD S., PONTER A.A. & GRIMARD B., 2001. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins: nouveautés et applications. *Société Française de Buiatrie*- Paris, 28, 29, 30 novembre 2001: 163-168.

MIALOT JP, PONSART C., GIPOULOU C., BIHOREAU JL., ROUX ME. & DELETANG F., 1998. The fertility of autumn calving suckler beef cows is increased by the addition of prostaglandin to progesterone and eCG estrus synchronization treatment. *Theriogenology*, **49**: 1353-1363.

MIALOT J.P., LAUMINIER G., PONSART C., FAUXPOINT H., BARASSIN E. & PONTER A.A., 1999. Postpartum subestrus in dairy cow: comparaison of treatment with prostaglandin F<sub>2α</sub> or GnRH + prostaglandin F<sub>2α</sub> +GnRH. *Theriogenology*, **52**: 901-911.

MONNIAUX D., MANDON-PEPIN B. & MONGET P., 1999. L'atrésie folliculaire, un gaspillage programmé. *Médecine/Sciences*, **15**: 157-166.

MORTIMER R. G., SALMAN M. D., GUTIERREZ M., & OLSON J. D., 1990. Effects of androgenizing dairy heifers with ear implants containing testosterone and estrogen on detection of estrus. *J. Dairy Sci.* **73**: 1773-1778.

MORTON H., HEGH V. & CLUMIE G.J.A., 1974. Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test. *Nature*, **249**: 459-460.

MUKASA-MUGERWA E. & MATTONI M., 1988. Estrous behavior in zebu cattle. In : *IFS/SIPAR Joint Seminar on Animal Reproduction for African Countries Addis Ababa*, 56-64.

MUKASA-MUGERWA E., 1989. A review of reproduction performance of female *Bos indicus* (zebu) cattle. Ethiopia: *ILCA Monography*, **6**: 1-6.

MULLER E. & WITTKOWSKI G., 1986. Visualization of male and female characteristics of bovine fetus by real-time ultrasonics. *Theriogenology*, **25** : 571-574.

NEBEL R. L. & JOBST S.M., 1997. Evaluation of of systematic breeding programs for lacting dairy cows: A review. *J. Dairy Sci.*, **81**: 1169-1174.

NIASARI-NASLAJI A., SARHADDI F., NAJI A., ANGURANI A. & DAMAVANDI Y., 1999. Ovarian follicular dynamics in *Bos taurus* and *Bos indicus*. *Theriogenology*, **51**: 307 (abstr.).

NIX J.P., SPITZER J.C. & CHENOWETH P.J., 1998. Serum testosterone concentration, efficiency of estrus detection and libido expression in androgenized beef cows. *Theriogenology*, **49**: 1195-1207.

NOGUEIRA M.F.G., BARROS B.J., TEIXEIRA A.B., TRINCA L.A., D'OCCHIO M.J. & BARROS C.M., 2002. Embryo recovery and pregnancy rates after the delay of ovulation and fixed time insemination in superstimulated beef cows. *Theriogenology*, **57** : 1625-1634.

ODDE K.G., 1990. A review of synchronisation of oestrus in postpartum cattle. *J. anim. Sci.*, **68**: 817-830.

OSMAN V.P., JOSÉ S., BECKERS J.F, TAKAHASHI T., HIRAKO M., SASAKI N., DOMEKI I., 1997. Plasma bovine pregnancy-associated glycoprotein concentrations

throughout gestation in relationship to fetal number in the cows. *European journal of endocrinology*, **137**: 423-428.

OUEDRAOGO A., MATTONI M. & ZECCHINI M., 1996. Définition d'un moment optimum pour l'Insémination Artificielle chez les femelle bovines Baoulé, Zébu, N'dama en zone subhumide. *Reproduction et production laitière* : 305-310.

PACCARD P., 2001. Utilisation de l'enregistrement de l'activité physique comme aide à la détection des chaleurs dans un troupeau de vaches laitières. *Elevage & Insémination*, **305**: 3-24.

PALMER E. & DRIANCOURT M.A., 1980. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*, **13** : 203-216.

PALMER E., 1985. Cycle oestrien en saison ovulatoire. *GTV*, 85. 1Eq. 016.

PATHIRAJA N., OYEDIPE E.O., VO JUNIOR A.A., DAWUDA P.M., 1986. Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in zebu cows. *British Veterinary Journal*, London, **142**: 467-471.

PERENYI Z., 2002. Investigations on pregnancy-associated glycoproteins 10 cow. *Thèse de Doctorat*, Université de liège. 150p.

PERENYI Z., SZENCI O., SULON J., DRION P.V. & BECKERS J.F., 2002b. Comparison of the ability of three radioimmunoassay to detect pregnancy-associated in bovine plasma. *Reprod. Dom. Anim.*, **37** : 100-104.

PERRY RC., CORAH LH., KIRAKOFE GH., STEVENSON JS. & BEAL WE., 1991. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of post partum estrous cycles. *J. Anim. Sci.*, **69**: 2548-2555.

PESSINABA I.Y., 1977. Contribution à l'étude du cycle oestral de la femelle zébu "*Bos indicus*" par les techniques cytologiques. *Thèse méd. Vét.* Dakar, n° 117. 147p.

PETERS H., 1976. The development and maturation of the ovary. *Ann. Biol. Bioch. Biophys.*, **16**: 2548-2555.

PETIT M., MBAYE M. & PALIN C., 1979. Maîtrise des cycles sexuels. *Elevage Insémination*, **170**: 7-27.

PIERSON R.A. & ADAMS G.P., 1998. Remote assessment of ovarian response and follicular status using visual analysis of ultrasound images. *Theriogenology*, **51**: 47-57.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1984a. Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*, **22** : 225-233.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1984b. Ultrasonography of bovine ovaries. *Theriogenology*, **21**: 495-504.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1987a. Follicular populations during the estrous cycle in heifers. I. Influence of day. *Anim. Reprod. Sci.*, **14**: 165-176.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1987b. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum. *Theriogenology* **28** : 929 -935.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1988a. Follicular populations during the estrous cycle in heifers III: Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim. Reprod. Sci.*, **16**: 81-96.

PIERSON R.A. & GINTHER O.J., 1988b. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, **29**: 21-37.

PIETERSE C. M., 1998. Echographie en reproduction bovine (utérus et ovaires: diagnostic et traitement). Le nouveau peripartum. In : *Congrès de la Société Française de Buiatrie*, Paris, France, 25-26 novembre 1998. Paris, France, p. 221-228.

PIETERSE M.M., SZENCI O., WILLEMSE A.H., BAJCSY S.A., DIELEMAN S.J. & TAVERNE M.A.M., 1990. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real

time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, **33** : 697-708.

PINHEIRO O.L., BARROS C.M., FIGUEIREDO R.A., VALLE E.R., ENCARNAÇÃO R.O. & PADOVANI C.R., 1998. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 $\alpha$  or norgestomet and estradiol valerate, *Theriogenology*, **49**: 667-681.

PONSART C. & HUMBLOT P., 2002. Détection des chaleurs chez les bovins. Gestation. *Société Française de Buiatrie*, du 29, 30, 31 octobre 2002: 4-14.

PURSLEY J.R., MEE M.O. & WILTBANK M.C., 1995. Synchronization of ovulation in **dairy** cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology*, **44**: 915-923.

QUIRK S.M., HICKEY G.J. & FORTUNE J.E., 1986. Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the estrus cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF2 $\alpha$ -induced luteosis. *J. Reprod. Fert.*, **77**: 211-219.

RAE D.O., CHENOWETH P.J., GIANGRECO M.A., DIXON P.W. & BENNETT F.L., 1999. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. *Theriogenology*, **51** : 1121-1132.

RAJAMAHENDRAN R., AMBROSE J.D., BURTON B., 1994. Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction: A review *Can Vet J.*, **35**: 563-572.

RAJAMAHENDRAN R. & TAYLOR C., 1990. Characterization of ovarian activity in post partum dairy cows using ultrasound imaging and progesterone profiles. *Anim. Reprod. Sci.*, **22**: 171-180.

RAKHA A.M., IGBOELI G., HALE D., 1970. The oestrous cycle of zebu and Sanga breed in central Africa. *J. Reprod. Fert.*, **23**: 411-414.

RALAMBOFIRINGA A., 1978. Note sur les manifestations du cycle oestral et sur la reproduction des femelles Ndama. *Revue Elev. Med. Vét. Pays trop.*, **31**: 91-94.

RAMIREZ-GODINEZ J.A., RODRIGUEZ-ALMEIDA F.A., ESPINOZA-CAMPA O.M. & VALDÉS-SAUCEDO R., 2000. Uso de la PMSG o  $PGF_2\alpha$  al reticular el implante del SMB en vacas productoras de carne. *Agrosciencia*, **34**: 423-428. *Reprod. Sci.*, **10**: 193-200.

REVAH I. & BUTLER WR., 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.*, **106**: 39-47.

RHODES F.M., BURKE C. R, CLARK B. A., DAY M. L. & MACMILLAN K. L., 2002. Effect of treatment with progesterone and oestradiol de benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anestrus cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Anim. Reprod. Sci.*, **69**: 139-150.

ROBERTSON L., CATTONI JC., SHAND RI. & JEFFCOATE IA., 1993. A critical evaluation of ultrasonic monitoring of superovulation in cattles. *Br Vet. J.*, **149**: 477-484.

ROCHE J.F. & BOLAND M.P., 1991. Turnover of dominant follicles in cattle different reproductive. *Theriogenology*, **35**: 81-90.

ROCHE J.F., IRELAND J. & MAWHINNEY S., 1981. Control and induction of ovulation in cattle. *J. Reprod. Fert.* **30** : 211-222.

ROLFE B., 1984. Modified rosette inhibition test with mouse lymphocytes for detection of early pregnancy factor in human pregnancy serum. *J. Immunol. Methods*, **70** : 1-11

ROSMARIN ML. LOCK TF., DAHLQUIST JM., NASH TG. FAULKNER DB. & KESLER DJ., 1998. Norgestomet implants enhance embryos survival in postpartum cows. *Theriogenology*, **49** (1): 355-

RUIZ-CORTE Z.T. & OLIVERA-ANGEL M., 1999. Ovarian follicular dynamics insuckled zebu cattle (*Bos indicus*) cows monitored real time ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.*, **54**: 211-220.

SASSER R.G., RUDER-MONTGMERY C.A., IVANI K.A., BUTLER J.E. & HAMILTON W.C., 1986. Detection of pregnancy bu radioimmunoassay of a novel Pregnancy-Specific Protein in serum of cows and profile of serum concentration during gestationof cows. *Biol. Reprod.*, **35**: 936-942.

SAUMANDE J., 1991. Ovogenèse et folliculogenèse. *Rec. Med. Vet.*,**157**: 29-38.

SAUMANDE J., 2000. La détection électronique des chevauchements pour la détection des vaches en chaleur : possibilités et limites. *Rev. Med. Vet.*, **151**: 1011-1020.

SAVIO J.D., KEENANL L., BOLAND M.P. & ROCHE J.F., 1988, Pattern of growth of dominant follicle during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, **83**: 663-671.

SAVIO JD., BOLAND MP., HYNES N. & ROCHE JF., 1990. Resumption of follicular activity in the early post partum period of dairy cows. *J. Reprod. Fertil.*, **88**: 569-576.

SAVIO JD., BONGERS H., DROST M., LUCY MC. & THATCHER WW., 1991. Follicular dynamics and superovulatory response in Holstein cows treated with FSH-P in different endocrine states. *Theriogenology*, **35**: 915-929.

SINGH U., KHURAMA N.K. & INDERJEE T., 1998. Plasma progesterone profiles and fertility status of anestrus zebu cattle treated with norgestomet-estradiol-eCG regimen. *Theriogenology* **50** 1191-1199.

SIRIOS, J. & FORTUNE, J.E., 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology* **127**: 916-925.

SIROIS J. & FORTUNE J.E., 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, **39**: 308-317.

SKINNER M.K., KESTKI-OJA J., OSTEEN K.G. & MOSES H.L., 1987. Ovarian theca cells produce transforming growth factor-beta which can regulate cell growth. *Endocrinology*, **121**: 786-792.

SMITH M.F., 1986. Recent advances in corpus luteum physiology. *Journal of Dairy Science*, **69** : 911-926.

SNOW M.H.L. & MONK M., 1983. Emergence and migration of mouse primordial germ cells. In McLaren A., Wylie CC; (Eds); Cambridge University Press: 115-135.

SOUCHON B., 1985. Petit lexique ultrasonore. *Le Journal Français d'échographie*, **3** : 105-108.

SOUSA N.M., EL AMIRI B., SULON J. & BECKERS J.F., 2002b. Dosages réalisables pour le diagnostic de la gestation. *Société Française de Buiatrie*; 29, 30, 31 octobre 2002: 137-152.

SOUSA N.M., FIGUEIREDO J.R., EL AMIRI B., BANGA-MBOKO H. & BECKERS J.F., 2002a. Influence potentielle des hormones et protéines synthétisées au cours de la gestation sur l'état immunitaire de la mère. *Ann. Méd. Vét.*, **147**, 71-83.

STEVENSON J. S., LAMB G. C., KOBAYASHI Y., AND HOFFMAN D. P., 1998. Luteolysis during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with radiotelemetrically detected estrus in heifers. *J. Dairy Sci.*, **81**: 2897-2903.

STEVENSON J. S., SMITH M. W., JAEGER J. R., CORAH L. R., & LEFEVER D. G., 1996. Detection of Estrus by Visual Observation and Radiotelemetry in Peripubertal, Estrus-Synchronized Beef Heifers. *J. Anim. Sci.*, **74**:729-735.

STUVENSON J.S., LAMB G.C., KOBAYASHI Y. & HOFFMAN D.P., 1998. Luteolysis



during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with radiotelemetrically detected estrus in heifers. *J. Dairy Sci.*, **81**: 2897-2903.

SZENCI O., BECKERS J.F., HUMBLLOT P., SULON J., SASSER G., TAVERNE M.A.M., VARGA J., BALTUSEN R. & SCHEKK G.Y., 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, **50** : 77-88.

SZENCI O., GYALAI G.Y., NAGY P., LOVÀCS L., VARGA J. & TAVERNE M.A.M., 1995. Effect of uterus position to de pelvic inlet on the accuracy of early bovine pregnancy diagnosis by means of ultrasonography. *Vet. Quarterly*, **17** : 37-39.

TAFT RA., 1999. Oocyte morphology and estrogen concentrations foolowing a reduction in progesterone in beef cattle. Dissertation; West Virginia University.

TAINTURIER D., ANDRE F., CHAARI M., SARDJANA K.W., LELET J.L. & LIJOUR L., 1983. Intérêt de l'échotomographie pour le contrôle de la reproduction d'un grand troupeau de vaches laitières. *Rev. Méd. Vét.*, **134** : 419-424.

TAKAHASHI T., 1997. Maternal plasma estrone sulfate profile during pragnancy cow; comparison between singleton and twin pregnancies. *J. Vet. Med. Sci.*, **59**: 287-288.

TAYLOR C. & RAJAMAHENDRAN R., 1991. Follicular dynamics and corpus luteum growth and fonction in pregnant versus non pregnant dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **74**: 115-123.

TEGEGNE A., WARNICK A.C., MUSAKA-MUGERWA E. & KETEMA H., 1989. Fertility of *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbreed cattle after estrus synchronization. *Theriogenology* 31 : 361-370.

THATCHER W.W., PATTERSON D.J., MOREIRA F., PANCARDI M., JORDAN E.R. &RISCO C.A., 2001. Current concepts for estrus synchronization and time insemination. In: American Associeted of Bovine practitioner, AABP Ed., *Vancouver*: 95-105. *Theriogenology*, **51**: 1121-1132.

THIAM M.M., 1989, Actualité sur la maîtrise du cycle sexuel chez la femelle zébu (*Bos indicus*) en Afrique. *Th. Méd. Vét.* Dakar, p. 14.

THIBAUT C. & LEVASSEUR M.C., 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme, *INRA Ed.*, 928pp.

THIBIER M., 1976. Les bases physiologiques de la reproduction chez la femelle de l'espèce bovine. *Journée régionale GTV 76.2B 054.*

THIMONIER J., CHUPIN D. & PELOT J., 1975. Synchronization of estrus in heifers and cyclic cows with progestagens and prostaglandins analogues alone or in combination. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **15**: 437.

TRAORE A. & BAKO G., 1984. Etude du cycle sexuel chez les vaches et les génisses N'Dama au CRZ de Sotuba. *Revue Elev. Méd. Vét. Pays trop.* **37** (4): 485-487.

TWAGIRAMUNGU H., GUIBAULT L.A, VILLENEUVE P., PROULX J. & DUFOUR J.J., 1993. Récents développements dans la synchronisation de l'oestrus et la fertilité en insémination artificielle bovine. *Actualité scientifique : Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants. Apports des Technologies Nouvelles.* Les Nouvelles Editions du Sénégal : 39-56.

TWAGIRAMUNGU H., GUILBAULT L. A., & DUFOUR J. J., 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review *J. Anim Sci.*, **73**: 3141-3151.

TWAGIRAMUNGU H., GUILBAULT L. A., PROULX J. G. & DUFOUR J. J., 1994. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol . *J. Anim Sci.*, **72**: 1796-1805.

VACA L.A., GALINA C.S., FERNANDEZ-BACA S. & ESCOBAR F.J., 1985. Oestrous cycles, oestrus and ovulation of the zébu in mexican tropics. *Veterinary Record.*, 117: 434-437.

VAISSAIRE J.P., 1977. Appareil génital femelle. Dans: *Sexualité et reproduction des mammifères*. Paris: Maloine éd.: 157-162.

VAN EERDENBURG F.J.C.M., KARTHAUS D., TAVERNE M.A.M., MERICS I., SZENCI O., 2002. The relationship between behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **85**: 1150-1156.

VAN EERDENBURG L., LOEFLER H.S.H. & VAN VLIET J.H., 1996. Detection of oestrus in dairy cows: a new approach to and old problem. *Vet. Quart.*, **18**: 52-54.

VIANA J.A.M., FERREIRA A.D.M., SA W.F. & CAMARGO L.S.A., 2000. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesq. Agropec. Bras.*, **35**: 2501-2509.

VOH A.A., OYEDIPE E.O., BUVANENDRAN V. & KUMI-DIAKA J., 1987. Estrus response of indigenous Nigeria Zebu cows after prostaglandin F<sub>2</sub> alpha analogue treatment under continuous observations for two seasons. *Theriogenology*; 28 : 77-99.

WALKER WL., NOBEL RL. & MCGILLIARD ML., 1996. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. *J. Dairy Sci*; 79: 1555-1561.

WANDJI S.A., FORTIER M.O. & SIURAD M.A., 1992. Differential response to gonadotropins and prostaglandins E<sub>2</sub> in ovarian tissue during prenatal and postnatal development. *Biol. Reprod.*, **46**: 1034-1041.

WEBB R., GONG J.G. & LAW A.S., 1992. Control of ovarian function in cattle. *J. Reprod. Fert.*, **45**: 141-156.

WETTEMANN R.P., LOOPER M.L., WARNER M.L., PRADO T. & MORGAN G.L., 1998, Estrous behavior and time of ovulation in beef cows during the summer. *Animal Science Research Report*, Oklahoma State University, July 1998, 227-231.

WHITE F.J. & WETTERMANN R.P., 2000. Season alters estrous behavior but not time of ovulation in beefs cows. *Animal Science Research Report*: 1-6.

WHITE I.R., RUSSEL A.J.F., WRIGHT I.A. & WHYTE T.K., 1985. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the estimation of gestational age in cattle. *Vet. Rec.*, **117** : 5-8.

WILSON S., MCCARTHY R. & CLARKE F., 1984. In search of early pregnancy factor: characterization of active polypeptides isolated from pregnant ewes sera. *J. Reprod. Immunol.*, **6**: 253-260.

XIE S., 1991. Identification of the major pregnancy-specific antigens of cattle and sheep as inactive members of the aspartic proteinase family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**: 1095-1104.

XU Z.Z., GARVERICK H.A & SMITH G.W., 1995b. Expression of messenger ribonucleic acid in cytochrome P450 side-chain cleavage, cytochrome P450 17-a hydroxylase and cytochrome P450 a tase in bovine follicles during the first follicular wave. *Endocrinology*, **136**: 981-989.

XU Z.Z., GARVERICK H.A. & SMITH G.W., 1995a. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biology of Reproduction*, **53**: 951-957.

XU Z.Z., MCKNIGHT VISHWANATH R., PITT C.J. & BURTON L.J., 1998. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. *J. Dairy Sci.*, **81**: 2890-2896.

YENIKOYE A., 1981. Etude de quelques caractéristiques de reproduction chez les brebis peulh du Niger. *Rev. Nutr. Dév.*, **21**: 937-951.

ZAIED A.A., BIRSCHWAL C.J., ELMORE R.G., YOUNG-QUIST R.S., SHARP A.J. & GARVERICK H.A., 1979. Concentration of progesterone in milk as a monitor of early pregnancy diagnosis in dairy cows. *Theriogenology*, **12**: 3-11.

ZAKARI A.Y., 1981. Manifestation and detection of estrus in Bunaji and Bokologi cows. Université du Zaria, Nigeria. *Thèse de Doctorat*, p. 67-143.

ZHANG W. C., NAKAO T., MORIYOSHI M., NAKADA K., OHTAKI T., RIBADU, A. Y. & TANAKA Y., 1999. The relationship between plasma oestrone sulphate concentrations in pregnant dairy cattle and calf birth weight, calf viability, placental weight and placental expulsion, *Anim. Reprod. Sci.*, **54**: 169-178.

ZOLI A.P., BECKERS J.F., WOUTERS-BALLMAN P., CLOSSET J., FALMAGNE P. & ECTORS F., 1991. Purification and synchronization of bovine Pregnancy-Associated-Glycoprotein. *Biol. Reprod.*, **45**: 1-10.

ZOLI A.P., GUILBAULT L.A., DELAHAUT P., ORTIZ W.B. & BECKERS J.F., 1992a. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biol. Reprod.*, **46** : 83-92.

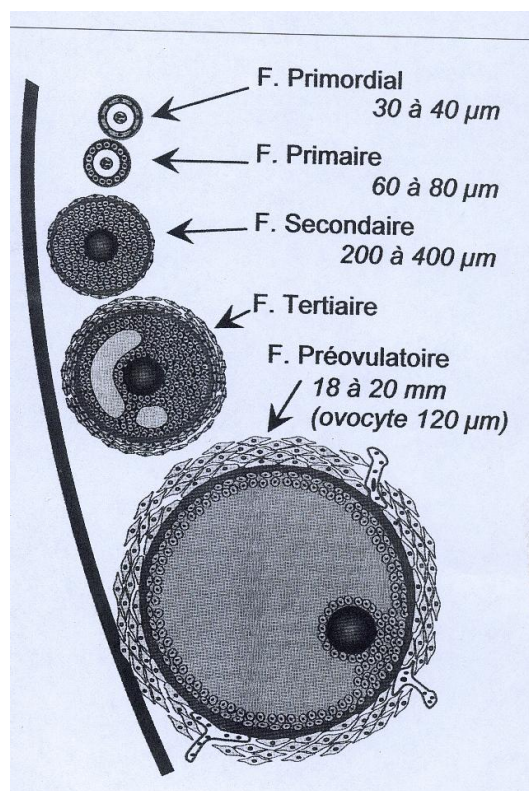
ZOLI A.P., GUILBAULT L.A., DELAHAUT P., ORTIZ W.B. & BECKERS J.F., 1992b. light and electron microscopic immunolocalization of bovine pregnancy-associated glycoprotein in the bovine placentome. *Biol. Reprod.*, **46**: 623-629.

ZONGO M., BOLY H., SAWAGADOGO L., PITALA W., SOUSA N.M., BECKERS J.F. & LEROY P., 2001b. Insémination artificielle des vaches 'Azawak' et taurin 'Gourunsi' au Burkina Faso. *Tropicultura*, **19**: 75-78.

ZONGO M., PITALA W., BOLY H., SULON J., SOUSA N.M., LEROY P., BECKERS J.F. & SAWADOGO L., 2001a. Profils de la progestérone des vaches zébu 'Azawak' et taurin 'Gourunsi' après induction de l'œstrus aux progestagènes combinés à la prostaglandine. *Tropicultura*, **19**: 131-134.

## ANNEXES

Annexe 1: Différents stades des follicules ovariens chez la vache (d'après Drion et al, 2000).



Annexe 2 (Définitions selon Souchon, 1985)

**ANECHOGENE** : qui ne renvoi aucun écho, l'exemple type est la collection liquidienne.

**ATTENUATION DU FAISCEAU US** : l'atténuation du faisceau ultrasonore correspond à une perte d'énergie du faisceau, due à plusieurs phénomènes (réflexion, réfraction, diffusion, absorption), au fur et à mesure de sa pénétration dans un milieu donné .

**B-MODE** (ou modulation de brillance): Représentation de l'échostructure d'un milieu considéré, dans laquelle chaque point écho reçu est représenté par un point de brillance. Dans la littérature anglo-saxonne, on trouve quelquefois l'expression mode B au sens restrictif de mode B statique.

**CONVERTISSEUR D'IMAGE** : c'est la partie de l'appareil d'échographie qui assure la transformation des signaux électriques (nés de la réception des échos) en une multitude de points brillants qui constituent l'image échographique.

**ECHO** : un écho est une réflexion d'onde en direction de sa source émettrice ; en ultrasonologie, les ondes sont des ondes acoustiques ultrasonores, les réflexions se faisant au niveau des interfaces séparant deux milieux d'impédances acoustiques différentes.

**ECHOGENE** : se dit d'une structure qui réfléchit le faisceau ultrasonore. La réflexion du faisceau ultrasonore se fait au niveau d'une interface séparant deux structures d'impédances acoustiques différentes.

**ECHOGENICITE** : aptitude à être échogène, c'est-à-dire à réfléchir les ultrasons.

**ECHOSTRUCTURE MIXTE** : elle est définie par la présence au sein d'une même structure, de différentes zones d'échogenicité différente (hyper et hypoéchogène).

**ECHOSTRUCTURE** : on appelle échostructure les caractéristiques de l'image échographique obtenue en examinant une structure anatomique donnée.



**EFFET PIEZO-ELECTRIQUE** : c'est la faculté qu'ont certains corps (quartz) de se déformer sous l'effet d'un courant électrique et d'émettre, dans certaines conditions, des ondes US.

**FAISCEAU ULTRASONORE** : un faisceau ultrasonore correspond au volume géométrique occupé par les ondes sonores pendant leur propagation. En ultrasonologie diagnostique, il importe que ce faisceau se rapproche le plus possible d'un cylindre dont la section serait la plus petite possible.

**FREQUENCE** : la fréquence (f) d'une onde périodique est égale au nombre de cycles effectués par seconde. Son unité est le hertz (Hz). Elle est reliée à la période par la relation :  $f = 1 / T$ .

**GAIN** : évaluation de l'aptitude à amplifier un signal pour un amplificateur. Il est égal au rapport de l'intensité de sortie d'un signal par rapport à l'intensité d'entrée dans l'amplificateur. C'est une unité sans dimension. Elle est exprimée en décibel (dB).

**HYPERECHOGENE** : se dit d'une structure qui réfléchit plus le faisceau ultrasonore que le reste de la région explorée. L'exemple type en est la lithiase vésiculaire.

**HYPOECHOGENE** : définit une structure qui réfléchit moins le faisceau US que le reste de la région examinée.

**IMAGE DE CONTOURS** : représentation échographique des limites des organes et structures anatomiques. L'analyse des images de contours est la première étape du diagnostic ultrasonore.

**INTERFACE** : zone de séparation entre deux milieux d'impédance acoustique différente. C'est à ce niveau que se produit la réfraction et la réflexion du faisceau ultrasonore.

**RESOLUTION EN PROFONDEUR** : elle est caractérisée par la distance minimum séparant deux points alignés en profondeur (dans l'axe de propagation des US) qui permet la visualisation sur l'écran de l'échographe de deux taches distinctes.

**SECTORIEL** : se dit d'une sonde dont le champ d'exploration correspond à un secteur d'angle.

**SIGNAL** : grandeur physique sous laquelle se transmet l'information. Dans les échographes, l'information sera la variation d'impédance acoustique en un point donné ; elle est transformée en des valeurs de tension électrique.

**SONDE** : partie de l'échographe qui assure la transformation du signal électrique en ultrasons et vice versa. Elle est constituée de :

- un amortisseur de vibration ;
- un boîtier en matière plastique ;
- un transducteur (cristaux piézo-électrique).

**TEMPS REEL** : en échographie, le qualificatif temps réel s'applique aux appareils permettant de suivre de façon adéquate et satisfaisante les modifications temporelles des structures du champ d'exploration considéré.

**TRAIN D'ONDES** : en échographie, ensemble d'ondes ultrasonores émis (ou capté) pendant une durée généralement brève, de façon discontinue et sur un rythme régulier. On appelle encore ces trains d'ondes impulsions.

**TRAITEMENT DU SIGNAL** : il correspond aux différents traitements électroniques appliqués au signal depuis son origine (sonde) jusqu'à l'écran de visualisation. Il s'agit essentiellement d'amplification (filtrage et redressement).

**TRANSDUCTEUR** : en échographie, un transducteur est un corps (quartz, céramique) capable de transformer l'énergie électrique (signal électrique) en énergie acoustique (onde US) et vice versa.

**ULTRASONS** : ondes acoustiques situées au-delà de la limite audible par l'homme dont la limite est comprise entre 20 KHz et 200 MHz. Elle possède trois caractéristiques :

- Une vitesse de propagation ;
- Une fréquence de vibration ;
- Une intensité.

Annexe 3: Echelle de notation des manifestations comportementales pour la détection des chaleurs (van Eerdenburg et al., 1996)

| Signe                                    | Points |
|--|--------|
| Sécrétion de mucus vaginal               | 3      |
| Interactions avec d'autres animaux       | 3      |
| Agitation                                | 5      |
| Flairage                                 | 10     |
| Appui du menton sur le dos               | 15     |
| Chevauchée, sans immobilisation          | 10     |
| Chevauchement (ou essai) d'autres vaches | 35     |
| Chevauchement latéral d'autres vaches    | 45     |
| Acceptation de chevauchement             | 10     |