

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

**FACULTE DES SCIENCES ET
TECHNIQUES**

**ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES
ET MEDECINE VETERINAIRES
(EISMV)**



Année Universitaire 2001 – 2002

N° d'ordre : 04

**Evaluation du diagnostic précoce de gestation par le dosage
de la progesterone dans le sang chez des vaches inséminées
en élevage traditionnel**

MEMOIRE DE DEA DE PRODUCTIONS ANIMALES

Présenté et soutenu publiquement le 12 juillet 2002

à 16 h par

Rose Nicole Gnilane NGOM

née le 1^{er} septembre 1976 à Joal Fadiouth

Devant la commission d'examen :

| | | |
|----------------|--------------------------------|-------------------|
| Président : M. | François Adebayo ABIOLA | Professeur, EISMV |
| Membres : MM. | Papa El Hassane DIOP | Professeur, EISMV |
| | Germain SAWADOGO | Professeur, EISMV |
| | Malang SEYDI | Professeur, EISMV |
| | Bhen Sikini TOGUEBAYE | Professeur, UCAD |

DEDICACES

A mes parents

A mes frères et sœurs

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au Laboratoire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales de l'École Inter-États des Sciences et Médecine Vétérinaires (E.I.S.M.V.) de Dakar sous la direction du Professeur Germain Jérôme SAWADOGO.

Avant d'exposer les résultats de cette étude qu'il me soit permis d'exprimer toute ma reconnaissance aux personnes qui m'ont aidé à mener à bien ce travail, ainsi qu'à ceux qui m'ont fait l'honneur de le juger.

En premier lieu, je remercie le Professeur G. J. SAWADOGO, qui m'a accueilli dans son laboratoire et a dirigé mes recherches. Il m'a assuré un soutien scientifique constant, avec beaucoup de patience et de compétence.

Je suis très honorée d'avoir comme président de jury Monsieur F. A. ABIOLA, Professeur et Directeur de l'E.I.S.M.V., je lui suis très reconnaissante.

Je dois une reconnaissance particulière à Monsieur P. E. H. DIOP, Professeur à l'E.I.S.M.V., qui a accepté de juger ce travail et contribué à son amélioration scientifique.

Mes remerciements vont également à Monsieur M. SEYDI, Professeur à l'E.I.S.M.V. et responsable du DEA PA qui a bien voulu malgré ses nombreuses occupations, participer à la critique de cette étude.

Qu'il me soit permis d'exprimer toute ma sympathie à M. B. S. TOGUEBAYE, Professeur à l'U.C.A.D. et chef du Département de Biologie animale à la Faculté des Sciences et Techniques.

Mes remerciements vont également aux docteurs NDONG, BAKOU et BIAO pour leur disponibilité constante et leur aide précieuse.

Un grand merci à tous mes amis et promotionnaires du DEA PA pour le soutien moral inestimable qu'ils ont su m'apporter pendant toutes ces années.

SOMMAIRE

| | |
|--|------------|
| DEDICACES | I |
| REMERCIEMENTS | II |
| SOMMAIRE | III |
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | V |
| LISTE DES TABLEAUX | V |
| LISTE DES ABREVIATIONS | VI |
| INTRODUCTION :..... | 1 |
| PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE | 2 |
| CHAPITRE I : BIOCHIMIE DES PRINCIPALES HORMONES OVARIENNES | 3 |
| 1. BIOLOGIE DU CYCLE OVARIEN : | 3 |
| 1.1. <i>Morphologie et histologie de l'ovaire</i> :..... | 3 |
| 1.2. <i>Physiologie de l'ovaire</i> :..... | 3 |
| 1.2.1. La sélection d'un follicule dominant : | 3 |
| 1.2.2. La montée de la sécrétion d'œstrogènes : | 5 |
| 1.2.3. Pic de LH et ovulation : | 5 |
| 1.2.4. Le corps jaune et la lutéolyse : | 5 |
| 2. BIOCHIMIE DES PRINCIPALES HORMONES OVARIENNES : | 6 |
| 2.1. <i>Biochimie de l'œstradiol</i> : | 6 |
| 2.2. <i>Biochimie de la progestérone</i> : | 6 |
| 2.2.1. Biosynthèse : | 7 |
| 2.2.2. Transport : | 7 |
| 2.2.3. Régulation : | 7 |
| 2.2.4. Effets et mécanisme d'action : | 9 |
| 2.2.5. Le catabolisme : | 9 |
| 2.2.6. Techniques de dosage : | 9 |
| 2.2.7. Intérêt et apports du dosage de la progestérone en zootechnie : | 10 |
| 2.2.7.1. Evolution de la progestérone au cours d'un cycle sexuel : | 10 |
| 2.2.7.2. Détermination de l'état physiologique des femelles : | 11 |
| CHAPITRE II : MAITRISE DE LA REPRODUCTION | 13 |
| 1. OPTIMISATION DE LA REPRODUCTION : | 13 |
| 2. AMELIORATION DES CONDITIONS DE REPRODUCTION : | 13 |
| 2.1. <i>La synchronisation des chaleurs</i> : | 13 |
| 2.2. <i>La détection des chaleurs</i> : | 13 |
| 2.3. <i>L'insémination artificielle</i> : | 14 |
| 2.4. <i>Diagnostic de gestation</i> : | 15 |
| 2.4.1. Détermination du taux de non retour : | 15 |
| 2.4.2. Méthodes immunologiques : | 15 |
| 2.4.3. Méthodes cliniques : | 15 |
| DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE | 16 |
| CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES | 17 |
| 1. OBJECTIFS : | 17 |
| 2. MATERIEL : | 17 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 2.1. | <i>Matériel animal :</i> | 17 |
| 2.2. | <i>Matériel de dosage de la progestérone :</i> | 17 |
| 3. | METHODES : | 17 |
| 3.1. | <i>Prélèvement et collecte des données :</i> | 17 |
| 3.2. | <i>Dosage radio-immunologique de la progestérone dans le sang :</i> | 18 |
| 3.3. | <i>Analyse des données :</i> | 19 |
| CHAPITRE II : RESULTATS | | 20 |
| 1. | ETATS PHYSIOLOGIQUES DES VACHES INSEMINÉES : | 20 |
| 2. | TAUX DE REUSSITE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE PAR PALPATION RECTALE : | 21 |
| 3. | CONFORMITE ENTRE LE DOSAGE DE LA PROGESTERONE ET LA PALPATION RECTALE : | 21 |
| CHAPITRE III : DISCUSSION | | 24 |
| 1. | LES DIFFERENTS ETATS PHYSIOLOGIQUES : | 24 |
| 2. | TAUX DE REUSSITE DE L'IA : | 25 |
| 3. | COMPARAISON DU DOSAGE DE LA PROGESTERONE ET DE LA PALPATION RECTALE : | 26 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | | 27 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | | 28 |

TABLES DES ILLUSTRATIONS

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Développement et devenir des follicules ovariens..... | 4 |
| Figure 2 : Evolution des hormones au cours du cycle sexuel..... | 4 |
| Figure 3 : Structure de la progestérone..... | 8 |
| Figure 4 : Régulation de la biosynthèse des principales hormones ovariennes..... | 8 |
| Figure 5 : Evolution des concentrations de progestérone plasmatique périphérique pendant l'œstrus, au cours du cycle et au début de la gestation chez la vache..... | 12 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau I : Progestéronémie et état physiologique d'une femelle..... | 13 |
| Tableau II : Principaux signes des chaleurs chez la vache..... | 15 |
| Tableau III : Progestéronémie en fonction de l'état physiologique des vaches..... | 20 |
| Tableau IV : Etats physiologiques des vaches inséminées selon les localités..... | 21 |
| Tableau V : Réussite de l'IA selon les localités..... | 21 |
| Tableau VI : Tableau de contingence du dosage de la progestérone et de la palpation rectale..... | 22 |
| Tableau VII : Moyennes et écart-types de la progestéronémie chez les vaches inséminées à J ₀ , J ₁₀₋₁₂ et J ₂₁ | 23 |

LISTE DES ABREVIATIONS

ARN : Acide ribo-nucléique
BO : Benzoate d'oestradiol
CBG : Corticosteroid binding globulin
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
°C : Degré celcius
DNS : Différence non significative
DS : Différence significative
ECG : equine chorionic gonadotropin
EPF : Early pregnancy factor
FN : Faux négatifs
FP : Faux positifs
FSH : Follicle stimulating hormone
GnRH : Gonadotropin releasing hormone
HPLC : Chromatographie liquide haute pression
IA : Insémination artificielle
IEA : Immuno enzyme assay
LH : Luteinizing hormone
µl : Microlitre
ml : Millilitre
nmol : Nanomole
P4 : Progestérone
PBG : Protein binding globulin
PBS : Phosphate buffer saline
PGE₂ : Prostaglandine E₂
PGF_{2α} : Prostaglandine F_{2α}
PMSG : Pregnant mare serum gonadotropin
PSPB : Pregnancy specific protein B
RIA : Radio immuno-assay
SBP : Sex binding protein
TC : Total counts
VN : Vrais négatifs
VP : Vrais positifs
VPN : Valeur prédictive négative
VPP : Valeur prédictive positive

INTRODUCTION :

Les races africaines ont généralement un faible potentiel génétique pour la production de lait et de viande en comparaison avec les races d'animaux existant dans les pays développés (17). Ces races (bovines, ovines, ou caprines) ont une production en lait de 1 à 4 litres/jour et des paramètres de la reproduction peu performants. Chez les bovins en milieu traditionnel, l'âge au premier vêlage se situe entre 48 et 68 mois et l'intervalle vêlage-vêlage de 18 à 22 mois alors que l'objectif est la recherche d'un veau par an (12). Malgré cette faible performance, les races locales sont bien adaptées pour survivre et se reproduire dans leur environnement vu leur tolérance aux différents stress environnementaux : chaleurs, humidité et maladies (17). Cependant, la conservation des races pures est souvent compromise pour des raisons socio-économiques (12).

Au Sénégal, l'activité pastorale s'exerce sur l'ensemble du territoire. Ses formes varient en fonction de plusieurs paramètres : spécialisation plus ou moins marquée des producteurs dans le nord et l'est du pays, caractère plus domestique de la gestion de petits troupeaux familiaux dans tout le reste du pays. Le secteur de l'élevage apporte une contribution de l'ordre de 7 % au PIB (près du 1/3 du PIB du secteur primaire), ce qui correspond à une valeur estimée à plus de 505 milliards FCFA (7). Cette valeur donne la mesure de l'importance du cheptel animal et de l'intérêt que revêt une gestion plus efficiente de l'activité de l'élevage (7). Ainsi, l'augmentation de la productivité numérique du cheptel sénégalais figure parmi les voies à emprunter pour la réalisation de l'autosuffisance alimentaire en produits carnés (29).

Au plan de la zootechnie et de l'alimentation, des pathologies parasitaires et infectieuses, des travaux ont déjà été réalisés (34). Sur le plan de la reproduction, seules quelques études ont été menées dans le domaine des biotechnologies animales, notamment l'insémination artificielle et le transfert d'embryons (11, 13 et 14).

Cependant, l'insémination artificielle constitue l'un des moyens les plus efficaces pour une amélioration génétique et de la production laitière chez les races bovines dans les pays du Sud. Dans ce même but le diagnostic précoce de gestation tient une place primordiale car permettant de vérifier la réussite de l'insémination artificielle. C'est dans ce cadre que nous avons entrepris une étude du diagnostic de gestation chez des vaches inséminées en élevage traditionnel dans 2 pays (République de Guinée et Sénégal).

Ce travail comporte 2 parties dont la première est une synthèse bibliographique des principales données sur la reproduction bovine actuellement disponibles et la seconde constitue l'étude expérimentale.

PREMIERE PARTIE :
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : BIOCHIMIE DES PRINCIPALES HORMONES OVARIENNES

1. Biologie du cycle ovarien :

L'ovaire a une double fonction : une exocrine (gamétogenèse) et une endocrine (stéroïdogénèse) (18).

1.1. Morphologie et histologie de l'ovaire :

Chez la vache, l'ovaire est en forme d'amande et sa partie reliée au mésovarium est étalée et suspendue dans la cavité abdominale (18). L'ovaire est constitué de la médulla et principalement d'un cortex entouré par un épithélium superficiel communément appelé épithélium germinale (Fig.1). Les follicules primordiaux proviennent de l'extérieur des gonades et migrent à travers la membrane du sac mésentérique vers la région génitale. Durant le développement du fœtus les oogonies sont produites à la suite de mitoses simples. Puis la première division de méiose donne quelques millions d'oocytes bloqués en prophase. A la naissance, une couche de cellules folliculaires entoure les oocytes primaires dans l'ovaire pour former les follicules primordiaux.

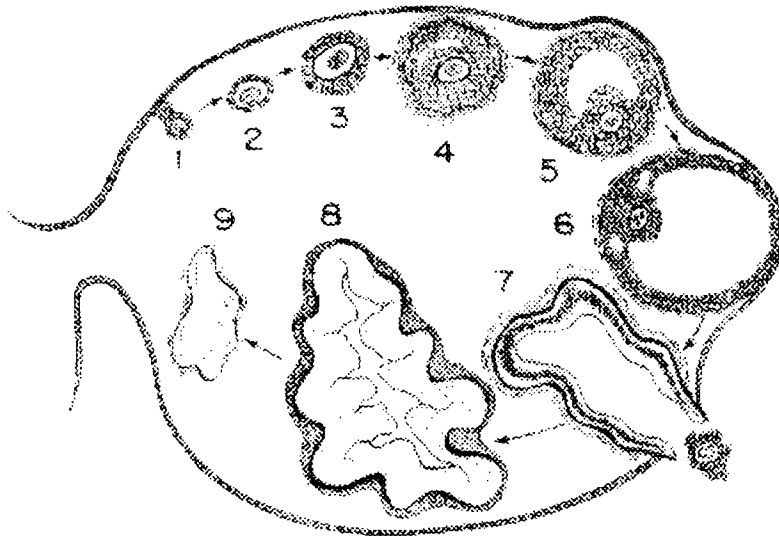
La médulla comprend un tissu connexe de fibres élastiques irrégulièrement arrangées et un important système neuro-vasculaire qui traverse l'ovaire par le hile. Le cortex ovarien contient des follicules ovariens et/ou des corps lutéaux à des stades de développement ou de régression variés. La vascularisation de l'ovaire change en fonction des différents états hormonaux, permettant ainsi l'adaptation du flux sanguin aux besoins de l'organe (18).

1.2. Physiologie de l'ovaire :

La vache est une espèce à activité sexuelle continue non saisonnière, avec un cycle se déroulant sur une période de 21 jours et des écarts allant de 17 à 24 jours (9). La physiologie de l'ovaire tourne autour des événements liés à l'œstrus et à l'ovulation (Fig.2). Ces principaux événements sont : la sélection d'un follicule dominant, la montée de la concentration d'œstrogènes, le pic de LH et la lutéolyse (ou régression du corps jaune).

1.2.1. La sélection d'un follicule dominant :

L'ovaire d'un mammifère adulte renferme une population hétérogène de follicules à différents stades de croissance et de maturation non synchrones. Dans plus de 99 % des cas, les follicules qui entrent en croissance n'atteignent pas le stade ovulatoire mais dégèrent par atresie à un stade quelconque de leur développement (naissance ou puberté) (3).



Légende :

1 à 6 : Phase folliculaire :

1 : follicule primordial

2 : follicule primaire

3 : follicule secondaire

4 : follicule tertiaire

5 : follicule cavitaire

6 : follicule de De Graaf

7 : **Ovulation**

8 à 9 : Phase lutéale

8 : corpus luteum ou corps jaune

9 : corpus albicans

Figure 1 : Développement et devenir des follicules ovariens

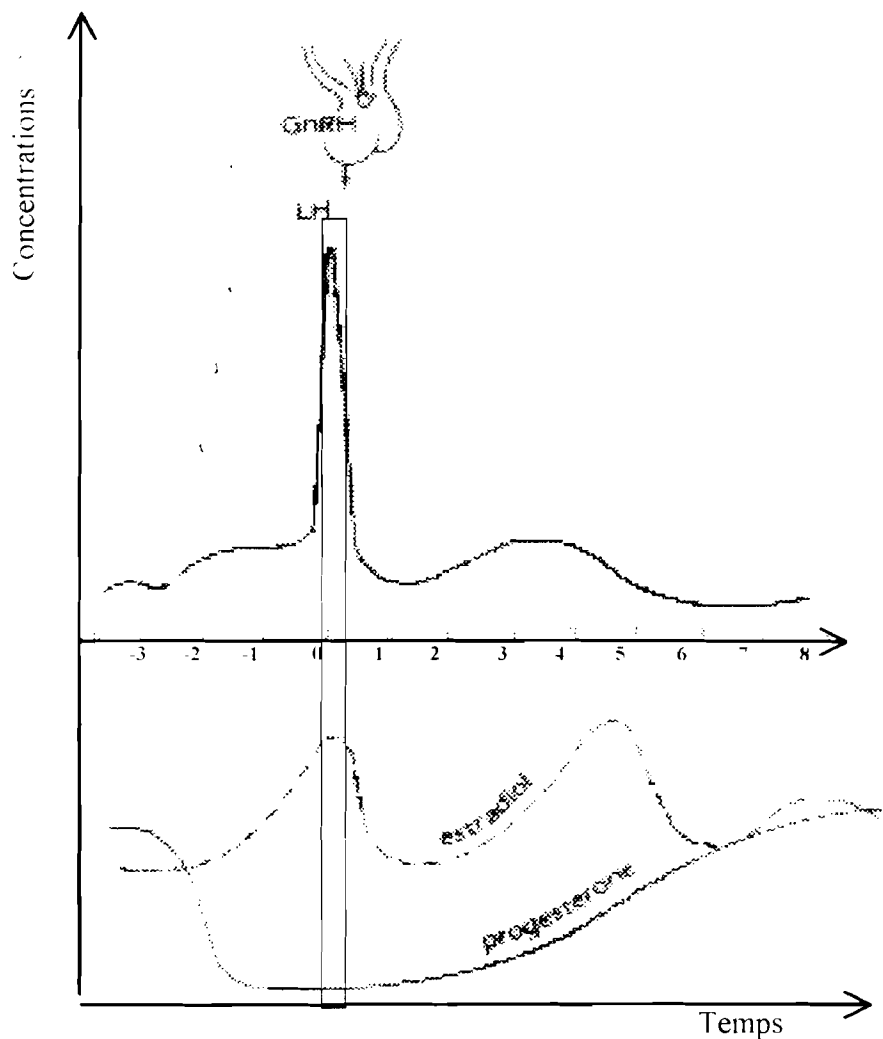


Figure 2 : Evolution des hormones au cours du cycle sexuel (23)

La folliculogénèse est un processus dynamique et continue tout au long du cycle œstral. Certains auteurs présentent la croissance folliculaire comme étant continue et constante tandis que beaucoup d'autres appuient la notion de vagues folliculaires. Après le recrutement de 500 à 1000 follicules par cycle, un certain nombre d'entre eux sont sélectionnés dont seul le follicule dominant va aboutir à l'ovulation (3).

1.2.2. La montée de la sécrétion d'œstrogènes :

La gestion du stock folliculaire est assurée pour l'essentiel par l'action de 2 hormones gonadotropes d'origine hypophysaire, la FSH et la LH. La FSH est indispensable à la survie et à la croissance du follicule, tandis que la LH stimule les cellules du follicule à produire de la prégnénolone, de la progestérone et des androgènes. Sous l'action de la FSH, les androgènes sont transformés en œstrogènes qui auront un triple effet à savoir stimuler l'hypothalamus à produire de la GnRH qui active l'hypophyse à synthétiser et sécréter la FSH et la LH, augmenter la sensibilité des cellules du follicule à l'action de la FSH et augmenter la réponse du follicule à l'action de la LH.

1.2.3. Pic de LH et ovulation :

La sécrétion de LH induite par la GnRH est maximale à l'œstrus mais se fait sous forme de pulses. Après le pic pré-ovulatoire de LH et de FSH, il se produit un arrêt de la libération de ces gonadotropines qui est dû à une insensibilité de l'hypophyse à l'action de la GnRH. L'ovulation est le résultat de plusieurs mécanismes physiologiques (neuroendocriniens des GnRH et endocriniens des prostaglandines), biochimiques (neurobiochimiques et chimiques) et biophysiques (neuromusculaires et neurovasculaires, et interactions enzymatiques) (18). Ces auteurs indiquent que la décharge de LH qui a lieu environ 24 heures avant l'ovulation chez la plupart des espèces domestiques, induit la synthèse par la granulosa de progestérone, de PGE₂ et de PGF_{2α} qui vont favoriser une libération locale d'enzymes (collagénases, plasmines, catheptases). Ces enzymes entraînent une dislocation des thèques, et la PGF_{2α} une contraction des fibres musculaires lisses, entraînant l'éclatement du follicule et la ponte ovulaire. Après l'ovulation, les cellules sanguines envahissent le follicule et forment le corpus hemorrhagicum qui est le point de départ du corps jaune.

1.2.4. Le corps jaune et la lutéolyse :

Le corps jaune se développe à la suite de l'affaissement du follicule à l'ovulation (18). Quelques jours après l'ovulation, les cellules de la thèque se développent puis régressent

rapidement. En 24 heures toutes celles qui restent sont dans un état avancé de dégénérescence. Ensuite, l'hypertrophie et la lutéinisation des cellules de la granulosa commencent et les cellules lutéales sécrètent la progestérone. Chez la vache, le poids du corps jaune ainsi que la concentration de la progestérone augmente rapidement entre le 3^{ème} et le 12^{ème} jour du cycle et reste relativement constant jusqu'au 16^{ème} jour, quand la régression commence (23).

Si la fécondation n'a pas lieu le corps jaune commence à régresser 14 à 15 jours après l'œstrus et sa taille décroît de moitié en 36 heures (23). La régression du corps jaune s'accompagne d'une diminution drastique de progestérone ce qui a pour effet indirect d'augmenter les concentrations d'œstrogènes (15 et 31 cités par 3). La lutéolyse est induite par les prostaglandines plus particulièrement par un agent lutéolytique naturel, la $PGF_{2\alpha}$ qui termine la phase lutéale du cycle en l'absence de fécondation (19).

2. Biochimie des principales hormones ovariennes :

2.1. Biochimie de l'œstradiol :

L'œstradiol constitue avec l'œstrone et l'œstriol, les œstrogènes les plus connus. Ce sont des hormones stéroïdes en C_{18} . Ils sont synthétisés par la thèque interne des follicules de l'ovaire et favorisent le développement des premiers stades du cycle ovarien. Les précurseurs des œstrogènes sont la Δ^4 -androsténone et la testostérone. Ces hormones sont transportées par le plasma sanguin sous forme liée à des protéines non spécifiques comme l'albumine ou spécifiques comme la SBP (Sex Binding Protein) pour l'œstradiol (26). La transformation réversible œstradiol-œstrone est favorisée par les déshydrogénases hépatiques. L'œstrone conduit aux dérivés cétoniques ou hydroxylés en 16, et finalement à l'œstriol. Ce dernier, comme les composés intermédiaires, subit la sulfoconjugaison ou la glucuronocouplage et les métabolites en résultant sont éliminés dans les urines. Des hydroxylations et des méthyloxylation en 2 donnent des métabolites solubles largement excrétés dans la bile (26).

2.2. Biochimie de la progestérone :

La progestérone, molécule apolaire, est une hormone sexuelle de faible poids moléculaire (314), stéroïdienne en C_{21} (Fig.3). Elle constitue avec la 20β -hydroxyprogestérone et la 17-hydroxyprogestérone les 3 progestagènes naturels chez la vache. Les progestagènes dérivent du cholestérol et ont en commun les 4 cycles du cyclopentanoperhydrophénanthrène ou noyau stérane

2.2.1. Biosynthèse :

La progestérone est synthétisée et sécrétée essentiellement par les cellules lutéales du corps jaune et le placenta mis en place suite à l'implantation de l'embryon. La sécrétion par les surrénales constitue le niveau basal car la progestéronémie chez la vache castrée n'est pas nulle (2 ng/ml).

Le principal précurseur est le cholestérol. Ce dernier a pour origine l'acétylcoenzyme A du cytosol (condensation en série de 3 molécules d'acétyl-coA), exporté des mitochondries grâce au système transporteur du citrate. La plupart des cellules animales sont capables de faire la synthèse de cholestérol mais sa biosynthèse est prédominante dans les cellules hépatiques. Un des rôles des lipoprotéines est de distribuer aux cellules de l'organisme le cholestérol provenant des aliments et celui formé dans le foie (21).

La transformation du cholestérol en progestérone passe par la prégnénolone obtenue suite à 2 hydroxylations en C₂₀ et C₂₂ et grâce à la cholestérol-20 desmolase qui scinde le cholestérol en acide isocaproïque et en 5 β -prégnane-3 α ol-20one (prégnénolone) (21).

2.2.2. Transport :

La progestéronémie varie dans le même sens que les productions lutéales. La durée de vie de la progestérone se situe entre 22 et 36 minutes. Compte tenu de sa structure apolaire, la progestérone n'existe pas à l'état libre dans le sang circulant. En conséquence elle est prise en charge par des transporteurs, la PBG (progesterone binding globulin) et accessoirement la CBG (corticosteroid binding globulin) et l'albumine. La progestérone est retrouvée dans le lait à une concentration supérieure de 5 à 10 fois à celle du plasma, compte tenu de la richesse de ce milieu en matières grasses.

2.2.3. Régulation :

Le contrôle de la biosynthèse de la progestérone dépend en grande partie de l'équilibre entre les hormones sécrétées par l'hypothalamus, l'hypophyse, l'ovaire et l'utérus (Fig. 4). L'hypothalamus sécrète le GnRH qui commande la libération épisodique des hormones gonadotropes LH et FSH dans la circulation générale. La LH est sécrétée par l'hypophyse sous forme de pulses, définies par leur fréquence et leur amplitude, qui stimulent la libération de l'œstradiol et de la progestérone par l'ovaire (5). Parallèlement, la FSH, essentielle à la survie et à la croissance du follicule, entraîne une augmentation de la concentration plasmatique de l'œstradiol. La concentration élevée d'œstradiol provoque la libération massive de LH qui à son tour stimule l'ovulation. La LH stimule la production de progestérone par le corps jaune.

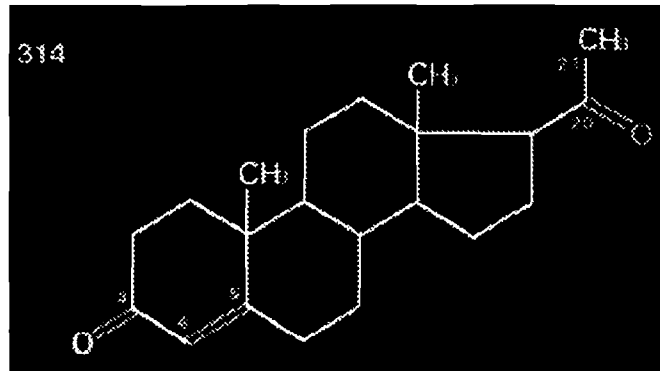


Figure 3 : Structure de la progestérone

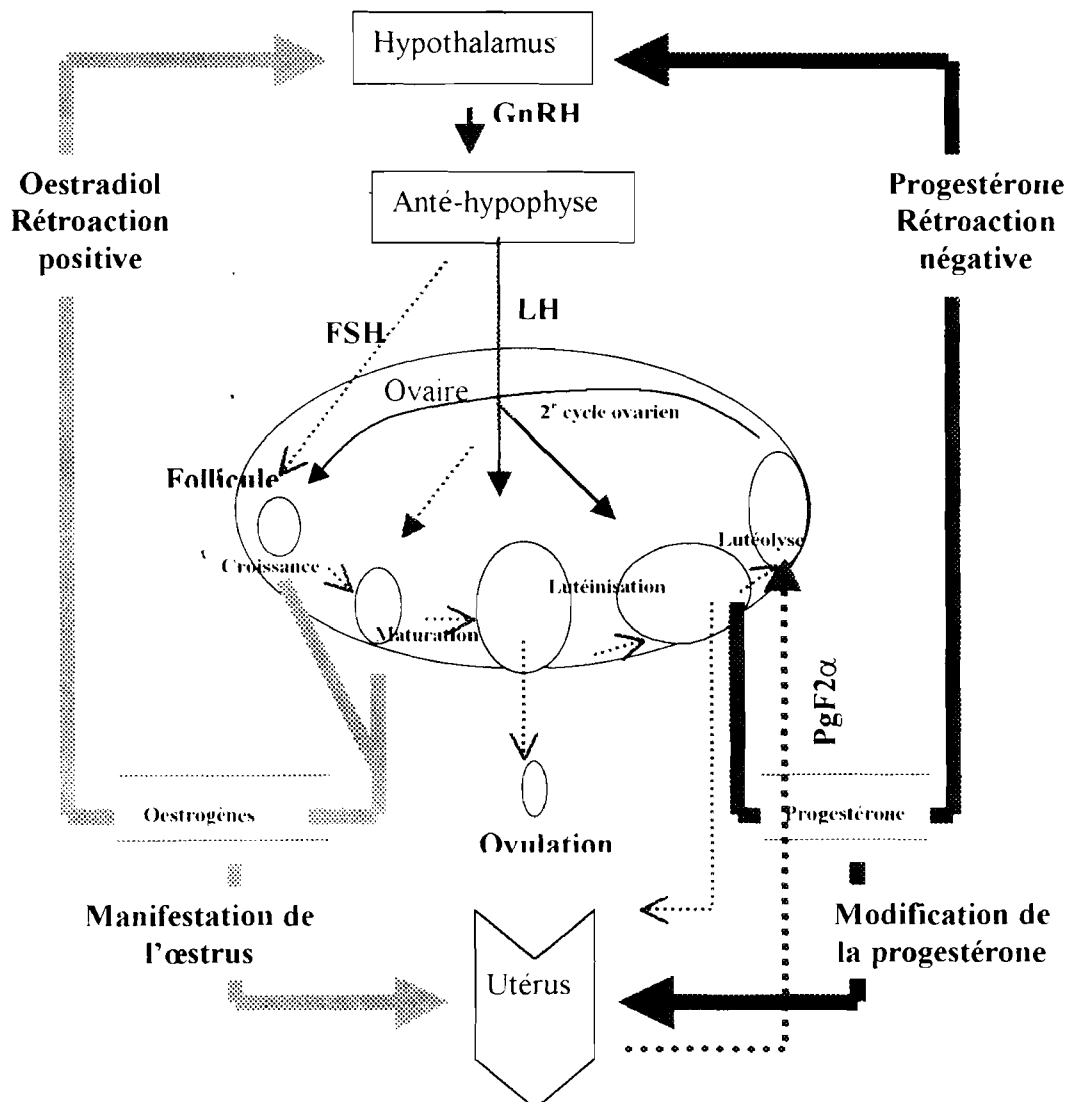


Figure 4 : Régulation de la biosynthèse des principales hormones ovariennes

La progestérone exerce sa rétroaction sur la sécrétion hypophysaire de GnRH et affecte donc la synthèse de LH et de FSH. Le feed-back négatif de la progestérone cessera à la lutéolyse et une nouvelle phase folliculaire sera initiée par la FSH.

2.2.4. Effets et mécanisme d'action :

La progestérone agit d'une part sur la sphère génitale et la glande mammaire et d'autre part sur le reste de l'organisme.

La progestérone intervient essentiellement, en préparant le tractus génital femelle à la nidation et à l'installation de la gravidité. Elle prépare la muqueuse utérine à l'ovoiimplantation (épaississement, dentellisation, inhibition de la contractilité du myomètre, production d'hormones gonadotropes). Elle possède un pouvoir stimulant sur la glande mammaire.

La progestérone intervient dans le métabolisme hydroélectrolytique, elle possède un effet natriurétique et se comporte comme un anti-aldostérone et entraîne une rétention de potassium. A fortes doses, elle favorise à la fois une excrétion de sodium et une excrétion de potassium. La progestérone agit sur la température corporelle post-ovulatoire en l'élevant.

Cette hormone stéroïde apolaire se lie à un récepteur cytoplasmique et traverse l'enveloppe nucléaire. L'ensemble hormone-récepteur va se lier à un élément de la chromatine appelé « accepteur ». Ce complexe hormonal nucléaire induit une synthèse d'ARN suivie de synthèses protéiques spécifiques.

2.2.5. Le catabolisme :

Cette hormone subit principalement 3 réductions dans le foie (la double liaison entre C₄ et C₅, la fonction cétone en C₃, la fonction cétone en C₂₀). Son catabolisme se fait aussi par d'autres voies dites secondaires. Les produits sont des dérivés hydroxyles dont le plus important est le prégnanediol éliminé dans les urines. Les autres dérivés subissent la glucuronocnjugaison (90 %) ou la sulfoconjugaison (10 %) puis sont éliminés dans les fèces ou les urines.

2.2.6. Techniques de dosage :

Le dosage de la progestérone est réalisée par des méthodes chromatographiques (HPLC, CPG) et des méthodes par compétition (RIA, IEA). Les principales caractéristiques recherchées par ces dosages sont la spécificité, la sensibilité, la précision, l'exactitude et l'économie. Avec le développement des dosages in vitro, comme les dosages radio-immunologiques (RIA), il est maintenant possible de doser les hormones dans les différents tissus de l'organisme ce qui permet le contrôle des activités métaboliques et de reproduction.

La radio-immunologie (RIA) :

La méthode repose sur la compétition entre la progestérone naturelle présente dans les échantillons de plasma ou de lait et de la progestérone marquée par un isotope ^{125}I pour un nombre limité de sites de fixation qui sont présents sur des anticorps spécifiques anti-progestérone en phase solide. La taux de progestérone marquée à l'iode (^{125}I) est inversement proportionnel à la concentration de la progestérone dans l'échantillon (17). Dans ce cas l'hormone à doser est considérée comme un antigène mis en contact avec un anticorps anti-hormone. La réaction immunologique est basée sur la compétition régie par la loi d'action de masse pour l'occupation du site réactionnel de l'anticorps par 2 antigènes. L'un sera marqué par un atome radioactif (^{125}I) et est dit antigène marqué ou « chaud » et l'autre non radioactif (hormone à doser) est dit « froid ». Le rayonnement émis par l' ^{125}I sera mesuré après incubation et séparation des fractions libres et liées.

Les principales applications de la RIA concernent les hormones protéiques (stimulines, hypophysaires et placentaires, insuline, etc.), les protéines sériques et les molécules dont le poids moléculaire est inférieur à 3000. Cependant, elle présente des limites et soulève des objections à la fois théoriques et pratiques. En effet, d'une part il n'est pas certain que la loi d'action de masse s'applique complètement lors du déroulement de la réaction en cours d'incubation, et d'autre part la plupart des anti-sérums disponibles ne sont pas spécifiques aux antigènes.

2.2.7. Intérêt et apports du dosage de la progestérone en zootechnie :

Le dosage de la progestérone dans le lait ou le sang est en particulier de grande valeur pour le contrôle de la fonction de reproduction chez la plupart des animaux domestiques. En effet, l'analyse des concentrations de progestérone plasmatique ou sérique périphérique permet de déterminer l'état physiologique des femelles (36 et 37).

2.2.7.1. Evolution de la progestérone au cours d'un cycle sexuel :

Les modifications physiologiques et comportementales de l'animal observées lors de l'œstrus sont la conséquence des variations de concentration d'hormones circulantes. Comme celle des oestrogènes, l'évolution de la concentration de progestérone est témoin de la cyclicité de l'activité sexuelle (17). Minimale pendant l'œstrus (jour 0), la concentration de progestérone s'élève progressivement à partir du 3^e ou 4^e jour pour atteindre un maximum du 7^e au 10^e jour du cycle et elle se maintient jusqu'au 17^e ou 18^e jour, période à laquelle elle chute brutalement suite à la lutéolyse (9). Ainsi, l'évolution de la progestéronémie au cours du cycle sexuel chez la vache montre (35) une phase lutéale longue caractérisée par des concentrations

plasmatiques supérieures à 0,5 ng/ml avec des concentrations maximales pouvant atteindre 4 à 10 ng/ml et une période de 4 à 6 jours autour de l'œstrus pendant laquelle la concentration de la progestérone est faible et inférieure à 0,5 ng/ml.

2.2.7.2. Détermination de l'état physiologique des femelles :

La concentration de la progestérone varie selon l'état physiologique de la femelle : cycle, gestation, anœstrus post-partum (Fig. 5). Durant le cycle normal, le niveau de base de la progestérone coïncide avec l'œstrus et le niveau maximal avec la phase lutéale. Puis, pendant la gestation la concentration plasmatique de progestérone augmente et atteint sa valeur maximale. Enfin, la période post-partum est la période de maintien de la concentration basale de la progestérone jusqu'au prochain œstrus. Ces variations peuvent être individuelles ou saisonnières (alimentation). Dans la pratique 3 cas peuvent être distingués (Tableau 1):

- les femelles n'ont pas été inséminées : elles n'ont pas été en contact avec des mâles depuis leur dernière mise bas ou avant leur mise en reproduction. Il s'agira donc de discriminer les femelles en anœstrus anovulatoire des femelles ovulatoires. Pour ce faire il faudrait mettre en évidence une phase lutéale (existence d'un corps jaune fonctionnel) chez les femelles ayant des cycles :

- les femelles ont pu être inséminées : cas des troupeaux dans lesquels les mâles sont présents en permanence. 3 catégories de femelles sont alors à différencier : les anovulatoires, les cycliques et les gravides. Pour différencier les gravides des cycliques il faut mettre en évidence chez ces dernières de faibles niveaux de progestérone pendant la période péri-ovulatoire. Les anovulatoires et les cycliques seront discriminées comme chez les femelles n'ayant pas été inséminées ;

- les femelles ont été inséminées à une date connue : il s'agit d'un diagnostic de non gestation après insemination artificielle. Une faible progestéronémie observée environ un cycle après insemination est caractéristique d'une femelle sûrement non gravide. Cette probabilité est supérieure à 99 % (38 cité par 37). L'exactitude des diagnostics négatifs est toujours élevée et celle des diagnostics positifs est toujours plus faible puisque toutes les femelles présumées gravides ne mettront pas bas du fait de mortalité embryonnaire plus ou moins précoce et de cas de pseudo-gestation (37)

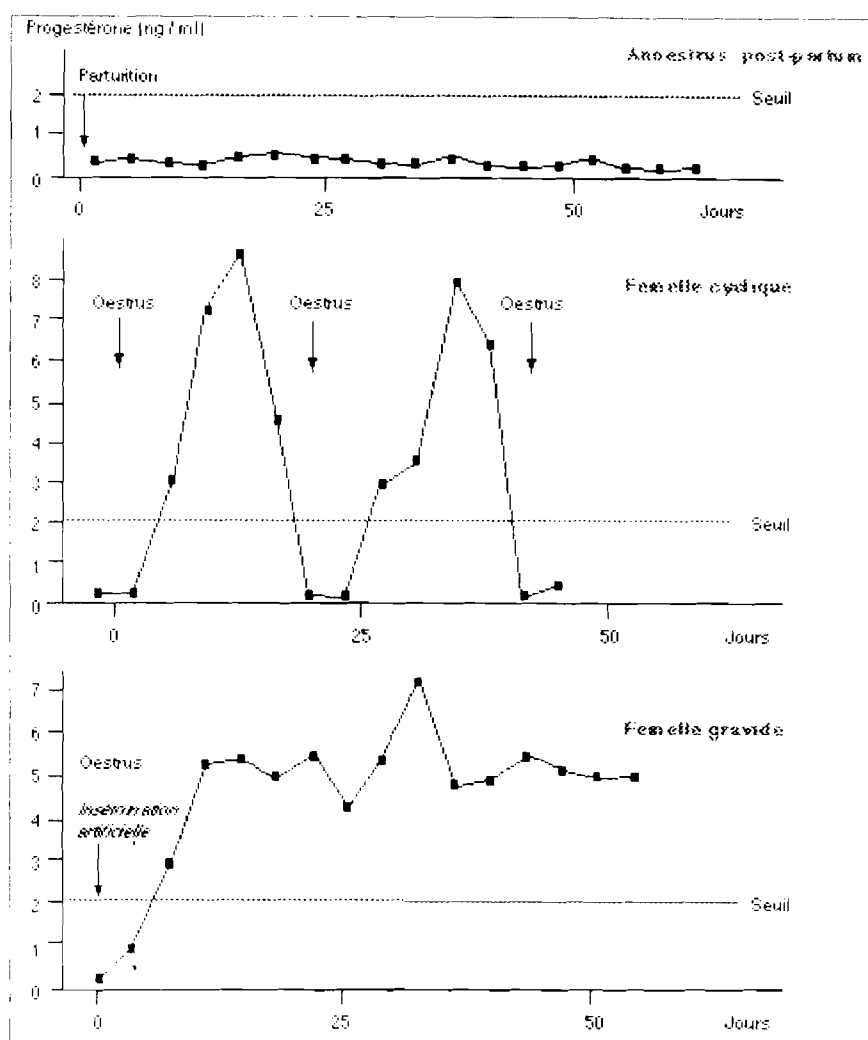


Figure 5 : Evolution des concentrations de progestérone plasmatique périphérique pendant l'anœstrus, au cours du cycle et au début de la gestation chez la vache (37).

Tableau 1 : Progéstéronémie et état physiologique d'une femelle (37).

| Moment du prélèvement | Progéstéronémie | Femelle | Etat physiologique |
|-----------------------------|-----------------|----------------------------------|---|
| Quelconque (1) | 0.5 ng/ml | Brebis, vache, jument, chèvre... | Cyclique. (phase lutéale) ou gravide (2) |
| | > 0.5 ng/ml | Brebis, vache, jument, chèvre... | Cyclique (période pré-ovulatoire) ou anœstrus |
| Un cycle après insemination | < 1 ng/ml | Brebis | Non gravide |
| | > 2 ng/ml | Vache, jument, chèvre... | Gravide (2) |

(1) un seul prélèvement est insuffisant pour déterminer l'état physiologique
(2) Eventuellement corps jaune persistant (pseudo-gestation)

CHAPITRE II : MAITRISE DE LA REPRODUCTION

Maîtriser la reproduction c'est maîtriser l'ensemble des techniques pour réduire les périodes improductives (10). En effet il s'agit d'optimiser la reproduction (réduction de l'intervalle vêlage-vêlage) et d'améliorer les conditions de production par le groupage des chaleurs.

1. Optimisation de la reproduction :

L'intervalle vêlage-vêlage (IVV) est le nombre de jours séparant 2 vêlages consécutifs d'une même vache. Il constitue l'un des paramètres les plus importants de la reproduction (39). Il est constitué de 3 périodes dont la 1^{ère} est la période post-partum d'une durée minimale de 2 mois incluant l'involution utérine, la 2^{ème} la période de service avec une activité ovarienne et la 3^{ème} la gestation qui dure $9,31 \pm 0,37$ mois. Les périodes post-partum et de service sont variables et l'optimisation de la reproduction consiste à la réduction de leur durée.

2. Amélioration des conditions de reproduction :

2.1. La synchronisation des chaleurs :

C'est l'application de traitements hormonaux afin d'induire un début synchrone des comportements d'œstrus et des ovulations sur une durée limitée dans le temps. Ceci constitue un pré-requis pour l'utilisation de l'IA et du transfert d'embryons. L'association entre un progestatif (délivré par une éponge vaginale ou un implant sous-cutané), un analogue de prostaglandines et la PMSG (pregnant mare serum gonadotropin maintenant appelé equine chorionic gonadotropin ou eCG) reste le moyen le plus efficace pour atteindre ces objectifs. Néanmoins, l'application répétée de ces traitements hormonaux peut induire une réponse immunitaire, avec l'augmentation de la concentration d'anticorps anti-eCG, d'intensité et de durée variables qui peut avoir des conséquences sur la fertilité (4).

Le programme d'insemination à temps fixe requiert 3 injections hormonales (2 injections de GnRH et 1 injection de prostaglandine) et une seule insémination, le tout sur une période de 10 jours (3). Celui-ci est une technique de synchronisation de l'œstrus, de l'ovulation et de l'IA subséquente sur une période assez courte.

2.2. La détection des chaleurs :

La plupart des études rapportent des taux de détection des chaleurs se situant autour de 40% (3). Elle revêt une grande importance dans les programmes d'IA surtout lors de

l'utilisation de semence provenant de taureaux de haute valeur génétique. De plus la manifestation effective des chaleurs et leur détection conditionnent de loin les délais de mise à la reproduction. Les méthodes de détection reposent sur plusieurs modifications physiologiques et comportementales de l'animal qui se produisent au moment de l'œstrus. L'observation visuelle reste la méthode la plus utilisée (Tableau II).

Tableau II : Principaux signes des chaleurs chez la vache (20).

| Début des chaleurs (6 - 10 heures) | Chaleurs proprement dites (16 - 18 heures) | Fin des chaleurs |
|---|--|---|
| Renifle les autres vaches ; chevauche ses compagnes ; vulve moite rouge et légèrement gonflée. | Se laisse monter ; beugle et est nerveuse ; diminution de la production laitière ; monte les autres vaches ; vulve rouge ; décharge de mucus clair ; pupille dilatée. | Ne se laisse plus monter ; flaire encore les autres ; décharge de mucus toujours clair. |

La détection des chaleurs s'avère d'autant plus difficile que 20% des vaches auraient : soit des chaleurs courtes, soit des chaleurs silencieuses, soit des chaleurs nocturnes (8). C'est pourquoi le moment et la fréquence sont importants pour la détection des chaleurs.

Quand les animaux ne peuvent pas être observés par l'éleveur, la détection est faite par d'autres moyens à savoir : l'utilisation d'un taureau vasectomisé portant un marqueur, l'utilisation d'un taurillon et de vaches traitées à la testostérone et l'utilisation de marqueurs de chevauchement.

2.3. L'insémination artificielle :

L'IA est la "biotechnologie" de reproduction la plus largement utilisée dans le monde, elle consiste à déposer le sperme dans l'endroit le plus convenable des voies génitales femelles, et au moment le plus opportun sans qu'il y ait un acte sexuel (20 et 27). C'est l'une des techniques les plus importantes conçue pour l'amélioration génétique des animaux, vu que quelques mâles sélectionnés produisent suffisamment de semence pour inséminer des milliers de femelles par an (1). Les avantages majeurs de l'IA sont : l'amélioration génétique, le contrôle des maladies vénériennes et/ou contagieuses, l'intérêt économique (1 et 20). Les inconvénients sont entre autres une perte possible de gènes (dans le cas de la sélection du caractère de haute production laitière, perte de la rusticité, de la longévité, de la fécondité, etc.) et une consanguinité (1 et 20)

Les principaux facteurs qui influencent l'IA peuvent être liés : au manque de développement des infrastructures en milieu rural et l'insuffisance des moyens de communication, au système d'organisation (continuité, ponctualité et rapidité d'intervention),

aux facteurs humains (technicité et savoir-faire de l'inséminateur, comportement et jugement de l'éleveur par rapport à l'IA, la conduite de son élevage et la détection des chaleurs), à des facteurs d'ordre technique (qualité de la semence, qualité génétique des taureaux utilisés) et au mode de conduite des troupeaux (gestion de la reproduction, hygiène et alimentation) (27).

2.4. Diagnostic de gestation :

En général, le diagnostic précoce de non gestation est nécessaire : pour identifier les animaux non gestants peu après l'insémination afin de réduire les périodes d'infertilité par des traitements appropriés, pour identifier les animaux pouvant être vendus, pour réduire les pertes dans les programmes de reproduction utilisant des techniques hormonales coûteuses et pour permettre une gestion économique du bétail (25). Les méthodes de diagnostic de gestation les plus connues sont la détermination du taux de non retour en chaleur, les méthodes immunologiques et les méthodes cliniques.

2.4.1. Détermination du taux de non retour :

L'absence d'œstrus après l'insémination est généralement utilisée comme indicateur de gestation. Cependant la fiabilité de cette méthode dépend de la précision de la détection des chaleurs dans le troupeau. Le retour en chaleur 3 semaines après insémination est le signe le plus fréquent d'une non gestation.

2.4.2. Méthodes immunologiques :

Elles reposent sur la détection ou la mesure de concentration de substances liées à la conception (25). Ces substances sont de 2 types : les substances spécifiques qui apparaissent dans le sang maternel lors de la gestation (eCG, early pregnancy factor ou EPF) et les substances non spécifiques dont le niveau dans le sang, l'urine ou le lait varie pendant la gestation (progestérone, sulfate d'œstrone).

2.4.3. Méthodes cliniques :

Ces méthodes reposent sur la découverte de la conception d'un fœtus, de membranes fœtales et de fluides fœtaux et englobent l'ultrasonographie et la palpation rectale (25). L'ultrasonographie ou échographie utilise des ultrasons de 1 à 10 MHz et permet de confirmer la gestation à partir du 35^{ème} jour après insémination (25). Cependant, son coût élevé entrave son utilisation courante chez les bovins.

La palpation rectale est possible dès le 40^{ème} jour chez les génisses et le 55^{ème} - 60^{ème} jour chez les vaches (32). L'utérus est palpé à travers la paroi rectale pour déceler son élargissement, la présence d'un fœtus et de membranes fœtales.

**DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE**

,

,

,

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

1. Objectifs :

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer le degré de fiabilité du diagnostic précoce de gestation par le dosage de la progestérone en rapport avec la palpation rectale. Pour ce faire les objectifs spécifiques visés sont : la caractérisation de l'état physiologique des vaches inséminées, la détermination du taux de réussite de l'IA, la comparaison des résultats du diagnostic précoce de gestation par le dosage de la progestérone et ceux de la palpation rectale à 2 mois.

2. Matériel :

2.1. Matériel animal :

Notre étude porte sur 126 échantillons de sang de vaches inséminées, provenant de 2 pays différents : 18 du Sénégal (Fatick) et 108 de la République de Guinée (Labé).

Les prélèvements de Fatick proviennent de 2 localités : Diakhao avec 1 Djakoré (métis Ndama x Zébu) et Niakhar avec 5 zébus. Ceux de Labé concernent 36 vaches de race Ndama provenant de 4 localités différentes : 8 à Bonkodion, 16 à Fatako, 2 à Karawil et 10 à Kollenguel. Ces animaux évoluent en élevage extensif avec un système d'alimentation basé uniquement sur les pâturages et une note d'état corporel variant entre 3 et 6 sur l'échelle de 9. Les chaleurs sont détectées visuellement à Fatick tandis qu'à Labé elles ne le sont pas, l'insémination étant faite 56 heures après le retrait des implants.

2.2. Matériel de dosage de la progestérone :

- les réactifs (tampon de coating, PBS, solution d'anticorps, étalons, Tween 20, progestérone marquée à l'¹²⁵I),
- des micropipettes automatiques ;
- des tubes stériles en polystyrène et du petit matériel de laboratoire ;
- un Compteur Gamma connecté à un micro-ordinateur

3. Méthodes :

3.1. Prélèvement et collecte des données :

Les prélèvements sont effectués par ponction de la veine jugulaire de l'animal le jour de l'insémination (J₀) puis 10-12 (J₁₀₋₁₂) et 21 (J₂₁) jours plus tard. Le sang est recueilli dans des tubes contenant de l'héparine de lithium. Les échantillons de s^e sont ensuite centrifugés à

3500 tours/minute pendant 5 minutes le même jour. Puis le plasma décanté est prélevé à l'aide de pipettes et introduit dans des tubes préalablement identifiés. Ils sont ensuite bien bouchés et gardés dans de la glace durant leur acheminement au Laboratoire de Physique et chimie Biologiques et Médicales de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (E.I.S.M.V.) de Dakar. Les échantillons sont conservés dans un congélateur jusqu'au jour du dosage de la progestérone.

Les données sont enregistrées sur un formulaire de collecte. Celui-ci indique le type d'information à recueillir.

3.2. Dosage radio-immunologique de la progestérone dans le sang :

Il se fait en 3 jours selon la méthode du self coating.

Le 1^{er} jour :

Les tubes sont identifiés avec la préparation de 2 tubes de détermination de la radioactivité totale (total counts ou TC), 2 tubes pour chaque étalon, 2 contrôles internes, 2 contrôles externes, et 1 tube pour chaque échantillon. Puis dans chaque tube sauf les TC nous avons introduit 300 µl de la solution d'anticorps préalablement préparée. Ensuite les tubes sont recouverts avec du parafilm et l'incubation est faite pendant 18 heures à 4°C.

Le 2^e jour :

Le contenu des tubes est versé dans un bac et le reste de la solution est éliminé en tapant vigoureusement l'ouverture des tubes sur un papier absorbant. Ensuite les tubes sont rincés 2 fois avec 500 µl de la solution de Tween 20 à 0,1 %.

D'une part, les 2 TC, sont remplis chacun avec 200 µl de la solution radioactive (progestérone marquée à l'¹¹²⁵) préalablement préparée. Puis la radioactivité de chaque TC est lue au compteur gamma (ou compteur monopuits) pendant 60 secondes. D'autre part, les tubes identifiés (étalons, contrôles internes, contrôles externes et échantillons) sont remplis respectivement chacun avec 40 µl de la solution qui lui correspond. Puis, à l'aide d'une pipette répétitive, 200 µl de la solution radioactive sont ajoutés dans chaque tube. Ensuite les tubes sont recouverts de parafilm et l'incubation est faite pendant 18 heures à 4 °C.

Le 3^e jour :

Le contenu des tubes est versé dans un bac approprié puis ces derniers sont séchés en maintenant leur ouverture contre un papier absorbant pendant 5 minutes. Ensuite, ces tubes sont rincés 2 fois avec 500 µl de solution de Tween 20 à 0,1 % et séchés. Enfin, la radioactivité est lue pour chaque tube au compteur gamma à 12 puits de type SOURCERER pendant 60

secondes et les résultats du dosage imprimés après avoir été traités par un programme appelé « RIA-BAT »

3.3. Analyse des données :

L'ensemble des données recueillies sur le terrain ainsi que les résultats du dosage de la progestérone et ceux de la palpation rectale ont été saisis dans la base de données AIDA (Artificial Insemination Database Application), un programme conçu pour enregistrer et traiter des données relatives à l'insémination artificielle. Celles-ci sont enfin analysées. Les tests statistiques ont été réalisés avec le logiciel SPSS 7.5 for windows.

CHAPITRE II : RESULTATS

1. Etats physiologiques des vaches inséminées :

La progestéronémie a permis de montrer 3 états physiologiques chez les vaches inséminées (tableau III) : la gestation, l'anœstrus et la cyclicité.

La gestation est caractérisée par une progestéronémie moyenne faible à J_0 (1 nmol/l), élevée à J_{10-12} (10,287 nmol/l) et à J_{21} (15,972 nmol/l).

L'anœstrus montre des concentrations moyennes de progestérone faibles pour tous les 3 prélèvements. A J_0 ce taux est de 0,148 nmol/l, atteint 0,343 nmol/l à J_{10-12} et 0,163 à J_{21} .

La cyclicité présente des concentrations moyennes de progestérone faibles à J_0 (0,721 nmol/l), élevées à J_{10-12} (5,487 nmol/l) et moins élevées à J_{21} (3,014 nmol/l).

Tableau III : Progestéronémie en fonction de l'état physiologique des vaches

| Etats physiologiques | Valeurs moyennes de la progestéronémie (nmol/l) | | |
|----------------------|---|-------------|----------|
| | J_0 | J_{10-12} | J_{21} |
| Gestation présumée | 1,000 | 10,287 | 15,972 |
| Anœstrus | 0,148 | 0,343 | 0,163 |
| Cyclique | 0,721 | 5,487 | 3,014 |

1 ng/ml = 3,18 nmol/l

La proportion des différents états physiologiques des vaches inséminées est variable en fonction des localités (Tableau IV)

Le pourcentage de gestation présumée des différentes localités correspond au taux de réussite de l'IA associé au taux de faux positifs suivant ces mêmes localités. Quant aux pourcentages des femelles en anœstrus et cycliques, ils constituent la part de chacun de ces états au taux d'échec de l'IA.

Le pourcentage moyen de femelles en anœstrus est de 14,58% avec un minimum de 0% à Kollenguel, Diakhao et Niakhar ; un maximum de 50% à Karawil en passant par 12,5% à Bonkodion et 25% à Fatako.

Le pourcentage moyen de femelles cycliques est de 33,96% avec un minimum de 0% à Diakhao et un maximum de 56,25% à Fatako. A Bonkodion, Kollenguel et Niakhar ce pourcentage inférieur à 50 est respectivement de 37,5%, 20%, 40%. A Karawil ce taux est de 50%.

Tableau IV : Etats physiologiques des vaches inséminées selon les localités

| Localités | Etats physiologiques (en %) | | |
|----------------|-----------------------------|----------|-----------|
| | Gestation | Anœstrus | Cycliques |
| Bonkodion | 50 | 12,5 | 37,5 |
| Fatako | 18,75 | 25 | 56,25 |
| Karawil | 0 | 50 | 50 |
| Kollenguel | 80 | 0 | 20 |
| Diakhao | 100 | 0 | 0 |
| Niakhar | 60 | 0 | 40 |
| Moyenne | 51,46 | 14,58 | 33,96 |

2. Taux de réussite de l'insémination artificielle par palpation rectale :

Sur les 42 vaches inséminées, le nombre de vaches qui se sont avérées gestantes atteint une moyenne de 45,41%. Ce taux est variable en fonction des localités et fluctue entre un minimum de zéro à Karawil et un maximum de 100% à Diakhao. A Bonkodion et Kollenguel ce taux est égal à 50% tandis qu'à Fatako il est 12,5%. A Niakhar, ce taux est de 60%. Cependant l'inégalité des données disponibles au niveau des différentes localités ne permet pas de faire une comparaison objective entre les taux de réussite de l'IA de ces localités.

Tableau V : Réussite de l'IA selon les localités.

| Localité | Effectif total des vaches | Femelles gravides (en %) | Femelles non gravides (en %) |
|------------|---------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Bonkodion | 8 | 50 | 50 |
| Fatako | 16 | 12,5 | 87,5 |
| Karawil | 2 | 0 | 100 |
| Kollenguel | 10 | 50 | 50 |
| Diakhao | 1 | 100 | 0 |
| Niakhar | 5 | 60 | 40 |

3. Conformité entre le dosage de la progestérone et la palpation rectale :

La comparaison des 2 méthodes de diagnostic fait ressortir 2 cas de figure : des analyses de la progestéronémie recoupant les résultats de la palpation rectale, et d'autres pour lesquelles les résultats de la progestéronémie sont infirmes par la palpation rectale

Dans le premier cas, il s'agit de gestation avec une progestéronémie à $J_{21} > 3$ nmol/l, d'état d'anœstrus (progestéronémie peu différente de 0 aux 3 prélèvements) et de cas de cyclicité (progestéronémie basse à J_0 et à J_{21} et élevée à J_{10-12}).

Dans le second cas, il s'agit de gestation avec un taux de progestérone à $J_{21} > 3$ nmol/l et de cas de non gestation avec une progestéronémie élevée à J_{21} .

La conformité des 2 méthodes de diagnostic de gestation est de 69,05%. Elle concerne :

- 19,05% des vaches ont été préalablement suspectées par le dosage de la progestérone et confirmées gestantes par la palpation rectale (vrais positifs)
- et 50% des vaches ont été suspectées non gestantes après dosage de la progestérone et confirmées non gravides à la palpation rectale (vrais négatifs).

Cependant, des cas de discordance sont mis en évidence et constituent 30,95% de l'effectif total des vaches. Il s'agit :

- des vaches présumées gestantes par le dosage de la progestérone et qui ont été testées négatives à la palpation rectale dont le taux est de 14,29% (faux positifs) .
- et des vaches présumées non gestantes qui ont été confirmées gestantes qui constituent 16,66% de l'effectif (faux négatifs)

La sensibilité du dosage de la progestérone qui est sa capacité de donner un diagnostic positif quand il est vraiment positif est de 53,33% tandis que sa spécificité qui est la capacité de donner un diagnostic négatif quand il est vraiment négatif est de 77,78%

La valeur prédictive positive (VPP) qui est la capacité de prévoir un diagnostic positif lorsque la progestéronémie à $J_{21} > 3$ nmol/l est de 57,14% et la valeur prédictive négative (VPN) qui est la capacité de prévoir un diagnostic négatif quand la progestéronémie à $J_{21} < 3$ nmol/l est de 75%.

Tableau VI : Tableau de contingence du dosage de la P4 et de la palpation rectale.

| Etats physiologiques | Gestation confirmée par la palpation rectale | Non gestation confirmée par palpation rectale |
|---|---|--|
| Gestation présumée par le dosage de la progestérone | 19.05 % (VP) | 14.29 % (FP) |
| Non gestation présumée par le dosage de la progestérone | 16.66 % (FN) | 50 % (VN) |

L'analyse de la variance à un facteur pour déterminer les différences de niveaux de la progestéronémie entre les vaches gestantes et celles non gestantes (Tableau VII) montre une différence significative à J_{21} (≤ 0.05)

Tableau VII : Moyennes et écart-types de la progestéronémie chez les vaches inséminées à J0, J10-12 et J21.

| | Non gestantes | | Gestantes | | Probabilités |
|--------|---------------|------------|-----------|------------|--------------|
| | Moyenne | Ecart-type | Moyenne | Ecart-type | |
| J0 | 0,67 | 1,21 | 0,81 | 1,17 | 0,709 (DNS) |
| J10-12 | 5,49 | 8,35 | 6,75 | 6,49 | 0,614 (DNS) |
| J21 | 1,41 | 2,91 | 11,30 | 14,75 | 0,002 (DS) |

Le test du χ^2 montre une différence significative ($p=0,005$) entre les progestéronémies des vaches gestantes et celles non gestantes. Le coefficient de corrélation R est égal à 0.46.

CHAPITRE III : DISCUSSION

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence différents états physiologiques chez les vaches inséminées, de déterminer un taux de réussite de la gestation et de comparer les 2 méthodes de diagnostic de la gestation.

1. Les différents états physiologiques :

En effet, 3 états physiologiques ont été mis en évidence chez les vaches inséminées.

Il s'agit des femelles cycliques chez lesquelles la progestéronémie varie entre des valeurs moyennes de 0,721 nmol/l à J₀, 5,487 nmol/l à J₁₀₋₁₂ et 3,014 nmol/l à J₂₁. En effet, chez les femelles cycliques ou ovulatoires, les concentrations de progestérone sont caractérisées par une alternance de valeurs faibles pendant la période péri-ovulatoire et élevées pendant la majeure partie de la phase lutéale. Nos observations rejoignent celles faites dans les travaux de plusieurs auteurs. La concentration de progestérone minimale le jour de l'œstrus s'élève pour atteindre un maximum vers le 10^{ème} jour du cycle où elle se maintient jusqu'au 18^{ème} jour puis chute brutalement vers le 21^{ème} jour (9 et 37). C'est ainsi qu'un seul prélèvement avec une valeur supérieure au seuil est indicatif d'une activité lutéale.

Chez les femelles en anœstrus tous les 3 prélèvements montrent une progestéronémie faible inférieure à 0,5 nmol/l. En effet l'anœstrus relève d'une inactivité ovarienne après la mise bas. Des valeurs plus élevées sont mises en évidence dans d'autres travaux, soit 0,9 nmol/l chez le zébu Azawak (16) voire 1,5 nmol/l chez des races européennes (37). L'anœstrus n'est pas une maladie mais le signe d'une variété de conditions dénotant un état d'inactivité sexuelle complète sans manifestation de chaleurs (24). Chez la vache la période d'anœstrus peut aller de 20 à 100 jours et parfois même davantage même davantage selon la race, la lactation, l'allaitement, les conditions d'alimentation ou d'exploitation (9). Chez le zébu Azawak, la durée moyenne de l'anœstrus augmente avec l'allongement de la période de tétée (16)

Les femelles présumées gravides présentent une valeur moyenne de progestéronémie de 1 nmol/l à J₀ qui s'élève à 10,287 nmol/l à J₁₀₋₁₂ pour se maintenir à 15,972 nmol/l à J₂₁. En effet après une évolution comparable à celle observée au début du cycle, la concentration de progestérone reste élevée durant toute la gestation, le corps jaune étant indispensable à l'installation et à la poursuite de la gravidité. Des observations similaires ont été déjà faites (9 et 37). Néanmoins une seconde situation peut se présenter et concerne des femelles non gravides avec une progestéronémie qui serait attribuée à la gestation. Cela adviendrait d'une mortalité embryonnaire, de la persistance d'un corps jaune (pseudo-gestation) ou de cycles

longs. En effet au delà de 16 jours après IA, la progestéronémie reste élevée pendant quelques jours même si la vache n'est plus gestante (32). La mortalité embryonnaire après fertilisation est difficile à estimer. Les pertes embryonnaires chez les bovins sont évaluées à plus de 40 % (22 et 30 cités par 2 et 24) les situent à près de 50 %. Chez les bovins la mortalité embryonnaire après insémination naturelle ou artificielle survient la plupart du temps entre le 8^{ème} et le 16^{ème} jour durant l'implantation du blastocyste (24). Le dosage des protéines spécifiques de la gestation comme la P.S.P.B (pregnancy specific protein B) permet de préciser le moment des pertes embryonnaires ou fœtales (2). La mortalité embryonnaire peut avoir plusieurs origines à savoir : génétique, endocrine, nutritionnelle, immunologique, environnementale. Elle peut aussi être due à une aberration chromosomique, une infection, ou à la lactation (24).

2. Taux de réussite de l'IA :

Le taux moyen de gestation enregistré dans cette étude est de 45,41 %. D'autres travaux ont permis d'obtenir des taux de réussite comparables. En effet, chez le zébu Gobra, des taux de 40 % après insémination artificielle et 43,75 % en saillie naturelle ont été obtenus (9). Chez la Ndama, des taux de 40 et 52,5 % après une insémination respectivement sur chaleurs synchronisées et sur premiers retours de chaleurs ont été mis en évidence par (6).

Le taux de réussite de l'IA très faible dans certaines localités (12,5 % à Fatako) pourrait être lié à un problème d'infertilité. En effet, ce paramètre de la reproduction demeure difficile à mesurer car il implique plusieurs facteurs tels que la fertilité de la vache, la fertilité de la semence, l'efficacité de la détection des chaleurs et de l'insémination artificielle. La fertilité de la vache dépend largement de certaines conditions comme l'alimentation et l'état physiologique (2). C'est ainsi que certaines carences en minéraux, oligo-éléments et vitamines sont impliquées dans les phénomènes d'anœstrus chez les vaches laitières (33). Ceci pourrait expliquer le taux non négligeable de femelles en anœstrus à Fatako où le système d'alimentation est basé uniquement sur les pâturages. L'inefficacité de la détection des chaleurs peut expliquer les taux élevés de femelles en anœstrus en Guinée (Bonkodion, Fatako et Karawil) où l'IA est faite 56 heures après le retrait des implants sans détection de chaleurs. Diverses études ont montré qu'il n'était pas possible à un éleveur si expérimenté soit-il de dépasser le seuil de 80 % de détection de chaleur (8). Cet auteur considère la détection des chaleurs comme étant le premier facteur responsable des variations de résultats de reproduction et de ce fait conditionnant le succès et le profit de tout programme d'IA.

56,25 % des vaches se sont avérées cycliques. Ce taux élevé montre que l'alimentation et la détection des chaleurs ne sont pas les seules responsables du faible taux de réussite de l'IA et que l'efficacité de l'insémination est un paramètre important dans cette étude.

3. Comparaison du dosage de la progestérone et de la palpation rectale :

La conformité entre le dosage de la progestérone et la palpation rectale atteint un taux de 69,05 % dont les 50 % constituent de vrais négatifs. Ces observations confirment celles de (37) qui stipule que l'exactitude des diagnostics négatifs est toujours plus élevée. C'est ainsi que l'estimation du niveau de progestérone plasmatique périphérique est appelée une méthode de diagnostic précoce de non gestation. En effet, une vache avec une progestéronémie élevée n'est pas forcément gestante (25). Plusieurs raisons peuvent être à la base d'un diagnostic positif incorrect à savoir : une mortalité embryonnaire survenue entre le moment du prélèvement et celui de la palpation rectale, une insémination faite durant la phase lutéale, la présence d'un ou de plusieurs corps jaunes persistants (pseudo-gestation) ou l'existence de cycles trop courts ou trop longs (25 et 37). Les diagnostics négatifs incorrects peuvent être dus à une erreur d'identification des animaux ou des prélèvements mais aussi à une erreur de manipulation lors du dosage. Néanmoins, l'exactitude des diagnostics positifs devrait être supérieure à 70 % chez les bovins et en dessous de cette valeur, des troubles alimentaires, nutritionnels, sanitaires et éventuellement une mauvaise détection des chaleurs pour les inséminations, devraient être suspectés (37).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le diagnostic précoce de gestation se trouve être un moyen de contrôle pour la réussite de l'IA et par conséquent un outil d'optimisation des productions bovines. En effet, l'estimation des concentrations de progestérone plasmatique ou sérique périphérique est un outil expérimental pertinent largement utilisé dans le monde entier. Au cours de la gestation, la concentration de progestérone reste élevée. Cette observation est à la base du diagnostic précoce de gestation.

La sensibilité trouvée est de 53,33 % et la spécificité de 77,78 %. La valeur prédictive positive est de 57,14 % et la valeur prédictive négative de 75 %. Le dosage de la progestérone est donc surtout une méthode de diagnostic précoce de non gestation.

Dans le but d'augmenter la prévision de gestation, les vaches présumées gravides après dosage de la progestérone pourrait faire l'objet de dosage des protéines associées à la gestation réalisé à 30 jours après insémination.

Le taux de réussite de l'IA est de 45,41 %. De nombreux aspects de la reproduction doivent encore être améliorés chez les races bovines africaines, en particulier certains relatifs à la fertilité (fertilité femelle, mortalité embryonnaire). Ainsi une supplémentation alimentaire serait souhaitable pour améliorer la qualité des pâturages par l'apport de concentrés riches en nutriments et par des aliments énergétiques tels que la mélasse.

Dans le but de réduire le facteur génétique impliqué dans la mortalité embryonnaire, une sélection des gènes du taureau devrait être faite en fonction de leur compatibilité avec ceux des femelles locales à inséminer.

La sensibilisation des éleveurs serait d'un apport considérable à l'efficacité de la reproduction car ceci est à l'origine du faible effectif utilisé qui n'a pas permis de faire une analyse statistique poussée. En effet, beaucoup de vaches n'ont pas fait l'objet de 3 prélèvements et 50 % des vaches à Diakhao sont absentes à la palpation rectale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **AX, R. L., DALLY, M. R., DIDION, B. A. et al.** 2000. Artificial insemination. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 376-389.
- 2- **BODIN, L., ELSEN, J. M., HANOCQ, E. et al.** 1999. Génétique de la reproduction chez les ruminants. *INRA Prod. Anim.* **12**, 87-100.
- 3- **BRASSARD, P., MARTINEAU, R. & TWAGIRAMUNGU, H.** 1997. L'insémination à temps fixe : enfin possible. *Symposium sur les bovins laitiers*, CPAQ : 77-92.
- 4- **CHEMINEAU, P., BARIL, G., LEBOEUF, B. et al.** 1999. Implication des progrès récents en physiologie de la reproduction pour la conduite de la reproduction dans l'espèce caprine. *INRA Prod. Anim.*, **12** (2), 135-146.
- 5- **CHEMINEAU, P. & DELGADILLO, J. A.** 1994. Neuroendocrinologie de la reproduction chez les caprins. *INRA Prod. Anim.* **7** (5), 315-326.
- 6- **CISSE, A. B.** 1993. Synchronisation des chaleurs chez des vaches Ndama et zébu Maure avec de la prostaglandine F_{2α}. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apports des technologies nouvelles, Aupelf Neas, Sénégal*, 21-26.
- 7- **CONSERE.** 1997. *Plan National d'Action pour l'Environnement*. Ministère de l'Environnement et de la Protection de la Nature, République du Sénégal, 158 p.
- 8- **DECUADRO, H.** 2000. L'importance de la détection des chaleurs chez la vache : applications pratiques. *J. Anim. Reprod. Tech.*, N° 1, 4 p.
- 9- **DELAHAUT, P., SULON, J., ECTORS, F. & BECKERS, J.-F.** 1997. Le diagnostic de la reproduction : fertilité, gestation, anœstrus. *Cahiers Agricultures*, **6** (2), 137-148.
- 10- **DIADHIOU, A.** 2001. Etude comparative de deux moyens de maîtrise de la reproduction (l'implant CRESTAR[®] et la spirale PRID[®]) chez les vaches Ndama et Gobra au Sénégal. *Thèse vétérinaire*, EISMV, Dakar. 92 p.
- 11- **DIOP, P. E. H., LAMOTHE, P., ALLAIRE, F. et al.** 1989. Le transfert d'embryons au Sénégal : résultats préliminaires. *African Biosciences Network-Symp. Biol. Food Prod. Afr., Le rôle de la biologie dans la solution de la crise alimentaire en Afrique II-Actes*, A. T. Ba & M. NDOYE, Côte-d'Ivoire, 371-375.
- 12- **DIOP, P. E. H.** 1993. Biotechnologies et élevage africain. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apports des technologies nouvelles, Aupelf Neas, Sénégal*, 145-159.
- 13- **FIENI, F., ROQUES, J. M., TAINURIER, D., BRUYAS, J. F., BUGGIN, M. & DAUBIE, M.** 1993. L'insémination artificielle intra-utérine, sous contrôle endoscopique chez les petits ruminants : une technique d'avenir. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apports des technologies nouvelles, Aupelf Neas, Senegal*. 91-105

- 14- FIENI, F., TAINTURIER, D., BUGGIN, M., BRUYAS, J. F., MERCIER, A. & DAUBIE, M. 1993. La transplantation embryonnaire caprine par voie chirurgicale : technique et résultats. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apports des technologies nouvelles, Anpelf Neas*, Sénégal, 261-266.
- 15- FOGWELL, R. L., COWLEY, J. L., WORTMAN, A., AMES, N. K. & IRLAND, J. J. 1985. Luteal function in cows following destruction of ovarian follicles at midcycle. *Theriogenology*, **23**, 389 p.
- 16- GOURO, S. A. 1993. Etudes préliminaires de la reproduction chez la femelle zébu azawak (*Bos indicus*) : progestéronémie au cours de l'œstrus post-partum et influence de l'allaitement. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apport des technologies nouvelles, Anpelf Neas*, Sénégal, 275-281.
- 17- GUEROUALI, A. 1996. Production animale: Application des techniques nucléaires. *Terre et Vie*, N°111, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Dép. Physiol. Anim. Thérapeut.
- 18- HAFEZ, E. S. E. & HAFEZ, B. 2000. Anatomy of female reproduction. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 13-29.
- 19- HAFEZ, E. S. E., JAINUDEEN, M. R. & ROSNINA, Y. 2000. Hormones, Growth Factors, and reproduction. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 33-54.
- 20- HASKOURI, H. 2001. *Gestion de la reproduction chez la vache : insémination artificielle et détection des chaleurs chez la vache*. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, Dép. Reprod. Anim. Insém. Artif., Maroc, 11 p.
- 21- HORTON, H. R., MORAN, L. A., OCHS, R. S., RAWN, J. D. & SCRIMGEOUR, K. G. 1994. *Principe de Biochimie*. De Boek-Wesmael S.A., Bruxelles, 720 p.
- 22- HUMBLLOT, P. 1986. La mortalité embryonnaire chez les bovins. *Colloque S.F.E.F.*, 213-246.
- 23- JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E. S. E. 2000. Cattle and Buffalo. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 159- 171.
- 24- JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E. S. E. 2000. Reproductive Failure in Females. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 261-278.
- 25- JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E. S. E. 2000. Pregnancy Diagnosis. *Reproduction in Farm Animals*, Hafez & Hafez, 7th edition, South Carolina USA, 395-404.
- 26- LOUISOT, P. 1983. *Biochimie générale médicale, structurale, métabolique et sémiologique*. Villeurbanne. Paris. Simep. 1008 p.
- 27-. L'insémination artificielle de bovins: une biotechnologie au service des éleveurs. 2000 *Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture*. Rabat. Maroc. N° 65 4 p

- 28- MARTÍNEZ, M. F., KASTELIC, J. P., ADAMS, G. P. & *Al*. 2000. Oestrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol, or GnRH. *Can. Vet. J.* **41**, 786-790
- 29- MBAYE, M & NDIAYE, M. 1993. Etudes des chaleurs et de la fertilité après un traitement de maîtrise de la reproduction chez la vache zébu gobra. *Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants, Apports des technologies nouvelles, Anpelf Neas, Sénégal*, 27-37.
- 30- MIALON, M. M., CAMOUS, S., RENAND, G., MARTAL, J., MENISSIER, F. 1993. Peripheral concentrations of a 60-kDA pregnancy serum protein during gestation and after calving and its relationship to embryonic mortality in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, **33**, 269-282.
- 31- NISWENDER, G. D. & NETT, T. M. 1988. The corpus luteum and its control. The physiology of reproduction. *Raven Press, Ltd. New York*, **1**, 489 pp.
- 32- RYCHEMBUSCH, V. 2001. La gestation se confirme. *Journes Agriculteurs*, N° 560, Paris :
- 33- SAWADOGO, G. J. 1998. Contribution à l'étude des conséquences nutritionnelles subsahariennes sur la biologie du zébu Gobra au Sénégal. *Thèse d'Université*, INP Toulouse, 213p.
- 34- SAWADOGO, G. J., MINOUNGOU, S., ZOMA, N., DIOP, M. & LY, R. 1989. Effets de l'âge, des productions et de l'alimentation sur la biochimie sérique du zébu Gobra. *African Biosciences Network-Symp. Biol. Food Prod. Afr., Le rôle de la biologie dans la solution de la crise alimentaire en Afrique II-Actes*, A. T. Ba & M. Ndoye, Côte-d'Ivoire, 409-414.
- 35- THIMONIER, J. 1973. Diagnostic précoce de gestation par l'estimation du taux de progestérone plasmatique chez la brebis, la vache et la jument. *Rec. Méd. Vét.*, **149**, 1303-1318.
- 36- THIMONIER, J. 1978. L'activité ovarienne chez les bovins. Moyens d'étude et facteurs de variation. *Ann. Méd. Vét.*, **122**, 81-92.
- 37- THIMONIER, J. 2000. Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progestérone. *INRA Prod. Anim.*, **13**, 177-183.
- 38- THIMONIER, J., BOSC, M., DJIANE, J., MARTAL, J. & TERQUI, M. 1977. Hormonal diagnosis of pregnancy and number of fetuses in sheep and goats. *Management of Reproduction in Sheep and Goats Symposium*, University of Wisconsin, Madison. 79-88.
- 39- YAMEOGO, N. 1997. Variations saisonnières du statut nutritionnel et de la reproduction des vaches locales dans les élevages traditionnels de la zone péri-urbaine de Dakar. *DEA*, Université Cheikh Anta Diop, Dakar, 80 p

Mujet : Evaluation du diagnostic précoce de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang chez des vaches inséminées en élevage traditionnel

Nom de la candidate : Rose Nicole Gnilane NGOM

Nature : DEA de Productions animales

Commission d'examen :

| | | |
|----------------|-------------------------|-------------------|
| Président : M. | François Adebayo ABIOLA | Professeur, EISMV |
| Membres : MM. | Papa El Hassane DIOP | Professeur, EISMV |
| | Germain SAWADOGO | Professeur, EISMV |
| | Malang SEYDI | Professeur, EISMV |
| | Bhen Sikini TOGUEBAYE | Professeur, UCAD |

Présenté et soutenu publiquement le 12 juillet 2002

RESUME :

Notre étude a porté sur 126 échantillons de sang provenant de 42 vaches inséminées du Sénégal et de la République de Guinée. L'objectif était d'apprécier le degré de fiabilité du dosage de la progestérone par la RIA par rapport à la palpation rectale en vue d'un diagnostic précoce de gestation. La concentration de progestérone dans le sang a été déterminée le jour de l'insémination, à 10-12 et à 21 jours après l'IA. Les informations relatives à la ferme, aux animaux, à l'inséminateur et à la semence ont été enregistrées dans la base de données AIDA (artificial insemination database application).

3 états physiologiques ont été mis en évidence chez les vaches inséminées à savoir : les cycliques, les femelles en anœstrus et celles gestantes. Le taux de gestation enregistré est de 45,41%. Le dosage de la progestérone a révélé une sensibilité de 53,33%, une spécificité de 77,78%, une valeur prédictive positive de 57,14% et une valeur prédictive négative de 75%.

Mots-clés : diagnostic de gestation - élevage traditionnel - états physiologiques - insémination artificielle - palpation rectale - progestérone - race bovine - RIA

ABSTRACT :

This study has examined 126 samples of blood coming from 42 inseminated cows of Senegal and the Republic of Guinea. The aim was to appreciate the degree of reliability of progesterone test by RIA compared to rectal palpation for early diagnosis of gestation. Progesterone concentration in blood was taken the day of the insemination, at 10-12 and 21 days after artificial insemination. Informations about the farms, animals, inseminator and semen batch was recorded in AIDA database (artificial insemination database application). Three physiological states were highlighted in the cows inseminated : the cyclic ones, females in anestrus and those gravids. The gestation rate recorded is 45,41%. The progesterone test revealed a sensitivity of 53,33%, a specificity of 77,78%, a positive predictive value of 57,14% and a negative predictive value of 75%.

Key words : pregnancy diagnosis - traditional farm - physiological states - artificial insemination - rectal palpation - progesterone - bovine breed - RIA