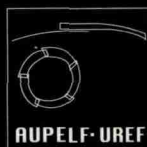


Papa El Hassane Diop
Abdellah Mazouz

REPRODUCTION
ET PRODUCTION
LAIÈRE



ds

actualité scientifique

SERVICED

REPRODUCTION ET PRODUCTION LAITIÈRE

© AUPELF UREF

Il est interdit de reproduire intégralement ou partiellement le présent ouvrage - loi du
11 mars 1975 - sans autorisation de l'AUPELF UREF

ISBN : 9973 - 9753 - 1 - 6

REPRODUCTION ET PRODUCTION LAITIÈRE

III^{èmes} Journées Scientifiques : Réseau thématique de recherche
Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF
«Reproduction et production laitière».
(Université des Réseaux d'Expression Française)

SOUS LA DIRECTION DE :

Papa El Hassane Diop
Abdellah Mazouz

S E R V I C E D

Sommaire

Avant-propos	9
Préface	11
Comité du réseau Biotechnologies Animales	12
Liste des auteurs	13

1ère session : Production laitière

1. Production laitière en Afrique au sud du Sahara : problématique et stratégie	
<i>P. E. H. Diop</i>	19
2. Production laitière : problématique et stratégie (expérience des pays du nord)	
<i>E. Bouchard, M. Bigras-Poulin</i>	27
3. L'élevage bovin laitier au Maroc	
<i>A. Tber</i>	35
4. Aperçu sur la production laitière au Cameroun	
<i>O. Messine, V.N. Tanya, D.A. Mbah</i>	45
5. Amélioration génétique des bovins laitiers. Situation et bilans.	
<i>A. Benlekhal</i>	55
6. La production laitière au Sénégal : contraintes et perspectives	
<i>M. Ba Diao</i>	63
7. Place du système d'élevage intensif dans la production du lait au Sénégal; exemple de la société alimentaire SOCA	
<i>M.A. Sow, P.E.H. Diop</i>	75
8. La production laitière sur les hautes-terres malgaches : données récentes et stratégie de recherche	
<i>J.H. Rasambainarivo, M. Rabehanitriniony, M. Ratovonahary, Rakotondravao et E. Rafalimanantsoa</i>	81
9. Utilisation du logiciel «DairyChamp®» pour le suivi et la gestion des élevages laitiers : cas d'unités pépinières dans la région de Tanger	
<i>A. Ilham, A.Koraichi</i>	85

2ème session : Les outils du diagnostic au service de la reproduction

10. Le diagnostic au service de la reproduction : Fertilité - Gestation - Anoestrus	
<i>Ph. Delahaut, J. Sulong, F. Ectors et J.F. Beckers</i>	95
11. Mycoplasmoses des ruminants. Utilisation des outils de la biologie moléculaire	
<i>F. Thiaucourt</i>	103
12. Investigations cytogénétiques et virologiques (BVD) sur les taureaux du centre d'insémination artificielle de Sidi Thabet	
<i>I. Turki</i>	109
13. Etude des facteurs de risque de l'infertilité chez la vache laitière	
<i>Ch. Hanzen, JY. Houtain, Y. Laurent</i>	119

14. Cinétique de la bPAG (bovine pregnancy associated glycoprotein) dans le plasma et dans le lait au cours des trois semaines suivant le part chez la vache laitière	
<i>D. Tainturier, M. Bedel, J.F. Beckers, F.Fieni et J.F. Bruyas</i>	129
15. La gestion informatisée de la production : un outil de diagnostic pour les élevages laitiers	
<i>Ch. Hanzén, J.Y. Houtain, Y. Laurent</i>	135
16. Etude de l'activité lutéolytique d'un analogue de prostaglandine, l'étioproston, chez les femelles bovines présentant de l'anoestrus ou du suboestrus	
<i>F. Ascher, D. Tainturier, B. Lebreux, F. Fieni</i>	143
17. Utilisation des comptages cellulaires du lait dans la lutte contre les mammites bovines	
<i>F. Badinand</i>	153
18. La mammite subclinique : étude épidémiologique utilisant le CMT, le CCS et la microbiologie	
<i>Z. Zouagui, H. Lakhdi, H. Idrissi, G. Boniface</i>	169
19. Diagnostic précoce de gestation chez les bovins par dosage d'une protéine trophoblastique : la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : Bovine Pregnancy Associated Glycoprotein)	
<i>J. Chemli, D. Tainturier, J.F. Beckers, L. Hmidi, I. Zaiem</i>	179
20. La rétention placentaire chez la vache : essai de prévention par l'injection d'ergométrine et de sérotonine	
<i>I. Zaiem, D. Tainturier, T. Abdelghaffar et J. Chemli</i>	193

3ème session : Les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction

21. Actualités sur les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction en élevage bovin	
<i>M. Thibier et M. Nibart</i>	203
22. Les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction des petits ruminants	
<i>D. Tainturier, F. Fieni, J.F. Bruyas, I. Battut</i>	217
23. L'hormone de croissance (G.H.) ou somatotropine bovine (BST) et son utilisation en élevage bovin laitier	
<i>F. Badinand et A. Lahlou-Kassi</i>	235
24. Expression du récepteur à l'hormone folliculo-stimulante bovine et d'un anticorps monoclonal anti-FSH bovine par des bactériophages	
<i>M.N. Diouf, A. Houde, W. Silversides et J. Lussier</i>	249
25. Utilisation des techniques nouvelles de reproduction dans le programme d'amélioration génétique du cheptel bovin laitier au Maroc	
<i>N. Lotfi, A. Benlekhal, A. Mazouz, M. Battar, A. Ezzahiri, M. Bouhaddane</i>	263

26. La technique de transfert d'embryons bovins chez les éleveurs : moyen d'accroître le progrès génétique.	
<i>A. Mazouz, N. Lotfi, R. El Aich, H. Lakhdissi, A. Hachi, L. Elaidi</i>	271
27. Résultats préliminaires d'un programme de transfert d'embryons conduit en ferme	
<i>H.Lakhdissi, B. Ouanane</i>	279
28. Transfert d'embryons dans une unité laitière au Sénégal : La SOCA	
<i>P.E.H. Diop, M.A. Sow, Kh. Senghor, M. Sy, M.N. Diouf, TH. Bazarusanga</i>	287
29. Effet de différents traitements sur la réponse à la superovulation chez la race bovine «Oulmes Zaer»	
<i>L. Elaidi, F. Ectors, H. Lakhdissi</i>	295
30. Transplantation embryonnaire chez la race bovine «Oulmes-Zaer» : premiers résultats.	
<i>L. Elaidi, F. Ectors, H. Lakhdissi</i>	301
31. Définition d'un moment optimum pour l'Insémination Artificielle chez les femelles bovines Baoulé, Zébu et N'dama en zone subhumide.	
<i>Ouedraogo, M. Mattoni et M. Zecchini</i>	305
32. Nouvelles molécules pour la congélation du sperme. Modèle d'étude : le baudet du Poitou	
<i>A. Trimeche, P. Renard, D. Le Lannou, P. Barrière et D. Tainturier</i>	311

Avant-Propos

La diffusion de l'information scientifique et technique est un facteur essentiel du développement. Aussi, dès 1988, l'Agence Francophone pour l'Enseignement Supérieur et la Recherche (AUPELF-UREF), mandatée par les Sommets francophones pour produire et diffuser revues et livres scientifiques, a créé la collection Universités francophones.

Lieu d'expression de la communauté scientifique de langue française, «**Universités francophones**» vise à instaurer une collaboration entre enseignants et chercheurs francophones en publiant des ouvrages, coédités avec des éditeurs francophones, et largement diffusés dans les pays du Sud, grâce à une politique tarifaire préférentielle.

Quatre séries composent la collection :

- Les manuels : cette série didactique est le cœur de la collection. Elle s'adresse à un public de deuxième et troisième cycles universitaires et vise à constituer une bibliothèque de référence couvrant les principales disciplines enseignées à l'université.
- Sciences en marche : cette série se compose de monographies qui font la synthèse de travaux de recherche en cours.
- Actualité scientifique : dans cette série sont publiés les actes des colloques organisés par les réseaux thématiques de recherche de l'UREF.
- Prospectives francophones : s'inscrivent dans cette série des ouvrages de réflexion donnant l'éclairage de la Francophonie sur les grandes questions contemporaines.

Notre collection, en proposant une approche plurielle et singulière de la science, adaptée aux réalités multiples de la Francophonie, contribue efficacement à promouvoir la recherche dans l'espace francophone et le plurilinguisme dans la recherche internationale.

Professeur Michel Guillou
Directeur Général de l'AUPELF
Recteur de l'UREF

Préface

Le Royaume Chérifien, terre d'hospitalité légendaire, a accueilli les 3^{ème} Journées Scientifiques du réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELEF- UREF.

"Reproduction et Production laitière", thème général de ces journées, est la traduction de la volonté du réseau Biotechnologies Animales de privilégier les actions de recherche-développement. De par ses implications à la fois nutritionnelle, culturelle et économique, le lait apparaît comme une denrée hautement stratégique. Si pour les pays développés, l'autosuffisance est largement atteinte, au point d'instaurer une politique quotataire, pour la majorité des pays en voie de développement, principalement les pays africains, la sécurité alimentaire est assurée grâce à une importation de 50% des besoins en produits laitiers, ce qui représente 700 000 000 \$ US par an.

Les difficultés politiques : ajustement structurel, dévaluation du F CFA, taux de croissance démographique (3%), font obligation aux différents pays de réduire le volume de leurs importations et ceci dans des délais assez brefs. La seule alternative est la mise en place assez rapidement d'une filière locale mais surtout adaptée.

Les biotechnologies animales, dans leur ensemble, ont été ciblées comme élément d'avant garde pour la réalisation de tels objectifs de développement.

Les 3^{ème} Journées de Rabat ont amené le réseau à élargir la base des intervenants avec la participation très appréciable des Professionnels, des hommes et femmes du développement, à côté du groupe classique Chercheurs-Laboratoires.

Au total 33 communications ont été présentées au cours de 3 sessions :

- . La première session a été consacrée à la problématique de la production laitière à travers les expériences africaines des pays du Nord et du Maroc. Si l'expérience marocaine peut servir d'exemple aux pays sahéliens, ces derniers ont l'avantage, et même l'obligation, de réinventer leur propre plan laitier.
- . La deuxième session, faisant le point des outils du diagnostic au service de la reproduction, recommande leur intégration judicieuse à une gestion performante et surtout économique des programmes laitiers.
- . Les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction constituent la troisième session. Leur évolution donne beaucoup d'espoir surtout pour les pays du Sud.

La qualité des communications a permis de concrétiser et de consolider la francophonie scientifique, espoir de demain.

Professeur Papa El Hassane DIOP
Coordonnateur du réseau B.A.
Ecole Inter-Etats des Sciences
et Médecine Vétérinaires
DAKAR (Sénégal)

Dr Abdellah MAZOUZ
Institut Agronomique et
Vétérinaire Hassan II
RABAT (Maroc)

Réseau Biotechnologies Animales

Liste des membres du comité de réseau

Professeur Albert Kaeckenbeeck
Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège
Bd de Colonster, n° 20
B-4000 Liège - Belgique

Professeur Abdellatif Lahlou-Kassi
IAV Hassen II
BP. 6202 - Rabat-Instituts - Maroc

Professeur Raymond Roy
Faculté de Médecine Vétérinaire
CP. 5000 - Saint-Hyacinthe PQ
Canada J2S 7C6

Docteur Georges Tacher
Ex Directeur IEMVT
29, rue Chateaubriand
Le Val d'Albian-Saclay - 91400 Orsay - France

Liste des auteurs

Abdelghaffar T., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

Ascher F., Laboratoires Virbac, B.P. 27, F - 06516 Carros Cedex, France.

Badinand F., Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France.

Ba Diao M., LNERV/ISRA, BP 2057, Dakar-Hann, Sénégal.

Barrière P., Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU Nantes, 44035 Nantes Cedex 01, France.

Battar M., Association Nationale des éleveurs de bovins de races pures. A.N.E.B., Maroc.

Battut I., Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Service de Pathologie de la reproduction, CP 3013 F - 44087 Nantes Cedex 03, France.

Beckers J.F., Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Physiologie de la Reproduction, Bd de Colonster 20, B 4000, Liège, Belgique.

Bedel M., Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Service de Pathologie de la Reproduction, C.P 3013 F - 44087 Nantes Cedex 03, France.

Benlekhal A., Ministère de l'Agriculture et de la Mise en Valeur Agricole, Direction de l'Elevage, Rabat, Maroc.

Bigras-Poulin M., Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec.

Boniface G., Institut Agronomique et Vétérinaire, Département de Reproduction et Insémination Artificielle, Hassan II, Rabat, Maroc.

Bouchard E., Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, Québec.

Bouhaddane M., Centre Régional d'Insémination Artificielle, Fouarat, Maroc.

Bruyas J.F., Ecole Nationale Vétérinaire, Service de Pathologie de la Reproduction, CP 3013 F - 44087 Nantes Cedex 03, France.

Chemli J., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

Delahaut Ph., Laboratoire d'Hormonologie, rue du Point du Jour 8, B6900 Marloie, France

Diop P.E.H., Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, Service, de Chirurgie-Reproduction, B.P. 5077, Dakar, Sénégal.

Diouf M., Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires, Service de Chirurgie - Reproduction - B.P. 5077, Dakar, Sénégal.

Ectors F., Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Chaire d'Obstétrique et Trouble de la Reproduction, Bd de Colonster 20, B 4000, Liège, Belgique.

El Aïch R., Direction de l'Elevage M.A.M.V.A. Maroc.

Elaidi L., Société Nationale de Développement de l'Elevage, S.N.D.E. Service de Santé Animale, Rabat, Maroc.

Ezzahiri A., Centre Régional d'Insémination Artificielle - Ain Jemaâ, Maroc.

Fieni F., Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Service de Pathologie de la Reproduction C-P.3013, F - 44087 Nantes, Cedex 03, France.

Hachi A., Centre Régional d'Insémination Artificielle, Ain Jamaâ, Casablanca.

Hanzen Ch., Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction - B 41 Sart Tilman, B 4000, Liège, Belgique.

Hmidi L., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

Houde A. W., Faculté Vétérinaire de l'Université de Montréal, Centre de Recherche en Reproduction Animale, CP 5000, Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C6 Canada.

Houtain J.Y., Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction - B 41 Sart Tilman, B4000, Liège, Belgique.

Idrissi H., Institut Agronomique et Vétérinaire, Département de Microbiologie, Immunologie et Maladies Contagieuses. Hassan II - Maroc.

Ilham A., Département de Pathologie Médicale et Chirurgicale, IAV Hassan II, BP : 6202, Rabat Instituts, Maroc.

Koraichi A., Direction Provinciale d'Agriculture, Tanger, Maroc.

Lahlou - Kassi A., Addis Abeba, Ethiopie.

Lakhdisi H., Institut Agronomique et Vétérinaire, Département de Reproduction et Insémination Artificielle, Hassan II, Rabat, Maroc.

Laurent Y., Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction - B 41 Sart Tilman, B 4000, Liège, Belgique.

Lebreux B., Laboratoire Virbac, B.P.27, F - 06516 Carros Cedex, France.

Le Lannou D., CECOS de l'Ouest, Hôtel-Dieu, 35000 Rennes, France.

Lotfi N., Association Nationale des Eleveurs des Bovins de Races Pures A.N.E.B., Maroc.

Lussier. J.G., Faculté Vétérinaire de l'Université de Montréal, Centre de Recherche en Reproduction Animale, CP 5000 Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C6 Canada.

Mattoni M., C.I.R.D.E.S, Unité d'Amélioration des Pratiques d'Elevage et du Matériel Animal. 01 B.P. 454 Bobo-Dioulasso, 01 Burkina Faso.

Mazouz A., Institut Agronomique et Vétérinaire, Département de Reproduction et I.A., Hassan II, Rabat, Maroc.

Mbah D.A., Ministère de la Recherche Scientifique et Technique. BP 1457 Yaounde, Cameroun.

- Messine O.**, Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Wakwa, BP 65 Gaoundere, Cameroun.
- Nibart N.**, Union Nationale des Coopératives d'Elevage et d'Insémination Artificielle - Laboratoire de Transfert Embryonnaire, 13, rue Jouët, BP 65, 94703 Maisons Alfort, France.
- Ouanane B.**, Vétérinaire Responsable du Troupeau Laitier du Domaine Douiet.
- Ouedraogo :** C.I.R.D.E.S., Unité d'Amélioration des Pratiques d'Elevage et du Matériel Animal. 01 B.P. 454 Bobo-Dioulasso, 01 Burkina Faso.
- Rabehanitriniony M.**, FO.FI.FA., Département de Recherches Zootechniques et Vétérinaires, B.P 4, Antananarivo 101, Madagascar.
- Rafalimanantsoa E.**, Département de recherches zootechniques et Vétérinaires, B.P 4 - Antananarivo 101, Madagascar.
- Rakotondravao.** Département de recherches zootechniques et Vétérinaires, B.P 4 - Antananarivo 101, Madagascar.
- Rasambainarivo J.H.**, Département de recherches zootechniques et Vétérinaires, B.P 4 - Antananarivo 101, Madagascar.
- Ratovonahary M.**, Département de recherches zootechniques et Vétérinaires, B.P 4 - Antananarivo 101, Madagascar.
- Renard P.**, Groupe de Recherche Appliquée à la Fertilité, CHR Hôtel-Dieu, 35000 Rennes, France.
- Silversides W.**, Faculté Vétérinaire de l'Université de Montréal, Centre de Recherche en Reproduction Animale, CP 5000 Saint-Hyacinthe (Québec), J2S 7C6 Canada.
- Sow M.A.**, Ferme laitière La SOCA BP 8403 Dakar, Sénégal.
- Sulon J.**, Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire, Bd de Colonster 20, B 4000, Liège, Belgique.
- Tainturier D.**, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Service de Pathologie de la Reproduction, C.P. 3013 F - 44087 Nantes Cedex 03, France.
- Tanya V.N.**, Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Wakwa, BP 65 Gaoundere, Cameroun.
- Tber A.**, Directeur de l'Elevage, Rabat, Maroc.
- Thiaucourt F.**, CIRAD-EMVT, Laboratoire Pathotrop, 10 rue P. Curie 94704 - Maisons Alfort, France.
- Thibier M.**, Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires - 23, Avenue du Général de Gaulle, BP 19, 94701 - Maisons Alfort, France.

Trimeche A., Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Service de Pathologie de la Reproduction, CP 3013 F, 44087 Nantes Cedex 03, France.

Turki I., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet. Département des Sciences Cliniques, Service «Maladies Contagieuses» 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

Zaiem I., Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

Zecchini M., Université de Milan, Faculté de Médecine Vétérinaire, Institut de Zootechnie. Via Celoria 10, Italie.

Zouagui Z., Institut Agronomique et Vétérinaire, Département de Pathologie Médicale et Chirurgicales des Ruminants, Hassan II, Rabat.

1^{ÈRE} SESSION
PRODUCTION LAITIÈRE

Production laitière en Afrique au sud du Sahara : problématique et stratégie

P. E. H. DIOP

*Service de Chirurgie-Reproduction
Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires
BP 5077 DAKAR*

Résumé

Malgré son caractère stratégique, la production laitière en Afrique Sub Saharienne est peu développée. Elle représente 2% de la production mondiale et 5% de la production africaine. La dégradation de la situation économique et sociale aggrave très fortement le phénomène de pauvreté de ces pays. A cela, s'ajoutent d'autres contraintes liées :

- aux déficits alimentaires et d'abreuvement des animaux ;*
- au faible potentiel génétique des races locales ;*
- aux problèmes de santé animale ;*
- à l'organisation et à la fluctuation des circuits commerciaux ;*
- à la faiblesse de l'encadrement des éleveurs ;*
- à l'inexistence de crédit pour ce genre de spéculation.*

Malgré ces contraintes, cette région peut, à l'instar d'autres pays en voie de développement, augmenter sa production grâce :

- à une meilleure définition des politiques d'élevage ;*
- à la mise en place de PME agricoles : unité d'intensification ;*
- à une bonne vulgarisation des résultats de la recherche ;*
- à un meilleur encadrement des populations pastorales.*

Introduction

Considéré comme une denrée sensible, le lait revêt en Afrique un caractère hautement stratégique. Selon BA (1989), il constitue l'un des traits majeurs de la civilisation pastorale sahélienne. Il est dans un champ de relations où l'espace pastoral s'imbrigue parfois profondément dans les autres espaces géographiques, économiques et sociaux.

Avec un niveau de production de 11 000 000 tonnes en 1993, l'Afrique ne produit que 2% du lait mondial à travers un cheptel qui lui, représente 14% (FAO, 1994). Ce lait destiné à une population jeune, en pleine croissance (taux de croissance 4% en l'an 2000) pose avec beaucoup d'acuité l'inadéquation très importante entre l'offre et la demande, d'où la nécessité impérieuse de promouvoir la production laitière. Cette promotion va se bâtir à partir d'une analyse assez exhaustive de la problématique du lait en Afrique au Sud du Sahara. Elle va se traduire par :

- une présentation de l'élevage subsaharien,
- ensuite, une analyse des contraintes liées à la production laitière,
- enfin, par une présentation des stratégies de développement.

Élevage subsaharien

D'après la FAO (1994), l'élevage africain renferme 192 180 000 bovins, 197 169 000 petits ruminants, 13 815 000 chameaux, 3 200 000 buffles répartis à des degrés variables sur 3 000 000 km² de forêt et 15 000 000 km² de savane-steppe.

Dans cette dernière zone, 8 000 000 km² sont dépourvus de glossines, la densité y est de 17,5 têtes / km avec une concentration beaucoup plus forte dans les zones à hauts plateaux; dans les 7 000 000 km² restants, cette densité tombe à 2,5 têtes / km² du fait de la présence massive de glossines entravant très fortement toute activité humaine et animale.

1. Espèce

Si d'une manière générale, toutes les espèces sont présentes, sur le plan économique, bovins et petits ruminants occupent une place de choix dans l'exploitation des animaux de rente.

Zébus et taurins représentent les principales races bovines associées à leurs produits de croisements. Signalons que la majorité des taurins vit dans des zones à glossines et se caractérise par leur trypanotolérance.

Chez les petits ruminants, s'il est vrai qu'il existe plusieurs races, la tendance générale est de les distinguer en 2 grands groupes :

- les moutons et chèvres des zones arides et semi-arides,
- les moutons et chèvres des zones semi-arides et humides.

Les produits de croisement de ces deux groupes vivent dans les zones intermédiaires.

A l'instar des races taurines bovines, les petits ruminants des zones semi-arides et humides sont trypanotolérants.

2. Productivité

Les races africaines, qu'elles soient bovines, ovines ou caprines, se caractérisent par des productions faibles en viande (50%) et en lait (1 à 4 l/jour ; 200 à 250 kg / vache / lactation) et des paramètres de la reproduction peu performants; par exemple chez les bovins en milieu traditionnel, l'âge au 1er vêlage se situe vers 48 et 68 mois et l'intervalle vêlage de 18 à 22 mois alors que de plus en plus la tendance est la recherche d'un veau par an (tableau I).

Malgré ce manque général de performance, ces races locales sont bien adaptées pour survivre et se reproduire dans leur environnement. La conservation des races pures est souvent compromise pour des raisons socio-économiques (culture attelée par exemple).

3. Systèmes de production

Pour toutes espèces confondues, l'élevage est régi par 3 systèmes :

- un système *traditionnel pastoral ou agro-pastoral* : le premier caractérisé par la transhumance avec comme objectif primordial la recherche de pâturage alors que le second évolue vers la sédentarisation avec l'utilisation de sous-produits agricoles.
- un système *semi-intensif* qui se développe en zone péri-urbaine. Il est le fait de commerçants, de fonctionnaires ou de privés qui confient leur troupeau à un bouvier qui exploite surtout le lait, phénomène rencontré fréquemment en Afrique de l'Ouest.
- un système *intensif* soit à partir de fermes étatiques ou d'initiatives privées. C'est le lieu privilégié d'utilisation des productions croisées et de races pures. L'objectif est d'approvisionner régulièrement et de manière sûre les villes en lait. Les structures sont appuyées par des ONG, les organismes internationaux ou tout simplement le fruit d'initiatives publiques.

Les productions peuvent atteindre des niveaux records de l'ordre de 15 à 20 l/jour. Elles constituent le dernier maillon d'évolution vers l'industrialisation.

Tableau 1. Éléments synthétiques de la productivité des troupeaux bovins en Afrique

90 à 95 % des animaux sont de races locales ou croisement de races locales	Production journalière pour la consommation humaine	Production totale en kg pour lactation	Durée de lactation (en jours)	Age au 1er vêlage (en mois)	Age au 1er vêlage (en jours)	Age de réforme (années)	% de vaches traitées au sein du troupeau
Races locales : Zébu Peul, Taurin N'Dama, Zébu Gobra, Maure, Ankolé, etc.	1 à 2 kg/j en saison humide 0,4 à 1 kg en saison sèche	150 à 300 kg	170-200	44 à 53	500	13	12à15%
Races locales sélectionnées : Zébu Azaouak	2 à 4 kg/j	600 à 800 kg	200 - 250	38 à 45	450	13,5	20%
Croisements races locales X races exotiques europ. : Frisonne, Montbéliarde, Brune des Alpes, Abondance, Jersiaise, etc.	3 à 6 kg/j	500 à 1 200 kg	200-250	36 - 40	400-450	11	25%
Croisements races locales X races tropicales : Sahival, Djakoré	1,5 - 3 kg/j	200 à 500 kg	180-220	44-50	480	13	20à25%
Races exotiques pures : Frisonne, Jersiaise	6 à 15 kg/j	1500 à 5000 kg	200-250	28-36	380-420	10	30à45%
Eco-fermes de Bouaké	3,5 à 8,9 kg/j	800 - 2300 kg	135-267	n.c.	321-33	n.c.	n.c.

Etudes GRET (1995)

N.B. : - Généralement le veau prélève plus de 50% de la production effective

- le % de vaches traitées dépend surtout de la taille du troupeau. Ce ratio augmente quand l'effectif baisse

4. Elevage et autosuffisance alimentaire

Quel est l'apport de l'élevage dans la bataille de l'autosuffisance alimentaire en Afrique ?

FITZUGH et Coll. (1992) se basant sur les statistiques de la FAO (1990) montrent que l'Afrique au Sud du Sahara contient 14% du capital bovin mondial mais ne participe qu'à la production de 5% de viande et 2% de lait à l'échelle planétaire.

Cette production est en inadéquation avec l'essor démographique. En effet, une étude prospective de la Banque Mondiale (WORLD BANK, 1990) montre que de 1990 à 2025, la population humaine de l'Afrique au sud du Sahara passera de 500 000 000 habitants à 1 500 000 000 donc cette population triplera en 35 ans ; durant cette même période, la population citadine passera de 145 000 000 à 700 000 000, on observera alors une multiplication par cinq d'une population urbaine fortement demandeuse.

Le tableau 2 illustre le rapport offre-demande en matière de protéine d'origine animale.

Tableau 2. Eléments de la production laitière en Afrique (données 1991/92)

PAYS	Effectifs de bovins	Effectifs de vaches	Effectifs de vaches traites	Production moyenne /V.L/ Lactation kg	Production destinée à la consommation humaine T/an	Auto- consom mation T/an	Production commer cialisée T/an	Volume de lait disponible kg/hab/an
BURKINA FASO	4 100 000	1 640 000	460 000	260 LKg	120 000 T	70 000 (60%)	46 500 (40%)	12,6kg
BURUNDI	450 000	180 000	60 000	275 kg	16 500 T	11 500	5 000	2,9 kg
CÔTE D'IVOIRE	1 173 000	450 000	100 000	180 kg	18 000 T	9 000	9 000	1,4 kg
ETHIOPIE	30 000 000	12 000 000	4 500 000	167 kg	752 000 T	500 000 (2/3)	252 000 (1/3)	16,0 kg
MALI	5 197 000	2 070 000	676 000	290 kg	196 000 T	130 000	66 000	23,0kg
SENEGAL	2 578 000	1 050 000	335 000	480 kg	170 000 T	130 000	40 000	21,5 kg
AFRIQUE SUBSAHARIENNE (Hors R.S.A.)	85 000 000	32 000 000	25 500 000	356 kg (Hors R.S.A.)	9 123 000 T	-	-	17,5 kg

D'après GRET (1995)

- faible variation saisonnière en Ethiopie car saisons des pluies assez longues,
- production laitière en Ethiopie estimée à 595 000 T en 1985 et 782 000 T en début des années 60. La situation intérieure chaotique pourrait expliquer cette chute, mais c'est surtout au niveau de l'approvisionnement des centres urbains que la diminution a été sensible.
- une baisse sensible de la production a également été enregistrée au Burundi : la réduction du cheptel (-50% en 10 ans) due à la pression foncière et les troubles ethniques expliquent largement cette baisse qui ne laisserait pas plus de 2 kg/hab/an de LPL en milieu rural à l'heure actuelle.

Pour la FAO (1985), en faisant une projection en l'an 2000 avec un taux de croissance de la population humaine de 4,5%, les productions animales doivent progresser de 4,7% avec une augmentation de 240% des productions de lait et de viande entre 1980 et l'an 2000 ; malheureusement, le taux en vigueur est de 3,6% avec de plus en plus une tendance à la baisse. Mais quels sont les véritables facteurs limitants de l'élevage laitier ?

Contraintes liées à la production laitière

Ces contraintes sont nombreuses, la liste présentée n'est point exhaustive, nous allons tout simplement en présenter les éléments importants pour dresser ensuite un tableau économique de la filière laitière.

1) La première contrainte est de loin la plus importante est liée à la disponibilité en aliments et en eau en saison sèche dans le système extensif et le coût des intrants des aliments concentrés en système semi extensif en sachant que l'alimentation représente 50-60% des coûts de production.

2) La deuxième est sanitaire, en relation avec les 7 000 000 km² infestés par les glossines d'une part et le coût de plus en plus élevé des médicaments et autres produits chimiques.

3) La troisième est le faible potentiel laitier des races locales : 1 à 3 litres pour les bovins, autorisant tout simplement l'autoconsommation. En saison sèche certaines vaches donnent difficilement un 1/2 litre.

4) Le problème de la commercialisation qui dans les pays sahéliens n'est favorable qu'en saison des pluies, période durant laquelle la vache dégage un excédent laitier commercialisable, mais en même temps, c'est la période de détérioration des pistes de communication. Cet aspect est encore renforcé par l'absence de chaîne de froid.

5) Le mode d'exploitation du troupeau :

A côté du caractère extensif de l'élevage et le faible taux d'exploitation du cheptel (10 - 11%) lié à la thésaurisation, il existe une compétition très féroce entre l'homme et le veau pour le lait ; cette denrée étant une spéculation économique qui prive le jeune animal d'une chance de développement harmonieux.

6) La défaillance du système d'encadrement des éleveurs : rares sont les pays africains où l'intensification des productions animales est une priorité, et également le crédit agricole est difficilement accessible; l'exemple du Sénégal où un taux d'intérêt de 15% est incompatible avec tout processus de développement de l'élevage (DIOP, 1996).

Conséquences économiques de la filière laitière

La décennie 1980 a vu un grand nombre de pays d'Afrique subsaharienne être confrontés à des évolutions économiques et sociales très défavorables. Un rythme de croissance de la population de 3,2 supérieur à celui du PIB (2,1%) ce dernier est estimé à 1,4 en 1992, la récente dévaluation de 50 % du franc CFA pour les pays de la zone franc n'a fait qu'accentuer avec les programmes d'ajustement structurel, la dégradation persistante des indicateurs macro-économiques (AZOULAY et DILLON, 1993).

Ainsi la participation de l'Afrique Subsaharienne au commerce agricole mondial est réduite et décroissante.

Mais selon la BIRD, si la croissance démographique se poursuit à l'heure actuelle (15 000 000 hts/ an) la demande en produits laitiers devra augmenter de 500 000 t / an.

Ces indicateurs négatifs, associés au caractère stratégique du lait ont amené les pays subsahariens à se tourner volontairement vers l'importation massive de produits laitiers, mais plus particulièrement de lait en poudre. Selon la BIRD, le taux moyen d'importation pour les pays de l'Afrique de l'Ouest et du Centre est de 50%, ce qui représente 700 000 000 \$ US par an. Pour les pays comme le Sénégal et la Côte d'Ivoire, ce taux est de 60 et 96% (AFRIQUE AGRICULTURE, 1993)

Le dumping des pays européens dénoncé par le GATT et la CNUCED a pour conséquence l'augmentation du prix du lait en poudre. Celui-ci est passé de 800 à 1 000 \$ US en 1983-87 à 2 000 \$ US en 1988 (FAO, 1994).

Aucun pays excepté le Kenya n'a atteint l'autosuffisance dans ce secteur. La dévaluation du franc CFA et la politique quotataire des pays du Nord ont entraîné une hausse du prix international du kg du lait en poudre et du même coup une diminution du volume des importations des pays Africains.

Face à cette situation catastrophique, l'Afrique fait appel à l'aide internationale. Le faible taux de la contribution internationale, 1%, en valeur selon la BIRD, n'a pas donné de résultats probants pour le développement de ce secteur.

Ainsi les financements de ce secteur sont passés de 20% des engagements consentis à l'agriculture en 1970 à seulement 7% à l'heure actuelle (AFRIQUE AGRICULTURE, 1993).

Face à ce tableau assez apocalyptique, faut-il sombrer dans l'afropessimisme ou au contraire faut-il faire preuve d'ingéniosité pour aider cette région de l'Afrique à prendre son destin en mains? Nous pencherons plutôt pour la seconde démarche car l'Afrique Subsaharienne recèle un certain nombre d'atouts qui, combinés et intégrés de manière judicieuse, doivent promouvoir la production laitière.

Les stratégies

Sur le plan principe, les stratégies à mettre en place doivent aboutir à terme à rendre le lait accessible aux consommateurs à des prix raisonnables.

Les atouts dont dispose l'Afrique subsaharienne sont les suivants :

- l'élevage représente 25% du revenu agricole africain ;
- la dévaluation du franc CFA combiné à la libéralisation des prix a ôté au lait en poudre son caractère social ; il s'agit en réalité de facteurs encourageants pour la production endogène ;
- l'existence d'un cheptel rustique, adapté aux conditions locales ;
- les cultures agricoles spécialisées permettent la constitution de résidus agricoles appréciables.

Ainsi les actions suivantes doivent être menées :

- 1) En priorité : la définition par les différents états africains, d'une nouvelle politique d'élevage encourageant l'intensification des productions animales. Cela suppose entre autre la modification du domaine foncier pour une meilleure gestion des parcours pastoraux.
- 2) La mise en place d'unités d'intensification intégrées = PME agricole. Il s'agit de modèle de ferme intégrant l'élevage, l'agriculture et la sylviculture. Ces unités seront les champs d'application des résultats de la recherche comme par exemple

l'utilisation systématique des outils biotechnologiques comme l'insémination artificielle ou le transfert d'embryon. Des pays de l'Afrique de l'Est comme le Kenya l'ont bien compris. La réussite de leur politique laitière repose sur le développement de petites unités laitières péri-urbaines; ce qui leur a permis d'atteindre l'autosuffisance dans ce domaine (ILCA, 1993).

3) La recherche doit impérativement offrir des solutions de développement durable surtout accessibles à la base.

4) Les croisements de races locales avec taureaux exotiques sont une nécessité, ils aboutiront à une amélioration du potentiel laitier. On espère aussi avoir des produits pouvant donner 8-10 litres au lieu de 1 à 3 litres (MADALENA 1993).

5) Les mesures d'accompagnement de cette politique d'amélioration génétique vont se traduire par un accès plus facile aux intrants alimentaires surtout en saison sèche.

6) Un meilleur encadrement des producteurs par une politique d'alphabétisation, de formation et de responsabilisation.

Les producteurs se regrouperont en Groupement d'Intérêt Economique ou en coopérative pour mieux défendre leurs intérêts et surtout assurer la pérennité des projets de développement.

7) Enfin l'accès au crédit doit être facile. Il doit obéir à 2 impératifs :

- d'une part tenir compte de la spécificité de la production laitière en terme de délai de production, par conséquent en terme de différé pour le remboursement ;
- le taux d'intérêt doit se situer en-dessous de 10% pour qu'une telle spéculation soit rentable (DIOP, 1996).

Conclusion

Les chances de la production laitière en Afrique subsaharienne sont réelles. La volonté doit d'abord être politique puis volontariste à travers une politique de formation et d'amélioration génétique et alimentaire pour enfin déboucher sur un développement durable à la base.

Bibliographie

1. Afrique Agriculture (1993), Alimentation animale - Production laitière : enjeux et perspectives 210.
2. Azoulay G., Dillon J.C. (1993), La sécurité alimentaire en Afrique ACCT - KHARTALA Paris,
3. Ba Ch. (1989), Place du lait dans les systèmes pastoraux sahéliens, in Séminaire régional sur les systèmes de production du lait et de la viande au Sahel. *FAPIS* Dakar, 22-26 mai 1989 : 24-31.
4. Diop P.E.H. (1993), Biotechnologies et Elevage Africain. in Maîtrise de la reproduction et amélioration génétique des ruminants. *Collection Actualités Scientifiques AUPELF-NEAS*, 1993 : 147-162.
5. Diop P.E.H. (1996), Amélioration de la production laitière au Sénégal par l'utilisation des biotechnologies. *Dakar Armée Nation*, avril.
6. FAO, Production yearbook 1984 , *Rome FAO*, 1985.
7. FAO, Production yearbook 1989 , *Rome FAO*, 1990.
8. FAO, Production yearbook 1993 , *Rome FAO*, 1994.

9. FAO, Rapport et perspectives sur les produits 1994-1995 *Rome FAO*, 1994
10. Fitzugh H.A., EHOI S.K., LAHLOU-KASSI A. (1992), Research strategies for development of animal Agriculture, *Rev. Mond. Zoot.*, 72(3) : 9-19.
11. Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques (GRET)-FAO, (1995), L'approvisionnement des villes africaines en lait et produits laitiers, *Rome FAO*, 24 : 101 p.
12. International Livestock Center For Africa. Improvement of dairy production to satisfy the growing consumer demand in subsaharan Africa A conceptual framework for research. (1993), *ILCA Adis Ababa*, : 13 p.
13. Madalena F.E. (1993), A simple schema to utilize heterosis in tropical dairy cattle. *Rev. Mond. Zoot., FAO*, (1-2) : 17-26.
14. World Bank (1990), World development Report : Poverty Oxford UK *Oxford University press*.

Production laitière : problématique et stratégie (expérience des pays du nord)

E. BOUCHARD, M. BIGRAS-POULIN

*Université de Montréal
St-Hyacinthe, Québec*

Introduction

Le rôle joué par les consultants auprès de l'industrie laitière en Amérique du Nord s'est modifié au cours des vingt dernières années et prend un nouvel aspect pour le futur. L'introduction de nouvelles technologies, tels le transfert d'embryons, le développement de tests diagnostiques, de vaccins et de substances pharmacologiques issus de la biotechnologie, et l'informatique, ont modifié l'environnement du troupeau. En particulier, la pression exercée par l'industrie laitière et ses producteurs visant une rentabilité accrue par une meilleure gestion des ressources a amené une modification du support que le médecin vétérinaire fournit à cette industrie. Le médecin vétérinaire doit agir comme consultant en gestion de santé et en production, en plus de soigner les maladies. Il doit puiser de plus en plus dans les ressources que lui fournit l'épidémiologie et l'informatique pour compléter et supporter son approche. Le suivi en reproduction qui a servi de modèle pour l'intégration de nouvelles technologies fait maintenant partie d'une approche plus globale.

Modification des exploitations laitières

Le nombre total de fermes est en déclin aux États-Unis, mais la proportion de grosses fermes et de petites fermes est en augmentation. Le nombre de troupeaux en 1990 (194 000 troupeaux) représente 34% de ce qu'il était en 1970 (tableau 1). Au Canada, à cause d'un système de réglementation de l'offre et de la demande (quota), la production est stable mais on note une diminution marquée du nombre de fermes laitières. Ceci est dû en partie à une augmentation de la production moyenne par vache et à une augmentation de la taille des exploitations. Les divers consultants doivent définir de nouvelles stratégies et modifier les services offerts sur ces exploitations en changement.

Tableau 1. Nombre de troupeaux et de vaches et production laitière aux États-Unis (1950-1991)

Année	Troupeaux	Vaches	Production laitière	
			par vache	Total
	-----($\times 10^3$)-----		-(kg)	(10^6 kg)
1950	3 648	22 000	2 410	52 890
1960	1 134	17 650	3 188	55 842
1970	568	12 000	4 423	53 074
1980	335	10 779	5 394	52 334
1985	274	10 981	5 908	58 244
1990	194	10 127	6 643	60 058
1991	182	9 990	6 774	61 464

tiré de Olson KE, 1992

Amélioration génétique

La production moyenne par vache ne cesse d'augmenter en Amérique du Nord. Aux États-Unis, on note une augmentation de 3 000 kg par vache de 1960 à 1990. Les troupeaux à forte production atteignent une moyenne de 13 600 kg par lactation. En plus de l'amélioration de la gestion, une partie de cette augmentation est due à l'avancement génétique. Aux États-Unis, les évaluations actuelles permettent d'estimer l'augmentation de la production due à l'amélioration génétique à 119 kg/année (Olson) (tableau 2).

Tableau 2. Production moyenne par vache dans divers pays.

Pays	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991
	-----kg par vache-----						
États-Unis	5894	6015	6268	6416	6461	6642	6774
Canada	4877	5123	5392	5609	5507	5528	5532
Mexique	1360	1358	1424	1424	1424	1456	1535
France	3967	4315	4269	4451	4691	4810	4881
Angleterre	4935	4925	4639	4700	4662	4658	4716
Japon	6701	6785	6972	7272	7560	7583	7710
Tous les pays	2474	2538	2564	2619	2723	2764	2790

tiré de Olson KE, 1992

Pressions économiques

La problématique posée à l'industrie laitière se fait dans un climat de rendement économique et de développement durable. La pression exercée sur l'industrie laitière vient en grande partie de la mondialisation des marchés et de la nécessité d'optimiser les productions agricoles.

Une première phase d'optimisation a débuté vers 1960, elle faisait suite à la période intensive de développement qui a suivi la deuxième guerre mondiale. L'emphase qui ait jusque là mise sur l'animal s'est alors déplacée vers le troupeau et le rendement économique. Des programmes en reproduction ont alors été proposés (Zemjanis, Morrow 1963, Côté 1963). Blood et ses collaborateurs en 1971 et 1978 ont proposé une approche dans laquelle la production et la santé sont les préoccupations inséparables du vétérinaire.

Dans la deuxième moitié des années '80 une poussée inflationniste de l'économie fait apparaître le besoin d'une globalisation des marchés. Ceci se concrétise au début des années '90 avec la mise en place de traités d'échanges commerciaux entre nations tels le GATT (General Agreement on Tariffs and Trade) et l'ALÉNA (Accord de Libre Échange Nord-Américain; NAFTA (North American Free Trade Agreement). Ceci amène la nécessité d'un autre exercice de rationalisation dans les productions agro-alimentaires. Il faut donner aux producteurs la capacité de s'adapter rapidement et économiquement à la demande et aux pressions créées par les accords commerciaux.

Le futur nous laisse entrevoir non seulement la poursuite d'un meilleur rendement économique mais concurremment d'un rendement rationnel et durable. Ceci nécessite de bons systèmes de gestion de l'information couplés à une analyse efficace et rapide. C'est dans ce contexte que se développe la médecine de troupeau et que s'organise le rôle de consultant que le médecin vétérinaire est appelé à jouer.

Pressions des consommateurs

Les consommateurs nord-américains sont maintenant à la recherche de produits moins riches en gras, en cholestérol plus particulièrement. Par contre, le paiement se fait traditionnellement sur la teneur en gras du lait produit. Un ajustement est en voie de se réaliser dans le but d'augmenter le paiement du lait en fonction du fluide et de la protéine. Les producteurs doivent s'ajuster à ces changements par des modifications au programme alimentaire du troupeau, ce qui peut entraîner des problèmes au niveau de la santé et de la production.

La qualité et la sécurité des aliments en ce qui concerne la présence de substances étrangères et particulièrement les antibiotiques sont également une préoccupation des consommateurs. Actuellement, le dossier le plus chaud qui préoccupe les groupes d'intérêts concerne l'hormone de croissance issue de la biotechnologie et son utilisation chez la vache laitière.

Protection de l'environnement

La pollution causée par une entreprise laitière est de plus en plus contrôlée. Des agences gouvernementales américaines et des ministères canadiens veillent à l'établissement de règles visant à diminuer la pollution de l'eau et de l'air autour d'une ferme. Les producteurs doivent investir de plus en plus pour répondre aux nouvelles exigences.

Changement des priorités : la maladie versus la santé

La médecine vétérinaire a évolué par phases successives au cours des siècles. On reconnaît que depuis environ vingt-cinq ans, la pratique des animaux de consommation connaît un changement important. Cette transformation comme d'autres bouleversements s'opère lorsque l'approche qui est privilégiée jusqu'alors ne permet pas la solution des problèmes qui sont soumis au vétérinaire.

La médecine vétérinaire s'intéresse de plus en plus au maintien de la santé et à la prévention (Pritchard 1994) et son utilisation de l'épidémiologie augmente. La phase précédente a surtout été influencée par le développement de la microbiologie et on visait plus à

l'identification d'agents spécifiques (bactériologiques, virologiques ou autres) causant la maladie et à leur contrôle. Les développements qui seront réalisés au cours des années à venir s'ajouteront aux acquis de la pratique de la médecine vétérinaire.

Changement de l'approche : l'individu versus la population

Dans le cadre de la prévention et de la gestion de santé, la population prend plus d'importance que l'individu. La population comprend tous les individus et non seulement ceux qui sont malades. Donc, il faut faire un suivi des animaux en santé et de ceux atteints de maladies avec ou sans signes cliniques.

L'état de santé d'un individu n'a pas nécessairement d'impact sur la santé économique de la population. De plus, il est plus rentable de considérer l'état de santé et de productivité de l'ensemble des animaux que de chaque individu en particulier.

Importance de la reproduction

La maîtrise de la reproduction tient une place importante dans la réponse que peuvent offrir les spécialistes aux demandes de l'industrie laitière. Les biotechnologies comme l'insémination artificielle, le transfert d'embryons et le sexage des embryons contribuent principalement à l'amélioration génétique du cheptel. Cet aspect de la reproduction a fait l'objet des premières journées scientifiques de l'UREF à Dakar au Sénégal.

Pour faire face aux changements et aux pressions énumérés précédemment, les producteurs laitiers sont à la recherche de conseillers capables d'améliorer la gestion du troupeau. Encore une fois, la reproduction, mais au niveau du troupeau cette fois-ci, permet d'avoir un impact sur la performance du troupeau.

Plusieurs indices pour évaluer la performance en reproduction des troupeaux ont été définis. Par exemple, l'AABP (American Association of Bovine Practitioners) a défini 16 indices pour l'évaluation d'un troupeau dont 6 spécifiquement pour les troupeaux utilisant un taureau. Le calcul de ces indices peut facilement être automatisé pour obtenir rapidement des résultats à partir de dossiers informatisés.

Tableau 3. Indices de reproduction suggérés par l'American Association of Bovine Practitioners (AABP).

1. Performance globale en reproduction
Jours ouverts projetés minimum
Jours ouverts - année précédente
Intervalle projeté entre les vêlages
Intervalle entre les vêlages - année précédente
2. Intensité de détection des chaleurs
Pourcentage de détection des chaleurs attendues
3. Conception
Services par gestation, toutes les vaches
Services par gestation, vaches gestantes.
Taux de conception spécifique du service.
4. Avortements
Avortements par gestation confirmé.
5. Réforme pour reproduction
Taux de réforme pour reproduction
6. Performance en reproduction pour troupeaux avec un taureau
Pourcentage de vaches gestantes d'un taureau.
Jours ouverts moyen avec le taureau.
Jours en lait moyen à l'exposition au taureau.
Services avec le taureau par conception.
Taux de conception avec un taureau.
Taux d'utilisation du taureau

Des programmes de reproduction basés sur l'utilisation des prostaglandines se répandent de plus en plus dans les troupeaux laitiers. Les prostaglandines permettent une bonne synchronisation des chaleurs et permettent d'obtenir plus de cycles oestriques pour une même période de temps. C'est la réponse logique à une mauvaise détection des chaleurs et à certains processus pathologiques impliquant le système reproducteur (endométries, kystes ovariens,...).

La bonne gestion des dossiers de reproduction combinée à l'utilisation des prostaglandines permet d'obtenir de bonnes performances en reproduction avec moins d'effort. Le temps récupéré permet au producteur et à son consultant de se pencher sur d'autres problèmes associés à la production.

Rôle de consultant dans le suivi et le bilan d'élevage

De plus en plus, l'informatique et l'épidémiologie sont mises à profit pour permettre une analyse plus globale du troupeau laitier. Parfois, de bonnes performances en reproduction sont obtenues au détriment d'autres secteurs de gestion du troupeau. Par exemple, la réforme peut améliorer certains indices de reproduction. Dans d'autres cas, une production moyenne élevée par vache peut se faire au détriment de la santé des animaux. C'est pourquoi plusieurs producteurs et leur consultant s'orientent vers un suivi plus global du troupeau.

Pour être vraiment efficace, un suivi d'élevage global nécessite un grand nombre d'informations. Le producteur efficace a vite compris qu'il doit maintenir un dossier de chacune de ses vaches. Car, il doit être en mesure de comparer leur production et de détecter les animaux moins rentables. De son côté, le médecin vétérinaire doit maintenir un dossier de santé de chaque animal traité. D'un commun accord, certains producteurs font équipe avec leur médecin vétérinaire pour simplifier la tenue de dossier.

Le médecin vétérinaire agit plus comme consultant auprès du gestionnaire qu'est devenu le producteur agricole. Ceci implique une bonne connaissance des performances du troupeau et la capacité de détecter les points faibles de l'atelier de production.

Au Québec, un système de gestion de la santé basé sur des outils informatisés et un mode de fonctionnement (A.S.T.L.Q.: Amélioration de la Santé des Troupeaux Laitiers du Québec) a été développé pour répondre à ces exigences. En plus, ces outils permettent la comparaison des troupeaux entre eux selon leur performance. Ceci engendre une émulation et une amélioration des troupeaux participants.

Un exemple de gestion informatisée : ASTLQ

ASTLQ est un regroupement de 125 médecins vétérinaires répartis dans 42 cliniques sur le territoire du Québec. Actuellement, ces vétérinaires suivent plus de 1400 troupeaux.

Tous les troupeaux suivis ont un dossier informatisé pour chaque animal de sa naissance à son élimination. Ces dossiers peuvent être imprimés et laissés à la ferme. Les dossiers servent également au suivi de médecine préventive en permettant de sélectionner les animaux à examiner. Finalement, l'analyse des dossiers permet d'évaluer et de comparer les performances des troupeaux.

Un bulletin de comparaison est remis à chaque producteur trois fois par année. Les calculs requis pour la préparation de ce bulletin sont réalisés à partir d'une banque de données centrale constituée à partir des dossiers des animaux présents dans les troupeaux suivis. Les explications qui suivent le concernent.

Bulletin comparatif

Cette section présente les pertes pour différents secteurs de gestion du troupeau. Ces pertes sont exprimées en kg de lait/an et en pourcentage (%) de la production totale du troupeau (TOTAL: 370 696).

Démographie							
Vaches adultes	Nombre	%	Rang	Taures	Nombre	%	Rang
Taries	6	12		0-12 mois	15	43	
Lactation < 305	36	74	26	> 12 mois	20	57	
Lactation > 305	7	14					
Total des vaches	49		80	Age au vêlage (mois)	11	(26.1)	77

Sujet	Rang	Bulletin		Remarques et commentaires
		Quantité de lait		
		kg/an	%	
PRODUCTION POTENTIELLE		540 842	146	
ELIMINATION				
Autres causes :	53%	39 664	10.7	
Maladie :	9%	19 646	5.3	
Vente au lait :	%	0	0.0	
MAMMAIRE				
C. somatiques :	80%	19 276	5.2	
Mammite :	10%	16 310	4.4	
REPRODUCTION				
Vaches :	48%	25 207	5.2	
Taures :	81%	5 931	1.6	
PERSISTANCE				
Vaches :	72%	26 690	7.2	
Taures :	55%	17 422	4.7	
Total :		370 696	100	

a) Élimination : la perte est la quantité additionnelle de lait que produiraient les vaches éliminées si elles complétaient une lactation de 305 jours. Les pertes sont réparties selon le statut de la vache à la réforme: vente au lait; maladie durant le 1er mois de lactation ou la mort; autres causes.

b) Mammaire : les pertes sont calculées à partir du comptage des cellules somatiques et de chaque cas de mammite. Pour les cas de mammite, on tient compte du lait jeté pendant 5 jours et de la baisse de production pour le reste de la lactation.

c) Reproduction : la perte est la quantité additionnelle de lait que produirait le troupeau s'il avait un intervalle entre les vêlages de 365 jours et si les taures vêlaient à 24 mois.

d) Persistance : la perte est la différence de production après le pic de lactation entre toutes les vaches du troupeau et les animaux les plus performants de la banque de données (90e percentile). Pour être équitable, on tient compte du pic de production et du nombre de lactation lors du calcul de la différence.

Evaluation de la production

Ce graphique situe les vaches du troupeau ayant moins cinq mesures au contrôle laitier.

AXE VERTICAL : quantité de lait produite au pic, corrigée pour la lactation (équivalent à 3ème lactation).

AXE HORIZONTAL : indice de persistance, plus l'indice est élevé, plus la vache persiste au lait.

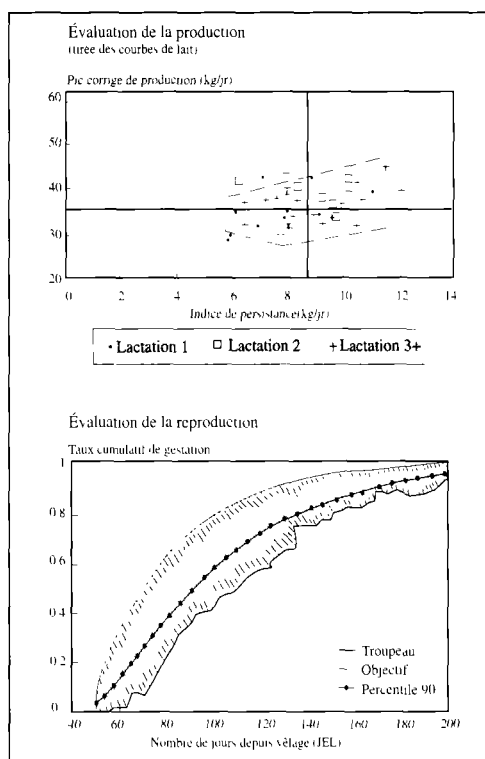
Les lignes horizontales et verticales représentent la médiane pour toutes les vaches de la banque. Ils séparent le graphique en 4 quadrants. Les vaches les plus performantes sont dans le quadrant supérieur droit.

Evaluation de la reproduction

AXE VERTICAL : proportion de vaches gestantes dans le troupeau, éventuellement 100% des vaches devraient être gestantes.

AXE HORIZONTAL : jours en lactation.

La zone hachurée est la perte pour votre troupeau en reproduction par rapport à un objectif de 365 jrs. Plus cette zone est importante, plus les pertes sont élevées. A titre de comparaison, la ligne -.-.- représente les meilleurs troupeaux (10% supérieur).



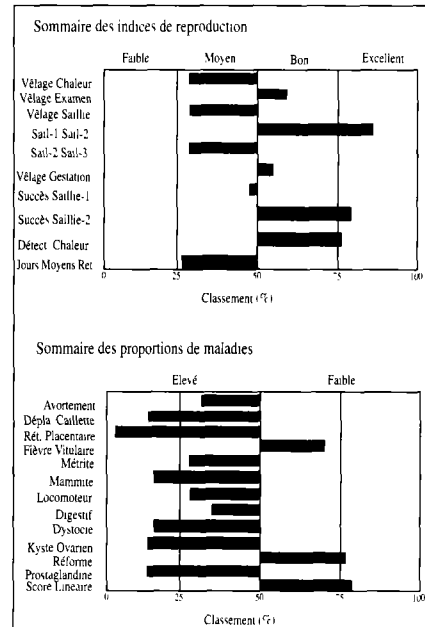
Sommaire des indices de reproduction

Les indices utilisés dans ce graphique sont ceux du rapport annuel en reproduction fourni

par votre vétérinaire. Le graphique permet de situer votre troupeau par rapport aux autres troupeaux de la banque. La ligne centrale indique la moyenne, les barres à droite de cette ligne indiquent des points positifs pour votre troupeau, les barres à gauche donnent une indication des points à améliorer.

Sommaire des proportions de maladies

Les maladies les plus fréquentes sont représentées sur ce graphique. Le classement du troupeau est dépendant de la qualité de l'entrée de données. Une note élevée peut donc être associée à une entrée incomplète des maladies ou à une bonne situation dans le troupeau. Pour les valeurs basses, il faut s'inquiéter si la valeur est en dessous de 10%.



Références

1. Baillargeon P., Bigras-Poulin M., Bouchard E., Du Tremblay D. (1994), Projet. A.S.T.L.Q., Amélioration de la Santé des Troupeaux Laitiers du Québec. Congrès conjoint O.M.V.Q. - A.C.M.V., Québec. *Recueil des conférences* : 480-498.
2. Bigras-Poulin M. (1993), L'épidémiologie vétérinaire, une nouvelle science? *Ann Méd Vét.* 137 : 401-405.
3. Bouchard E., Bigras-Poulin M., Du Tremblay D., Labrosse P. (1991), A.S.T.L.Q., Amélioration de la Santé des Troupeaux Laitiers du Québec, a project for the development of population medicine in dairy cattle. *Proc 6th ISVEE Symposium*, Ottawa, Canada. 517-519. x.
4. Fetrow J., McClary D., Harman B., Butcher K., Weaver L., Studer E., Ehrlich J., Etherington W., Guterbock W., Klingborg D., Reneau J., Williamson N. (1990), Calculating selected reproductive indices: recommendations of the American Association of Bovine Practitioners. *J Dairy Sci.* 73 : 78-90.
5. Maîtrise de la Reproduction et Amélioration Génétique des Ruminants. Apports des Technologies Nouvelles. Actualité Scientifique. (1993), Ed. : Les Nouvelles Éditions Africaines du Sénégal. 290 p.
6. Mialot JP., Leroy I. (1993), Bilan et suivi d'élevage chez les bovins. Quel avenir? *Point Vét* 25 (155) : 521-528.
7. Olson KE. (1993), Symposium : Industry challenges to dairy cattle management in the 21st century. Economic, political, and global demands on the United States dairy industry. *J Dairy Sci* 76 : 3133-3142.
8. Pritchard WR. (1994), A changing world and a changing profession challenge veterinary medical education. *J Vet Med Educ* 21 : 119-123.
9. Tillon JP. (1994), Le vétérinaire et la réorganisation du marché des produits agricoles : un point de vue européen. *Le médecin vétérinaire du Québec.* 24 : 27-30.
10. Tomaszewski MA. (1993), Symposium: Industry challenges to dairy cattle management in the 21st century. Record-keeping systems and control of data flow and information retrieval to manage large high producing herds. *J Dairy Sci* 76 : 3188-3194.

L'élevage bovin laitier au Maroc

A. TBER

Directeur de l'Elevage - Rabat - Maroc

Introduction

Le secteur de l'élevage constitue l'une des composantes de l'économie agricole. Il participe à 30% de la valeur ajoutée agricole, emploie 2/3 de la population rurale active, et joue un rôle moteur pour certains secteurs agro-industriels en offrant les matières premières nécessaires (lait, viande). Il a été considéré parmi les domaines prioritaires dans la politique de développement agricole du pays.

Ainsi, le secteur de l'élevage a fait l'objet, depuis les trois dernières décennies, d'actions soutenues pour son développement, en vue d'assurer ou de préserver l'équilibre entre la consommation et la production nationale en produits animaux. Deux plans sectoriels de développement ont été élaborés : plan laitier 1975 et plan viande rouge 1978. Ces plans ont défini les objectifs de production et les moyens et mesures pour les atteindre.

Dans le domaine de la production laitière, le plan laitier a défini les axes de développement du secteur portant sur :

- L'amélioration des niveaux de performance du cheptel par :
 - l'introduction du cheptel performant, l'insémination artificielle et le croisement de la race locale,
 - l'amélioration des conditions d'alimentation,
 - l'intensification de l'encadrement sanitaire.
- L'implantation à la charge de l'Etat de réseaux de centres de collecte du lait.
- La garantie d'un prix rémunérateur aux producteurs et l'institution des mesures incitatives à l'intensification de la production.

Afin d'optimiser l'ensemble des actions, l'organisation des producteurs en coopératives a constitué la pierre angulaire de la politique de développement du secteur laitier, appuyée par les mesures d'incitation des producteurs prévues par le code des investissements agricoles.

Globalement, le secteur laitier a connu un développement appréciable, en dépit des périodes de sécheresse qu'a connues le pays : la production a évolué de 474,7 millions de litres en 1970 à 930 millions de litres en 1992 soit un taux d'accroissement variant de 3,4 à 7,1% par an, enregistrant une autosuffisance en lait frais à partir de 1982. Par ailleurs, la part du lait usinée a évolué à un rythme accéléré pour atteindre 43% en 1992, contre 8% en 1972.

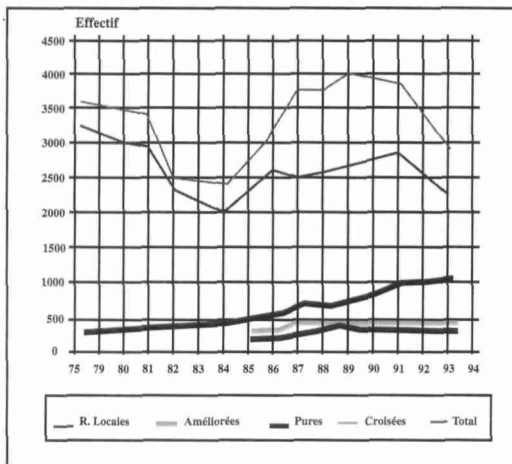
1. Importance du cheptel

1.1. Effectifs

L'effectif du cheptel bovin a subi durant les 20 dernières années une fluctuation importante due notamment aux effets des conditions climatiques qui constituent encore l'un des facteurs déterminants dans l'évolution de ce secteur.

Les principales variations des effectifs ont été observées entre 1981-85 et 1992-93, correspondant aux périodes de grande sécheresse qu'a connues le pays, au cours desquelles des diminutions allant jusqu'à 25% ont été enregistrées.

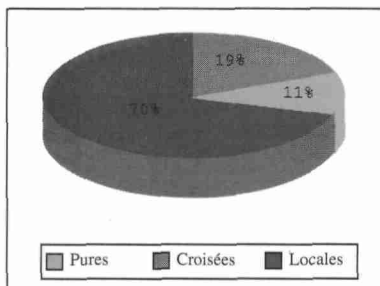
Figure 1. Structure du troupeau



En 1993, l'effectif global du cheptel a été estimé à 2 924 000 têtes dont 43% de femelles de plus de 2,5 ans (effectif de femelles en âge de reproduction).

La structure génétique du cheptel a subi une mutation profonde, la part du cheptel local est passée de 98% en 1975 à environ 70% en 1994, parallèlement celle du cheptel amélioré est passée de 2% à 30% pendant la même période (fig.2).

Fig. 2. Structure génétique du cheptel
(% par race)



Il découle de cette évolution une transformation des systèmes de production marquée notamment par l'émergence d'élevages intensifs performants qui prend de plus en plus de place dans le système global.

L'analyse de la situation du cheptel dans les grandes zones dites à vocation laitière, retenues par le plan sectoriel de 1975 (les périmètres irrigués, les zones bours favorables et celles situées dans les périphériques des grandes villes), montre que le troupeau laitier a été estimé en 1993 à environ 782 600 femelles en production.

Ce cheptel productif est composé de :

- 52% du type local
- 28% du type croisé
- 20% du type pur.

La plupart du cheptel amélioré dans les zones irriguées représente 56% en zone bour favorable. Les efforts d'amélioration génétique du cheptel laitier ont été concentrés surtout en zone d'aménagement hydro-agricole, ce qui est en concordance avec les orientations du plan laitier.

1.2. Taille des troupeaux

A défaut de données récentes sur la structure du troupeau selon la taille et sur la relation SAU-EFFECTIF du cheptel laitier, les statistiques disponibles montrent que près de 80% des éleveurs ont moins de 5 vaches laitières.

Au niveau du secteur organisé (éleveurs intégrés aux centres de collecte du lait), l'effectif moyen des vaches laitières avoisine les 4 têtes par producteur.

La taille du troupeau performant suit la même tendance : prédominance d'élevages de faibles tailles. Selon le recensement effectué par les services de la Direction de l'Élevage dans le cadre de l'identification des troupeaux formant «unités pépinières», près de 550 élevages d'effectif de plus de 20 vaches reproductrices de races pures performantes ont été recensées dans les grandes zones d'élevage laitier, totalisant un effectif de 11 000 vaches. Ces unités peuvent être considérées comme des noyaux d'élevage laitier, dits «modernes», performant avec une tendance plus ou moins marquée vers la spécialisation, et où la productivité s'améliore.

Des éléments ci-dessus exposés, quoiqu'incomplets, il ressort que les troupeaux laitiers restent dominés par des unités de faibles tailles dont les implications sur le développement de la FILIERE sont multiples (dispersion, difficulté d'encadrement et d'introduction de nouvelles techniques génératrices de progrès....).

1.3. Systèmes de production

Deux systèmes de production laitiers prédominent :

- . Système bovin laitier en irrigué
- . Système mixte.
- . Le système laitier en irrigué est rencontré dans les périmètres d'aménagement hydro-agricole et encadré par les offices régionaux de mise en valeur agricole; il est caractérisé par :
 - L'existence d'une production fourragère qui couvre une part plus ou moins importante des besoins du cheptel allant de 40 à 60% et qui constitue l'essentiel de l'alimentation de l'élevage laitier.
 - La prédominance des races améliorées (56,2% de l'effectif).
 - L'intégration au réseau de commercialisation du lait.

- Le développement des groupements d'éleveurs (coopératives, associations).
- Une meilleure organisation des actions d'encadrement et d'amélioration génétique.
- . Le système mixte prédomine dans les zones bours favorables et intermédiaires, zone de P.M.H. (petite et moyenne hydraulique) et dans la périphérie des périmètres irrigués et des grandes agglomérations. Il est caractérisé par la diversification des ressources alimentaires (jachères, paille, chaume,). Les sous-produits de l'agro-industrie et les autres aliments concentrés (orge, maïs...) sont largement utilisés (30 à 50% des besoins du cheptel). Ce système, comme son nom l'indique, est orienté vers la production laitière mais aussi vers la production de viande.

2. Performances et niveaux techniques du cheptel bovin laitier

Les performances et niveaux techniques atteints en matière de production laitière peuvent être appréhendés à travers quelques indicateurs significatifs résumés ci-après :

- Progression de la part du cheptel amélioré
- Progrès enregistré en matière de conduite des troupeaux, notamment à travers les techniques d'alimentation et de bâtiments d'élevage.

2.1. Progression de la part du cheptel amélioré

Il existe une corrélation entre la progression de l'effectif des races améliorées et les niveaux techniques atteints par les éleveurs. La part du cheptel amélioré qui avoisinait les 30% en 1994 (contre 2% en 1975) témoigne d'une amélioration dans la maîtrise des techniques d'élevage et dénote une transformation du type de production utilisant des races performantes.

Les opérations qui ont contribué à atteindre ces niveaux du cheptel amélioré ont été axées sur :

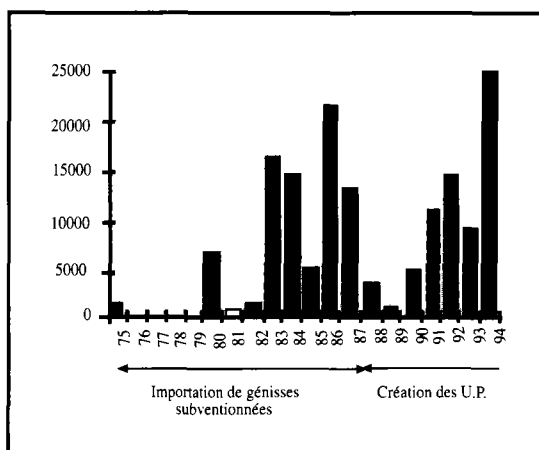
- . L'importation du bétail laitier
- . L'insémination artificielle
- . La monte naturelle
- . Le contrôle laitier et la sélection.

2.1.1. L'importation du bétail laitier

L'importation du bétail laitier de races pures a démarré au Maroc vers le début des années soixante et a concerné les organismes étatiques (Comagri, Sogeta). Elle n'a pris de l'ampleur qu'au lendemain de la mise en place du plan laitier (1975) qui prévoyait l'introduction de près de 5 000 génisses par an jusqu'à 1990 : opération qui avait pour but de renforcer la structure génétique du cheptel laitier par la création d'un «pool génétique». Ainsi, entre 1975 et 1994, près de 173 500 génisses ont été importées, soit en moyenne 9 135 par an dépassant ainsi largement les objectifs du plan laitier.

L'importation du bétail a bénéficié du soutien de l'Etat : exonération des taxes et droits de douane, octroi de subventions aux éleveurs importateurs du bétail à hauteur de 20% du prix d'acquisition jusqu'à 1988 et octroi de crédits par la Caisse Nationale de Crédit Agricole.

Fig. 3. Importation de bétail



2.1.2. L'insémination artificielle (I.A.)

Considéré comme l'un des outils de diffusion du matériel génétique performant, l'I.A. a été lancée à grande échelle avec le démarrage du plan laitier en 1975. Plusieurs actions ont été entreprises dans ce cadre visant le renforcement des infrastructures et le développement du réseau de l'I.A. Ainsi deux centres régionaux d'insémination artificielle furent créés : le premier en 1968 et situé à Casablanca (Ai Jemaa) couvrant la zone Sud et le deuxième en 1973 à Kénitra (Fouarat) couvrant le Nord et l'Est du Pays.

Depuis leur création, les deux centres se sont équipés d'infrastructures importantes en faveur du développement de l'I.A. Ces centres assurent la couverture des besoins du pays en semence congelée, en azote liquide et en matériel nécessaire d'I.A. Ils contribuent également à l'organisation de stages de formation et de recyclage des inséminateurs et des contrôleurs laitiers.

Le service de l'I.A. est organisé en circuits mobiles d'un rayon de 60 à 100 km selon l'infrastructure routière et la densité du cheptel, ou en postes fixes. Les circuits mobiles au nombre de 88 sont parcourus quotidiennement par 106 inséminateurs.

Depuis sa mise en place, l'organisation de l'I.A. est passée par deux phases :

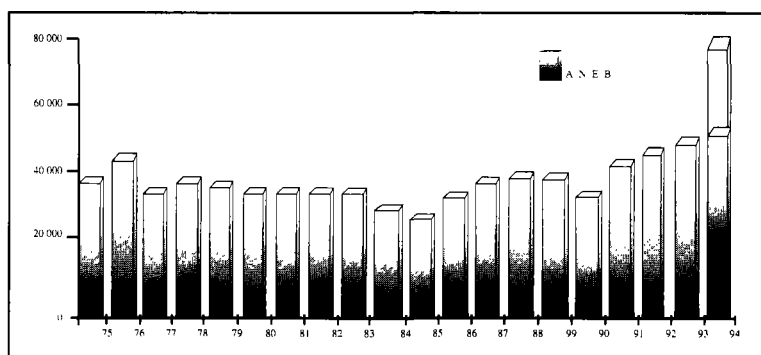
- Une phase de vulgarisation allant de 1975 à 1987 où le programme de l'I.A. était axé essentiellement sur les actions de vulgarisation de cette technique dans les zones favorables, les frais d'intervention étant en totalité pris en charge par l'Etat.
- La deuxième phase a été marquée à partir de 1988, par le transfert progressif des frais de l'I.A. du cheptel laitier dans les zones favorables (irriguées et bour favorable) eu égard aux exigences et à la spécificité d'intervention en matière d'insémination artificielle : continuité et rapidité d'intervention.

L'évolution des réalisations en I.A. depuis 1975 est donnée par la figure 4 ; il ressort que, depuis son lancement, le nombre d'I.A. a atteint un premier pic en 1976 (43 750 I.A.) puis une régression continue pour chuter à 25 600 I.A. en 1985. De 1986 à 1988, le nombre d'I.A. a connu un redressement pour stagner entre 1988 et 1990 aux alentours de 37 000 I.A. Depuis la contribution des groupements d'éleveurs à ce programme, l'activité de l'insémination a connu un développement considérable pour atteindre 77 768 en 1994 dont

84% par le secteur organisé. Le coût moyen d'une Insémination Artificielle est de 63 DH, variant de 36 à 134 DH selon les zones.

Cependant, l'I.A. ne contribue au progrès génétique qu'à travers la valeur génétique des taureaux utilisés. Conscient de ce fait, le MAMVA / DE a mis en place un Programme de Testage des géniteurs. Le premier lot de ce programme a été lancé en 1988 et a concerné 30 taurillons issus de vaches choisies pour leur index. Les résultats de ce premier lot ont été publiés. Pour assurer la continuité du programme de testage, le MAMVA/DE a eu recours depuis 1991 à la technique de transfert d'embryons et c'est ainsi qu'elle a été intégrée au programme national d'amélioration génétique.

Fig. 4. Evolution des réalisations en IA



2.1.3. La monte naturelle

Dans les régions d'élevage bovin à accès difficile non touchées par l'I.A., un réseau de stations de monte naturelle est mis en place par l'Etat.

Actuellement 193 stations de monte sont en activité peuplées de 257 géniteurs. Entre 1980 et 1994, 366 460 vaches ont été saillies dont 51,14% de race locale, 32,12% de race croisée et 13,74% de race pure.

La moyenne des saillies par an est de 26 176.

Le coût d'une saillie naturelle varie de 338 à 500 DH selon les zones.

2.1.4. Contrôle laitier et sélection

Le contrôle laitier a démarré au Maroc au début des années 70 et était limité jusqu'en 1985 aux fermes étatiques (Comagri, Sogeta, Sodea) dans les principales étables d'élevage laitier. Durant cette période, en moyenne 120 étables ayant un effectif de 5 000 vaches étaient soumises au contrôle laitier. En 1985, la création des unités pépinières a permis une augmentation du nombre de vaches contrôlées. En 1994, 376 unités pépinières totalisant un effectif de 10 531 vaches de races pures sont encadrées par l'opération du contrôle laitier. Par ailleurs, le lancement de l'opération «Contrôle Laitier» a débouché sur l'organisation de la sélection officielle concrétisée par l'ouverture au MAMVA de livres généalogiques des races pures. Depuis 1975, 27 114 reproducteurs des races pures ont été sélectionnés et inscrits aux livres généalogiques.

2.2. Conduite d'élevage

2.2.1. Sur le plan de l'encadrement

Secteur public

Années	1975	1985	1995
<i>Infrastructures</i>			
Services et inspections de l'Elevage	113	174	435
Laboratoires d'Analyses	3	7	8 (2 nationaux et 6 régionaux)
Services vétérinaires municipaux		14	17
<i>Ressources humaines</i>			
Vétérinaires	131	220	242
Ingénieurs	25	132	89
Techniciens	1003	1692	1221

Secteur privé

Années	1975	1985	1995
Nombre de vétérinaires privés	10	33	154

Les principaux programmes menés sont :

- le plan national de lutte contre la brucellose
- le programme d'éradication de la fièvre aphteuse
- le programme de lutte contre la tuberculose
- la lutte contre les maladies à incidence économique.

2.2.2. Alimentation du cheptel

L'analyse de l'évolution du bilan fourrager national durant les 10 dernières années fait apparaître globalement une modification importante de la structure des apports exprimés en UF. Ainsi la participation des cultures fourragères dans ce bilan a progressé de 73%, celle des sous-produits de l'agro-industrie de 38%. De même, la part des grains a connu une progression de 35%.

Cette tendance à l'amélioration de ces ressources alimentaires s'est effectuée aux dépens des parcours naturels dont la contribution a connu une diminution progressive.

Parallèlement à ces transformations, le niveau d'utilisation des aliments composés pour bovins, qui constitue un indicateur du progrès réalisé en matière de conduite alimentaire du cheptel, a connu une augmentation régulière. Ainsi, la production totale de ces aliments est passée de 14 000 tonnes en 1983 à plus de 400 000 tonnes en 1993 y compris les quantités distribuées dans le cadre de la sauvegarde du cheptel.

D'autre part et afin de résorber le déficit fourrager enregistré normalement durant les périodes de soudure, les efforts ont été axés sur la diffusion et la vulgarisation des techniques de fanage et d'ensilage des excédents fourragers de la saison printanière. A cet effet, les coopératives et les groupements d'éleveurs de bovins laitiers ont bénéficié de matériels nécessaires pour la production d'ensilage et les superficies ensilées ont atteint plus de 4 000 ha.

En matière de valorisation des sous-produits de l'agro-industrie, les coopératives et les groupements d'éleveurs ont été dotés de citernes de différentes capacités, de camions-citernes à motopompes destinés au stockage et au transport de la mélasse, de bacs à mélasse et d'unités de fabrication d'aliment de bétail pour la fabrication à la ferme des aliments à base de mélasse, de paille, d'orge et de sous-produits de l'agro-industrie.

Ces actions conjuguées aux efforts de vulgarisation des techniques de rationnement ont permis une certaine amélioration dans la conduite alimentaire du cheptel et une intensification de l'utilisation rationnelle des sous-produits en alimentation animale. Cependant, cet effort devrait être poursuivi encore à l'avenir.

2.2.3. Niveau de stabulation du bétail laitier

Celui-ci a connu également une progression significative, signe de modernisation de la production. Selon les données du bilan du code des investissements agricoles, environ 170 étables ont été financées chaque année ; le cumul depuis 1980 s'élève à 2400 unités.

Ce chiffre ne reflète pas réellement le nombre d'étables dites «modernes» construites pendant cette période, mais il constitue un indicateur de tendance vers la rationalisation du système de conduite de l'élevage performant dont l'habitat.

2.3. Niveaux de performances du cheptel

Les niveaux de performances du cheptel laitier constitue l'un des indicateurs révélateurs de progrès enregistrés en matière d'élevage laitier. Il constitue la résultante de tous les facteurs intervenant dans la gestion et la conduite rationnelles des troupeaux notamment : le matériel génétique exploité, la conduite alimentaire, l'hygiène, la conduite d'élevage et le savoir faire des producteurs.

Le tableau ci-après résume les performances des principales races laitières soumises au contrôle laitier (lactation standard de 305 jours).

L'analyse des performances nous permet de distinguer trois niveaux de performances :

- Niveau «Médiocre» (3 000 - 3 500 kg) : observé dans la plupart des élevages dits «ordinaires». La rentabilité de cette catégorie reste compromise, ce qui menace la viabilité des troupeaux.
- Niveau «Moyen» (3 500 - 4 000 kg)

RACES	Nd Données	Production Moyenne
PIE NOIRE	3067	5028
HOSLSTEIN	1041	5715
PIE ROUGE	639	5612

- Niveau «Satisfaisant» (> 4 000 kg)

Cette situation montre que le niveau des performances reste encore en deçà du potentiel de

production (matériel génétique...) et que de gros efforts restent à déployer pour «sécuriser» ces élevages et rendre la production laitière plus compétitive.

En outre, les niveaux de production atteints dans les unités pépinières (plus de 4 000 kg) paraissent relativement satisfaisants et augurent d'une amélioration plus marquée de la productivité du cheptel laitier dans ces élevages. Les niveaux de performances du cheptel «local et «croisé» demeurent encore très bas ; ils avoisinent respectivement 600 et 1 500 kg de lait par vache et par an. Ceci représente la part dite «traditionnelle» et connaît encore des discordances énormes en matière de productivité dont l'un des principaux facteurs de variation est le type génétique exploité.

Conclusion

Quoique l'intensification de l'élevage laitier s'amorce sensiblement (environ 20%), les niveaux de performances restent encore en deçà des potentialités existantes, notamment le matériel génétique de base. Le secteur traditionnel représenté par les types croisé et local, demeure encore prépondérant (80%).

Aperçu sur la production laitière au Cameroun

O. MESSINE*, V.N. TANYA*, D.A. MBAH**

* Centre de Recherches Zootechniques et Vétérinaires de Wakwa
BP 65 Gaoundere, Cameroun

** Ministère de la Recherche Scientifique et Technique
BP 1457 Yaounde, Cameroun

Résumé

Le lait et les dérivés laitiers sont une source appréciable de protéines animales et de minéraux, nutriments d'une valeur irremplaçable et indispensables dans l'alimentation de toutes les couches de la population et en particulier les plus fragiles (femmes enceintes, enfants et vieillards). La consommation de lait au Cameroun est estimée à 10 kg/tête, soit plus du double de la production nationale qui est de l'ordre de 50 000 tonnes. Le déficit est comblé par des importations. La réduction de ces importations, dont la croissance annuelle est de l'ordre de 19,8%, ne peut se faire qu'à travers l'augmentation de la production domestique, laquelle se fait encore de façon extensive au niveau des petits éleveurs et dans toutes les zones où l'élevage bovin est pratiqué. Ces éleveurs qui gardent les animaux d'abord pour leur viande, prélèvent généralement une petite quantité de lait pour l'autoconsommation, et très peu pour la vente. Le potentiel laitier des races zébus locales est d'ailleurs assez limité (2 à 3 litres/jour). Des résultats prometteurs obtenus en station montrent que la production peut être considérablement augmentée grâce à des croisements améliorateurs avec des races exotiques (Holstein, Jersey). Ces résultats sont en train de trouver un début d'exploitation au niveau du Projet Pilote Camerouno-Canadien de Ngaoundéré et des coopératives de production laitière aux environs de Bamenda. Mais leur transfert aux petits éleveurs se heurte à des problèmes d'ordre conjoncturel (coût élevé de départ), de gestion (reproduction, alimentation, santé), de logistique (inadéquation de l'infrastructure routière) et social (habitudes traditionnelles, système foncier inadapté,...). De plus, il ne paraît pas exister une politique précise et cohérente au niveau des services techniques gouvernementaux quant à l'objectif de production à atteindre et avec quels moyens (quel animal utiliser ? comment faire parvenir le produit au consommateur ? sous quelle forme ?...). Dans cette étude, les auteurs s'efforcent de présenter un aperçu de la situation tout en préconisant de possibles voies d'orientation future avec pour objectif final l'accroissement de la production domestique en vue de satisfaire la demande intérieure et, pourquoi pas, celle des pays voisins.

Généralités

Comme dans la plupart des pays en voie de développement, le secteur agricole joue un rôle important dans l'économie camerounaise (23% du Produit Intérieur Brut). Le sous-secteur élevage quant à lui représente 16% de la production agricole, fait vivre environ 30% de la population rurale et est largement dominé par le gros bétail. L'importance de ce secteur va au-delà de la contribution directe au PIB, puisque les ruminants par exemple utilisent les fourrages et les sous-produits agro-industriels qui autrement n'auraient trouvé aucune autre utilisation ; ils permettent aussi l'exploitation des terres marginales impropres aux cultures. De plus, les animaux constituent une source de revenus appréciable pour tous les intervenants dans le circuit (éleveurs, commerçants de bétail, bouchers, provendiers, transporteurs, etc.) tandis que les protéines d'origine animale sont des nutriments dont la valeur dans la ration des couches les plus fragiles de la population (femmes enceintes ou allaitantes, enfants et vieillards) n'est plus à démontrer. Exception faite de certaines tribus qui traitent les chèvres (Arabes Choa dans le Département de Logone et Chari, Province de l'Extrême-Nord), tout le lait produit et consommé au Cameroun est d'origine bovine.

Le Cameroun dispose d'un répertoire assez varié de races bovines indigènes dans les différentes zones agro-écologiques. Les zébus sont majoritaires et on y trouve, en termes de pourcentage du cheptel total, des Goudali (19%), des Mbororo (Djafoun et Akou, 53%), et d'autres types plus réduits numériquement. On rencontre aussi des taurins locaux (Namchi ou Doayo, Kapsiki, Bakweri, Bakossi) ainsi que des taurins exotiques (Holstein, Jersey) et les produits de croisements (Holstein X Zébu, Jersey X Zébu, Montbéliard X Zébu) (Mbah et al., 1988 ; Tawah et Mbah, 1989). Les effectifs de ce cheptel bovin sont difficiles à estimer avec précision en l'absence d'un recensement exhaustif, recensement rendu difficile par des contraintes diverses (réticence des éleveurs à donner le chiffre approximatif de leurs animaux de crainte que cette information ne puisse être utilisée comme base de taxation, réduction notable de l'incidence des épidémies faisant en sorte que les éleveurs aient de moins en moins tendance à amener leurs animaux aux vaccinations qui sont une occasion de collecte de données, etc.). Néanmoins Teuscher, Bahm et Salah (1992) et Maikano et al. (1992) estimaient le cheptel à 4,3 millions de têtes en 1986/1987, tandis que pour les services techniques du Ministère de l'Élevage, des Pêches et des Industries Animales (MINEPIA), les effectifs de bovins étaient de 3,5 millions de têtes pour l'année 1989/1990, soit une diminution de 20% par rapport aux chiffres de 1980/1981, ce qui ne devrait pas être le cas si l'on considère que depuis 1983, il n'y a plus eu d'épidémie de peste bovine et que le taux d'exploitation n'est que de l'ordre de 10 à 15%. Cette diminution apparente s'explique en partie par les raisons évoquées plus haut.

L'élevage bovin se pratique essentiellement dans les trois provinces septentrionales du Cameroun (Adamaoua, Nord et Extrême-Nord) et les Hauts Plateaux du Nord-Ouest. Cet ensemble représente près de 90% du cheptel bovin national (tableau 1). Les animaux sont élevés de façon extensive. Quoique les éleveurs soient de plus en plus sédentarisés, il existe encore des clans nomades (Mbororo particulièrement) mais presque tous les éleveurs pratiquent la transhumance en saison sèche, à la recherche d'eau et de fourrage pour leurs animaux. Élevés d'abord pour leur viande, certains animaux sont traités une fois par jour (le matin) pour l'autoconsommation et, de plus en plus, pour la vente en frais ou après transformation (lait caillé, fromage). Ces animaux sont généralement non logés, sauf dans certaines régions où, en raison des vols fréquents ou des dégâts causés aux cultures, ils sont enfermés le soir dans un enclos et les veaux mis à l'attache à la corde. Conduits au pâturage

le jour sous la conduite d'un bouvier ou sans gardiennage, ils paissent généralement dans les pâturages communautaires, à l'exception des ranchers de l'Adamaoua et des petits éleveurs laitiers du Nord-Ouest qui disposent d'étendues plus ou moins délimitées et clôturées. A l'exception du sel et du natron, peu d'aliments sont apportés au bétail en complément du fourrage, sauf dans le cas des engraissements ou des animaux entretenus dans les périmètres urbains. Les pratiques de fanage et d'ensilage sont peu connues ou non adoptées. Toutefois, la culture fourragère prend de plus en plus de l'ampleur dans certaines zones (nord-ouest et Adamaoua) en raison du regain d'intérêt pour la production laitière mais ce fourrage est essentiellement réservé à l'alimentation de saison sèche sous forme de banques fourragères (*Brachiaria ruziziensis*, *Stylosanthes guianensis*). Dans le Nord, l'Extrême-Nord et l'Adamaoua, les animaux peuvent bénéficier des résidus de récolte de céréales et de légumineuses laissés en champ ou stockés comme réserves à la maison après récolte. En général, la disponibilité de tourteau de coton peut permettre un certain apport de complément en saison sèche. L'abreuvement se fait dans les cours d'eau et les barrages aménagés.

Tableau 1. Effectifs bovins du Cameroun de 1980 à 1990 (x1000)

Province	80/81	81/82	82/83	83/84	84/85	85/86	86/87	87/88	88/89	89/90
Adamaoua	(a)	1548	1218	1187	1253	1357	1203	1174	1131	1124
Extrême-Nord	(a)	834	927	921	923	749	763	750	719	650
Nord	2873	404	423	440	506	513	519	509	476	523
Nord-Ouest	482	436	429	439	467	490	488	479	481	473
Est	210	142	260	260	176	214	183	176	88	115
Ouest	170	173	136	169	183	165	162	157	151	120
Centre	31	22	27	37	37	32	37	38	39	44
Littoral	1	2	3	4	5	7	5	6	6	5
Sud-Ouest	16	8	7	10	9	7	7	7	7	7
Sud	-	-	-	-	-	-	1	1	1	1
TOTAL	3783	3569	3430	3467	3559	3534	3368	3297	3090	3062

Compilation des données des Délégations Provinciales du MINEPIA

(a) Les chiffres de l'Adamaoua et de l'Extrême-Nord contenus dans ceux du Nord quand ces deux provinces en faisaient encore partie.

Les soins vétérinaires sont limités aux campagnes de masse (vaccinations contre les épizooties, traitements curatifs et préventifs contre les trypanosomiasés, etc.). Eu égard à la crise économique et à la dévaluation qui mettent la plupart des produits vétérinaires hors de portée de l'éleveur moyen, on observe une tendance de plus en plus généralisée de ces éleveurs à pratiquer eux-mêmes le traitement de leurs animaux soit par la pharmacopée traditionnelle, soit encore à l'aide de produits vétérinaires à bas prix et de qualité douteuse importés frauduleusement du Nigéria voisin. Le nombre d'éleveurs est difficile à déterminer en raison du manque d'enquêtes et sondages exhaustifs à cet effet. Il est toutefois possible d'estimer que, à partir d'une moyenne de 50-80 têtes par élevage, le nombre d'éleveurs se situerait entre 44 000 et 70 000, compte tenu du fait que certains éleveurs ne possèdent que quelques têtes alors que d'autres en comptent des milliers. Ils sont généralement pas ou peu scolarisés dans les zones septentrionales du pays alors qu'une

grande proportion peut lire ou écrire dans les provinces méridionales. La main d'œuvre est généralement d'origine familiale mais l'utilisation d'une main-d'œuvre salariée (paiement en nature ou en espèces) est de plus en plus répandue.

Production et consommation de lait

Il n'existe pas de données fiables pour la production laitière au Cameroun, en raison du caractère extensif de celle-ci et du refus des éleveurs à déclarer les quantités produites. Selon le sixième plan quinquennal 1986-1991, la production projetée pour la période considérée devait atteindre 50 000 tonnes, soit à l'époque environ 5,1 litres par habitant. Considérant une consommation moyenne de 10 kg per capita (Von Massow, 1984), on s'aperçoit que la production domestique était (et reste) loin de satisfaire la demande, en raison de la croissance démographique qui est plus importante que la croissance de la production. Selon Teushcer, Bahm et Salah (1992), près de 11 480 tonnes de lait et produits laitiers (représentant près de 50% de la consommation) devraient être importées annuellement pour un coût total d'environ 10 milliards FCFA. Quoiqu'enregistrant de légères variations annuelles, l'importation du lait et de produits laitiers reste assez importante et la réduction progressive de ces importations (lesquelles connaîtraient une croissance annuelle de 19,8%) (Tambi, 1991) passe nécessairement par une augmentation de la production domestique de lait frais et dérivés. Mais cette production domestique se heurte à des embûches de diverse nature qui en freinent le développement.

Contraintes à la production laitière

Elles ne sont pas spécifiques, elles concernent aussi la production de viande et sont de plusieurs ordres.

Génétique, reproduction, santé

Des spéculations comme la production laitière sont très exigeantes vis-à-vis du matériel génétique. Les races locales se sont montrées peu productives (2 à 3 litres de lait/jour, première mise-bas tardive, longs intervalles entre vêlages) comme l'on montré Munji (1973) à Bambui et Lhoste et Pierson (1974) à Wakwa. De plus, le manque de géniteurs de bonne qualité est patent, tandis que des lacunes existent dans les connaissances du potentiel génétique des races locales. L'expérimentation en station avec des races exotiques réputées bonnes laitières, importées des USA (Munji, 1973) et d'Europe (Lhoste et Pierson, 1976) a été entreprise. C'est ainsi que des génisses Holstein furent importées des USA à partir de 1974 grâce au Heifer Project International (HPI), ainsi que de la semence congelée. Dès 1980 (Wakwa) et 1982 (Bembui), seule la semence congelée fut importée. Les races pures et les produits de leurs croisements avec les bovins locaux ont été évalués pour leur potentiel laitier dans les conditions locales (Mbah, Mbanya et Messine, 1987) (tableau 2). Leur adaptabilité a aussi été évaluée (Mbah et al., 1982a, b, 1984 ; Tanya, 1985 ; Tanya et Salah, 1985). Ces auteurs ont pu montrer que ces animaux exotiques et les produits de leurs croisements étaient plus susceptibles à la chaleur et à diverses pathologies locales (rickettsiose, trypanosomiase, piroplasmose, streptothricose, fièvre aphteuse, etc.) tandis que chez les races locales, il existe une grande mortalité (5-10% pour les adultes, jusqu'à 20% pour les veaux) causée par les maladies et coûtant un total de 50 000 millions de FCFA par an (Banque Mondiale, 1988).

Tableau 2. Performance laitière moyenne par race et par station de recherche

Race ¹	BAMBUI			WAKWA		
	n	Durée de lactation (jours)	Production (kg) ²	n	Durée de lactation (jour)	Production (kg) ²
H	73	329 ± 19	3471 ± 363 (3360 ± 351)	43	283 ± 38	3544 ± 687 (3431 ± 665)
J	59	315 ± 39	2681 ± 340 (2695 ± 329)	-	-	-
HxG	-	-	-	20	256 ± 69	1574 ± 895 (1524 ± 866)
HxRF	8	221 ± 43	1551 ± 899 (1501 ± 870)	-	-	-
JxWF	24	189 ± 41	1011 ± 222 (879 ± 215)	-	-	-
WF	28	170 ± 09	513 ± 62 (497 ± 60)	-	-	-
RF	14	114 ± 58	(341 ± 171) (320 ± 171)	-	-	-
G	-	-	-	16	168 ± 88 (483 ± 430)	499 ± 444

1- H = Holstein, J = Jersey, G = Goudali, WF = White Foulani, R = Red Foulani

2- Production en litres entre parenthèses

Alimentation et conduite des troupeaux

Les pâturages étant communautaires, chacun a tendance à acquérir le maximum d'animaux, et cette augmentation incontrôlée des effectifs entraînerait le surpâturage, de même que le déficit fourrager en saison sèche peut faire perdre jusqu'à 20% du poids aux animaux. Des sevrages tardifs, une structure de troupeau inadéquate (trop de mâles et autres animaux improductifs) et le non respect d'une saison de monte appropriée ne sont pas à négliger. Enfin, la divagation de jour (pas de gardiennage) ou de nuit (pas ou peu de parage) telle que signalée plus haut a des conséquences néfastes : dégâts aux cultures entraînant des conflits agriculteurs-éleveurs, vols, accidents de circulation, reproduction incontrôlée....

Socio-économique

Comme dans la plupart des pays en voie de développement, le cameroun est un terrain

privilegié pour le «dumping» de la surproduction des pays industrialisés, «dumping» qui met à mal les efforts de production intérieure. De plus, peu de financement sont disponibles pour la production animale, par rapport aux cultures vivrières et de rentes. Ce secteur est en effet considéré comme étant à risque, difficile à contrôler en raison de la mobilité des animaux et peu rentable (taux d'exploitation assez faible et objectifs de production peu clairs). L'expérience du Fonds National de Développement rural (FONADER), censé être la banque du paysan, a été décevante : les crédits alloués ont exclu les vrais paysans au bénéfice des fonctionnaires et commerçants dont les objectifs n'étaient pas d'investir dans l'élevage. De même, les terres qui étaient prévues pour l'installation des petits éleveurs ont été attribuées de préférence à des éleveurs qui disposaient de gros moyens. De nouvelles structures de crédit sont mises en place mais les taux d'intérêt assez élevés et la procédure trop compliquée découragent les postulants. Enfin, la non application de la législation sur le système foncier, certaines pratiques comme la transhumance, la réticence des éleveurs vis-à-vis des innovations, le manque d'organisation des producteurs aussi bien pour la défense de leurs intérêts communs que pour la commercialisation de leurs produits, une infrastructure routière presque inexistante peu praticable de façon saisonnière, la compétition grandissante pour les terres entre agriculteurs et éleveurs et les habitudes prises par certains consommateurs (tendance à consommer importé) sont autant de contraintes à signaler.

Tendance actuelle

Des efforts ont été entrepris par le Gouvernement, avec l'aide de partenaires extérieurs, pour mettre en place un début de politique de production laitière visant à satisfaire le marché intérieur, l'objectif final étant une moindre dépendance vis-à-vis des importations et une réduction accrue de la sortie des devises. C'est ainsi qu'a vu le jour le Projet Laitier Pilote Camerouno-Canadien de Ngaoundéré dans la Province de l'Adamaoua, et que sont encouragées les associations de producteurs telles que la Tadu Dairy Coopérative dans la Province du Nord-Ouest (avec l'appui financier de l'Agence Américaine pour le Développement International (USAID) à travers une ONG dénommée Land-O-Lakes).

Le Projet Laitier Pilote de Ngaoundéré

Le Projet Laitier Pilote de Ngaoundéré est un complexe financé conjointement par le Gouvernement Camerounais et la Coopération Canadienne à travers la Société Pellemon International Inc. Elle se compose de deux unités, une cellule de vulgarisation et une usine laitière moderne.

La cellule de vulgarisation, avec sa ferme de démonstration, encadre actuellement 348 éleveurs pour un total d'environ 20 000 têtes. Elle a permis, à travers la vente de semence, la réalisation en milieu paysan de près de 250 ha de cultures fourragères (*Brachiaria ruziziensis*, *Stylosanthes guianensis*). Dans un premier temps, la cellule de vulgarisation a procédé auprès des éleveurs participants à des inséminations artificielles (chaleurs naturelles ou induites) avec de la semence importée congelée de Holstein. Mais cette expérience a dû être interrompue en raison de certaines contingences imprévues :

d'une part, l'offre en lait des producteurs locaux s'est avérée supérieure à la demande du marché local et il ne paraissait pas avantageux, dans la situation actuelle, de promouvoir un élevage plus productif quand la production ne pouvait pas être écoulee. En effet,

l'infrastructure inexistante en moyens de télécommunication, l'inadéquation des voies de communications dans un rayon restreint et les coûts élevés d'azote liquide ne permettent pas la rentabilité de l'entreprise. De même, le manque d'infrastructures adéquates pour l'évacuation des produits finis vers les grands centres de consommation situés dans la partie méridionale du pays (600 à 900 km du lieu de production) couplé au faible pouvoir d'achat du marché intérieur ne sont pas favorables à un bon développement du Projet. C'est ainsi que l'usine laitière qui a une capacité de traitement de 3,6 millions de litres de lait par an, ce qui lui permettrait de satisfaire une grande partie des besoins du Cameroun et même des pays voisins tels le Tchad et la RCA, ne peut en traiter que 1500. Ceci représente tout de même l'équivalent de 12 000 pots de yaourt sur une demande estimée à 40-45 000. En produisant du lait pasteurisé homogénéisé dénommé Kossam (lit en Ffulde, langue locale) et transformant une partie du lait collecté en lait caillé, yaourt, beurre de table et fromage, elle arrive à satisfaire 30% de la demande intérieure. Elle couvre 7 provinces sur 10 mais ne peut malheureusement pas encore fonctionner à pleine capacité en raison des problèmes rencontrés dans l'écoulement de ses produits (éloignement des grands centres de consommation, coûts assez élevés d'amortissement faisant qu'elle peut difficilement concurrencer avec le lait importé qui est préféré aussi bien par certains consommateurs du Sud que par les sociétés locales de transformation, etc.)

Les coopératives laitières du Nord-Ouest

Il existe plusieurs regroupements de producteurs de lait dans la Province du Nord-Ouest. La coopérative de production laitière de Tadu (Tadu Dairy Cooperative Society) est une organisation non gouvernementale encadrée par l'USAID et compte environ 36 adhérents, des éleveurs de bovins intéressés par la production laitière. Ces éleveurs sont répartis dans 6 localités distantes d'environ 16 km l'une de l'autre pour un total de 2 000 vaches. Chaque éleveur, dont le nombre moyen d'animaux avoisine 100 têtes, garde 2 à 5 taureaux dans son exploitation pour la monte naturelle tandis que les services d'I.A. avec de la semence congelée importée des USA sont fournis par un technicien basé dans chaque localité, à raison d'environ 72 I.A. par technicien/an.

Suggestions sur les mesures à prendre

Le Cameroun dispose d'un potentiel bovin impressionnant qui aurait pu lui permettre une autosuffisance en lait et produits laitiers. Tel n'est malheureusement pas le cas. Les importations de lait et produits laitiers destinées à combler le déficit de la production locale constituent une hémorragie importante en devises, devises dont a fortement besoin le Cameroun pour sortir de la crise économique. L'augmentation de la production domestique passe nécessairement par certaines actions qui devraient être entreprises aussi bien par les autorités gouvernementales que par les producteurs eux-mêmes.

Actions gouvernementales : Elles visent :

- à la protection du marché local (taxation plus élevée des produits laitiers importés) et promotion d'une politique des prix favorable au développement laitier ;
- à la contribution à une distribution plus équitable des terres en propriété privée. Cela permettrait l'aménagement des enclos, limiterait le surpâturage et promouvoir l'utilisation des cultures fourragères et des sous-produits agro-pastoraux,...
- à la création de services spécifiques destinés aux exploitants laitiers (bains détiqueurs collectifs, centres de collecte de lait, etc.) qui seraient gérés collectivement par les

- exploitants eux-mêmes ;
- à la facilitation de l'accès au crédit ;
- au développement d'une infrastructure de commercialisation à travers l'amélioration de l'infrastructure routière et l'aménagement de canaux de distribution (initiation au regroupement en coopératives de producteurs en vue de l'approvisionnement en intrants et la vente de lait) ;
- à la définition d'une politique cohérente et précise en matière de métissage pour la production laitière car au niveau des éleveurs ayant acquis des métis 1/2 sang, on assiste à un accouplement anarchique menant à la longue à une dilution progressive du sang exotique ;
- à la revalorisation du rôle de la recherche et de la vulgarisation en ce qui concerne les opérations de recherche et la dissémination des résultats sur la caractérisation et la sélection des races locales, les croisements contrôlés avec des races exotiques, les essais de production fourragères,...

Actions au niveau des éleveurs : Elles visent à :

- l'amélioration du suivi génétique des troupeaux : utilisation des meilleurs reproducteurs, observation d'un âge au sevrage et d'une saison de monte optimale, sélection ;
- l'accroissement du gardiennage et du parcage en vue de limiter les saillies incontrôlées ;
- l'adoption des résultats innovateurs destinés à accroître le rendement (alimentation appropriée des laitières à travers la pratique des cultures fourragères, banques fourragères, utilisation des sous-produits agro-industriels, des résidus de récolte et de la complémentation minérale) ;
- la couverture sanitaire appropriée (participation massive aux campagnes de vaccination, traitements prophylactiques et curatifs,....) ;
- l'organisation en groupements d'intérêt commun (GIC) ;
- la gestion intégrée de l'espace pastoral communautaire ou individuel.

Références bibliographiques

1. Banque Mondiale (1988), Livestock Development Project. *Staff Appraisal Report* n° 7370-CM. Yaounde, Cameroon.
2. Lhoste P., Pierson J., (1976), Rapport annuel 1975/1976. CRZ de Wakwa, pp 19-24.
3. Maikano A., Nganou A., Zoyan, N. (1992), Rapport sur la séro-surveillance peste bovine (campagne 1991). LANAVET, Cameroun, Cameroun, 10 p + annexes.
4. Mbah D. A. (1982a), Mortality due to rickettsia, trypanosomiasis, piroplasmosis and streptothricosis among six genetic groups of cattle at Wakwa. *Science and Technology Review* (2-3) : 101-106.
5. Mbah D. A. (1982b), Adaptation of dairy cattle to Wakwa (Admaoua) environment. I. Resistance to cattle ticks. *Science and Technology Review* 2(2-3) : 81-88.
6. Mbah D. A. (1984), Adaptation of dairy cattle to Wakwa (Adamaoua) environment. II. Susceptibility to heat stress. *Science and Technology Review*, Agronomic and Animal Sciences Series 1(1) : 125-131.
7. Mbah D. A., Mbanya J., Messine O. (1987), Performance of Holsteins, Jerseys and their zebu crosses in Cameroon : Preliminary results. *Revue Science et Technologie*, série Sciences Agronomiques 3(2) : 115-126.
8. Mbah D. A., Saliki J. T., Ottou J.F.B., Pingpoh D. P. (1988), Research and Development Report, Cameroun. Workshop on Collaborative Cattle, Milk and Meat Research in West Africa, 26-27 october, Ibadan, Nigeria.

9. Munji M. T. (1973), Dairy Production. In : Annual Report 1972/1973. Animal Research Centre, Bambui.
10. Tambi E. (1961), Dairy production in Cameroon : growth development problems and solutions. *World Animal review* 67 : 38-48.
11. Tanya V. N. (1985), Foot-and-Mouth disease at Wakwa, Ngaoundere, Cameroon. A preliminary study of its epizootiology. *Science and Technology Review*, Agronomic and Animal Sciences Series 1(2) : 73-78.
12. Tanya V. N., Salah J.N.S. (1985), Epizootiological observations on bovine cutaneous streptothricosis at Wakwa, Ngaoundere, Cameroon. *Science and Technology Review*, Agronomic and Animal Sciences Series 1(2) : 61-64.
13. Tawah H C. L., Mbah D. A. (1989), Cattle breed evaluation and improvement in Cameroon : a review of the situation, CRZ Wakwa, Cameroon (non publié).
14. Teuscher T., Bahm A., Salah J.N.S. (1992). Livestock Research Development and Policy in Cameroon : analysis and reform proposals. IRZV, Yaoundé, Cameroon.
15. Von Massow V. H. (1984), Dairy imports into Sub-saharan Africa : Development and Policies. LPU Workong paper No. 4, ILCA, Addis Abeba, Ethiopie.

Amélioration génétique des bovins laitiers . Situation et bilans

A. BENLEKHAL

Direction de l'Elevage - Rabat

I . Quelques données générales

Le secteur de l'élevage constitue l'une des composantes essentielles du secteur agricole en général, et une activité à fonctions multiples.

En effet :

- la valeur des productions animales varie selon les années de 37% à 26% du produit intérieur brut agricole (PIBA) (7,7 à 4 % du PIB total) et dont le facteur de variation est représenté par les effets de sécheresse.
- Les 2/3 environ de la population rurale (49,4% de la population totale) tirent en partie leur revenu de l'élevage.
- le secteur fournit environ 20% du total des emplois agricoles.
- les produits animaux contribuent pour 32% dans la consommation alimentaire globale de la population.
- le secteur offre l'énergie pour la traction animale (17% des superficies agricoles soit environ 920.000 ha), et de la matière première indispensable pour l'artisanat, le textile (peau, cuir, laine).

L'élevage bovin constitue un secteur ayant attiré le plus d'intérêt durant les vingt dernières années. Ce secteur offre la quasitotalité de la production laitière globale, et près de 55% de viandes rouges.

1. Le cheptel bovin - effectif - structure - distribution

Globalement, l'évolution de l'effectif du cheptel bovin reste influencée par les conditions climatiques (tab.I).

Tableau 1. Evolution des effectifs du cheptel (en milliers de têtes)

Année	Effectif Bovins	Evolution Annuelle
1980	3376	-
1981	3248	-3,8%
1982	2537	-21,9%
1983	2431	-4,2%
1984	2363	-2,8%
1985	2501	+5,8%
1986	2851	+14%
1987	3178	+11,5%
1988	3442	+8,3%
1989	3681	+7%
1990	3710	+0,8%
1991	3438	-7,3%
1992	3269	-5%
1993	2924	-10,6%
1994	2434	-16,7%

Mais, en dépit de la grande sécheresse de 1981/82 et secondairement celle de 93/94, l'effectif reste stationnaire et oscille autour de 3 millions de têtes.

Le cheptel bovin est composé de trois types génétiques :

- le type local: environ 70% de l'effectif
- le type amélioré pur: environ 12% “
- le type croisé: “ 18% “

1.1 Le type local reste le plus dominant (70% en 1994) quoique sa part est en recul constant. Il est répandu dans les zones dites «bours arides et semi-arides et les zones de montagnes» où les brassages avec les races d'origine étrangère ont été limités.

Dans cette population, on distingue trois entités génétiques ou races.

- Brune de l'Atlas : la plus répandue et la plus représentative (environ 1,5 million); mais c'est la race qui a fait l'objet de plus de croisement avec les races laitières.
- la Blonde d'Oulmès (environ 80.000 têtes) localisée dans le plateau de Zaer et les collines d'Oulmès - Boukachmir.
- la Tidili (environ 20.000 têtes) : dans les piémonts du Haut-Atlas (Ouarzazate)

Ces trois races présentent deux points communs :

- une rusticité et une résistance aux conditions du milieu (physique, climatique...) et aux maladies.
- une faible productivité (voir plus loin).

1.2 Le type amélioré pur : ce type englobe les races améliorées d'origine importée (Europe, Amérique du Nord) dont les Frisonnes Pie Noire, Holstein restent les plus dominantes (90% du total) suivies d'autres races : Pie rouge, Tarentaise et Santa Gertrudis (type viande).

La part de ce type génétique est en progression continue depuis les vingt dernières années (0,5% en 1975 à 12% en 1994) et constitue l'élément pivot du développement du secteur laitier.

Ces races sont localisées dans les zones d'agriculture intensive (zones irriguées, humides et semi humides à précipitations dépassant les 350 mm/an) ; mais tendent à connaître une extension à grande échelle.

1.3 Le type croisé résulte du brassage entre les races locales (support femelle) et les races améliorées d'origine importée. Cette voie d'amélioration du cheptel a été largement suivie dans les zones agricoles dites intermédiaires ou d'agriculture moyenne à semi-intensive. L'avantage du croisement vient de l'effet hétérosis largement perceptible.

La part du cheptel croisé croît rapidement (de 1,5% en 1975 à 18% en 1994) grâce au recours à l'usage de reproducteurs améliorés et à l'insémination artificielle du cheptel local. Les niveaux de performances du type croisé restent relativement satisfaisants, ce qui encourage les petits éleveurs à la pratique de ce système (voir plus loin).

2. Les systèmes de production

Deux systèmes de production laitière prédominent :

- Système bovin laitier en irrigué
- Système mixte

Le système laitier en irrigué est rencontré dans les périmètres d'aménagement hydro-agricole encadrés par les offices régionaux de mise en valeur agricole ; il est caractérisé par :

- l'existence d'une production fourragère qui couvre une part plus ou moins importante des besoins du cheptel allant de 40 à 60 % et qui constitue l'essentiel de l'alimentation de l'élevage laitier.
- la prédominance des races améliorées (56,2% de l'effectif).
- l'intégration au réseau de commercialisation du lait.

Le système mixte prédomine dans les zones bours favorables et intermédiaires, zones de P.M.H, dans la périphérie des périmètres irrigués et des grandes agglomérations. Il est caractérisé par la diversification des ressources alimentaires (jachères, pailles, chaumes, sous-produits d'agro-industrie). Les sous-produits de l'agro-industrie et les autres aliments concentrés (orge, maïs...) sont largement utilisés (30 à 50% des besoins du cheptel). Ce système, comme son nom l'indique, est orienté vers la production laitière, mais aussi vers la production de viande.

3. Productions animales / Consommation

Globalement, la production laitière a connu un développement appréciable, évalué à 29 % par an. Cependant, les années de sécheresse de 1992 et 1993 ont affecté la croissance de la production laitière, soit respectivement 1,5% et 1% pour les deux années.

La part de la production usinée est en progression continue : soit en moyenne 5,4 %/an entre 1990 et 1994.

La part de lait usiné a évolué de 9,9 % en 1975 à 52% en 1994 ; grâce au développement d'un important réseau de collecte et de transformation du lait (670 centres de collecte (*) du lait et 17 unités industrielles de transformation du lait en 1994).

(*) Les centres de collecte du lait sont gérés par des coopératives de producteurs laitiers et constituent un relais entre les éleveurs-producteurs et les usines laitières.

Le taux de couverture de la consommation par la production locale est située à 83,5% ; les importations portent essentiellement sur le beurre (environ 2.900 tonnes en 1994) et la poudre du lait.

II. Plan d'amélioration génétique du cheptel laitier

1. Objectifs

Depuis 1975, un plan d'envergure de développement de la production laitière a été lancé («plan laitier») et vise comme objectif primaire d'assurer une consommation moyenne par habitant de près de 91équivalents litres/hab/an.

Ce pari, aussi ambitieux, a constitué un défi à surmonter si l'on considère que la consommation ne dépassait guère 35 Eq. litres de lait/hab/an en 1975, et où 70% provenaient des importations.

Aussi, une stratégie de développement de la production laitière a été mise en place, et s'articulait autour de deux axes complémentaires :

- Intensification de la production laitière par :
 - . la diversification et la valorisation des ressources alimentaires du cheptel,
 - . l'amélioration génétique,
 - . l'encadrement sanitaire,
 - . l'incitation des producteurs (octroi de prêts, aides financières, garantie de prix à la production).
- Organisation de circuits de commercialisation et de transformation par la prise en charge par l'Etat de la création et d'équipement des centres de collecte du lait, et incitation à l'implantation des laiteries.

C'est dans le cadre de cette stratégie qu'un programme d'amélioration génétique du cheptel laitier a été lancé.

2. Axes d'intervention

Le programme d'amélioration génétique du cheptel laitier mis en place depuis le démarrage du plan laitier (1975) s'articule autour des axes suivants :

- introduction de races laitières,
- diffusion et extension de l'insémination artificielle,
- croisement du cheptel local,
- initiation de l'opération «sélection des races améliorées»

2.1 L'introduction des races laitières a été effectuée par l'importation de génisses à partir des pays d'Europe et d'Amérique du Nord.

Cette opération a été entreprise depuis 1975 par les éleveurs et les coopératives de producteurs laitiers. Elle a bénéficié du soutien de l'Etat : exonérations douanières, octroi de crédits aux producteurs, encadrement de l'opération sur les plans techniques et sanitaires.

Les animaux importés doivent répondre à des normes génétiques et sanitaires précises définies par la Direction de l'Elevage dans le cadre d'un «cahier de charges» mis à la disposition des importateurs.

L'effectif du cheptel importé entre 1975 et 1994 s'élève à 151.000 têtes, soit 150% des objectifs du plan laitier.

Cet effectif importé a été à l'origine de la constitution du noyau dit «amélioré» qui constitue 12% de l'effectif global de bovins au Maroc (1994), soit environ 290.000 têtes.

2.2 L'insémination artificielle

Cette opération a été lancée à grande échelle avec le démarrage du plan laitier (1975). Elle a connu une progression très sensible grâce à la mise en place d'un schéma d'organisation approprié avec l'association des Organisations Professionnelles (Associations et Coopératives d'éleveurs) pour la mise en place de cette opération chez les éleveurs.

D'autres technologies de pointe ont vu le jour parallèlement à l'insémination artificielle, il s'agit de technique de sélection de géniteurs sur descendance (Testage) et le transfert d'embryons, qui ouvriraient la voie à l'accélération de la création du progrès génétique et de sa diffusion à grande échelle.

2.3 Croisement du cheptel local

Parmi les voies préconisées pour l'amélioration de la productivité du cheptel laitier, l'adoption du système de croisement dit «absorption» du cheptel local par les races laitières d'origine importé.

Ce système s'est largement répandu notamment dans les zones d'agriculture intermédiaire ou semi-intensive.

Les produits de croisement (F_1) accusent une nette amélioration quant aux niveaux de performances et s'adaptent généralement bien aux conditions du milieu et de l'élevage.

La part du cheptel croisé a tendance à augmenter passant de 1,5% en 1975 à 18% en 1994, (soit environ 430.000 têtes).

Deux moyens permettent le croisement du cheptel local :

- l'insémination artificielle
- la monte naturelle par l'usage de géniteurs installés dans les 160 stations de monte public (230 géniteurs/an) et les reproducteurs privés.

2.4 Contrôle laitier et sélection

Considéré comme l'outil de base pour conduire l'opération de sélection génétique, le contrôle laitier a été introduit depuis le début des années 70. Il était limité aux grandes unités étatiques et à quelques éleveurs individuels (une cinquantaine environ).

Le contrôle laitier utilisé est du type A30, tel que défini par la commission internationale du contrôle des performances laitières bovines (C.I.C.P.L.B) ; il est pratiqué par un agent officiel mandaté par les services publics (Direction de l'Elevage) selon des tâches précises, une fois par mois sur les traites de 24 heures.

Actuellement, le contrôle laitier est pratiqué dans 420 étables privées, totalisant un effectif de près de 13.000 vaches laitières.

Ces unités constituent la base de sélection, et sont orientées à ce titre, de plus en plus, à la multiplication de reproducteurs (génisses) sélectionnés (élevage pépinières). Elles constituent également le support de testage des reproducteurs d'insémination artificielle.

Le contrôle des performances laitières a été introduit depuis plus de deux décennies, il a permis de constituer une importante base de données susceptible d'être utilisée à des fins multiples (sélection, tenue de fichiers des races, aide à la gestion...). Cependant, l'utilisation actuelle reste limitée à la sélection de reproducteurs en vue de leur inscription aux livres

généalogiques (les livres généalogiques ont été institués au Maroc en 1973), mais les données sont actuellement de plus en plus utilisées dans la gestion des troupeaux laitiers, notamment ceux encadrés par les Associations d'Éleveurs organisées au sein de l'Association Nationale des éleveurs de bovins de races pures (ANEB).

III. Analyse des performances du cheptel laitier

1. Méthodologie

L'appréciation des performances du cheptel laitier au Maroc n'est pas une tâche aisée. En effet, la complexité de l'élevage, sa répartition géographique, sa structure et le caractère aléatoire de programmation des cycles de production (notamment pour les types croisés et local) rendent difficile l'évaluation des niveaux de performance du cheptel.

Aussi, les résultats qui seront exposés et analysés dans le présent travail proviennent de deux sources de données :

- Relevés du contrôle laitier officiel.
- Résultats d'enquête pour l'estimation de la production

1.1. Les performances obtenues selon l'opération «contrôle laitier» concernent essentiellement les races pures d'origine importée, nées et élevées au Maroc.

Les données proviennent d'un effectif moyen soumis au contrôle laitier de 11.000 vaches, réparties dans plus de 400 troupeaux de différentes zones agricoles (zones irriguées d'agriculture intensive, zones bours semi-intensives...).

L'élevage dans ces zones est du type intensif moderne, avec système d'alimentation plus ou moins rationnel (à base de cultures fourragères couvrant 40 à 60% et de concentré...), une conduite de reproduction convenablement menée, élevage en stabulation permanente (présence d'étables modernes en «dur»), surveillance et encadrement sanitaires du cheptel assurés...

Cet échantillon d'élevage représente environ 8% de l'effectif total des races améliorées pures.

1.2. L'estimation des performances laitières par le système «d'enquête» concerne essentiellement les types croisés et local.

Compte tenu du caractère de collecte des données et des conditions de réalisation des enquêtes, les résultats restent à titre indicatif et ne reflètent pas les niveaux réels de performances de ces types génétiques dans les conditions de l'élevage considérées.

2. Les performances

2.1 Cheptel pur

Le tableau ci-après résume les performances des principales races laitières soumises au contrôle laitier (lactation standard 305 jours)

Races	Performances moyennes / lactation (305 j) - toute lactation	
	Nombre de données	Production moyenne
Pie-noire	3067	5028
Holstein	1041	5715
Pie rouge	639	5612

Source : contrôle laitier officiel

L'analyse des performances de l'échantillon du cheptel de races laitières améliorées d'origine importée, nées et élevées au Maroc montre que les animaux peuvent être comparables avec ceux du pays d'origine ; mais les variations sont grandes et reflètent les différences quant à la gestion et au niveau technique des producteurs.

Une simple comparaison entre les moyennes des lactations enregistrées de cet échantillon et le potentiel génétique du cheptel importé, apprécié à travers les pedigrees des génisses, montre que ces niveaux sont sensiblement satisfaisants, et que le matériel génétique importé peut être bien valorisé dans certains élevages où le système de conduite est maîtrisé.

2.2 Cheptel croisé et local

Les performances du cheptel croisé et local sont résumées dans le tableau ci-après:

Type	Moyennes		Source
	Durée (j)	Product° moyenne (kg)	
Local	180 - 210j	620 650 - 700	Haouz Tadla
Croise	180 180 - 240	1800 kg 1520 kg	Gharb Tadla

Les niveaux de performance du cheptel local et croisé demeurent encore bas quoique les variations sont grandes, ce qui montre que les possibilités de sélection peuvent engendrer une amélioration sensible des performances.

En conclusion, quoique l'intensification de l'élevage laitier s'amorce sensiblement, le niveau global de performances du cheptel laitier reste encore en deça des potentialités existantes, notamment le matériel génétique de base constitué à partir des importations. De gros efforts restent encore à déployer notamment dans les domaines de l'amélioration du bétail.

La production laitière au Sénégal : contraintes et perspectives

M. BA DIAO

LNERV/ISRA, BP 2057 Dakar-Hann, Sénégal

Résumé

Le Sénégal, à l'instar de beaucoup de pays africains, est confronté à un grand déficit en lait. La consommation nationale est couverte à 60 p.100 par les importations, principalement celles du lait en poudre.

Les pouvoirs publics ont initié des expériences d'amélioration de la production laitière locale basée sur l'importation d'animaux exotiques, avec l'appui de petites exploitations privées.

Ces unités n'ont pu se développer en raison :

- d'une forte mortalité des vaches importées, due aux maladies transmises par les tiques en particulier la rickettsiose et l'anaplasmosé;*
- des difficultés d'approvisionnement en intrants surtout alimentaires;*
- de l'inefficacité du système de commercialisation;*
- d'une insuffisance dans la gestion technique des exploitations.*

L'environnement socio-économique de la production laitière présente donc un certain nombre de déficiences qui en font une spéculation coûteuse et difficile à mettre en œuvre.

La dévaluation du franc CFA et l'augmentation des taxes sur les produits laitiers importés offrent, cependant, une nouvelle opportunité aux producteurs privés. Les produits locaux deviennent plus compétitifs par rapport aux produits laitiers importés.

Le soutien des pouvoirs publics devra être orienté vers une politique adéquate des prix des intrants alimentaires, l'encadrement et surtout la formation des producteurs. Car en définitive, la mise en œuvre simultanée d'innovations techniques dépend essentiellement des changements qui sont apportés au plan de la gestion des exploitations.

Mots-clés : lait, vache laitière, race exotique, gestion, socio-économie.

Introduction

Le marché mondial du lait est saturé dans les pays industrialisés notamment européens. L'Afrique est, quant à elle, marginalisée en dépit de l'existence d'un potentiel animal important. En effet, bien que possédant 14 % du cheptel bovin mondial, le continent africain ne produit que 2,4 % du lait de vache en raison d'une faible productivité du cheptel. On peut rappeler que la production s'élève à 200-300 kg de lait par vache et par an en Afrique contre plus de 3000 kg en Europe !

Les performances des pays du Nord ont évidemment un coût. On ne produit pas de telles quantités de lait en laissant les animaux consommer du fourrage grossier et/ou rare. La recherche génétique a permis de sélectionner des animaux de plus en plus performants et spécialisés, mais également nécessitant une alimentation beaucoup plus riche (ensilage de maïs ou de sorgho, tourteaux, céréales).

Les contre-performances de l'élevage africain tiennent pour l'essentiel au climat, à la génétique, à l'alimentation et aux systèmes de production.

Pour le cas spécifique du Sénégal, la production laitière accuse un lourd déficit depuis plusieurs années. En effet, jusqu'en 1993, le pays était tributaire de l'Union Européenne (U.E.) pour 60 p.100 de ses approvisionnements.

Pourtant, depuis une douzaine d'années l'Etat, avec la mise en place d'un projet de développement de la production laitière, encourage l'installation d'étables laitières privées autour des grands centres urbains. Dans ce cadre, des vaches laitières exotiques (Montbéliardes et Jersiaises notamment) sont importées et exploitées dans la zone péri-urbaine de Dakar, région qui accueille 24 p.100 de la population sénégalaise et qui consomme, à elle seule, 40 à 60 p.100 des produits laitiers importés (El Ketrouci, 1993).

Le présent document fait l'analyse de l'offre et de la demande en lait au Sénégal, présente l'état actuel de la production péri-urbaine et ses contraintes, puis envisage les possibilités de développement de cette production.

Matériels et méthodes

1. Le suivi des troupeaux

Dans la zone d'étude, il existe trois systèmes de production laitière

La production laitière intensive

Ce système a été soutenu par les pouvoirs publics par la mise en place du projet de développement de la production laitière en 1984. Ce projet a bénéficié d'un appui financier de 210 millions de francs CFA et a fonctionné jusqu'en 1993. Dans ce cadre, ont été créées la Cétralait, structure d'encadrement et de recherches d'accompagnement et Coplait, groupement d'intérêt économique des producteurs de lait.

La Cétralait avait pour tâche de contribuer à la création des exploitations ou à faire évoluer celles existantes. Ses actions reposaient sur le suivi technico-économique des exploitations, l'aide apportée à Coplait pour la maîtrise des facteurs de production et la formation des bergers chargés de la conduite des exploitations.

Coplait était chargé de la fourniture d'intrants: aliments, médicaments, semences et de la commercialisation du lait.

Les caractéristiques principales de ces unités sont :

- la présence de 2 races : la montbéliarde et la pakistanaise (issues des multiples croisements entre la Red sindhi et la Sahiwal). Cette dernière est en voie de disparition en raison de sa faible productivité laitière selon les producteurs. Les animaux étaient exploités dans de petites unités de 1 à 10 vaches appartenant à des citadins et confiées à des bergers salariés.
- une alimentation sèche exclusivement à base de sous-produits agricoles et agro-industriels. Les différentes rations disponibles ont été mises au point par l'ISRA et diffusées à l'aide de fiches techniques (Fall et al., 1991). Les veaux sont séparés de leurs mères dès la naissance et alimentés au seau jusqu'à l'âge de 7-10 semaines, date du sevrage.
- la pratique de l'insémination artificielle avec de la semence de montbéliarde importée.
- une prévention sanitaire : vaccinations et lutte contre les tiques.

La production extensive ou traditionnelle

Le pâturage naturel communautaire est la base de l'alimentation des vaches et chèvres locales. La complémentation se limite à la distribution de sous-produits de maraîchage dans les zones qui en disposent. L'achat d'aliments, inexistant chez les caprins, est pratiqué par très peu d'éleveurs chez les bovins.

La traite est effectuée en présence du veau deux fois par jour. La production du lait est partagée entre le veau allaité et le bouvier. Le sevrage est tardif et intervient de manière naturelle entre 18 et 24 mois.

La reproduction n'est pas contrôlée, les mâles et les femelles ne sont jamais séparés.

Sur le plan de la prévention sanitaire, seule la vaccination polyvalente obligatoire contre la peste et la péripneumonie contagieuse bovines est appliquée.

La production industrielle

Elle est le fait de la Société Commerciale Agroindustrielle (SOCA) installée dans la zone en 1988. Elle exploite la race Jersiaise d'origine danoise.

- *Alimentation* : les vaches reçoivent une alimentation à base de fourrages cultivés distribués en vert (sorgho, maïs, niébé et *Panicum maximum*). Le concentré est composé de sous-produits agro-industriels et de céréales.
- *Reproduction*. La fécondation est assurée par l'insémination artificielle avec de la semence importée et la monte naurelle. Des essais de transferts d'embryons ont été réalisés avec succès.
- *Prévention sanitaire*. Les animaux sont régulièrement vaccinés contre les maladies: peste, péripneumonie contagieuse, pasteurellose, charbon symptomatique. La lutte contre les tiques est également menée par douchage avec des insecticides.
- *Contrôle laitier*. La Soca pratique elle-même son contrôle laitier individuel trois fois par mois par lecture directe des quantités traites sur le testu incorporé au faisceau trayeur.

2- Enquêtes

Des enquêtes ont été effectuées sur les circuits d'approvisionnement en lait de Dakar (El Ketrouci, 1993) et sur la consommation du lait des populations. Une étude a été réalisée en 1994 sur les conséquences de la dévaluation.

Résultats et discussions

1. Analyse de l'offre et de la demande en lait

1.1. Evolution globale de la production intérieure

La production locale est difficile à évaluer en raison de l'inexistence d'un dispositif de contrôle laitier sur le plan national. Elle est estimée en 1990 à 167.000 tonnes (PNVA, 1992) contre 123.500 tonnes en 1983 (L.Schmitlin, 1984), soit un taux moyen de croissance annuelle de 4,2 p.100.

Sa contribution à la satisfaction des besoins de consommation laitière du pays est de l'ordre de 40 p.100 en 1993, mais elle est estimée à 51 p.100 en 1994 en raison de la diminution des importations.

La production provient presque entièrement des élevages traditionnels (bovins, ovins, caprins). La part des élevages intensifs péri-urbains est encore faible sur le plan national (0,6 p.100).

1.2. Evolution des importations de lait et produits laitiers

Les importations laitières ont évolué de façon substantielle et assez rapidement (tableau n°1). La tendance générale peut être résumée comme suit:

Tableau 1. Evolution des importations laitières en tonnes équivalent-lait

PRODUITS	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993
L.conc.sucré	326	84	1360	649	447	557	585
c.non sucré	2807	262	711	953	288	398	375
L.stérilisé	1121	1794	1802	1809	1513	1347	1150
L.en poudre	140925	109248	108609	123693	137576	171695	190163
Beurre	12428	26552	31944	26737	28934	27588	27344
Fromage	2609	2244	2367	2275	1725	2046	2134
Crème/yaourt	75	235	238	117	97	120	101
TOTAUX	160291	140418	147030	156232	170580	203750	221852

Source : Calcul en équivalent-lait à partir des données de la Douane.

- une augmentation régulière du volume total des importations de 1987 à 1993. Cette croissance résulte de la libéralisation des importations en 1987, d'une forte consommation urbaine liée à la croissance démographique et à l'effondrement des cours mondiaux consécutifs aux surproductions de lait dans les pays industrialisés.
- un taux d'évolution croissant des importations de lait en poudre, témoignant ainsi de l'existence d'une demande toujours plus importante. Ainsi, de 1987 à 1993, les importations en tonnes équivalent-lait ont porté pour environ 74 à 88 p.100 sur du lait en poudre.

Les enquêtes de consommation ont montré que 60 p.100 des ménages de la région de Dakar n'utilisaient pratiquement que du lait en poudre. Son faible coût serait la première motivation d'achat.

La dévaluation du franc CFA a mis un terme à cette tendance d'évolution. Les volumes importés ont régressé de près du tiers en 1994 par rapport à 1993. Ils baisseront encore en 1995 en raison de l'augmentation des taxes douanières. En effet, l'Etat a décidé de modifier sa tarification douanière : chaque sac (25 kg) de lait en poudre importé doit payer dorénavant 7800 francs CFA (27 p.100 de la valeur C.A.F.) contre 480 CFA en vigueur depuis 1987. Le kg de lait en poudre est vendu au consommateur à 1800 voire 2000 francs CFA en Mai 1995, contre 1400 frs en 1994 et 700 frs en 1993.

1.3. Evolution de la demande laitière

Demande actuelle

La demande en lait estimée est passée de 283 800 tonnes d'équivalent-lait (EqL) en 1983 à 396 500 tonnes EqL en 1993, soit un taux de croissance annuelle moyen de 3,4 p.100. La consommation moyenne par tête d'habitant serait de l'ordre de 49 kg d'EqL en 1993 (la population du pays étant estimée à 8,1 millions).

La consommation est principalement urbaine. Elle est nettement plus importante à Dakar, qui consomme 40 à 60 p.100 des produits importés (El Ketrouci, 1993).

Perspectives d'évolution de la demande

Il est très difficile de faire des projections sur la demande en produits alimentaires car cette dernière, loin de suivre mécaniquement l'évolution démographique, est étroitement liée à l'environnement économique général.

Il est certain que la baisse drastique du pouvoir d'achat du consommateur sénégalais, suite à la dévaluation du franc CFA, a une incidence forte sur sa consommation de lait. Cette consommation a régressé de près de 20 p.100 en 1994, compte tenue de la diminution des importations et si l'on estime que la production laitière locale n'a pas significativement augmenté pendant cette année par rapport à 1993.

Même si on suppose une augmentation de la production locale du fait de l'amélioration des modes d'élevage, la consommation du lait au Sénégal et surtout à Dakar va être très affectée à court et moyen terme, compte tenu du pouvoir d'achat de la population.

2. La production laitière péri-urbaine

La production locale est insignifiante à Dakar. Elle représenterait 2 p.100 de la consommation totale (El Ketrouci, 1993).

2.1. La production industrielle

La production de la Soca revêt une importance capitale dans l'approvisionnement de la région de Dakar en lait (tableau n°2). Elle fournit la moitié du lait disponible localement.

Tableau 2. Quantité estimée de lait trait dans les communautés rurales de Sangalkam et de Sébikotane (Résultats de suivi, 1993)

Caractéristiques	Troupeaux traditionnels bovins	Troupeaux caprins	Troupeaux intensifs bovins COPLAIT	Troupeau industriel SOCA
Race	locale	locale	Montbéliarde	Jersey
Nbre de troupeaux	186	203	14	1
Quantité de lait par femelle par an (kg)	187	47	2860	3370
Total de lait produit (t)	348	76	280	717
Part dans la production totale (%)	24,5	5,3	19,7	50,4

De 300 génisses pleines importées en 1988, les effectifs de la Soca ont évolué rapidement pour atteindre 900 têtes au début de l'année 1994. Cette situation est la conséquence d'un taux de reproduction correct (84 p.100 de gestation), des mises-bas régulières (360 jours d'intervalle entre vêlages) et d'une mortalité limitée (5 p.100 du troupeau).

Les performances de production laitière obtenues, 3217 kg en 305 jours (Diop et al., 1992), sont supérieures à celles rencontrées dans d'autres pays chauds, tels que la Turquie (2553 kg en 305 jours) (Sekerden et al., 1989) ou l'Inde (1778 kg en 314 jours chez des vaches en 3ème lactation) (Matoch et Tomar, 1983).

Cependant, ces résultats honorables ne doivent pas occulter l'impact des variations fréquentes de la composition des rations, liées en partie à la disponibilité des matières premières sur la santé et le niveau de production laitière. En effet, la pathologie digestive a constitué la 1ère cause de mortalité quelle que soit la tranche d'âge considérée.

2.2. La production des élevages de Coplait

Les élevages intensifs Coplait ne participent qu'à un niveau de 20 p.100 dans l'approvisionnement de la région de Dakar en lait, en dépit des efforts humains, matériels et financiers consentis par l'Etat pour la promotion de ce type d'élevage. La disparition précoce des exploitations liée en partie aux fortes mortalités, les taux de vêlage bas et la faible productivité laitière en sont les principales raisons.

Une mortalité élevée

Entre 1984 et 1993, 20 p.100 des vaches montbéliardes importées mouraient durant leur première année de présence au Sénégal. Ce taux était de 45 p.100 sur les 5 premières années.

Les vaches importées sont très sensibles à la pathologie parasitaire sanguine transmise par les tiques, première cause de mortalité. Or, les rickettioses sont des maladies très fréquentes

dans la zone (Guèye et al., 1986) et la prévention n'est toujours pas appliquée de manière rigoureuse. Cette pathologie a causé 30 à 40 p.100 des mortalités selon les années.

La seconde cause de mortalité est la pathologie digestive. Les variations des régimes alimentaires liées aux ruptures fréquentes d'approvisionnement en intrants alimentaires en sont responsables. Ces troubles alimentaires se répercutent également sur la reproduction et la production laitière.

Les veaux avaient un taux de mortalité encore plus élevé. 35 p.100 d'entre eux naissaient morts ou mouraient avant le sevrage. Ces résultats sont bien sûr variables d'une exploitation à l'autre et sont fonction de la conduite générale. Certaines perdaient peu de veaux, d'autres par contre les perdaient tous.

Un taux de vêlage bas

Sur la période d'étude, les taux annuels de vêlage oscillaient entre 35 p.100 et 72 p.100. Les avortements étaient nombreux, leurs taux variaient entre 10 et 20 p.100. Les intervalles entre vêlages étaient longs : 525 ± 161 jours. Il faut 2,6 inséminations pour une fécondation. Les causes peuvent être d'ordre pathologique, alimentaire, humain...

Les maladies parasitaires sanguines provoquent de nombreux avortements (Thibault et al., 1985). De même, l'absence de complément minéral vitaminé dans la ration, observée de nombreuses fois, augmente le nombre de chaleurs fugaces (Liagre, 1988). En période de restriction alimentaire, c'est le retour en chaleur qui est retardé, surtout chez les primipares. La surveillance des chaleurs incombe aux bergers. Ils assuraient en plus la traite, le transport du lait jusqu'au point de collecte, l'achat et la distribution des aliments... Les moins consciencieux quittaient l'exploitation le matin après la traite et la distribution des aliments et ne revenaient que le soir.

La qualité de la semence utilisée est également un facteur déterminant. L'utilisation de semence défectueuse, suite à des fautes de manipulation de la bonbonne d'azote, ou des ruptures de stocks avaient fait chuter les taux de mises-bas à 40 p.100 en 1986-87.

Une productivité laitière faible

La production laitière moyenne s'élevait à 2880 ± 1456 kg en 305 jours. La production journalière était en moyenne de 8-10 kg, alors que le potentiel de la race en est à 20-25 kg. Les lactations sont très longues, 447 ± 186 jours. 50 p.100 des lactations dépassent 10 mois. Ceci caractérise les vaches ayant des performances de reproduction médiocres ou parfois dont la période de tarissement a été très courte en raison de leurs bonnes productions laitières.

Les durées courtes, inférieures à 250 jours, indiquent souvent des problèmes de rickettsioses, de mammites ou de non extériorisation du potentiel laitier suite à des troubles ou contraintes alimentaires.

Après une phase d'expansion de l'opération laitière entre 1984 (12 unités) et 1986 (46 unités) due à l'engouement suscité par la nouveauté de la race, nous avons observé une phase de déclin (abandon de certains producteurs, réduction du cheptel pour ceux qui avaient décidé de continuer). De ces exploitations, il n'en restait que 8 en 1994. Le manque de maîtrise des facteurs de production, l'insuffisance dans la gestion des exploitations en sont les principales causes.

2.3. L'élevage traditionnel

En raison de la productivité individuelle assez limitée, de l'ordre de 0,5 à 1 litre par vache et par jour et de 0,05 à 0,4 litre par chèvre et par jour, la production péri-urbaine à partir des troupeaux traditionnels est de 30 p.100.

La production laitière est à son plus haut niveau de Juillet à Octobre, période correspondant à la saison des pluies et au cours de laquelle le disponible fourrager est suffisant tant en qualité qu'en quantité.

Le mode de conduite extensif a comme conséquences une productivité laitière faible, une mortalité des veaux très élevée (15-20 p.100) et un taux de reproduction très faible (30-50 p.100 de mises-bas).

Nous avons constaté que l'existence d'une production intensive n'a pas influencé de manière positive les pratiques des éleveurs traditionnels, en matière de complémentation, de suivi sanitaire, etc... Les difficultés d'approvisionnement en intrants constituent d'après eux une des contraintes majeures.

Contraintes majeures de la production laitière

Alimentation

Accès au pâturage

Le problème essentiel des troupeaux traditionnels demeure l'accès au pâturage et la survie des troupeaux de plus en plus nombreux. Les pressions agricoles et urbaines, la sécheresse ont induit la régression de la biomasse végétale disponible dans la zone péri-urbaine de Dakar.

Approvisionnement en intrants alimentaires

La production laitière est un grand consommateur d'intrants alimentaires. Un approvisionnement régulier en produits de qualité est l'une des conditions de réussite des unités de production.

Les sous-produits utilisables par les animaux sont nombreux et variés mais posent pour la plupart un problème d'accessibilité et de disponibilité en raison de leur prix, des conditions de livraison.

- Le son de blé est sorti du circuit de commercialisation par le producteur qui fabrique maintenant son propre aliment.
- La coque d'arachide est utilisée comme combustible dans les chaudières des huileries en remplacement du fuel. Ainsi, pour la coque en provenance des décortiqueries artisanales, c'est l'âpreté de la concurrence (utilisation forte en aviculture) qui explique un prix élevé (25-30 francs CFA/kg), pour une matière première qui n'a qu'une faible valeur alimentaire.
- La mélasse et les tourteaux d'arachide sont exportés en priorité. Ils ne sont disponibles que lorsque les commandes extérieures sont satisfaites. Par ailleurs, pour la mélasse, le fournisseur n'accepte plus de vendre en de petites quantités (moins de 10 tonnes). Vendue à 55 francs le kg, elle ne peut être achetée que par les producteurs dont la trésorerie est importante ou par un groupe d'exploitants organisés.

Ces quelques cas suffisent à démontrer l'ampleur du problème. Chaque produit est susceptible d'être en rupture d'approvisionnement, entraînant aussitôt un changement du régime alimentaire des animaux. Cette contrainte n'a jamais pu être levée depuis le début des importations des vaches fortes productrices de lait en 1976 (Denis, 1981; Ba Diao, 1987).

Commercialisation du lait

Coplait n'a jamais pu commercialiser la totalité de la production de ses membres. Il ne prenait en charge qu'entre 15 et 20 p.100 du lait produit journalièrement. Le reste étant vendu par les éleveurs eux-mêmes.

Le lait cru collecté était revendu en l'état et en vrac. Le système de distribution au niveau de 7 kiosques (à partir de 1988) ne permettait pas d'écouler de grosses quantités : retard dans les livraisons, diminution des quantités livrées en périodes favorables (ramadan).

Les éleveurs subissaient beaucoup de pertes liées aux conditions de conservation et à la non maîtrise des conditions de caillage (température, flore bactérienne, durée). Le lait est caillé traditionnellement à la température ambiante subissant une fermentation naturelle de 24 à 36 heures selon la saison.

Les industries laitières fonctionnent en deçà de leur capacité (40 à 60%) et devraient donc pouvoir théoriquement absorber la production laitière locale. Coplait avait pris contact avec elles, mais des obstacles s'étaient présentés. Il y avait une inadéquation entre les quantités proposées par Coplait (1000 litres par jour au maximum) et les possibilités de traitement de ces usines. Le prix proposé par les usines ne dépassait pas 80 francs CFA alors que le meilleur coût de revient du lait obtenu chez les éleveurs était de 120 francs le litre en 1987. Un troisième problème soulevé est celui de la propreté et de la qualité du lait : mouillage du lait, mélange de toutes les productions lors de la collecte, absence de mesure des taux butyreux et protéiques.

Manque d'organisation des producteurs

Un seul groupement a été créé pour les producteurs de lait. Il s'agit de Coplait qui était chargé de la fourniture en intrants et de la commercialisation des produits.

Le groupement n'a jamais pu fonctionner correctement à cause d'un manque d'organisation et du non respect par les membres du règlement intérieur : refus de fournir du lait en période favorable à la vente directe, non paiement des factures et des cotisations, etc. Le recours à des ressources financières exceptionnelles (financement FAC, Budget national) avait toujours permis d'effacer les difficultés de trésorerie du groupement. Depuis Avril 1993, toute activité est arrêtée. Actuellement, chacun des producteurs diversifie ses sources d'approvisionnement en aliments et écoule sa production selon ses circuits propres.

Gestion des exploitations

Les vaches importées montbéliardes ainsi qu'une partie du cheptel de races locales appartiennent à des citoyens qui en confient la gestion à des bergers salariés. Le comportement de certains de ces propriétaires (suivi irrégulier de leur exploitation, non respect des conseils donnés par l'encadrement, changement fréquent de bergers formés), laissent supposer que leur intérêt se situe parfois au niveau du simple loisir. Il s'agissait souvent d'individus réunissant de grandes capacités financières au regard desquelles, les investissements sur l'élevage laitier peuvent paraître faibles. Ces agissements ont des conséquences sur les performances techniques, mais également sur la santé financière des exploitations.

Perspectives d'évolution

La dévaluation du franc CFA en 1994 et l'augmentation des taxes douanières sur le lait importé en 1995 offrent des opportunités de croissance à la production locale. La Soca a

toujours eu une part importante d'inventus de lait depuis son démarrage (Sall, 1992 et El Ketrouci, 1993), malgré qu'elle ait opté pour une production de qualité, avec pasteurisation et emballage des produits. Depuis la dévaluation, elle n'arrive plus à satisfaire la demande. Le lait stérilisé en importation directe coûte selon le pays d'origine, la marque et le lieu de vente : 600 à 650 frs CFA le litre. Il semble par conséquent que le lait frais pasteurisé (550 francs le litre) puisse le concurrencer au niveau des prix. Cette concurrence peut d'autant plus être favorable au lait local, qu'un lait sain, de qualité correspond au besoin des dakarois amateurs de lait frais.

On peut donc espérer assister à une augmentation sensible de la production à moyen et long terme, mais à condition que l'Etat prenne des mesures d'accompagnement. Certes, des initiatives n'ont pas manqué en faveur de la création d'un élevage laitier dans le pays. Cependant, aucun programme ou plan d'action n'a été envisagé pour encourager l'éleveur traditionnel à effectuer des aménagements et des améliorations, même les plus élémentaires, au niveau de sa production de lait (BA DIAO, 1991). Or l'organisation et l'amélioration des systèmes existants peuvent faire naître l'espoir d'une réussite, même modeste, susceptible d'augmenter la production intérieure.

- Le cheptel est très adapté aux conditions écologiques et techniques de l'élevage traditionnel, mais présente une production laitière très limitée. Le recours à des femelles métissées ayant une finalité laitière plus marquée, pourrait être envisagé si les techniques d'élevage évoluent dans le sens d'une intensification des productions animales avec une valorisation plus importante des sous-produits agricoles et agro-industriels disponibles dans la zone. Dans ce cadre, les races exotiques déjà introduites au Sénégal (Montbéliarde et Jersiaise) peuvent servir de support aux inséminations artificielles à effectuer.

- Le désengagement de l'Etat ne sera une réussite que si les opérateurs économiques ruraux acquièrent une meilleure technicité par des programmes de formation et de recyclage appropriés et prennent en main le devenir de leurs productions. L'émergence d'exploitations agricoles modernes fonctionnant comme de petites et moyennes entreprises avec une productivité plus élevée et une valorisation optimale des intrants est à ce prix. C'est tout le problème de la professionnalisation des producteurs qui est évoqué ici.

- Une politique concernant les aliments de bétail doit être clairement définie. Elle doit mettre à la disposition du cheptel national un quota suffisant des sous-produits agroindustriels qui puisse permettre aux éleveurs d'être approvisionnés régulièrement. Ce point essentiel constitue la préoccupation majeure des producteurs.

Conclusion

Cette étude synthétique montre que le Sénégal est encore dépendant des importations de produits laitiers pour la satisfaction de ses besoins, en dépit de nombreux efforts consentis. L'environnement économique suite à la dévaluation du CFA offre, cependant, une opportunité que les producteurs devront saisir. Il faudra mettre en place une politique adéquate et incitative, qui permettrait aux éleveurs d'améliorer et d'accroître leur production. Cette opération exige simultanément :

- l'amélioration de l'alimentation et de la gestion des animaux;
- la mise en place d'un système de formation efficace;
- l'application d'une politique génétique appropriée.

Bibliographie

1. Ba Diao M. (1991), Les systèmes d'élevage dans la région des Niayes au Sénégal. L'élevage traditionnel. *Etudes et Documents de l'ISRA*, vol 4 N° 14 29p.
2. Centres J.M. (1995), Etude des stratégies de développement de la production laitière en Afrique. Les effets de la dévaluation sur la filière lait.
3. Diop P.E.H., Cisse M., Sowa M., Diallo B. (1992), Performances de production laitière et de reproduction de la Jerseyaise danoise importée au Sénégal. Communication à la VIIème conférence internationale des instituts de médecine vétérinaire tropicale. Actes de la conférence, 369-378.
4. Direl - Direction de l'élevage, (1988), Plan d'action pour l'élevage. 76p.
5. El Ketrouci A. (1993), L'approvisionnement de la ville de Dakar en produits laitiers. *Mémoire de stage*, DESS, IEMVT-Maisons Alfort, 95p.
6. Fall S.T., Richard D., Mbaye ND. (1991), Rations alimentaires-volailles-bovins-ovins-cheval. *Fiches Techniques ISRA VOL2 N° 1* 18p.
7. Feron E. (1987), Etude de la production laitière caprine dans la région du Cap-Vert. *Mémoire de fin d'études* ENSA de Lyon, LNERV N° 57/Zoot, 51p.
8. Gueye A., Mbengue M., Diouf A., Seye M. (1986), Tiques et hémoparasitoses du bétail au Sénégal. I-La région des Niayes. *Rev.Elev.Méd.Vét.Pays Trop.*, 39 (3-4) : 381-383
9. Laiterie Schmitlin S.A. (1984), Etude de faisabilité pour une laiterie en Casamance, Sénégal. PROPARCO Dakar, 101p.
10. Liagre L. (1988), Analyse d'un projet d'intensification laitière péri-urbaine : l'exemple de la montbéliarde au Sénégal. *Mémoire de fin d'études*. ISTOM- France, 119p.
11. Matoch et Tomar (1983), Performance of imported jersey heifers in India. *Vet. Res. J.*, 6, 63-66.
12. Ndiaye M. (1991), Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus-laits caillés et laits en poudre-laits caillés commercialisés dans la région de Dakar - Sénégal. *Thèse méd. vét.*; Dakar N° 17 ,111 p.
13. Pnva - Programme National de Vulgarisation Agricole, (1992), Politique agricole, PNVA Dakar.
14. Sall A. (1992) Détermination du prix de revient du litre du lait à la ferme SOCA. *Mémoire de fin d'études agronomiques*. ENSA, Thiès.
15. Sekerden., ZKTK K., Pelel E. (1989), Production characteristics of black and white cattle population t Gelemen Agricultural Enterprise. II. reproductive characteristics. *J. Univ. Cukurova, Fac. Agri.*, 4, 27-36, Adana, Turkey.
16. Thibault J.C., Diao M., Kebe B., Denis J.P. (1985), Analyse de la pathologie observée chez des animaux laitiers importés en production intensive au Sénégal : conséquences physiologiques et économiques de la pathologie parasitaire sanguine. Communication aux Journées médicales de Dakar. LNERV/ISRA, réf. 07/ZOOT, 12p.
17. Von Massow V.H. (1990), Les importations laitières en Afrique subsaharienne: problèmes, politiques et perspectives. *Rapport de recherche CIPEA N° 17*, 52p.
18. Winrock International, (1983), Sheep and Goat in developing countries : their present and potential role. The world Bank, Washington.

Place du système d'élevage intensif dans la production du lait au Sénégal; exemple de la société alimentaire SOCA

M.A. SOW*, P.E.H .DIOP**

* *Ferme Laitière La SOCA*
BP 8403 Dakar-Sénégal

** *Service de Chirurgie-Reproduction*
Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires
BP 5077 Dakar-Sénégal

Introduction

A l'instar des pays du sud du Sahara, le Sénégal connaît un déficit important en produits laitiers d'où une situation d'extrême dépendance vis à vis de l'extérieur en matière d'approvisionnement en lait. Avec une croissance démographique de l'ordre de 2,9% par an, les importations, notamment de lait en poudre, ne cessent d'augmenter jusqu'à atteindre 20.000 tonnes en 1992, soit une valeur de F. cfa 12,5 milliards.

Si les facteurs déterminants relèvent d'une faible productivité du cheptel local et d'une insuffisance des ressources alimentaires, les contraintes économiques et financière ne sont pas moindres.

Le changement de parité du franc cfa survenu en 1994 offre certes des opportunités en matière de valorisation des productions locales et une meilleure compétitivité, mais il révèle aussi la nécessité d'une modernisation des systèmes de production.

A cet égard, l'exemple de la société alimentaire SOCA peut être riche d'enseignements, notamment en matière de production intensive de lait dans le Sahel.

Structure à vocation industrielle, la Société Alimentaire SOCA a axé ses activités sur la production de lait à partir de race exotique (Jersey). Elle assure aussi la transformation et la commercialisation de sa production.

Les objectifs qu'elle s'est fixée sont :

- la valorisation des résultats de la recherche sénégalaise et des produits locaux,
- une contribution au renversement du déficit laitier,
- le transfert et l'adaptation des technologies.

Pour pallier ces contraintes techniques, la SOCA a généralisé l'intensification de cultures fourragères et les apports de la biotechnologie, notamment l'insémination artificielle et plus récemment le transfert d'embryons. Des résultats ont été obtenus.

I. Potentialités de la production laitière au Sénégal

I.1. Le cheptel

Le Sénégal situé sur la partie occidentale de l'Afrique, couvre une superficie de 196.722 km². La population est constituée en majorité de ruraux. En matière d'élevage, l'essentiel de la production laitière est assuré par le système traditionnel. Dans ce système d'exploitation, les données sont les suivantes :

Bovins

L'effectif bovin est de 2.693.000 têtes dont 34% reproductrices.

Le taux de fécondité est de 61% tandis que celui de la mortalité de 0 - 3 mois est de 10%

La quantité de lait produite par vache est de 180 litres.

Petits ruminants :

Leur effectif est de 3.498.000 ovins et 2.944.000 caprins

Les pourcentages de reproductrices sont respectivement de 50% pour les ovins et 48% pour les caprins avec comme taux de mise-bas de 107% pour les ovins et 104% pour les caprins.

La quantité de lait par lactation est de 15 litres par brebis et 20 litres par chèvre.

La production est généralement autoconsommée. Ce système exploite les pâturages naturels d'où une grande dépendance vis à vis des aléas climatiques.

I.2. La demande en lait

La population du Sénégal est évaluée à environ 8.135.000 habitants avec un taux de croissance de 2,8% (RGP 1988). L'urbanisation, particulièrement celle de Dakar, s'accroît rapidement avec une population représentant 40% du total.

A défaut d'enquêtes de consommation, la demande en lait est estimée à partir des importations et de la production locale. Cependant la demande est fortement affectée par la dévaluation du fait de la part importante des importations. En effet, les importations respectivement en 1993 et 1994 représentent l'équivalent de 218 et 113 millions de litres.

Ainsi la demande minimale est estimée à 27 équivalents litres de lait par habitant et par an, soit 220 millions d'équivalents litres de lait.

Une telle consommation représente environ le dixième de celle des pays industrialisés (255 équivalents litres par an en France).

II. Contraintes du développement de la production laitière

II.1. Systèmes d'élevage

Au Sénégal, le système d'élevage le plus répandu est de type traditionnel.

Sur le plan sociologique, l'élevage est pratiqué pour l'entretien de grands effectifs. La productivité ne constitue pas une préoccupation majeure. L'entretien de tels effectifs est souvent sans commune mesure avec les capacités de régénération des pâturages naturels.

La production, généralement autoconsommée, permet peu de surplus commercialisables.

A côté du système traditionnel, se développe un élevage dit moderne, implanté en zone périurbaine, en particulier à Dakar. Celui-ci exploite des races exotiques de meilleur rendement.

II.2. Contraintes génétiques et alimentaires

Les troupeaux bovins traditionnels sont peu précoces (âge au premier vêlage vers 4 ans).

Le potentiel laitier se situe entre 0,5 à 2 litres par jour.

Le disponible fourrager provenant essentiellement des pâturages naturels est fortement tributaire de la pluviométrie. La courte saison des pluies associée à l'absence de conservation des fourrages explique les graves ruptures alimentaires.

Les sous-produits agro-industriels sont exploités dans le cadre de l'intensification.

Cependant leur utilisation est limitée en raison de leur disponibilité et de leur coût d'acquisition. L'abreuvement constitue aussi un goulot d'étranglement surtout en zone sylvo-pastorale.

II.3. Contraintes économiques et financières

Le financement du sous-secteur de l'élevage en général et celui de la production laitière en particulier demeure insuffisant par rapport aux besoins.

Cela tient aux difficultés d'accès au crédit et au manque de diversification des sources de financement. Les filières de transformation et de commercialisation constituent aussi un autre facteur limitant en raison de l'éloignement des centres de production des marchés potentiels que constituent les centres urbains.

La baisse du pouvoir d'achat suite à la dévaluation risque aussi de constituer un frein à moins d'une plus grande compétitivité des productions locales.

III. Production intensive de lait

III. 1. Exemple du système de production de la SOCA

III.1.1. Présentation

La Société Alimentaire SOCA est un établissement privé à caractère industriel et commercial créé en 1988. Son capital s'élève à 2 milliards de francs CFA.

Elle est située à 45 km de Dakar dans la zone des Niayes où le climat doux constitue un avantage non négligeable.

Les objectifs de la société visent, à travers l'exploitation d'une ferme laitière, la production et la vente de produits laitiers pasteurisés. Pour ce faire, elle a importé du Danemark 300 femelles de race jersiaise et dispose d'une superficie de 200 ha.

III.1.2. Stratégie

La politique de la SOCA tourne autour de deux axes principaux :

a) L'intensification de la production de lait par :

- le renouvellement de son cheptel à partir du noyau importé par le biais des nouvelles techniques de reproduction,
- Le développement de cultures fourragères.

b) La transformation et la commercialisation de sa production :

- l'installation d'une unité de réception et de transformation du lait produit par la ferme,
- un service de vente des produits de la laiterie.

III.1.3. Organisation de la structure

Elle suit le système de production décrit ci-dessus et comprend :

- une structure de gestion et de coordination : la direction générale,
- une structure de production : la ferme,
- une unité de transformation : la laiterie,
- une structure de commercialisation.

Les trois premières unités sont implantées dans la même aire géographique, seul le service commercial se trouve à Dakar.

a) La ferme :

Elle comprend 2 services chargés respectivement des productions animales et des productions végétales.

Le cheptel est constitué en 1995 de 800 têtes avec 49% de vaches, 26% de génisses et 25% de veaux et velles.

La santé, l'alimentation, la reproduction, la conduite du troupeau et la production laitière sont suivies dans le cadre de la gestion des productions animales.

Le suivi sanitaire consiste en une prophylaxie médicale et une chimioprévention. Il concerne aussi les interventions vétérinaires. L'alimentation des vaches se fait à base de fourrage exploité sur place et de concentrés constitués essentiellement de sous-produits agro-industriels. La paille et le foin sont réservés aux génisses et aux jeunes.

La reproduction fait appel en priorité à l'insémination artificielle et secondairement à la monte naturelle. Les chaleurs sont naturelles ou induites (surtout chez les génisses). Le transfert d'embryons a été récemment introduit.

Le volet agricole concerne les cultures fourragères et le machinisme agricole. Les principales variétés fourragères sont :

- le PANICUM, exploité sur 2 ha et irrigué à partir des eaux usées traitées;
- le maïs fourrager, utilisé généralement pour la consommation en vert et secondairement en ensilage; les superficies exploitées couvrent environ 35 ha ;
- le sorgho fourrager ensilé, autoconsommé pendant une grande partie de l'année ; le problème du disponible en eau a conduit la réalisation de ces cultures sous pluie sur 100 ha environ.

b) La laiterie :

Elle a une capacité de stockage et de traitement de 12.000 litres par jour. Le lait reçu de la ferme est transformé en laits liquides pasteurisés ou en lait caillé. Les emballages utilisés sont du type tetrapak.

Le même équipement sert aussi à la production de jus de fruits.

c) Commercialisation :

Un système de distribution a été mis sur pied afin d'assurer une régularité et un meilleur service. La vente se fait aussi bien au niveau du micro-détail que dans les grandes surfaces et le secteur institutionnel.

III.1.4 Performances techniques à la SOCA

a) Paramètres techniques :

. Pour la reproduction :

L'âge à la mise à la reproduction est de 19 mois.

L'intervalle entre vêlages est de 428 jours.

Le taux de gestation est de 87% avec un nombre moyen d'inséminations de 1,29.

. Pour la productivité numérique :

Le coût annuel apparent du cheptel est de 8% avec :

- un taux de mortalité du cheptel de 1,75%.

- un taux de mortalité de 0 à 1 mois de 15%

- un taux de renouvellement de 20,7%.

- et enfin un taux de réforme de 22%

. En ce qui concerne la production laitière, la production moyenne standard est de 3.274 litres avec un maximum de 7430 litres et un minimum de 1464 litres. La durée moyenne de lactation est de 310 jours. La production annuelle commercialisable est de 1.010.000 litres.

. Quant aux productions fourragères (céréales), la superficie exploitée est de 137 ha avec des rendements en matière sèche de 8 à 12 tonnes/ha.

b) Production de viande

Il s'agit d'une activité annexe à la production laitière. En effet, une petite unité d'embouche a été créée à partir des mâles nés à la ferme (environ 120/an). Les vaches de réforme sont aussi embouchées pour une période allant de 0 à 2 mois.

Les gains de poids obtenus avec les taurillons sont de 440 grammes par jour. Les rendements des carcasses varient entre 47 et 50%.

c) Interventions extérieures

Dans le cadre de la relance de la production laitière dans la zone des Niayes, la SOCA a fourni à des exploitants privés une cinquantaine de génisses. Pour ce faire, des lots de 10 sujets maximum ont été constitués.

Une assistance technique a été assurée durant la première année. Les pics de lactation obtenus oscillent entre 11 et 18 litres selon les exploitations. Les problèmes rencontrés concernent surtout l'alimentation et la reproduction. En effet, dans toutes les exploitations, des ruptures d'intrants et des cas de métrite ont été enregistrés.

III.2 - Contraintes et perspectives

III.2.1. Contraintes

a) Alimentation

Il s'agit de la contrainte majeure du développement de la production intensive de lait. En effet celle-ci fait nécessairement appel à la complémentation. Or, les sous-produits agro-industriels ne sont pas toujours disponibles du fait de la spéculation ou, quand ils existent, les prix sont non compétitifs.

La spéculation fourragère souffre aussi des coûts élevés des intrants (semences, engrais, etc,...) et du disponible en eau.

b) Matériel génétique

La rentabilité de l'investissement dans la production intensive de lait nécessite des races performantes. La dévaluation rend difficile l'importation d'animaux sur pied. A cet égard les nouvelles biotechnologies seraient d'un apport certain surtout le transfert d'embryons.

c) Intrants vétérinaires

La difficulté découle du coût des produits vétérinaires. Cela se ressent d'autant plus que la demande encore faible ne permet pas des réductions de prix.

III.2.2 Perspectives

La dévaluation du franc CFA en rendant le lait local plus compétitif par rapport aux produits d'importation, rend impératif le développement de la production intensive de lait. Toutefois, celle-ci nécessite des investissements et des intrants coûteux. Aussi, il nous semble plus judicieux d'envisager le développement de la filière dans le cadre d'une politique globale. En effet, il convient d'assurer une bonne gestion des ressources naturelles et une association judicieuse agriculture/élevage. Cela permettrait l'avènement des différents systèmes :

- système extensif traditionnel visant surtout à améliorer la productivité en saison sèche grâce à une rationalisation des parcours naturels ;
- système semi-intensif dans les zones agricoles ;
- système intensif constitué d'une part, de petites unités et d'autre part, d'unités de type moderne.

Conclusion

La SOCA a montré que le développement d'une unité laitière industrielle est possible. Elle est cependant consciente que des mutations doivent s'opérer pour alléger les charges d'exploitation.

La production laitière sur les hautes-terres malgaches : données récentes et stratégie de recherche

J.H. RASAMBAINARIVO, M. RABEHANITRINIONY, M. RATO VonANAHARY,
RAKOTONDRAVAO et E. RAFALIMANANTSOA

*FO. FI. FA. Département de Recherches Zootechniques et Vétérinaires, BP. 4
Antananarivo 101, Madagascar. Fax (261-2) 259.26*

Introduction

La consommation laitière du Malgache est estimée à 36 litres par an (FAO 1993). Ce lait provient pour 89% de la production locale et le reste est importé selon un système commercial ou sous forme de dons humanitaires. Au cours des dernières décennies, il a été enregistré une baisse constante de cette consommation individuelle. Plusieurs facteurs sont à l'origine de cette réduction, en particulier une baisse du pouvoir d'achat et une stagnation relative de la production laitière nationale 479.000T (FAO 1993) en rapport avec la croissance démographique (3% par an). Néanmoins, il semble que la demande en lait et produits laitiers soit en hausse rapide en milieux urbains.

Les actions de développement laitier ont commencé vers 1840 avec l'introduction de bovins de races européennes qui ont été, par la suite, croisés avec des zébus (Razafindrakoto 1966). Les travaux de recherche ont commencé il y a environ 35 ans. Ils visaient principalement à déterminer les types génétiques les plus adaptés aux conditions socio-économiques et écologiques des différentes parties de l'île. Ces travaux ont été surtout menés dans des stations expérimentales et dans certaines fermes d'Etat (FOFIFA 1989).

Ces dernières années, une nouvelle tendance s'est manifestée en vue d'entreprendre des travaux de recherche-développement dans les conditions les plus proches possibles des conditions réelles des exploitations.

En vue d'évaluer les principaux paramètres des systèmes actuels de production laitière et de déterminer les futurs axes de recherche, une enquête-diagnostic rapide a été réalisée en 1994. Les principaux résultats de cette enquête sont présentés dans cette communication.

Matériels et méthodes

Cette enquête a été réalisée dans les régions des Hautes-Terres malgaches et plus précisément dans une zone triangulaire limitée par les villes de Manjakandriana (lat : 18°54S.; long 47°44E) Tsiroanomandidy (lat : 18°46S., long 46°03E) et Fianarantsoa (lat : 21°27S, long 47°08E). Cette zone regroupe 80% des bovins croisés laitiers de Madagascar. Elle présente aussi la plus forte densité de population de toute l'île.

Les conditions écologiques prédominantes sont caractérisées par un climat tropical d'altitude avec une saison de pluie unimodale (de novembre à mai). La saison sèche est fraîche avec des possibilités de gel dans les régions à altitude supérieure à 1800 mètres. Les sols dominants sont de type ferralitique. La topographie montre une succession de collines et de pentes très favorables à l'érosion. Les bas-fonds sont généralement utilisés en tant que rizières.

L'enquête s'est déroulée au cours du mois de juillet 1994. Sur la base d'une liste de 4962 éleveurs laitiers, 773 d'entre eux ont été visités selon un échantillonnage stratifié au niveau régional. Le taux de sondage a ainsi varié entre 11 et 100% en fonction des communes rurales. L'enquête a porté sur toute la zone du triangle à l'exclusion de la région du Vakinankaratra. La méthodologie d'enquête est basée sur un questionnaire préétabli. L'analyse des données a été effectuée avec l'aide de logiciels informatiques : EPI INFO et STAT ITCF.

Résultats

L'éleveur laitier et son exploitation

Pour 82% des fermes visitées, le chef d'exploitation est un homme dont le niveau d'instruction est au moins équivalent aux classes primaires. Cependant il ne reçoit que très rarement des informations écrites sur la production agricole. Les tâches relatives à l'élevage laitier se répartissent entre les membres de la famille. C'est ainsi que la traite des vaches est assurée dans 71% des cas par un adulte, tandis que le gardiennage des bovins au pâturage est une tâche classique pour les enfants (74%). Toutes les exploitations visitées associent l'élevage laitier à la culture vivrière (riz, maïs...). La superficie moyenne de 83% des exploitations est inférieure à 5 ha. Les terres et les animaux appartiennent généralement au chef d'exploitation mais, dans 25% des cas, il est locataire ou métayer.

Les bovins

Au cours de cette enquête, 5464 bovins ont été recensés. Le troupeau d'une exploitation est constitué de 7 têtes dont 2 vaches traites. Dans 69% des cas, ces vaches sont issues de croisements divers entre taurins (Pie-noire, Normande, Pie-rouge norvégienne...) et zébus malgaches.

La majorité des vaches (61%) sont nées dans l'exploitatin. Dans 48% des cas, les génisses vèlent pour la première fois à l'âge de 3 ans. Il est cependant très intéressant de signaler que 5% des éleveurs, affirment que leurs génisses ont eu leur premier veau à l'âge de 2 ans. Pour 88% des éleveurs, la cause principale de réforme des vaches est la vieillesse. Cela semble indiquer que la vache, dans ces exploitations, n'est pas exclusivement élevée pour la production laitière, elle fournit aussi du fumier qui est d'une importance capitale pour ces exploitations mixtes (culture-élevage). Au cours de leur vie productive, le nombre moyen de veaux produits par vache est généralement inférieur à 6. La reproduction des animaux laitiers est assurée principalement par la monte naturelle. Pour l'ensemble de la région étudiée, l'insémination artificielle n'est pratiquée que par 13% des éleveurs. Il est cependant intéressant de remarquer que ces éleveurs, qui ont recours à l'insémination artificielle, semblent mieux gérer leur troupeau et de ce fait ont une production laitière légèrement plus élevée que ceux qui ne la pratiquent pas (tableau1).

Tableau 1. Indicateurs comparatifs entre les exploitations qui pratiquent ou non l'insémination artificielle

Indicateurs	Eleveurs pratiquant l'IA	Eleveurs ne pratiquant pas l'IA
production laitière (litres/j, en saison sèche).	4,7	3,2
pratique du détiquage	47%	31%
pratique de la complémentation alimentaire	96%	94%
pratique de la culture fourragère	31%	21%

L'alimentation

L'alimentation de base du troupeau laitier est constituée par le pâturage naturel communautaire proche de l'exploitation. En conséquence, la quantité et la qualité de fourrage ingéré par les animaux laitiers, sont très variables. Moins d'un quart des éleveurs (23%) cultivent des fourrages sur des surfaces allant de 10 ares à 1 ha. Les espèces fourragères les plus cultivées sont *Pennisetum purpureum* pour les plantes pérennes et *Avena sativa* pour les espèces annuelles. Le fourrage vert mis à disposition est très souvent insuffisant ; la distribution d'aliments composés est pratiquée par une grande majorité des éleveurs (84%).

La santé du troupeau.

Les principales affections qui touchent le troupeau laitier sont les maladies infectieuses d'origine tellurique et les parasitoses du tube digestif, plus particulièrement la fasciolose. La vaccination et les traitements contre ces maladies sont pratiqués par une large majorité des éleveurs (85%) si les produits sont disponibles sur le marché et que les agents publics et privés peuvent assurer les services. La prévention et le traitement contre les tiques sont nettement moins pratiqués (19 à 40% des éleveurs). Dans tous les cas, il apparaît que les bovins laitiers métis sont 3 fois plus fréquemment détiqués que les zébus.

La production laitière

La production laitière commercialisable de 73% des vaches au cours de l'enquête (saison sèche) ne dépassait pas les 3 litres par jour. Le lait commercialisé provient principalement de la traite du matin. Le produit de la traite du soir est réservé au veau et à l'autoconsommation familiale. En l'absence de collecteurs, 60% des éleveurs vendent leur lait frais directement aux consommateurs finaux, les autres livrent leur lait à des trayeurs-cyclistes. Quant la collecte du lait est organisée par des industriels, les points de ramassage sont situés à moins de 2 km de marche de l'exploitation.

Discussions

L'ensemble de ces informations confirment donc que la production laitière sur les Hautes-Terres est réalisée par une multitude de petites exploitations qui font la traite d'une ou de deux vaches. La caractérisation rationnelle des différents types d'exploitation mixte (lait-culture) est en cours. Mais d'ores et déjà on peut affirmer que le revenu généré par la vente de ce lait a une importance primordiale pour la vie quotidienne du ménage et de l'exploitation, car les

produits des cultures vivrières sont en grande partie auto-consommés.

Plusieurs facteurs limitants majeurs ont pu être identifiés ou confirmés au cours de cette enquête. La disponibilité en génisses et vaches de race améliorée pose problème et limite l'accessibilité à cette spéculation, de plusieurs éleveurs potentiels. La réforme rationnelle des vaches est aussi perturbée.

La majorité des animaux qui a été présentée au cours de l'enquête présentait un état de maigreur plus ou moins avancé. La cause principale est l'inadéquation alimentaire tant au point de vue quantitatif que qualitatif. La disponibilité en fourrage constitue un facteur limitant majeur. Les travaux de recherche viseront à proposer des solutions pour améliorer la situation du troupeau laitier en valorisant au maximum les ressources alimentaires disponibles dans les exploitations ou dans ses environs proches. Cela rehaussera les performances de reproduction des femelles.

Les problèmes sanitaires qui feront l'objet de travaux de recherche prioritaires sont les ectoparasites, les mammites et la tuberculose. Cette dernière semble se développer au sein du troupeau bovin malgache.

Les aspects socio-économiques liés aux contraintes de commercialisation du lait (prix, voies de communication, infrastructures de collecte, crédits bancaires, organisations des producteurs...) restent des problèmes majeurs qui dans certaines régions handicapent le développement de la production laitière.

La stratégie de recherche-développement qui est mise en place dès l'année 1995, vise à trouver des solutions rapides et durables aux préoccupations, prioritaires des éleveurs et des transformateurs laitiers artisanaux et industriels.

Les axes de recherche sont ainsi concentrés sur les problèmes majeurs identifiés :

- l'alimentation et la reproduction ainsi que leurs interrelations,
- l'épidémiologie des maladies infectieuses et parasitaires,
- l'économie de la production laitière et son impact sur celle de l'exploitation entière.

En priorité, les éleveurs les plus concernés sont ceux qui commercialisent leurs produits.

Ils sont en général situés en zones périurbaines ou proches des points de collecte du lait.

Les technologies proposées seront testées dans les conditions des régions et des groupements de producteurs. En effet ces technologies devront tenir compte des capacités techniques et des situations socio-économiques des éleveurs.

La potentialité pour la production laitière locale de se substituer au lait importé dépendra en partie de l'augmentation du nombre d'éleveurs, de l'amélioration des performances des vaches et surtout de l'intérêt économique que cette spéculation procurera aux éleveurs.

Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce au financement du Programme Sectoriel Elevage et à la participation des différentes entités au sein de ce Programme. Nous en sommes reconnaissants.

Références

Fofifa, Cirad (1989), Bilan de la recherche agricole à Madagascar, Cidst, Cirad, Antananarivo 356 p.

FAO (1993), Annuaire Production Vol. 47

Razafindrakoto D. (1967), Le problème du lait à Madagascar. *Bulletin de Madagascar* n°258.

Utilisation du logiciel «DairyChamp®» pour le suivi et la gestion des élevages laitiers : cas d'unités pépinières dans la région de Tanger

A. ILHAM* et A.KORAICHI**

* *Département de Pathologie Médicale et Chirurgicale, IAV Hassan II, BP: 6202, Rabat-Instituts, Maroc.*

** *Direction Provinciale d'Agriculture, Tanger, Maroc*

Résumé

L'objectif de l'étude a consisté en l'évaluation d'un programme de suivi et de gestion basé sur l'utilisation du logiciel «Dairy- CHAMP®» dans six étables laitières localisées dans la région de Tanger. L'étude a porté, en moyenne, sur 220 vaches reproductrices et a duré du 1er décembre 1993 au 30 novembre 1994. Les résultats obtenus pour cette période en comparaison à la période s'étalant de 1989 à 1993 pour les paramètres de reproduction, et à la période du 1er décembre 1992 au 30 novembre 1993 pour les données du contrôle laitier, montrent :

- une réduction de l'âge au premier vêlage moyen de 921 jours à 875 jours;*
- la réduction de l'intervalle vêlage-insémination artificielle (IA) fécondante de 120 jours à 84 jours;*
- une amélioration du nombre d'IA par IA fécondante, qui est passé de 1.98 à 1.74;*
- une augmentation de la moyenne économique corrigée à 4% de MG de 4204 kg à 4517 kg de lait.*

Introduction

Une étude menée dans la région de Tanger (Nord du Maroc) sur la conduite des troupeaux laitiers dans 32 unités pépinières, a montré l'existence de défaillances de gestion (Koraichi, 1995). Pour mieux identifier et cerner les différents problèmes, et mettre à la disposition des éleveurs un outil leur permettant d'analyser, à étapes régulières, le fonctionnement de leur troupeau, et de dégager des priorités d'action et d'intervention, un programme de suivi et d'encadrement d'un échantillon de six unités, totalisant en moyenne 220 vaches reproductrices, était conduit pendant une année. Le programme était basé sur l'utilisation d'un logiciel de gestion et de santé des troupeaux laitiers, développé par l'Université de Minnesota (USA) en 1987 : «DairyCHAMP®» (Computerized Health and Management Program).

I. Matériel et méthodes

Le suivi a consisté en :

- la collecte d'informations à partir :

- . du livre généalogique provisoire,
- . du livre des naissances,
- . des fiches du contrôle laitier, et
- . des fiches d'insémination artificielle.

- des visites périodiques et régulières une fois toutes les deux semaines, en moyenne de 2 heures et demie chacune, passées avec l'éleveur. Durant une année, depuis le 1er décembre 1993 jusqu'au 30 novembre 1994, toutes les données relatives aux événements en relation avec la gestion technico-économique de la ferme ont été saisies et traitées en utilisant le logiciel DairyCHAMP®. Ensuite, les différents paramètres ou critères, servant d'indicateurs, ont été utilisés pour orienter l'éleveur en mettant à l'évidence les manques à gagner, ou les anomalies sources de problèmes qui diminuent les performances du troupeau, et par conséquent, engendrent des pertes. En plus, l'inséminateur recevait des rapports prévoyant les principaux événements de reproduction durant les 2 semaines à venir.

Caractéristiques des unités pépinières étudiées

L'utilisation de la terre, la part des cultures fourragères et les effectifs des différentes catégories animales sont représentés respectivement dans les tableaux 1, 2 et 3. Les animaux exploités sont, à dominance, de race Frisonne pie-noire «Holsteinisée».

Tableau 1. Utilisation des terres agricoles (ha).

	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6
SAU exploitée	320	48	30	90	67	48
S.F.P.	185	46	28	75	47	48
Céréales	120	2	2	10	20	-
Autres	15	-	-	5	1	-

SAU : Surface agricole utile.

SFP : Surface fourragère principale

Tableau 2. Distribution de la surface fourragère (ha)

	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy.
SFP/SAU (%)	58	96	93	83	70	100	71.14
Avoine	80	26	16	35	25	26	34.66
Orge fourragère	50	8	4	17	12	12	17.17
Sorgho fourrager	40	8	6	15	6	-	12.50
Maïs fourrager	15	4	2	8	4	10	7.16

SFP : Surface fourragère principale

Tableau 3. Effectifs des différentes catégories animales.

Type d'animaux	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
Vaches laitières	89	38	15	48	16	15	36.83
Génisses pleines	13	7	3	11	2	4	6.66
Géniteurs	1	1	0	1	0	1	0.66
Femelles >1an	27	12	4	8	3	8	10.33
Mâles > 1an	9	5	1	6	3	5	4.83
Fem.Sevrage-1an	11	5	4	6	4	6	6.00
Mâl.Sevrage-1an	14	7	9	13	3	6	8.66
Jeunes Naiss-Sev	27	11	8	18	7	8	13.16

I. Résultats et Discussion : évaluation des critères de gestion après suivi

1. Paramètres de reproduction

A la fin de la période du suivi, des rapports périodiques et d'évaluation ont été générés en utilisant le logiciel DairyCHAMP® pour comparer les deux périodes : du 1er janvier 89 au 30 novembre 93 et celle du suivi (1er décembre 93 au 30 novembre 94).

a. Age au premier vêlage

Le programme d'alimentation des génisses recommandé et appliqué par les éleveurs a permis une amélioration de l'âge au premier vêlage. Cette amélioration était de 46 jours en moyenne pour les 111 génisses qui ont vêlé pendant la période du suivi (tableau 4).

Tableau 4. Age au premier vêlage (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	942	909	873	969	840	881	921
après suivi	872	877	857	891	841	861	875

b. Intervalle vêlage-vêlage

La période d'une année de suivi ne permet pas de recenser beaucoup d'intervalles entre vêlages. Neuf intervalles d'une moyenne de 339j (tableau 5), bien qu'ils montrent une lueur d'amélioration (51j en moins), ne permettent pas de conclure sans étudier les éléments qui composent ce critère.

Tableau 5. Intervalle vêlage-vêlage (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	371	355	351	417	397	372	390
après suivi	314	348	321	353	-	-	339

c. Intervalle vêlage-première insémination

Cet intervalle a été écourté de 18 jours, en moyenne, pour 191 vaches suivies en insistant sur l'inscription de la vraie date du dernier vêlage et en augmentant le nombre et la durée des observations des chaleurs suite à leur prévision par le logiciel.

Tableau 6. Intervalle vêlage-première insémination (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	86	84	76	115	83	68	91
après suivi	70	67	67	94	59	72	73

d. Intervalle vêlage-insémination fécondante

Les interventions citées ci-dessus, en plus de l'information des inséminateurs par listes - à l'avance - des vaches prévues en chaleurs en cas de répétition de l'insémination, ont permis, en même temps, d'améliorer ce critère, en le réduisant de 36 jours en moyenne, pour 110 vaches (tableau 7).

Tableau 7. Intervalle vêlage-insémination fécondante (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	115	99	84	147	123	89	120
après suivi	86	82	126	91	60	70	84

e. Nombre d'IA par IA fécondante

L'amélioration du taux de détection des chaleurs et l'élimination des femelles à problèmes (taux de réformes 30%), ont permis d'abaisser le nombre moyen d'IA pour obtenir une IA fécondante, de 1.98 à 1.74 (tableau 8).

Tableau 8. Nombre d'IA par IA fécondante

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	2.00	2.20	2.64	1.70	1.60	1.90	1.98
après suivi	1.80	2.10	1.80	1.50	1.30	1.85	1.74

f. Niveau de fertilité

Taux de réussite en première insémination

Le pourcentage de réussite des premières inséminations est passé de 51% à 67% (tableau 9) grâce à :

- une information de l'éleveur du moment favorable pour inséminer ses femelles, par rapport au vêlage et par rapport aux chaleurs.
- la décision de certains éleveurs d'amener eux-mêmes l'inséminateur, si son passage pendant le circuit journalier ne coïncide pas avec le moment adéquat pour l'insémination.

Tableau 9. Taux de réussite en première insémination (en %)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	48	45	55	54	46	39	51
après suivi	69	46	64	75	82	73	67

Taux de femelles nécessitant trois inséminations et plus

Grâce au suivi, ce taux a été réduit de 15,51 à 8.97 (tableau 10). En retraçant l'historique des événements de reproduction des vaches, et en disposant de la liste des vaches présentant des problèmes, il a été permis de prendre des décisions de réforme ou d'ordre sanitaire.

Tableau 10. Taux de femelles nécessitant trois inséminations et plus

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	13	21	30	5.5	13	18	15.5
après suivi	11	16	5	5.5	2	0	8.97

g. Taux d'avortement

Le taux d'avortement est passé de 7.80 à 5.36% (tableau 11). Les cas d'avortement observés n'ont pas été diagnostiqués.

Tableau 11. Taux d'avortement (en %)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1989-1993	9.1	6.1	8.6	5.6	8.7	7.7	7.80
après suivi	4.9	8.3	0	6.3	7.5	0.0	5.36

2. Production laitière

Les paramètres de production laitière sont comparés entre la période du 1er décembre 92 au 30 novembre 93 (1993) et la période du suivi (1er décembre 93 au 30 novembre 94).

a. Moyenne économique corrigée à 4% de MG

Tableau 12 . Moyenne économique corrigée à 4% MG (en kg)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1993	4770	4226	3814	3611	3309	4041	4204
après suivi	4984	5001	4247	3834	3341	4233	4517

La moyenne économique corrigée à 4% est passée à 4517 kg en moyenne pour la période du suivi (tableau 12). Cette amélioration est due, principalement, à l'élimination des animaux à problèmes, à l'amélioration des critères de reproduction, à la correction des rations et à l'utilisation d'un complément de minéraux et de vitamines. En plus, le logiciel a permis de tracer les courbes de lactation individuelles et de groupe. Ceci a été d'une grande utilité pour suivre l'évolution de la production laitière et intervenir quand c'était nécessaire.

b. Numéro moyen de lactation

La diminution du numéro moyen de lactation de 2.96 à 2.74 (tableau 13) pourrait être expliquée par la réforme des animaux âgés ou présentant des problèmes, surtout que la conjoncture des prix était favorable, et l'importation de quelques génisses pleines en juin 1994.

Tableau 13 . Numéro moyen de lactation par unité

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1993	3.4	3.1	2.9	2.4	2.9	1.9	2.96
après suivi	3.3	2.3	1.9	2.3	3.8	1.7	2.74

c. Durée de lactation

La durée moyenne de lactation pendant la période de suivi était de 332 jours (tableau 15). Elle est de 9 jours de moins qu'en 1993. Cette baisse est due au raccourcissement de l'intervalle vêlage-saillie fécondante.

Tableau 14. Durée moyenne de lactation (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1993	331	312	309	385	366	347	341
après suivi	320	307	327	361	352	356	332

d. Durée de tarissement

Tableau 15. Durée de tarissement (en jours)

Période	UP1	UP2	UP3	UP4	UP5	UP6	Moy
1993	63	65	62	72	66	63	65.5
après suivi	61	67	56	63	67	63	62.7

La durée de tarissement varie de 56j (UP3) et 67j (UP2 et UP5); la durée moyenne pour l'ensemble des vaches était de 62.7j pour la période du suivi. Les résultats montrent une légère amélioration, quoique les éleveurs aient toujours respecté la durée nécessaire de tarissement.

Conclusion

L'encadrement régulier des six unités pépinières présentant un historique d'informations, moyennant l'utilisation du logiciel DairyCHAMP®, a permis d'obtenir des résultats satisfaisants, dont :

- La réduction de l'âge au premier vêlage de 46 jours pour 111 génisses.
- L'amélioration de l'intervalle vêlage-IA fécondante de 36 jours pour 110 vaches.
- L'augmentation de la moyenne économique de 313 kg de lait à 4%.

Ces résultats diffèrent d'une unité à l'autre selon l'intensité des problèmes, la disponibilité de l'éleveur et son attitude vis à vis de l'encadrement. Chaque critère de gestion est pris en compte par l'éleveur selon le niveau de gain escompté et la facilité de réalisation des recommandations proposées.

A travers les résultats de cette étude, on peut dire que le secteur laitier dispose actuellement d'une masse d'informations précieuses, à travers les données du contrôle laitier et de l'insémination artificielle. La gestion de ces informations nécessite l'utilisation d'un outil informatique pour maîtriser le temps nécessaire au retour de l'information " feed-back" vers l'éleveur, lui assurant, ainsi, le bénéfice d'une analyse régulière du fonctionnement de son troupeau, et par conséquent, lui permettant d'augmenter sa productivité.

Références bibliographiques :

Koraichi A. (1995), Programme d'un suivi pour l'encadrement des élevages laitiers-cas de quelques unités pépinières de Tanger. *Mémoire de fin d'études*. ENA-Meknès.

2^{ÈME} SESSION
LES OUTILS DU DIAGNOSTIC
AU SERVICE DE LA REPRODUCTION

Le diagnostic au service de la reproduction : Fertilité - Gestation - Anoestrus

PH. DELAHAUT*, J. SULON**, F. ECTORS** et J.F. BECKERS**

* *Laboratoire d'Hormonologie, rue du Point du Jour 8- B6900 Marloie*

** *Université de Liège, Fac.Méd.Vét., Bd de Colonster, 20 B4000 Liège, Belgique*

Diagnostic signifie : «l'action de déterminer une maladie d'après ses symptômes» (dictionnaire Robert); ici nous l'envisageons dans un sens beaucoup plus large visant à préciser un état physiologique ou pathologique dans le contexte bien précis de la Reproduction. Aussi, parlerons-nous beaucoup moins de maladie que de précision ou d'exactitude de prédiction et de programmation de la reproduction au sein des troupeaux.

Dès la haute antiquité, les hommes se sont intéressés au diagnostic; 600 ans avant notre ère, les égyptiens avaient imaginé de vérifier le diagnostic de grossesse en testant les propriétés de l'urine de femmes présumées enceintes sur la germination de graines diverses. Si le processus de germination était rapide, le diagnostic était considéré comme positif; dans le cas contraire, il était considéré comme négatif.

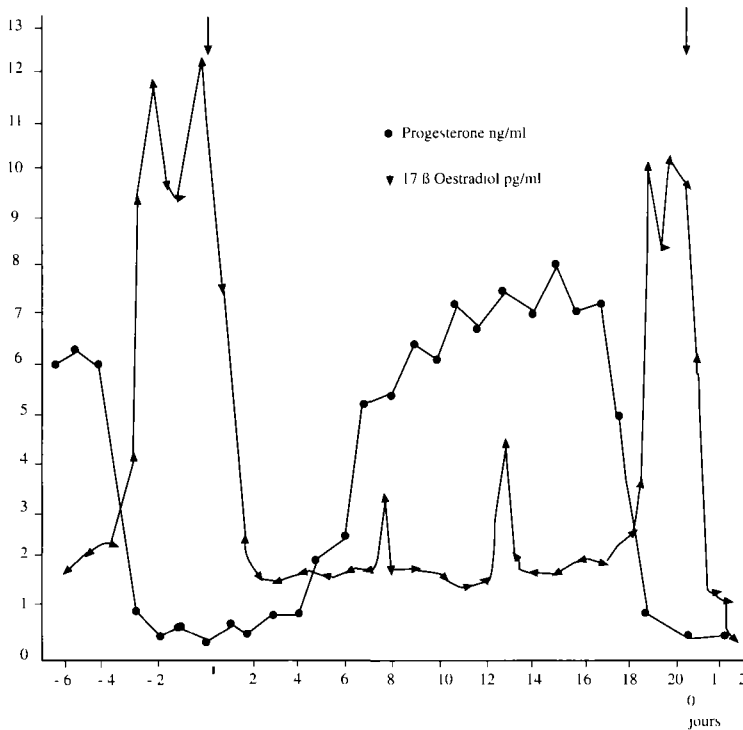
Aujourd'hui, en 1995, cette anecdote nous laisse rêveur; les diagnostics in vitro ont progressé considérablement dans tous les domaines aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Pourtant face à de nombreuses situations, nous restons démunis, désappointés de ne pouvoir appliquer tel ou tel système ou plus souvent nous restons indécis sur le programme à proposer dans une situation bien définie prenant en compte l'ensemble des paramètres locaux parmi lesquels les contraintes économiques sont prépondérantes.

Qu'en est-il des moyens diagnostiques disponibles chez les bovins relativement à la fonction de reproduction ? Conscients de la difficulté de traiter un tel sujet d'un point de vue prospectif dans des régions que nous ne connaissons pas bien, nous essaierons de synthétiser l'apport des diagnostics in vitro aux connaissances de la physiologie et de la pathologie de la reproduction.

La vache est une espèce à activité sexuelle continue c'est-à-dire non saisonnière; le cycle se déroule sur une période de 21 jours; la gestation, quant à elle, a une durée d'environ 280 jours. Après la parturition, contrairement à la jument qui récupère le plus souvent une fécondité dans les 15 jours, la vache présente une période d'anoestrus de durée variable allant de 20 à 100 jours et parfois davantage selon la race, la lactation ou l'allaitement et les conditions d'alimentation ou d'exploitation.

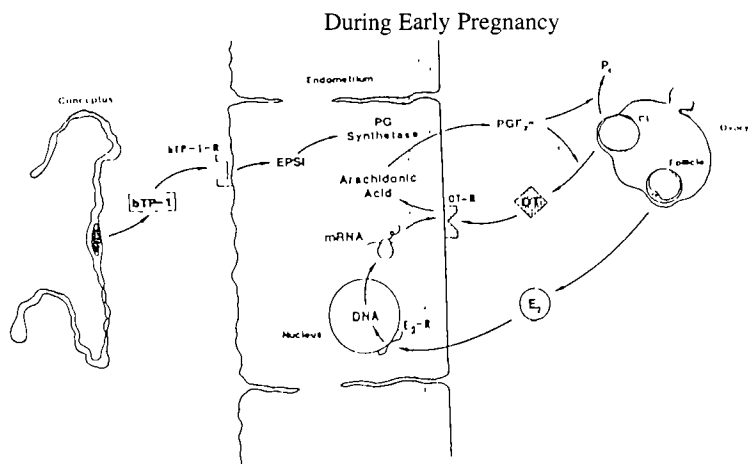
A partir de 1965 et grâce aux méthodes de couplage des petites molécules et de purification des protéines, les dosages radioimmunologiques des hormones stéroïdiennes et protéiques ont permis de dessiner les concentrations physiologiques en fonction du cycle de la gestation. Rapidement aussi, ces dosages ont été appliqués dans des situations dites de pathologie de la reproduction et ont permis de définir les concentrations hormonales lors d'altération du cycle, en particulier dans les cas extrêmes d'anoestrus et de nymphomanie. Minimale pendant l'oestrus (jour 0) la concentration de **progestérone** s'élève progressivement à partir du jour 3 ou 4 pour atteindre un maximum au jour 7 à 10 du cycle. Ensuite, la concentration se maintient jusqu'aux jours 17-18 du cycle, époque à laquelle le taux chute brutalement suite à la lutéolyse produite par les prostaglandines d'origine utérine et plus précisément endométriale; ce mécanisme a été décrit en détail dès 1972 par McCracken et al. (fig. 1). Quelques années plus tard, suite à de nombreuses recherches fondamentales, le rôle du conceptus dans l'inhibition de la lutéolyse a été précisé. La figure 2, dont la paternité de la conceptualisation revient à Thatcher et al 1989, fait apparaître les principales interactions impliquées.

Figure 1. Profils hormonaux de la progestérone et du 17 β oestradiol au cours du cycle chez la vache



Les concentrations plasmatiques du 17 β oestradiol s'expriment en pg/ml: elles sont maximales durant les 3 jours qui précèdent l'oestrus (dont la durée est de 16 heures). Elles décroissent rapidement déjà avant l'ovulation. Le pic préovulatoire de la LH est de grande intensité 40 à 60 ng/ml mais de très courte durée (6 à 8 heures). Le pic préovulatoire de la FSH n'a pas été retrouvé par tous les auteurs; quoi qu'il en soit, il est d'intensité beaucoup plus faible. Chez les bovins, l'ovulation survient environ 10 heures après la fin de l'oestrus, soit environ 15 heures après le pic préovulatoire de la LH/FSH.

Figure 2. Représentation schématique des interactions entre l'ovaire, l'endomètre et le conceptus en début de gestation. D'après Thatcher et al 1989.



Le **17 β -œstradiol** montre un profil tout différent: la concentration est comparativement beaucoup plus basse que celle de la progestérone (pg au lieu de ng par ml). Le taux s'élève en phase proœstrale pour atteindre un maximum au moment de l'œstrus. Vers la fin de ce dernier, il chute brutalement avant même l'ovulation pour revenir à son niveau de base. Durant la phase lutéale du cycle, on peut observer 1, 2 ou 3 pics dits accessoires. Ces pics sont moins élevés et de plus courte durée que le pic œstral; ils correspondent aux vagues de croissance folliculaire terminale déjà décrites en 1973 par le docteur Mariana de l'INRA de Tours.

La **lutropine**, quant à elle, montre un profil pulsatil plus accentué en phase folliculaire qu'en phase progestéronique. Le pic préovulatoire est particulièrement bien marqué chez les bovins: il est très élevé et de très courte durée (6 à 9 heures).

Au cours de la gestation, le taux de progestérone reste élevé, en effet le maintien du corps jaune est indispensable à l'installation et au maintien de la gravidité. Cette observation est à la base du diagnostic précoce de la gestation par le dosage de la progestérone développé par Robertson et al 1971 et par Thimonier 1973.

Ce principe est intéressant, il peut s'étendre à la plupart des espèces animales pour autant que les caractéristiques physiologiques du cycle et les concentrations hormonales soient connues précisément. Du point de vue de la gestion du troupeau, le dosage de la progestérone peut rendre un service appréciable dans la mesure où il est intégré dans un programme éducatif approprié. Plus tard, la réalisation de ce dosage sera simplifiée et des tests réalisables en ferme deviendront disponibles (Thibier 1988). Cependant, chez les bovins en particulier, il faut rappeler que la progestérone est rapidement transformée au contact des globules rouges de sorte que les dosages à partir du sang complet exigent des précautions particulières (centrifugation immédiate ou utilisation d'inhibiteurs enzymatiques) (Oltner et Edqvist 1982; Delahaut et al. 1978, 1979).

Chez la vache gestante, les concentrations d'œstrogènes restent faibles tout au long de la gravidité sauf le sulfate d'œstrone dont le taux s'élève à partir du 200^{ème} jour; par

conséquent son dosage ne présente guère d'intérêt dans le cadre de l'établissement ou de la confirmation du diagnostic de gestation.

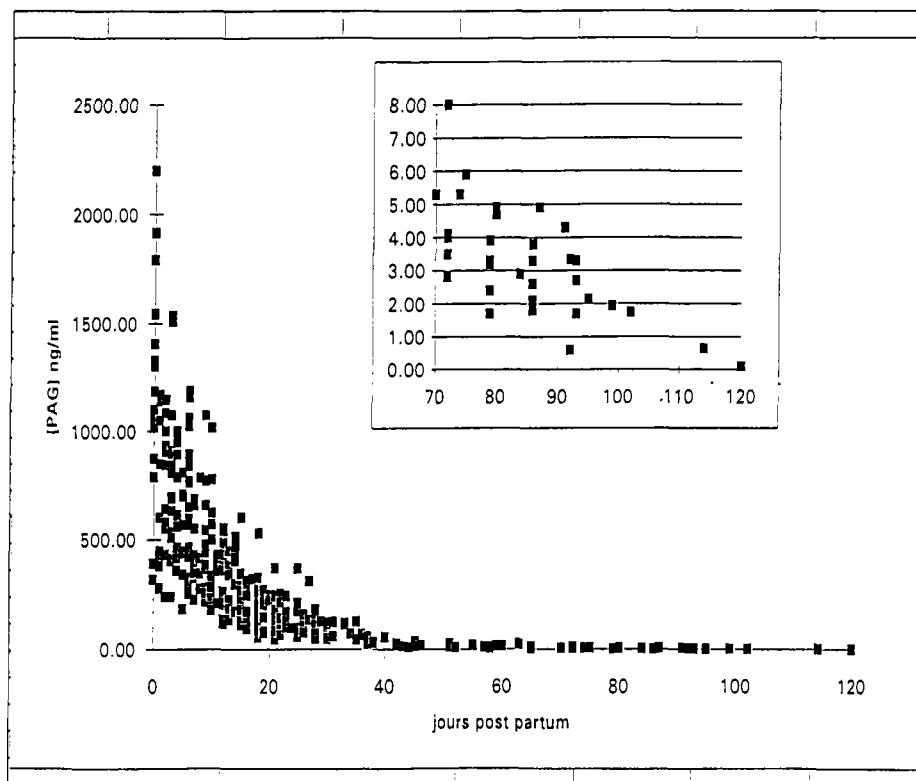
Chez les ruminants en général et chez les bovins en particulier, très nombreuses furent les tentatives de mise en évidence d'une hormone gonadotrope chorionique de type hCG ou PMSG. Pour rappel, la gonadotropine chorionique humaine (hCG) est une hormone apparentée et même très similaire à la LH hypophysaire. Sa concentration s'élève dès le 8ème-10ème jour après la conception; ses niveaux sont très élevés dans le sang et dans l'urine de sorte que son dosage ou tout simplement sa détection par un «test» immunologique simplifié permettent un diagnostic précoce de la grossesse. Les taux restent très élevés durant le premier trimestre de la grossesse; ensuite, ils diminuent mais restent moyens jusqu'à la parturition.

La gonadotropine chorionique équine (eCG) encore appelée PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) est une hormone glycoprotéique similaire à la LH équine; elle est sécrétée par les cupules endométriales à partir du 38ème-40ème jour après la fécondation. Sa concentration s'élève considérablement dans le sang mais elle n'est pas excrétée ou sécrétée dans l'urine. Ceci est lié à ses propriétés de taille et surtout de charge en vertu de sa très haute teneur en acide sialique. Aux environs du 120ème jour de la gestation, sa concentration diminue pour redevenir indétectable durant la 2ème moitié de la gravidité.

Chez les bovins, à ce jour, aucune hormone équivalente à hCG ou PMSG n'a réellement été caractérisée (Xie et al 1994).

Si le placenta des ruminants semble peu locace en ce qui concerne l'expression d'une gonadotropine chorionique, en revanche, il sécrète plusieurs membres d'une famille de glycoprotéines du groupe des protéases aspartiques. Ces protéines sont connues sous le nom de PSPB (Pregnancy Specific Protein B) isolée par Butler et al 1982 et caractérisée par Sasser et al 1986 et de PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) étudiée plus spécialement par Zoli et al 1991. Le dosage de ces protéines est utilisé pour le diagnostic de la gestation en France dans les laboratoires de l'UNCEIA et en Belgique au laboratoire de Marloie. Les limites de cette méthode résident dans la montée lente des concentrations entre le 25ème et le 60ème jours après la conception et la disparition plus lente encore de la protéine après la parturition (fig.3).

Figure 3. Concentrations de la pag chez la vache après la parturition



Après la parturition, les concentrations en PAG décroissent lentement. La chute est plus rapide chez la brebis (3 à 4 semaines) que chez la vache (12 à 14 semaines). Chez les bovins, le seuil de positivité du diagnostic précoce à 35 jours a été fixé à 0,8ng/ml, il entraîne un délai minimum de 100 jours post-partum pour la réalisation d'un diagnostic précoce d'une éventuelle gestation suivante.

Des protéines analogues existent dans les autres espèces de ruminants domestiques (ovins, caprins...) et sauvages (daims, cervidés...) (Sasser et al 1986). Cependant, il apparaît de plus en plus clair aujourd'hui que pour conférer aux dosages un maximum de spécificité et de sensibilité, il importe de purifier la protéine dans chacune des espèces qui feront l'objet d'études car la séquence de la protéine varie sensiblement de l'une à l'autre.

Le dosage des protéines associées à la gestation permet d'envisager des études originales sur la mortalité embryonnaire tardive et l'avortement en vue d'en déterminer la fréquence et l'époque à laquelle ils surviennent en relation avec l'incidence de pathologies telles l'anaplasmosse, la brucellose, la trypanosomiasis et toute maladie affectant le déroulement de la gestation. Nous vous offrons notre collaboration pour de telles études auxquelles nous acceptons de collaborer en réalisant les dosages de PAG.

Les dosages hormonaux ont permis de préciser les diagnostics d'acyclicité chez les bovins et plus précisément les diagnostics d'anoestrus saisonnier et d'anoestrus du post partum (Beckers et al 1978, Derivaux et al 1984). Si les dosages permettent de telles études en

fonction du climat, de la race et des conditions d'exploitation, il faut cependant rester conscient que de nombreux prélèvements de sang sont le plus souvent nécessaires pour établir des profils précis.

Durant ces dernières années, les méthodes de synchronisation et d'induction de l'oestrus ainsi que la technique de superovulation ont connu une assez grande extension. Plus exactement, ces méthodes ont souvent été utilisées très intensivement dans des élevages caractérisés par une génétique mieux adaptée aux exigences actuelles de production. Ces schémas de maîtrise de l'oestrus, de l'ovulation ou de la superovulation impliquent l'injection d'hormones gonadotropes telles que l'hCG, le PMSG ou les gonadotropines hypophysaires.

L'injection systématique et répétée de celles-ci fait apparaître chez ces femelles une résistance progressive au traitement suite à une production d'anticorps antigonadotropine. Grâce à une collaboration avec l'INRA en France et au développement d'une méthode radiométrique proche du système directement issu des découvertes de Berson et al en 1956, nous avons pu mettre en évidence des anticorps anti-PMSG chez les chèvres, les bovins et lapins ayant reçu des injections répétées de cette hormone (Remy et al 1991; Baril et al 1992).

A l'instant où nous rappelons la contribution de Berson à l'origine du dosage radioimmunologique, nous prenons conscience que 39 ans plus tard, malgré des investissements considérables en personnel et en éducation dans bien des pays de par le monde, les dosages se sont relativement peu implantés dans la gestion des élevages bovins et ceci est un euphémisme...

Au départ les dosages ont été réalisés par la méthode radioimmunologique mais progressivement, suite aux contraintes liées à l'utilisation d'isotopes dans des laboratoires spécialisés, les méthodes enzymo-immunologiques se sont peu à peu imposées. Dans cette voie, des progrès restent à accomplir et d'aucuns envisagent le remplacement du tube coaté (ou de l'immunoprécipitant) par une tigette à l'instar de ce qui se fait couramment pour la mise en évidence du glucose dans l'urine. Ce type de test pourrait se réaliser en ferme et en un temps très court, mais aujourd'hui, la maîtrise de leur spécificité et de leur stabilité posent un problème quasi insurmontables.

Parallèlement aux dosages *in vitro*, se sont développées des techniques d'imagerie médicale et en particulier l'Ultrasonographie. Plusieurs communications y feront probablement référence au cours de ce congrès, c'est pourquoi nous ne nous y attarderons pas. Dans cet exposé et directement en relation avec ces techniques, nous ne pouvons pas terminer sans rappeler l'importance du diagnostic par palpation rectale. Chez les espèces de grande taille telles que les bovins, les équins et les camélidés, cette méthode permet des diagnostics de gestation et de cyclicité.

Chez la vache, la palpation rectale permet de diagnostiquer la gestation dès la 7ème semaine (tableau 1), chez la jument dès la 4ème semaine. Les structures présentes à la surface de l'ovaire comme le follicule préovulatoire ou le corps jaune sont identifiés ou suivis avec une grande précision et de façon très simple. Associée au cathétérisme du col utérin, la palpation rectale permet non seulement l'insémination artificielle mais également la récolte ou le transfert d'embryons.

Tableau 1. Diagnostic de la gestation par palpation «rectale» chez la vache

Mois de gestation	Données fournies par la palpation de l'utérus	des ovaires
1 mois Corps jaune	-sac amniotique: 2cm de diamètre, 18cm de long	
2 mois Corps jaune persiste	-longueur du fœtus: 6 à 8 cm -dissymétrie des cornes -palpation fine des enveloppes fœtales	sur le même ovaire
3 mois Corps jaune persiste	-dissymétrie totale -longueur du fœtus: 15cm; - volume liquide: 300 à 700ml - succussion positive - sur le même ovaire	
4 mois Corps jaune persiste	-longueur du fœtus: 25 à 35cm; - volume liquide: 2 à 71ml -thrill utérin -cotylédons palpables -dissymétrie très nette -diagnostic très facile	sur le même ovaire
5 mois Corps jaune persiste	-utérus dans la cavité abdominale : non palpable entièrement -thrill et cotylédons -diagnostic plus difficile qu'à 4 mois	sur le même ovaire
6-7 mois Corps jaune persiste	-membres et tête au niveau du bord antérieur du pubis -diagnostic plus facile qu'à 5 mois	sur le même ovaire

En conclusion, nous avons essayé de vous tracer l'histoire et l'évolution des moyens de diagnostics in vitro et vous permettre d'entrevoir leur adaptation à l'élevage intensif du 21ème siècle. Dans le cadre de l'agriculture extensive, le sort du diagnostic en relation avec la reproduction sera probablement lié à celui des tests visant à détecter ou quantifier les niveaux d'incidence de maladies microbiennes ou parasitaires.

Références

1. Baril G., Remy B., Vallet J.C. and Beckers J.F. (1992), Effects of Repeated Use of Progestagen-PMSG Treatment for Estrus Control in Dairy Goats out of Breeding season. *Reprod.Dom.Anim.*, 27 : 161-168.
2. Beckers J.F., Ballman P., Ectors F. et Derivaux J. (1975), transmise par Mr. Herlant M. Le dosage radioimmunologique de la progestérone plasmatique chez la vache. *C.R. Acad.Sc.,Paris*, 280 : 335-338.

3. Beckers J.F., Wouters-Ballman P., Ectors F. et Derivaux J. (1978), Induction de l'oestrus chez les génisses en anoestrus fonctionnel. *Ann.Méd.Vét.*, 122:597-605.
4. Butler J.E., Hamilton W.C., Sasser R.G., Ruder C.A., Hass G.M., et Williams R.J. (1982), Detection and partial purification of two bovine pregnancy. *Biol.Reprod.*, 26 : 925-933.
5. Delahaut Ph., Beckers J.F. et Ectors F. (1978), Diagnostic précoce de gestation chez les différentes espèces animales. *Ann.Méd.Vét.*, 122 : 205-208.
6. Delahaut Ph., Beckers J.F. et Ectors F. (1979), Effet de l'azide de sodium sur la dégradation de la progestérone dans les échantillons de sang total chez les bovins. *Ann.Méd.Vét.*, 123 : 567-572.
7. Derivaux J., Beckers J.F. et Ectors F. L'anoestrus du post-Partum. (1984), *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 53 : 215-229.
8. Mariana J.C. et Nguyen Huy. (1973), *Ann. Biol.anim. Bioch. Biophys*, 13 hors série, p.211.
9. McCracken J.A., Carlson J.C., Glew M.E., Goding J.R. et Baird D.T. (1972), Prostaglandin F2O identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nature New Biology* Vol. 238 August 2 .
10. Oltner R. and Eqvist L.-E. (1982), Changes in plasma progesterone levels during storage of heparinized whole blood from cow, horse, dog and pig. *Acta Vet. Scand.*, 23 : 1-8.
11. Reimers T.J., McCann J.P. and Cowan R.G. (1983), Effects of storage times and temperatures on T3, T4, LH, Prolactin, Insulin, Cortisol and progesterone concentrations in blood samples from cows. *Journal of Animal Science*, 57 (3) : 683-691.
12. Remy B., Baril G., Vallet J.C., Dufour R., Chouvet C., Saumande J., Chupin D. and Beckers J.F. (1991), Are antibodies responsible for a decreased superovulatory response in goats which have been treated repeatedly with porcine Follicle-Stimulating hormone? *Theriogenology*, 36 (3) : 389-399.
13. Sasser R.G., Ruder C.A., Ivani K.A., Butler J.E. et Hamilton W.C. (1986), Detection of pregnancy by radioimmuno assay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profil of serum concentration during gestation. *Biol.Reprod.*, 35 : 936-942.
14. Thatcher W.W., Macmillan K.L., Hansen P.J. and Drost M. (1989), Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, 31 : 149-164.
15. Thibier M. (1988), Stéroïdes sexuels et diagnostic de gestation chez les bovins. Test en ferme. *Reprod.Nutr.Dévelop.*, 28 (6B) : 1747-1752.
16. Thimonier J. (1973), Diagnostic précoce de la gestation par l'estimation du taux de progestérone plasmatique chez la brebis, la vache et la jument. *Rec.Méd.Vét.*, 149 : 1303-1318.

Mycoplasmoses des ruminants. Utilisation des outils de la biologie moléculaire

F. THIAUCOURT

*CIRAD-IEMVT laboratoire Pathotrop
10 rue P. Curie 94704 Maisons Alfort France*

Résumé

Le «groupe mycoides» est un ensemble d'espèces, de sous-espèces ou de souches de mycoplasmes qui possèdent des caractères biochimiques, antigéniques et génomiques communs. Ces communautés ont longtemps été à l'origine de difficultés d'identification. Ces difficultés sont accrues par l'existence d'un polymorphisme important au sein de certaines espèces.

L'identification des souches appartenant à ce groupe est cependant indispensable car elles sont toutes pathogènes pour les animaux. Certaines d'entre elles occasionnent des maladies réputées légalement contagieuses qui sont limitées à des zones géographiques, c'est le cas de la péripneumonie contagieuse bovine, ainsi que de la pleuropneumonie contagieuse caprine. La biologie moléculaire permet actuellement de disposer d'outils de diagnostic beaucoup plus spécifiques et quelquefois plus sensibles que les techniques traditionnelles. La technique d'amplification génique est la plus souvent utilisée. Cette réaction peut être strictement spécifique et n'amplifier un fragment d'ADN que lorsque la bactérie recherchée est présente. A l'inverse, il est possible d'amplifier des fragments communs homologues à plusieurs espèces et de déterminer l'espèce présente par l'étude de la séquence du gène amplifié. Les gènes les plus couramment utilisés pour ce genre d'étude sont les gènes codant pour les ARN ribosomaux 16 S. Ils possèdent la particularité d'avoir des zones bien conservées entre les groupes de mycoplasmes, mais des zones variables qui diffèrent d'une espèce à l'autre.

Les techniques d'amplification génique ont l'avantage d'être rapides et de pouvoir être réalisées à partir de matériel séché. Cela supprime la nécessité d'une chaîne de froid. Cependant leur extrême sensibilité requiert de prendre des précautions draconiennes pour éviter des contaminations à partir de produits d'amplification.

Il est maintenant possible, dans certains cas, de distinguer non plus simplement les espèces mais aussi les souches entre elles. Cela est particulièrement utile lorsqu'on souhaite différencier les souches vaccinales des souches pathogènes. Enfin, le séquençage de gènes suffisamment variables permettra - in fine - d'obtenir les outils d'épidémiologie moléculaire. Les progrès techniques, aussi séduisants soient-ils, ne doivent pas faire oublier que les techniques de diagnostic ne sont que des outils au service de politiques sanitaires, leur utilité pratique réelle dépendra certainement plus de la cohérence de ces politiques que de leurs potentialités réelles.

De nombreux mycoplasmes peuvent infecter les ruminants, certains sont des pathogènes stricto sensu, d'autres des pathogènes opportunistes et enfin certains sont considérés comme des saprophytes. Au sein de ces mycoplasmes, ceux appartenant à ce qu'on appelle le "groupe mycoïdes" représentent une menace certaine pour l'élevage des ruminants. Ce groupe rassemble six espèces ou ensemble de souches qui sont fortement apparentées entre elles, aussi bien du point de vue de leurs caractères biochimiques, antigéniques ou génomiques. Toutes les souches de ce groupe sont considérées comme pathogènes et certaines sont à l'origine de maladies réputées légalement contagieuses dans de nombreux pays. Ainsi *M. mycoïdes* subsp. *mycoïdes* SC (MmmSC) est l'agent de la péripneumonie contagieuse bovine (PPCB) et *M. capricolum* subsp. *capripneumoniae* (MccF38) l'agent de la pleuropneumonie contagieuse caprine. L'apparition de ce type de maladie dans un pays qui est déclaré indemne entraîne généralement l'application de mesures de prophylaxie sanitaire très strictes, c'est-à-dire l'abattage des troupeaux infectés mais aussi des troupeaux qui sont à leur contact. Les souches appartenant aux autres espèces, comme *M. capricolum* subsp. *capricolum* (Mc); *M. mycoïdes* subsp. *capri* (Mmc) et *M. mycoïdes* subsp. *mycoïdes* LC (MmmLC), sont responsables de syndromes "MAKePS" (pour Mammites, Arthrites, Keratites, Pneumonies et Septicémies) chez les petits ruminants alors que *M. sp. type* PG50 est souvent rencontré chez les bovins lors de mammites. Une autre espèce de mycoplasme qui n'appartient pas au «groupe mycoïdes», *M. agalactiae*, est, elle aussi, responsable de syndromes «MAKePS» chez les petits ruminants.

La PPCB est présente actuellement en Afrique, à l'exception du Sud du continent. Elle sévit sous une forme enzootique en Afrique de l'Ouest, et on a pu constater, au cours des deux dernières années une recrudescence de cette maladie dans l'Est du continent, là où elle avait disparu et où les efforts de vaccination s'étaient relâchés. L'importance des maladies légalement réputées contagieuses tient non seulement aux pertes directes qu'elles occasionnent mais aussi à la mise en péril de schémas de sélection et aux restrictions de circulation des animaux qu'elles justifient.

Le diagnostic des mycoplasmoses peut se heurter à plusieurs écueils. La culture de ces bactéries nécessite des milieux spéciaux qui ne sont pas d'un emploi courant. Certaines souches ont une croissance très lente, c'est notamment le cas de MccF38. Les surinfections par d'autres bactéries peuvent masquer la présence des mycoplasmes. Enfin il n'est pas rare d'isoler plusieurs mycoplasmes à partir d'un même prélèvement et, le plus souvent, l'espèce ayant la croissance la plus rapide masque celle à croissance lente. L'identification est basée sur les résultats de tests biochimiques, ces tests sont semblables à ceux utilisés pour d'autres bactéries, cependant, pour les mycoplasmes, il n'y en a que quelques uns qui sont utilisables. Ils ne suffisent pas à obtenir une identification, d'autres tests, basés sur des réactions sérologiques avec des sérums hyperimmuns, sont indispensables. La spécificité de ces sérums peut quelquefois être mise en doute, en particulier pour l'identification de sous-espèces. Etant donné toutes les difficultés de l'isolement et de l'identification on peut affirmer, sans crainte de se tromper, que l'impact des mycoplasmoses est actuellement sous-évalué, en particulier dans les pays en développement.

L'épidémiologie et la pathogénie de ces mycoplasmoses sont aussi très mal connues. Les mycoplasmes sont des bactéries qui ne possèdent pas de paroi; elles sont très fragiles et sont rapidement inactivées dans le milieu extérieur. Dans ces conditions, la transmission se fait par contact direct d'un animal malade à un animal sain. En règle générale, il n'a pas été établi si, après une infection, il pouvait exister des porteurs chroniques. Cette question est

importante car elle peut avoir une influence sur le type de prophylaxie la mieux à même d'éradiquer une mycoplasmoses, dans un élevage, voire dans un pays.

Les espèces du „groupe mycoides“ semblent différer entre elles du point de vue de la diversité entre les souches à l'intérieur d'une même espèce. Les souches appartenant aux sous-espèces MmmSC et MccF38 semblent très homogènes alors que celles appartenant aux sous-espèces MmmLC, Mmc et Mc présentent un hétérogénéité remarquable ainsi que *M. agalactiae*. Cette variabilité peut expliquer, dans certains cas, les confusions d'identification et les variations de tropisme que l'on peut observer entre des souches appartenant à une même espèce. Enfin, et pour compliquer un peu une situation déjà bien confuse, il a été montré que les mycoplasmes pouvaient arborer, à la surface de leur membrane, des antigènes variables jouant certainement un rôle dans les mécanismes d'échappement à la réponse immunitaire.

La réaction d'amplification génique, plus connue sous son acronyme anglais de PCR, permet de résoudre une partie des difficultés du diagnostic. Il est en effet possible d'amplifier des fragments d'acide désoxyribonucléique (ADN) à partir d'échantillons conservés séchés, sur des morceaux de papier filtre par exemple. Cela ouvre de nouvelles perspectives aux pays tropicaux qui n'ont quelquefois pas les moyens de maintenir une chaîne du froid entre la récolte des échantillons et la mise en culture au laboratoire. L'amplification des gènes codant pour les ARN ribosomaux fournit, en général, un diagnostic spécifique d'espèce. En effet ces gènes sont relativement conservés et il est possible d'utiliser des amorces qui sont communes à l'ensemble des souches d'une même espèce tout en étant spécifiques de cette espèce. Cependant les souches du „groupe mycoides“ sont tellement proches d'un point de vue phylogénétique, que cela est impossible pour chacune des sous-espèces de ce groupe. L'identification peut éventuellement être obtenue par digestion enzymatique des produits d'amplification, cela a été proposé pour MccF38. Le diagnostic de la PPCC a déjà été obtenu de cette manière, amplification à partir de matériel séché sur papier filtre, avant que la confirmation formelle ne vienne, quelques semaines ultérieurement, par isolement et identification.

D'autres auteurs ont proposé des réactions de PCR spécifiques de certaines sous-espèces à partir de portions de gènes dont la fonction est encore inconnue. Cela a été réalisé pour MmmSC, l'agent de la PPCB, mais aussi pour *M. agalactiae*. Cette approche a le mérite d'offrir plus de sécurité, dans la mesure où l'amplification est spécifique de l'agent pathogène et où l'identité est, cette fois-ci, confirmée par digestion enzymatique.

Il est maintenant envisageable d'obtenir, grâce à la technique de PCR, des outils **d'épidémiologie moléculaire** des souches du „groupe mycoides“. Cette étude est actuellement en cours au CIRAD-EMVT, dans le cadre d'un projet de l'AUF-UREF, en collaboration avec le LANAVET du Cameroun et le LABOCEL du Niger.

Le principe de cette recherche est assez simple. Il s'agit, d'une part, d'identifier des fragments de gènes, communs à l'ensemble des souches de ce groupe, qui présentent ponctuellement une variabilité assez grande pour pouvoir différencier les souches entre elles. Dans un laboratoire de diagnostic, les variations entre souches peuvent être mises en évidence par digestion enzymatique du fragment amplifié, dans un laboratoire de recherche par séquençage de l'ensemble du fragment afin de le comparer aux autres. Un gène potentiellement utilisable a déjà été identifié à partir du génome de MccF38, l'agent de la pleuropneumonie contagieuse caprine.

Les difficultés pratiques ne manquent cependant pas. La principale d'entre elles tient justement à la variabilité qui existe au sein du "groupe mycoides" et donc à la difficulté d'avoir des amorces capables d'amplifier un fragment d'ADN pour l'ensemble des souches. La seule approche rationnelle consiste à séquencer, au moins partiellement, les gènes homologues d'un ensemble de souches représentatives de chaque sous-espèce. C'est ce qui est fait actuellement.

A terme, ce n'est plus seulement l'espèce de mycoplasme qui sera identifiée mais aussi la souche en cause. L'isolement, à plusieurs années d'intervalle dans un élevage, d'une même souche sera la preuve de l'existence de porteurs chroniques non détectés. Au contraire, l'isolement de souches différentes signera une contamination d'origine extrinsèque. Selon les résultats les plus fréquents, les prophylaxies pourront ainsi être adaptées.

Actuellement, il est possible de mettre en évidence quelques différences entre des souches de MmmSC. Ces différences sont liées au nombre et à la position de certaines séquences nucléotidiques appelées "séquences d'insertion", elles peuvent être mises en évidence par des techniques d'hybridations. Cela nécessite, jusqu'à présent, l'isolement de la souche pour pouvoir récolter l'ADN génomique total. Cette technique est donc réservée à des laboratoires de recherche. Elle mérite d'être signalée car c'est la première fois que des différences entre souches de MmmSC ont pu être mises en évidence et qu'une corrélation a pu être démontrée avec l'origine géographique des souches. Ainsi il semble établi que les souches isolées en Europe sont bien différentes des souches isolées en Afrique.

Les progrès de la biologie moléculaire sont très spectaculaires. Ils vont sans doute permettre des diagnostics plus rapides, plus fiables des espèces mycoplasmiques, voire même de caractériser les souches elles-mêmes. Il ne faut cependant pas perdre de vue que la lutte contre les maladies contagieuses dépend moins de progrès techniques que de l'application de mesures de politique sanitaire cohérentes. Cette cohérence est assurée par la définition d'une politique qui puisse être acceptée par les éleveurs et qui ne soit pas d'un coût prohibitif. Des exemples historiques ont prouvé qu'il n'était pas nécessaire de pouvoir identifier les agents infectieux pour éradiquer des maladies contagieuses. La mise au point d'outils de diagnostic n'est donc pas strictement indispensable, cependant elle doit permettre de minimiser les coûts des campagnes de lutte et ainsi, rendre plus facile la réussite de ces campagnes.

Bibliographie

1. Al-Aubaidi J.M., Fabricant J. (1971), Characterization and classification of bovine mycoplasma. *Cornell Vet.* 61 : 490-518.
2. Bascuñana C.R., Mattisson J.G., Bölske G., Johansson K.E. (1994), Characterization of the 16S rRNA genes from *Mycoplasma* sp. strain F38 and development of an identification system based on PCR. *J. Bacteriol.*, 176 : 2577-2586.
3. Bashiruddin J.B., Taylor T.K., Gould A.R. (1994), A PCR-based test for the specific identification of *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* SC. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 6 : 428-434.
4. Bonnet F., Saillard C., Bove J.M., Leach R.H., Rose D.L., Cottew G.S., Tully Y (J.G.) (1993), DNA relatedness between field isolates of *Mycoplasma* F38 group, the agent of contagious caprine pleuropneumonia, and strains of *Mycoplasma capricolum*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43 : 597-602.
5. Cheng X., Frey J., Poumarat F., Regalla J., Thiaucourt F., Nicoulet J. (1995), Molecular epidemiology and short term evolution of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC using the insertion element IS 1296. Microbiology accepted for publication.
6. Cristainsen C., Ern H. (1982), Classification of the F38 group of caprine mycoplasma strains by DNA hybridization. *J. gen. Microbiol.* 128 : 2523-2526.

7. Costas M., Leach R.H., Mitchelmore D.L. (1987), Numerical analysis of PAGE protein patterns and the taxonomic relationships within the *Mycoplasma mycoides* cluster. *J. gen. Microbiol.*, 133 : 3319-3329.
8. Cottew G.S., Breard, A., Damassa A.J., Ern (H., Leach R.H., Lefevre P.C., Rodewell A.W., Smith G.R. (1987), Taxonomy of the *Mycoplasma mycoides* cluster. *Isr. J. Med. Sci.*, 23 : 632-635
9. Damassa A. J., Wakenell P.S., Brooks D.L. (1992), *Mycoplasmas* of goats and sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4 : 101-113.
10. Dedieu L., Mady V., Lefevre P.C. (1994), Development of a selective polymerase chain reaction assay for the detection of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* S.C. (Contagious bovine pleuropneumonia agent). *Vet. Microbiol.*, 99 : 191-203.
11. Ddedieu L., Mady V., Lefevre P.C. (1995), Development of two PCR assays for the identification of mycoplasmas causing contagious agalactia. *FEMS Microbiol. Letters* 129 : 243-250.
12. Johansson K.E. (1993), Detection and identification of mycoplasmas with diagnostic DNA probes complementary to ribosomal RNA, in Rapid diagnosis of mycoplasmas. I. KAHANE, A. ADONI, eds Plenum Press.
13. Lefevre P.C., Blancou J., Dedieu L., Diallo A., Libeau G., Thiaucourt F. (1993), Field diagnostic kits: a solution for developing countries? *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 12 : 451-460.
14. Matisson J.G., Guss B., Johansson K.E. (1994), The phylogeny of *Mycoplasma bovis* as determined by sequence analysis of the 16S rRNA gene. *FEMS Microbiol. Letters* 115 : 325-328.
15. Nocard E., Roux E. (1898), Le microbe de la péripneumonie Ann. Inst. Pasteur, 12 : 240-262.
16. Perrau P., Cabaret J. (1984), Les affections parasitaires et bactériennes de l'appareil respiratoire de la chèvre. Les colloques de l'INRA N° 28 NIORT.
17. Pettersson B., Johansson K.E., Uhlen M. (1994), Sequence analysis of 16S rRNA from mycoplasmas by direct solid phase DNA sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 : 2456-2461.
18. Stalheim O.H.V., Cottew G.S., Freundt E.A., Koski T.A., Leach R.H., Perreau P., Stone S.S. (1983), Standard antisera produced in ponies for the identification of bovine mycoplasmas: comparative growth-inhibition results from six laboratories. *Am. J. Vet. Res.* 44 : 1898-1900.

Investigations cytogénétiques et virologiques (BVD) sur les taureaux du centre d'insémination artificielle de Sidi Thabet

I. TURKI

*Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet
Département des Sciences Cliniques
Service «Maladies Contagieuses» 2020 Sidi Thabet. Tunisie*

Résumé

Notre étude portant sur 13 taureaux, nous a permis de maîtriser certaines techniques relatives à la cytogénétique et à la virologie. Nous nous sommes familiarisés avec le caryotype de taureau composé de 8 autosomes acrocentriques, d'un «X» submétacentrique et d'un «Y» métacentrique. Cette technique facile à mettre en œuvre devrait être systématiquement appliquée avant l'utilisation de la semence du taureau reproducteur. Un laboratoire de cytogénétique au sein d'un centre d'insémination artificielle pourrait être monté et serait d'un grand intérêt. En ce qui concerne le dépistage du virus de la DVB, nous n'avons pas détecté cet agent prouvant ainsi que les taureaux utilisés au centre d'insémination artificielle sont indemnes du virus du la DVB. L'importation et l'acceptation de taureaux au sein d'un centre d'insémination artificielle doivent exiger un certificat délivré par un laboratoire agréé prouvant que le reproducteur est indemne d'infection par le VDVB.

Mots-clés : Bovins, Taureaux, Chromosomes, Cytogénétique, Diarrhée virale bovine, Pestivirus, PCR.

Introduction

Pour améliorer le potentiel génétique du cheptel bovin, le gouvernement tunisien a recours à l'importation de taureaux de race performante afin de féconder des femelles de la population locale par insémination artificielle. L'office de l'élevage et des pâturages exige un certificat sanitaire délivré par un vétérinaire officiel suite à l'inspection sanitaire d'animaux et une attestation certifiant que le taureau donneur de semences est indemne des principales maladies infectieuses après la réalisation de tests bactériologiques et sérologiques. Ces tests routiniers sont insuffisants face :

- aux aberrations chromosomiques provoquant de légers effets phénotypiques pouvant passer inaperçus (telle que la translocation robertsonnienne 1/29)
- aux maladies virales ne laissant pas de traces sérologiques comme le cas particulier des infections persistantes dues au virus de la diarrhée virale bovine (VDVB).

Les premiers troubles d'ordre génétique présentent un grand risque de dissémination des anomalies. Nous citons l'exemple de la translocation 1/29 retrouvée dans une quarantaine de races (Popescu, 1984). La diffusion de ces anomalies est favorisée spécialement par l'utilisation de la semence en insémination artificielle, par la duplication et le transfert d'embryons (Massip et coll., 1985) et surtout par la mobilisation accrue des bovins. Pour dépister ce genre d'anomalies, des investigations cytogénétiques ayant pour but l'établissement de caryotypes d'animaux sont indispensables.

En ce qui concerne les maladies virales transmises d'une manière insidieuse d'une génération à l'autre et affectant spécialement l'espèce bovine, la DVB constitue le meilleur exemple. Il s'agit d'un syndrome dû à un virus appartenant à la famille des Flaviviridae, classé au sein du genre pestivirus (Collett et coll., 1988 ; Renard et coll., 1985). La DVB fut décrite pour la première fois en Amérique du Nord (Olafson et Richard, 1946). Plus tard, l'agent causal fut rapporté un peu partout dans le monde (Saurat et coll., 1972 ; Della Porta, 1985). Il est responsable de pertes dues aux avortements, à la réduction de la fertilité (Malmquist, 1968), aux troubles extra-génitaux résultant de la dissémination du virus à la progéniture par les saillies naturelles, par les actes d'insémination artificielle ou par transplantation embryonnaire et surtout aux infections persistantes engendrées par l'installation d'un état d'immunotolérance (McClurkin, 1984 ; Brownlie et coll., 1987). Le dépistage sérologique basé sur la recherche d'anticorps (AC) n'est d'aucun secours pour la détection de veaux infectés permanents immunotolérants (IPI). Les méthodes visant à mettre en évidence le virus seraient plus judicieuses et notamment la recherche de l'acide nucléique viral par PCR (ou polymérase chain reaction). Cette dernière est de plus en plus étudiée pour mieux alléger la recherche de l'infection, essayer de rendre le dépistage plus économique et enfin donner un résultat le plus rapidement possible sans oublier le gain en sensibilité et en spécificité comparativement aux autres techniques.

L'objectif de notre travail vise à étudier le caryotype des taureaux abrités par le centre d'insémination artificielle de Sidi Thabet afin de dépister d'éventuelles anomalies chromosomiques par l'utilisation de techniques cytogénétiques et de rechercher chez les mêmes sujets le VDVB par la méthode PCR.

I. Matériel et méthodes

L'étude a porté sur 13 taureaux appartenant au centre d'insémination artificielle.

A. Déroulement de la technique cytogénétique

Prélèvement : Dix ml de sang sont prélevés à la veine jugulaire ou à la veine caudale dans un tube stérile de type vacutainer contenant 1000 U.I. d'héparinate de sodium.

Mise en culture : Un demi ml de sang entier est mis en culture, selon la technique de De Grouchy et coll. (1964), dans un tube contenant: 8 ml de RPMI, 2 ml de sérum de veau foetal, 100 μ l de Glutamine, 1000 UI de pénicilline, 1 mg de streptomycine et 200 μ g de phytohémagglutinine. Les tubes de culture, hermétiquement clos, sont ensuite placés dans un incubateur à CO₂ à la température de 38° pendant 72 heures. Pour chaque animal étudié, 2 cultures ont été simultanément effectuées.

Blocage des mitoses : Au bout de 70 heures d'incubation, 200 μ l de colchicine sont ajoutés dans chaque tube de culture.

Choc hypotonique : A la 72^{ème} heure d'incubation, les cultures sont retirées de l'étuve pour subir une centrifugation à 1000 trs/mn pendant 5 mn. Le surnageant est jeté et les cellules sont remises en suspension dans 4 ml de KCl à 0,075 M préalablement chauffé à 38°C.

Fixation des cellules : Les cellules sont remises en suspension dans 4 ml de fixateur, composé de 3/4 d'éthanol et d'1/4 d'acide acétique. Les tubes coniques sont alors placés dans le réfrigérateur à +4°C.

Etallement sur lames : A l'aide d'une pipette Pasteur, les cellules resuspendues dans quelques gouttes de fixateur sont aspirées puis étalées, d'une hauteur d'une vingtaine de cm, sur des lames préalablement dégraissées et bien réfrigérées. Les préparations ainsi obtenues sont séchées au-dessus de la flamme d'un bec bunsen.

Coloration et montage : Les lames sont colorées dans une solution de Giemsa tamponnée à 6,5 % et à pH = 6,8 et séchées à l'air ambiant. Les préparations sont montées entre lames et lamelles au Baume de Canada ou à l'Eukitt.

Lecture au microscope et prise de photographies : Une vue d'ensemble des préparations est faite à l'objectif x 10. Les métaphases favorables sont observées et photographiées à l'objectif x 100 à immersion. Les critères de sélection retenus pour les photographies sont : une bonne dispersion, l'absence de chevauchements et un degré moyen de spiralisation des chromosomes.

Découpage : Le découpage des chromosomes est effectué manuellement. Bien qu'elle soit fastidieuse à cause du nombre important de chromosomes dans l'espèce bovine (2n = 60), l'étape du découpage demeure impérative à l'établissement du caryotype bovin.

B. Déroulement de la PCR

Extraction de l'ARN du VDVB : Les prélèvements sont préalablement dilués et centrifugés. A un millilitre de surnageant, on ajoute de la protéinase K à raison de 100 μ l/ml. L'addition de cette substance est suivie d'une incubation à 37°C pendant une heure dans un bain-Marie. On utilise du phénol tamponné (10mM Tris HCl pH 7,5; 1 mM EDTA) puis la solution subit un rinçage dans du chloroforme. Enfin, la précipitation de l'ARN est obtenue à l'aide d'un mélange composé d'acétate de sodium 3 M (0,1 v) et d'éthanol à 95% (2,5 v). Une centrifugation permet l'obtention d'un culot qui renferme éventuellement de l'ARN du VDVB.

Synthèse de l'ADNc : Après avoir extrait l'ARN viral, celui-ci subit une resuspension dans de l'eau distillée, du hydroxyethyl-mercure puis dans du β -mercaptoethanol (0,7 M) (Invitrogen). Etant donné que la PCR est une technique utilisant l'ADN polymérase (Perkin Elmer Cetus; USA) et ne pouvant amplifier que les segments à base d'ADN, la transcription reverse est nécessaire. Elle est obtenue grâce à l'utilisation de la transcriptase reverse (TR) (Bethesda Research Laboratories; USA). La TR est habituellement utilisée à

raison de 200 unités puis le mélange est incubé pendant une heure à 37°C. Un pool composé d'un mélange de nucléotides (Perkin Elmer Cetus; USA) auquel est ajouté ainsi que l'inhibiteur de la ribonucléase (RNAsin commercialisé par Promega).

Choix du fragment génomique d'ADNc à amplifier : En se basant sur l'organisation génomique de la souche NADL établie par Collett et coll (1988), le fragment à amplifier se trouve entre la position 9000 et 9300 de la séquence. L'objectif de l'application de la technique PCR est d'amplifier la répllication de ce segment génomique du VDVB et d'hybrider ce dernier avec un oligonucléotide de synthèse complémentaire au premier. Deux amorces Am1 et Am2 sont respectivement synthétisées :

3' ACTCCAACAGTAGCATTATG 5' et 5' GGCACACCCCTTCTTCATTTT 3'.

Amplification du fragment d'ADNc cible : La réaction de PCR (Pulzer Electronic TAQ TIQ) nécessite l'utilisation de 30 cycles. Chaque cycle comprend trois étapes. La première correspond à la dénaturation par la chaleur aboutissant à la séparation des deux brins (45 sec. à 94°C); la seconde permet la fixation des amorces spécifiques (60 sec. à 52°C) et enfin la troisième et dernière étape d'un cycle a pour but de provoquer la polymérisation à l'aide d'une ADN polymérase à raison de 2,5 unités (ou Taq polymérase) (90 sec. à 74°C).

Migration du fragment d'ADNc cible sur gel : Le gel d'agarose utilisé (à 2%) est conçu spécialement pour la migration des acides nucléiques (Pharmacia; USA). Le bromure d'éthidium (10 mg/ml) est utilisé afin de révéler les bandes en présence de radiations ultraviolettes. Un marqueur présentant 22 fragments d'ADN dont la longueur en pb varie de 587 à 8 pb.

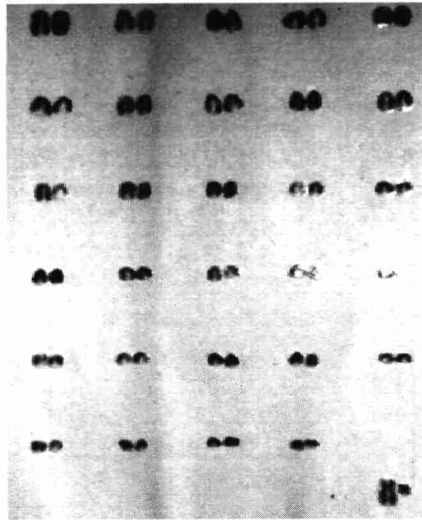
II. Résultats et discussion

A. Etude du caryotype bovin et dépistage d'anomalies chromosomiques

Il ressort de nos résultats que le nombre chromosomique est égal à 60 chez «*Bos Taurus*». D'après Franck et Froget (1977) et Hsu et Benirschke (1967), le caryotype des bovins comprend $2n = 60$ chromosomes dont 58 autosomes et 2 gonosomes. Certains auteurs pensent que le nombre des chromosomes bovins ont subi des variations assez importantes. Le pourcentage de cellules à $2n = 60$ chromosomes est de : 66,9 % (Herschler et Fechheimer, 1962), 89 % (Gustavsson, 1966), 83,9 % (Popescu, 1971), 89 % (Cribiu, 1974). Les pertes chromosomiques seraient dues aux manipulations techniques (Cribiu, 1974). Quant au surnombre chromosomique par métaphase, il serait soit provoqué par la colchicine (Deysson, 1968) soit induit par un système polygénique (Cribiu, 1974). Cela pourrait expliquer les quelques cas qu'on a trouvés et qui présentaient un nombre chromosomique différent de 60.

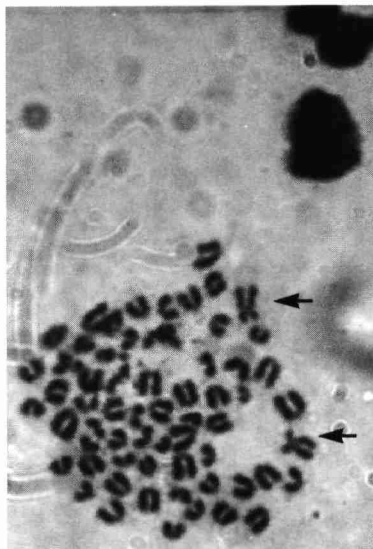
Quant à la forme, les chromosomes bovins sont tous acrocentriques du fait que leur centromère est situé dans la région distale antérieure. Quant aux gonosomes, ils sont identifiés grâce à la position du centromère dans la région médiane; les chromosomes sexuels «X» et «Y» sont respectivement submétacentrique et métacentrique. L'espèce étant diploïde, les chromosomes sont appariés. Les paires d'autosomes tous acrocentriques sont classées selon un ordre décroissant de taille en 5 colonnes et 6 lignes. La paire gonosomique «X,Y» est placée en dernière position (fig. 1). La forme des autosomes que nous avons signalée est analogue à celle proposée par Gustavsson (1969), Popescu (1971), Cribiu (1974) et Arruga et Zarazaga (1984).

Figure 1. Etablissement du caryotype d'un taureau.



En ce qui concerne le dépistage des anomalies chromosomiques, nous avons trouvé des cas de polyploïdies et à plusieurs reprises la présence de 2 chromosomes ayant la forme d'un «X» dans la même plaque métaphasique (fig.2).

Figure 2. Présence de deux chromosomes «X» dans une plaque métaphasique d'un taureau.



La polyploïdie peut être induite par 3 types de facteurs : physiques (radiations ionisantes, choc thermique), chimiques et biologiques (virus) (Cribiu (1974)). Pour augmenter le taux de cellules en métaphase dans nos cultures, nous avons utilisé la colchicine réputée pour être

inductrice de la polyploïdie (Deysson (1968)). Cribiu (1974) a testé l'effet de la colchicine et a conclu que cette dernière a un effet négatif sur la polyploïdie.

La présence de deux chromosomes de grande taille et dont le centromère est situé dans la région médiane pourrait être dû à une fusion centrique de deux autosomes (connue sous l'appellation de translocation robertsonienne) ou bien à la présence d'un chromosome X surnuméraire (ou chimérisme gonosomique).

Fusion centrique : Depuis longtemps, le phénomène de fusion centrique des chromosomes était évoqué comme responsable d'une réduction de la fertilité. Ceci n'a jamais été prouvé d'une façon formelle et c'est la raison pour laquelle cette liaison est controversée. Néanmoins, les travaux de Gustavsson (1969) ont montré que la fertilité était réduite de 5 à 10 % dans ce genre d'anomalies. Ce point de vue était confirmé par Popescu et coll. (1975). Ces auteurs ont révélé la présence d'une fusion centrique 1/29 chez deux taureaux de race Simmentale, demi-frères, issus d'un même père ayant une mauvaise fertilité. Gustavsson (1969) a signalé une réduction de la fertilité chez les filles de taureaux porteurs de la translocation 1/29 bien qu'il n'y ait pas de différence significative entre la fertilité des taureaux porteurs et non porteurs. Succi et coll. (1976), étudiant le caryotype de 9 taureaux italiens de race romagnole, ont montré que la translocation 1/29 était présente chez deux cas bien que la fertilité fût normale. Dans notre étude nous ne pouvons affirmer qu'il s'agit véritablement d'une translocation robertsonienne car l'anomalie n'était pas reproductible.

Chimérisme gonosomique : Le chimérisme est caractérisé par la présence chez le même individu de deux populations cellulaires différentes cytogénétiquement. Le chimérisme gonosomique est très fréquent en espèce bovine; le freemartinisme en constitue un bel exemple. On trouve une double population 60XX/60XY aussi bien chez le mâle que chez la femelle. En Italie, lors d'une enquête cytogénétique établie sur 39 taureaux destinés à l'insémination artificielle, De Giovanni et coll. (1975) ont trouvé un animal de race Holstein-Friesonne porteur d'un chimérisme 60XX/60XY présentant 52,38 % de cellules femelles et une fertilité réduite par rapport à la moyenne. Froget et coll. (1975) ont étudié le caryotype de 111 taureaux d'insémination artificielle en France, ils ont découvert 3 chimères : 60XX/60XY dont deux de race Montbéliarde et un de race Holstein. Les investigations réalisées par Eldridge et coll. (1984), axées sur la recherche d'une éventuelle anomalie chromosomique chez 647 taureaux appartenant à un grand centre américain, ont révélé la présence de 27 chimères XX/XY parmi 548 sujets de race Holstein. Tschudi (1984) a étudié le caryotype de 2941 taurillons suisses destinés à l'insémination artificielle. Il a trouvé 14 chimères parmi 998 Swiss Brown et un chimère de race Freiburg. Dans notre étude, la présence de deux chromosomes «X» chez un sujet était retrouvé à plusieurs reprises. Elle pourrait prêter confusion avec le chimérisme gonosomique mais la présence de deux chromosomes «X» et d'un chromosome «Y» dans la même plaque métaphasique rejeterait cette hypothèse d'autant plus que le nombre de chromosomes trouvés est 63 et non 60. L'interprétation serait accordée à un artéfact lors des différentes étapes de la méthode cytogénétique utilisée.

B. Mise au point de la technique PCR et dépistage du VDVB

Le génome du VDVB est constitué d'un acide ribonucléique de polarité positive (Hermodsson et Dinter, 1962). Notre étude est basée sur les travaux effectués par Collett et coll. (1988) et qui concernent spécialement la souche virale NADL. Le séquençage de cette dernière a révélé la présence de 12573 nucléotides. Hertig et coll. (1991) ont essayé l'amplification de 3 différents fragments du génome du virus de la DVB, ce qui a conduit

à la synthèse de trois amorces différentes. Les deux premières amorces sont utilisées pour encadrer la région codant pour la formation de la protéine p80 tandis que la troisième amorce correspondait à la région génomique (gp 53) responsable de la formation de l'enveloppe virale. Le fragment génomique que nous avons décidé d'amplifier se trouve dans la région codant pour la formation de p75. Il est situé entre la position 9000 et 9300 de la séquence génomique donnée par Collett et coll (1988) et conformément aux résultats favorables réalisés par Shroeder et Balassu-Chan (1990). Ces derniers auteurs ont prouvé que la région en question était hautement conservée à travers les souches. Avant d'utiliser cette technique sur les leucocytes du sang périphérique des taureaux, nous l'avons appliquée sur des cellules infectées in vitro par le virus de la DVB. Au début, la technique n'a pas révélé de bandes. Plusieurs hypothèses étaient émises : une mauvaise extraction de l'ARN viral, l'inactivation de la transcriptase réverse ou de la polymérase etc... Après plusieurs essais, la technique a réussi ; toutefois nous insistons sur le fait que chaque équipe utilise son propre protocole. La PCR, comme d'ailleurs la majorité des techniques, reste du domaine artisanal et de ce fait, doit être adaptée à chaque laboratoire.

Nous avons jugé que notre technique n'était mise au point qu'après avoir trouvé une bande dont le poids moléculaire était déduit à partir des résultats donnés par la courbe d'étalonnage et qui était de 300 pb.

La réaction de PCR appliquée sur les prélèvements des taureaux appartenant au centre d'insémination artificielle de Sidi Thabet n'a pas montré de bandes. Le témoin représenté par la souche virale NADL propagée sur des cellules indemnes de VDVB a révélé, par la même technique, l'apparition de bandes de 300pb signant par conséquent le bon déroulement de la réaction mais aussi confirmant l'absence de VDVB chez les taureaux testés .

Plusieurs auteurs ont prouvé que le test PCR, utilisé dans nos travaux, avait la particularité d'être sensible et est à même de pouvoir révéler une infection bien que le titre viral soit faible (Ward et Misra, 1991; Schroeder et Balassu-Chan, 1990). Ces auteurs plaident en faveur d'une utilisation systématique de PCR chaque fois qu'un laboratoire est appelé à mettre en évidence le virus de la DVB. Le test en question est d'une extrême utilité surtout dans le dépistage des IPI. Ces animaux sont infectés par des souches NCP. L'isolement sur cellules serait long et coûteux à effectuer du fait que le résultat engendrerait une interprétation faussement négative à moins qu'une réaction immuno-enzymatique soit ajoutée.

Un autre avantage de la PCR est d'être spécifique au VDVB et non aux autres agents classés au sein du genre pestivirus comme par exemple celui de la peste porcine classique (Hooft et coll., 1992) . Toutefois, ces derniers auteurs préconisent de compléter la PCR par la réalisation d'une hybridation par la technique de Southern Blot avec une sonde complémentaire et ce, non seulement pour détecter une quantité infime de particules virales mais aussi pour confirmer la spécificité du fragment amplifié.

En résumé, la détection du VDVB par amplification de ses séquences d'acides nucléiques à l'aide de la technique PCR est possible et commence à être largement utilisée d'une manière routinière. Cette technique se montre couronnée de succès par plusieurs chercheurs ayant prouvé une plus grande sensibilité et une plus grande spécificité comparativement aux autres techniques (Alansari et coll., 1993; Belàk et Ballagi-Pordány, 1991; Brock, 1991; Hooft et coll., 1992; Ridpath et coll., 1993; Vilcek, 1993; Ward et Misra, 1991).

Bibliographie

1. H. Alansari, K.V. Brock et L.N.D. Potgieter (1993), Single and double polymerase chain reaction for detection of bovine viral diarrhoea virus in tissue culture and sera. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 5, 2, 148-153.
2. M.V. Arruga, I. Zarazaga (1984), Chromosome analysis of cattle breeds currently bred in Spain. 6th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., 107-119. Zurich, Switzerland.
3. S. Belàk, A. Ballagi-Pordànya (1991), Bovine viral diarrhoea virus infection : rapid diagnosis by the polymerase chain reaction. *Arch.Virol.*, Suppl. 3, 181-190.
4. K.V. Brock (1991), Detection of persistent bovine viral diarrhoea virus infection by DNA hybridization and polymerase chain reaction assay. *Arch. Virol.*, Suppl. 3, 199-208
5. J. Brownlie, M.C. Clarke, C.J. Howard et D.H. Pocock (1987), Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann. Rech. Vét.*, 18, 157-166 (numéro spécial: meeting on Pestivirus, 8th april 1986), Liège.
6. M. S. Collett, R. Larson, C. Goldc, D. Strick, D.K. Anderson et A.F. Purchio (1988), Molecular cloning and nucleotide sequence of the pestivirus bovine viral diarrhoea virus. *Virology*, 165, 191-199.
7. E.P. Crihiu (1974), Observations sur les chromosomes somatiques chez «Bos Taurus». *Thèse de doctorat de 3ème cycle*. Université Paris VI, France.
8. A. De Giovanni, C.P. Popescu, G. Succig (1975), Première étude cytogénétique dans un centre italien d'insémination artificielle. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 7 (3), 311-316.
9. A.J. Della Porta (1985), Veterinary viral diseases. Their significance in South-East Asia and The Western Pacific. Proc. of international Seminar on Virus Diseases of veterinary importance in South-East Asia and Western Pacific. Aust. National Animal Health Laboratory, CSIRO, Geelong, Austria, 27-30 August 1984. Academic Press. Sydney.
10. A. Deysson (1968), Antimitotic substances. *Int. Rev. Cytol.*, 24, 99.
11. F.E. Eldridge, N.B. Harris, J.L.F. Koenig (1984), Chromosomes of young A. I. bulls. 6th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., 59-67. Zurich, Switzerland.
12. M. Frank, Jh. Froget (1977), Intérêt de la cytogénétique dans le domaine animal. *Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comparée*, 79, 4, 165-171.
13. Jh. Froget, J.M. Dalbiez, M. Franck, M.C. Nain (1975), De quelques anomalies observées à l'examen caryotypique de taureaux utilisés pour l'insémination artificielle. *Bull. Soc. Sci. Vét. et Méd. comparée*, 77, 3, 209-210.
14. I. Gustavsson (1966), Chromosome abnormality in cattle. *Nature*, 211, 183-193.
15. I. Gustavsson (1969), Cytogenetics, distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. *Hereditas*, 63, 68-169.
16. S. Hermodson et Z. Dinter (1962), Properties of bovine viral diarrhoea virus. *Nature*, 194, 89, 894.
17. M.S. Herschler, N.S. Fechtmeier, (1962), Somatic chromosomes of cattle. *J. Anim. Sci.*, 21, 972-973.
18. C. Hertig, U. Pauliu, R. Zanoni. et E. Peterhans (1991), Detection of bovine viral diarrhoea (BVD) virus using the polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology*, 26, 65-76.
19. B.J.L. Hooft Van Iddekinge, J.L.B. Wamel, H.G.P. Van Gennip et R.J.M. Moormann (1992), Application of the polymerase chain reaction to the detection of bovine viral diarrhoea virus infections in cattle. *Vet. Microbiol.*, 20, 1, 21-34.
20. T.C. Hsu, K. Benirschke (1967), An atlas of mammalian chromosomes, Springer Verlag, 1, 34.
21. W.A. Malmquist (1968), Bovine viral diarrhoea-mucosal disease : etiology, pathogenesis and applied immunity. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 152, 763-768.
22. A. Massip, P. Van Der Zwalmen, F. Ectors (1985), Production de jumeaux monozygotes par duplication d'embryons chez les bovins. *Ann. Méd. Vét.*, 129, 53-57.
23. A.W. McClurkin, E.T. Littlejohn, R.C. Cutlip, G.H. Frank, M.F. Coria et S.R. Bolin (1984), Production of cattle immunotolerant to bovine viral diarrhoea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 174, 116-1119.

24. P. Olafson et C. Richard (1946), An apparently new transmissible disease of cattle. *Cornell Vet.*, 36, 205-213.
25. C.P. Popescu (1971), Observations cytogénétiques chez *Bos Taurus L.*
26. C.P. Popescu (1984), The 1/29 translocation twenty years after. 6th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., 36-40. Zurich, Switzerland.
27. C.P. Popescu, E.P. Crițiu, P. Tschudip (1975), Deux cas de fusion centrique chez «*Bos Taurus L.*» en Suisse. *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 7 (3), 317-320.
28. A. Renard, C. Guiot, D. Shmetz, L. Dagenais, P.P. Pastoret, D. Dina et J.A. Martial Tial (1985), Molecular cloning of bovine viral diarrhoea viral sequences. *DNA*, 4, 429-438.
29. J.F. Ridpath, S.R. Bolin, J. Katz (1993), Comparison of nucleic acid hybridization and nucleic acid amplification using conserved sequences from the 5' noncoding region for detection of bovine viral diarrhoea virus. *J. Clin. Microbiol.*, 31, 4, 986-989.
30. P. Saurat, Y. Gilbert et J. Chantal (1972), La maladie des muqueuses ou diarrhée à virus des bovins. L'expansion scientifique française, Paris.
31. B.A. Schroeder et T.C. Balassu-Chan (1990), Specific sequence amplification of bovine viral diarrhoea virus nucleic acid. *Arch. Virol.* 111 : 239-246.
32. G. Succi, A. De Giovannina, L. Molteni (1976), Nouvelles observations sur une translocation robertsonienne en race bovine «Romagnole». *Ann. Génét. Sél. Anim.*, 8 (1), 37-40.
33. P.S. Sysa, E. Slota (1984), The XXY syndrome in cattle. 6th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., 120-129. Zurich, Switzerland.
34. P. Tschudi (1984), 12 years of cytogenetic investigation in A.I. bulls in Switzerland. 6th Eur. Colloq. Cytogenet. Domest. Anim., 40-43.
35. S. Vilcek (1993), Amplification in vitro of a genom fragment of bovine diarrhoea virus by the PCR method. *Veterinari Medicina*, 38, 5, 257-266.
36. P. Ward et V. Misra (1991), Detection of bovine viral diarrhoea virus using degenerate oligonucleotide primers and the polymerase chain reaction. *Am. J. Vet. R.*, 52, 8, 1231-1236.

Remerciements et gratitude au personnel des établissements suivants :

Centre d'Insémination Artificielle de Sidi Thabet
CNEVA de Lyon (Centre National des Etudes Vétérinaires et Alimentaires)
Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet
Ecole Supérieure des Ingénieurs Agronomes de Mograne
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Tunis
Faculté de Médecine Vétérinaire de Saint-Hyacinthe
Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie
Institut Pasteur de Tunis
Office de l'Elevage et des Pâturages de Tunisie

Etude des facteurs de risque de l'infertilité chez la vache laitière

CH. HANZEN, JY. HOUTAIN, Y. LAURENT.

*Université de Liège, Faculté de Médecine Vétérinaire
Service d'Obstétrique et de Pathologie de la Reproduction
B41 Sart Tilman, B-4000 Liège*

Introduction

Les facteurs responsables d'infertilité sont de nature diverse. Ils concernent tout à la fois l'individu et son environnement. Chez la vache laitière, on observe habituellement une réduction de la fertilité avec l'augmentation de l'âge ou du numéro de lactation de l'animal (Hillers et al. 1984, Weller et Ron 1992). Le type de vêlage est connu pour affecter la fertilité et la fécondité des vaches (Ron et al. 1984, Erb et al. 1985, Barkema et al. 1992). Les complications puerpérales telles la rétention placentaire et la fièvre vitulaire sont responsables d'infertilité (Coleman et al. 1985, Joosten et al. 1988). Les avis opposés émis à l'encontre de ces pathologies laissent néanmoins entrevoir la possibilité d'une médiation possible par d'autres facteurs (Muller et Owens 1973, Borsberry et Dobson 1989, Van Werven et al. 1992).

L'effet de la gémellité sur la fertilité est négatif (Nielen et al. 1989, Eddy et al. 1991). Parmi les pathologies du post-partum, les kystes ovariens (Erb et al. 1985, Bartlett et al. 1986c, Borsberry et Dobson 1989) et les infections du tractus génital (Bartlett et al. 1986b, Vallet et al. 1987, Nakao et al. 1992), sont celles dont les effets négatifs sur la fertilité et la fécondité sont les plus largement admis bien que leur importance soit fort différente d'une étude à l'autre. La fertilité dépend également de l'intervalle entre vêlage et la première insémination. Elle augmente jusqu'au 60ème jour du post-partum, se maintient ensuite jusqu'au 120ème jour et diminue au-delà de ce délai (Trimberger 1954, Ron et al. 1984). Les effets relatifs à la saison sont plus contradictoires. En effet, la fertilité est présente (De Kruif 1975, Taylor et al. 1984) ou non (Boyd et Reed 1961, Moore et al. 1992) selon les études des variations saisonnières. Ces variations semblent dépendre de la saison du vêlage voire de celle de l'insémination mais aussi de la distribution saisonnière des pathologies puerpérales et du post-partum.

Nous avons réalisé une étude descriptive et relationnelle visant à préciser l'influence respective de différents facteurs sur la fertilité exprimée dans le cas présent par la présence ou non d'une gestation lors de la première insémination réalisée au cours du postpartum.

Matériel et méthodes

Les données ont été collectées dans le cadre d'un suivi mensuel de reproduction réalisé au moyen du programme informatisé de gestion de la reproduction GARBO. L'étude analyse les données collectées après mise en place d'un suivi mensuel de reproduction entre 1986 et 1992. Elle concerne 2933 vaches primipares et pluripares de race laitière Pie-Noire et Pie-Rouge réparties dans 120 élevages de Wallonie.

L'effet de 21 variables indépendantes contemporaines et antérieures a été étudié sur la variable dépendante " pourcentage de gestation total en première insémination" (tableau 1). Cette variable dépendante concerne donc tous les animaux inséminés au moins une fois, qu'ils aient été réformés ou non par la suite.

L'analyse de la variable dépendante G1 a été réalisée par la méthode de régression logistique pour calculer les Odds Ratio (OR) des différentes variables dépendantes.

Tableau 1. Nature des variables indépendantes

Variables indépendantes	
Variables contemporaines (n=18)	
NL	Numéro de lactation (1,2,3,4 et > 4 lactations)
LG	Longueur de gestation (265 à 274, 275 à 284, 285 à 294 jours)
SV	Saison du vêlage (automne, printemps, été / hiver)
TV	Type de vêlage (sans intervention, traction, césarienne)
FV	Fièvre vitulaire (O/N)
RP	Rétention placentaire (O/N)
NV	Nombre de veaux (1 ou > 1)
MV	Mortinatalité (O/N)
RIU	Retard d'involution utérine (20 à 50 jours postpartum)
M	Métrite au cours des 50 premiers jours du postpartum (O/N)
MA	Métrite entre le 50ème jour postpartum et l'insémination
K	Kyste au cours des 50 premiers jours du postpartum (O/N)
KA	Kyste entre le 50ème jour postpartum et l'insémination
VIA	Intervalle vêlage 1ère insém. (< 51, 51 à 70, 71 à 90, 91 à 110, > 110 j)
SI	Saison de la 1ère insémination (automne, printemps, été, hiver)
IF1	Type de la 1ère insémin. fécondante avant le vêlage (naturelle / artificielle)
IF2	Type de la 1ère insémination après le vêlage (naturelle / artificielle)
IF21	Type d'induction de la 1ère insémin.après le vêlage (PGF, spirale, implant)
Variables antérieures (n=3)	
RPA	Rétention placentaire antérieure (O/N)
FVA	Fièvre vitulaire antérieure (vache laitière) (O/N)
VIFA	Intervalle vêlage-insém.fécondante (<51,51-100 101-150, 151-200, > 200j)

Résultats

a. Etude descriptive de la fertilité

Les vaches ont été inséminées 71 jours en moyenne ($\pm$ 31 jours) après le vêlage. Le pourcentage de gestation total en première insémination a été de 40.

L'analyse descriptive des données brutes, c'est-à-dire non corrigées pour l'effet respectif des différentes variables indépendantes, a permis d'identifier la présence d'une variation du pourcentage de gestation total en première insémination en fonction de différents facteurs (tableau 2). La saison du vêlage comme la saison de la première insémination influencent la fertilité. Le pourcentage de gestation est le plus faible après un vêlage d'automne (35.3%) chez la vache laitière. La fertilité est la plus faible lorsque les vaches laitières sont inséminées en hiver (35.4%). La césarienne entraîne une réduction de 12.6% de la fertilité par rapport aux vêlages effectués sans intervention. Quel que soit le stade du post-partum auquel il a été diagnostiqué, le retard d'involution utérine entraîne une réduction de la fertilité comprise entre 3 et 14.3% chez la vache laitière. Chez la vache laitière, la fertilité est maximale 71 à 90 jours après le vêlage (42.9%) et diminue au cours des périodes précédant (34.3 à 40.1 %) ou suivant (40.9 et 35.6%) cet intervalle. La saillie naturelle augmente le taux de réussite en première insémination de 12.1% chez la vache laitière. Cet effet est également observé pour l'insémination fécondante précédant la période d'observation (10.4% chez la vache laitière). Enfin, le taux de réussite est plus élevé après insémination sur chaleur naturelle qu'induite par une spirale, un implant ou une prostaglandine. Des différences de 11 à 21% sont constatées chez la vache laitière. La rétention placentaire, la naissance de veaux jumeaux et la manifestation par l'animal d'une métrite 20 à 50 jours après le vêlage entraîne une diminution de la fertilité respectivement égale à 12.9, 15.3 et 7.4 à 18.8%. De même l'allongement de l'intervalle entre le vêlage précédant et la nouvelle gestation (VIFA) se traduit par une réduction de la fertilité. Enfin, la longueur de la gestation, la mortinatalité, la fièvre vitulaire manifestée lors de la lactation en cours ou la présence d'un kyste ovarien sont sans effet sur la fertilité.

Tableau 2. Effet des variables contemporaines sur le pourcentage de gestation total en première insémination chez la vache laitière.

Variable						NT	P
NL	1	2	3	4	>4	2429	NS
	38.4(882)	43.2(662)	42.7(414)	37(227)	36(244)		
IF1	N	A				2477	0.001
	50.1(241)	39.7(2236)					
LG	265-274	275-284	285-294			2477	NS
	41.3(220)	41.7(1546)	38.5(711)				
SV	PRI	ETE	AUT	HIV		2933	< 0.02
	42.1(752)	40.6(551)	35.3(808)	41.3(822)			
TV	S	T	C			2779	< 0.02
	41.0(1945)	40.6(711)	28.4(123)				
RP	+	-				2933	< 0.0004
	27.4(124)	40.3(2809)					
FV	+	-				2933	NS
	35.6(115)	39.9(2818)					
NV	1	> 1				2933	< 0.002
	40.3(2833)	25(100)					
MV	+	-				2933	NS
	31.6(79)	39.9(2854)					
RIU	+	-				977	< 0.003
	21-30	33.2(295)	43.4(682)				
	31-40	36.1(147)	39.1(981)				
	41-50	27.3(66)	41.6(762)				
M	+	-				808	< 0.04
	21-30	35.4(246)	43.0(562)				
	31-40	32.9(170)	40.3(716)				
	41-50	25.9(108)	44.7(539)				
MA	Non ex.	Ex-	Ex +			2933	NS
	40.2(2600)	35.9(239)	35.1(94)				
K	+	-				813	NS
	21-30	46.3(82)	39.8(731)				
	31-40	42.5(113)	28.5(881)				
	41-50	39.3(61)	41.0(662)				
KA	Non ex.	Ex -	Ex +			2933	NS
	40.4(1586)	38.8(1159)	39.9(188)				
VII	< 51	51-70	71-90	91-110	> 110	2933	< 0.03
	34.3(446)	40.1(1208)	42.9(751)	40.9(354)	35.6(174)		
SI	PRI	ETE	AUT	HIV		2933	< 0.01
	42.8(893)	41.3(651)	39.3(596)	35.4(793)			
IF2	N	A				2933	< 0.0001
	50.8(250)	38.7(2683)					
IF2NI	CN	PGF	IMP	SPI		2933	< 0.0001
	42.0(2441)	31.0(227)	21.0(133)	25.0(132)			

b. Etude relationnelle de la fertilité

Par rapport à un vêlage réalisé sans intervention, la césarienne augmente le risque de ne pas obtenir une gestation en première insémination chez la vache laitière (OR=2.2). On observe une augmentation significative du risque de non gestation chez les animaux inséminés avant le 50ème jour suivant le vêlage (OR = 1.4). Au-delà du 70ème jour, les effets de l'allongement de l'intervalle entre le vêlage et la première insémination ne sont pas significatifs. L'effet du type d'insémination fécondante ne concerne que l'insémination réalisée au début de la période d'observation, c'est-à-dire avant le vêlage. L'insémination naturelle augmente significativement les chances de gestation lors de la première insémination après le vêlage (OR=0.7). Enfin, le risque de ne pas obtenir une gestation après induction d'une chaleur est significativement augmenté chez la vache laitière quelle que soit la nature du traitement inducteur (OR implant = 3.3, OR spirale = 2.3, OR prostaglandine = 1.8).

Une diminution significative des chances de gestation est également constatée chez les animaux présentant un retard d'involution utérine (RIU) 40 à 50 jours après le vêlage (OR = 1.9). Chez la vache laitière, la naissance de veaux jumeaux (NV) (OR = 1.7), la présence d'une rétention placentaire (RP) (OR = 1.9) ou la manifestation par l'animal d'une infection utérine 40 à 50 jours après le vêlage (M) (OR = 2.6), réduisent significativement les chances de gestation en première insémination. La fièvre vitulaire (FV) est sans effet. La manifestation d'une métrite (MA) par l'animal n'exerce un effet négatif que si son diagnostic a été effectué 40 à 50 jours après le vêlage (OR = 2.6). La longueur de la gestation (LG), la saison du vêlage (SV), la mortalité du veau (MV) ou la présence d'un kyste ovarien au cours des 50 premiers jours du vêlage (K) sont sans effet sur le taux de réussite en première insémination.

Aucune des variables antérieures étudiées telles que la fièvre vitulaire (FV A), la rétention placentaire (RPA) ou l'intervalle entre le vêlage précédant et l'insémination fécondante (VIFA) n'exerce un effet significatif sur le taux de gestation en première insémination réalisée durant la période du post-partum en cours.

Tableau 3. Effet des variables antérieures sur le pourcentage de gestation total en première insémination chez la vache laitière.

Variable						N	P
FVA	+	-				1131	NS
	36.8(38)	42.4(1093)					
RPA	+	-				1131	NS
	28.5(42)	42.7(1089)					
VIFA	< 50	50-100	101-150	151-200	> 200	1282	< 0.005
	45.6(92)	46.6(706)	34.9(275)	39.7(131)	33.3(78)		

Discussion

Qu'elle soit exprimée par le taux de gestation total (40%) ou apparent (50%) en première insémination, la fertilité de la vache laitière observée dans notre étude est comparable aux valeurs comprises entre 21 et 56% renseignées dans la littérature. L'effet négatif de la césarienne est réel chez la vache laitière. A la différence d'autres auteurs, nous n'avons pas

identifié d'influence négative sur la fertilité d'un vêlage réalisé par traction légère ou forte (Thompson et al. 1983, Ron et al. 1984).

La rétention placentaire diminue de 13% chez la vache laitière le pourcentage de gestation total en première insémination. La majorité des auteurs observent une réduction de la fertilité après une rétention placentaire chez la vache laitière (Ron et al. 1984, Martin et al. 1986, Borsberry et Dobson 1989, Joosten et al. 1988, Coleman et al. 1985, Oltenacu et al. 1984). Les auteurs attribuent à la rétention placentaire un effet direct (Muller et Owens 1973, Patterson et al. 1981, Halpern et al. 1985) ou préfèrent reconnaître à la métrite un rôle médiateur plus essentiel (Erb et al. 1958, Sandals et al. 1979, Borsberry et Dobson 1989). Il ne semble pas que la médiation de l'effet d'une rétention placentaire puisse être assurée par la métrite. En effet, dans le cas présent l'effet négatif s'exerce d'une part indépendamment de la présence ou non d'une métrite et d'autre part cette pathologie n'influence directement le taux de gestation en première insémination que si sa détection a été effectuée 41 à 50 jours après le vêlage. La médiation de l'effet de la rétention placentaire mériterait des investigations complémentaires. Dans ce contexte, il serait intéressant de préciser le rôle biologique de la Pregnancy Associated Glycoprotein (PAG) dont la présence dans le plasma maternel jusqu'au 100ème jour du post-partum a été démontrée (Zoli et al. 1991). L'accouchement gémellaire entraîne une réduction de 15% du pourcentage de gestation en première insémination et accroît de 1.7 le risque d'une absence de gestation en première insémination. Semblables effets ont également été constatés par une autre étude (Hendy et Bowman 1970). La pathogénie de cet effet prête à discussion. Il est possible qu'il s'exerce via la rétention placentaire dont nous avons démontré l'effet négatif sur la fertilité. Sa médiation par les infections utérines est dans le cas de notre étude peu probable. Il serait intéressant d'étudier la médiation hormonale potentielle de la PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein: Zoli et al. 1991) dont les concentrations plasmatiques sont plus élevées en cas de gémellité. L'effet de la gémellité peut également être indirect. L'état d'embonpoint moindre ou la perte de poids plus importante au cours du post-partum des animaux ayant donné naissance à des jumeaux constitueraient des hypothèses qui n'ont pas été envisagées dans notre étude. Les effets de l'accouchement gémellaire sur la production laitière constituerait une autre explication possible. Cependant des avis contradictoires ont été mentionnés (Wood 1975, Kay 1978, Nielsen et al. 1989, Eddy et al. 1991).

Quelqu'en soit la nature, un traitement inducteur s'accompagne chez la vache laitière d'une réduction de la fertilité lors de la première insémination. La cause doit en être cherchée dans la multiplicité des facteurs susceptibles de modifier la réponse ovarienne au traitement (Hanzen et Laurent 1991b).

Notre observation s'oppose à celles d'autres auteurs qui admettent chez la vache laitière une réduction de la fertilité avec l'augmentation du numéro de lactation (Spalding et al. 1975, Hillers et al. 1984, Taylor et al. 1985, Weller et Ron 1992).

Dans les conditions tempérées, les résultats relatifs aux effets de la saison sur la fertilité sont contradictoires. Alors que certains ne constatent aucune variation saisonnière de la fertilité (Hillers et al. 1984, Everett et Bean 1986), d'autres observent une fertilité maximale au printemps et minimale en hiver (Mercier et Salisbury 1947, De Kruif 1975). Cette divergence d'avis laisse supposer l'influence prépondérante des facteurs de gestion (détection des chaleurs) ou d'alimentation sur les facteurs biologiques ou pathologiques.

Tableau 4. Effets chez la vache laitière des variables contemporaines et antérieures sur le pourcentage des gestation en première insémination : étude des facteurs de risque

		OR	IC	P
NL	1	NS		
	2			
	3			
	4			
	>4			
IF1	A	1		
	N	0.7	0.5-0.9	<0.002
LG		NS		
SV		NS		
TV	S	1		
	T	1.1		NS
	C	2.2	1.3-3.7	<0.003
RP	-	1		
	+	1.9	1.2-2.9	<0.005
FV		NS		
NV	1	1		
	>1	1.7	1.1-2.9	<0.02
MV		NS		
RIU		NS		
M		NS		
M>50		NS		
K		NS		
K>50		NS		
V11	<51	1.4	1.1-1.8	<0.005
	51-70	1		
	71-90	0.8		NS
	91-110	0.9		NS
	> 110	0.8		NS
SI	HIV	NS		
	PRI			
	ETE			
	AUT			
IF2I	NAT	1		
	SPI	2.3	1.5-3.7	<0.0001
	IMP	3.3	2.1-5.3	<0.0001
	PGF	1.8	1.2-2.3	<0.0003
IF2	A	NS		
	N			
RPA		NS		
FVA		NS		
VIFA		NS		

Remarques : IC : intervalle de confiance (95%)

NS : Non significatif au seuil 0.05

L'effet des infections du tractus génital est relativement limité. Nos résultats confirment certaines observations (Hartigan et al. 1977, Martinez et Thibier 1984b) mais s'opposent à d'autres (Coleman et al. 1985, Pepper et Dobson 1987, Francos et Mayer 1988b, Chaffaux et al. 1991, Nakao et al. 1992). Cette disparité des résultats n'est peut-être qu'apparente. En effet, la plupart des études ne rapportent que des effets bruts c'est-à-dire non corrigés pour l'effet d'autres facteurs. Les critères de définition ou les méthodes et délais de diagnostic voire les traitements éventuels des infections génitales sont fort différents d'une étude à l'autre. D'autres que nous ont reconnu l'importance du moment du diagnostic. Ainsi l'effet des métrites est plus grave si elles sont diagnostiquées après qu'avant le 20ème jour du post-partum (Francos et Mayer 1988a). De même les traitements réalisés après le 40ème jour du post-partum sont moins opérants que ceux réalisés avant ce stade (Pepper et Dobson 1987). L'effet des métrites varie aussi selon leur gravité (Miller et al. 1980). Pareil effet n'a pas été envisagé dans le cas présent.

La distribution des intervalles entre le vêlage et la première insémination nous impose de reconnaître la nécessité d'une amélioration de la politique de la première insémination puisque, dans les deux spéculations, un animal sur cinq et un animal sur six sont respectivement inséminés au-delà et avant la période optimale soit 50 à 90 jours. Cette optimisation est nécessaire puisque dans les deux spéculations, et par rapport à une première insémination effectuée 50 à 70 jours après le vêlage, on observe un pourcentage plus élevé de gestation après qu'avant cet intervalle. Cet effet favorable de l'allongement de l'intervalle entre le vêlage et la première insémination est chez la vache laitière maximal entre le 70ème et le 90ème jour du postpartum, mais augmente progressivement chez la vache viandeuse. A l'exception de quelques-uns (Bozworth et al. 1972, Stevenson et al. 1983b), la majorité des auteurs constatent une augmentation de la fertilité au cours du post-partum (Taylor et al. 1985, Badinga et al. 1985, Faust et al. 1988).

Bibliographie

1. Badinga L., Collier RJ., Thatcher WW., Wilcox CJ. (1985), Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environments. *J.Dairy Sci.*, 68 : 78-85.
2. Barkema HW., Brand A., Guard CL., Schukken YH., Van der Weyden GC. (1992), Caesarean section in dairy cattle: a study of risk factors. *Theriogenology*, 37 : 489-506.
3. Bartlett PC., Kirk JH., Wilke MA., Kaneene JB., Mather EC. (1986b), Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle. Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Prev. Vet. Med.*, 4 : 235-248.
4. Bartlett PC., Ngategize PK., Kaneene JB., Kirk JH., Anderson SM., Mather EC. (1986c), Cystic follicular disease in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and economic impact. *Prev. Vet. Med.*, 4 : 15-33.
5. Borsberry S., Dobson H. (1989) Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Vet. Rec.*, 124 : 217-219.
6. Boyd H., Reed HCB. (1961), Investigations into the incidence and causes of infertility in dairy cattle; influence of some management factors affecting the semen and inseminations conditions. *Br. Vet.J.*, 117 : 74-86.
7. Bozworth RW., Ward G., Call EP., Bonewitz ER. (1972), Analysis of factors affecting calving intervals of dairy cows. *J.Dairy Sci.*, 55 : 334-338.
8. Chaffaux S., Lakhdissi H., Thibier M. (1991), Etude épidémiologique et clinique des endométrites postpuerpérales chez les vaches laitières. *Rec.Méd.Vet.*, 167 : 349-358.

9. Coleman DA., Thay NE., Dailey RA. (1985), Factors affecting reproductive performance of dairy cows. *J.Dairy Sci.*, 68 : 1793-1803.
10. De Kruif A. (1975), An investigation of the parameters which determine the fertility of a cattle population and of some factors which influence these parameters. *Tijdschr.Diergeneesk.*, 100 : 1089-1098.
11. Eddy RG., Davies O., David C. (1991), An economic assessment of twin births in British dairy herds. *Vet.Rec.*, 129 : 526-529.
12. Erb HN., Smith RD., Oltenacu PA., Guard CL., Hillman RB., Powers IPA., Smith MC., White ME. (1985), Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield and culling in Holstein cows. *J.Dairy Sci.*, 68 : 3337-3349.
13. Erb RE., Hinze PM., Gildow EM., Morrison RA. (1958), Retained fetal membranes. The effect on prolificacy of dairy cattle. *J.A.V.M.A.*, 133 : 489-496.
14. Everett RW., Bean NB. (1986), Semen : fertility : an evaluation system for artificial insemination, sires, technicians, herds and systematic fixed effects. *J.Dairy Sci.*, 69 : 1630.
15. Faust MA., McDaniel Bt., Robison OW., Britt JH. (1988), Environmental and yield effects on reproduction in primiparous Holsteins. *J.Dairy Sci.*, 71 : 3092-3099.
16. Francos G., Mayer E. (1988a), Analysis of fertility indices of cows with extended postpartum anestrus and other reproductive disorders compared to normal cows. *Theriogenology*, 29 : 399-412.
17. Francos G., Mayer E. (1988b), Analysis of fertility indices of cows with reproductive disorders and of normal cows in herds with low and normal fertility. *Theriogenology*, 29 : 413-427.
18. Halpern NE., Erb HN., Smith RD. (1985), Duration of retained fetal membranes and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 23 : 807-813.
19. Hanzen Ch., Laurent Y. (1991b), Applications des progestagènes au traitement de l'anoestrus fonctionnel dans l'espèce bovine. *Ann.Méd.Vét.*, 135 : 547-557.
20. Hartigan PJ. (1977), The role of non-specific uterine infection in the infertility of clinically normal repeat-breeder cows. *Vet. Sci. Comm.*, 1 : 307-321.
21. Hendy CRC., Bowman J.C. (1970), Twinning in cattle. *Anim. Breeding Abstr.*, 38 : 22-37
22. Hillers KK., Senger PL., Darlington RL., Flemming WN. (1984), Effects of production, season, age of cow, days dry and days in milk on conception to first service in large commercial dairy herds. *J.Dairy Sci.*, 67 : 861-867.
23. Joosten I., Stelwagen J., Dijkhuizen AA. (1988), Economic and reproductive consequences of retained placenta in dairy cattle. *Vet. Rec.*, 123 : 53-57.
24. Kay RM. (1978), Changes in milk production, fertility and calf mortality associated with retained placenta or the birth of twins. *Vet. Rec.*, 102 : 477-479.
25. Martin JM., Wilcox CJ., Moya J., Klebanow EW. (1986), Effects of retained fetal membranes on milk yield and reproductive performance. *J.Dairy Sci.*, 69 : 1166-1168.
26. Martinez J., Thibier M. (1984b), Reproductive disorders in dairy cattle. II. Interrelationships between pre or post service infections and functional disorders. *Theriogenology*, 21, 583-590.
27. Mercier E., Salisbury GW. (1947), Fertility level in artificial breeding associated with season, hours of daylight and the age of cattle. *J.Dairy Sci.*, 30 : 817-826.
28. Miller HV., Kinsey PB., Kendrick JW. (1980), Endometritis of dairy cattle : diagnosis, treatment and fertility. *Bovine Practitioner*, 15 : 13-23.
29. Moore RK., Kennedy BW., Schaeffer LR., Moxley JE. (1992), Relationships between age and body weight at calving, feed intake, production, days open and selection indexes in Ayrshires and Holsteins. *J.Dairy Sci.*, 75 : 294-306.
30. Muller LD., Owens MJ. (1974), Factors associated with the incidence of retained placentas. *J.Dairy Sci.*, 57 : 725-728.
31. Nakao T., Moriyoshi M., Kawata K. (1992), The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows. *Theriogenology*, 37 : 341-349.

32. Nielsen M., Schukken YH., Scholl DT., Wilbrink HJ., Brand A. (1989), Twinning in dairy cattle : a study of risk factors and effects. *Theriogenology*, 32 : 845-862.
33. Oltenacu PA., Britt JH., Braun RK., Mellenberger RW. (1983), Relationships among type of parturition, type of discharge from genital tract, involution of cervix and subsequent reproductive performance in Holstein cows. *J.Dairy Sci.*, 66 : 612-619.
34. Patterson DJ., Bellows RA., Burfening PJ. (1981), Effects of caesarean section, retained placenta and vaginal or uterine prolapse in subsequent fertility in beef cattle. *J.Anim.Sci.*, 53 : 916-921.
35. Pepper RT., Dobson H. (1987), Preliminary results of treatment and endocrinology of chronic endometritis in the dairy cow. *Vet.Rec.*, 120 : 53-56.
36. Ron M., Bar Anan R., Wiggans GR. (1984), Factors affecting conception rate of Israeli Holstein cattle *J.Dairy.Sci.*, 67 : 854-860.
37. Sandals WCD., Curtis RA., Cote JF., Martin SW. (1979), The effect of retained placenta and metritis complex on reproductive performance in dairy cattle. A case control study. *Can. Vet.J.*, 20 : 131-135.
38. Stevenson JS., Schmidt MK., Call EP. (1983b), Factors affecting reproductive performance of dairy cows first inseminated after five weeks postpartum. *J.Dairy. Sci.*, 66 : 1148-1154.
39. Taylor JF., Everett RW., Bean B. (1985), Systematic environmental, direct and service sires effects on conception rate in artificially inseminated Holstein cows. *J.Dairy Sci.*, 68 : 3004-3022.
40. Thompson JR., Pollok EJ., Pelissier CL. (1983), Interrelationships of parturition problems, production of subsequent lactation, reproduction and age at first calving. *J.Dairy Sci.*, 66 : 1119-1127.
41. Trimberger GW. (1954), Conception rates in dairy cattle from services at various intervals after parturition. *J.Dairy Sci.*, 37 : 1042-1049.
42. Vallet A., Carteau M., Salmon A., Chatelin Y., (1987), Epidémiologie des endométrites des vaches laitières. *Rec.Méd. Vet.*, 163 : 189-194.
43. Van Werven T., Schukken YH., Lloyd J., Brand A., Heeringa HT., Shea M. (1992), The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, 37 : 1191-1203.
44. Weller JL., Ron M. (1992), Genetic analysis of fertility traits in Israeli Holsteins by linear and threshold models. *J.Dairy Sci.*, 75 : 2541-2548.
45. Wood PDP. (1975), A note on the effect of twin births on production in the subsequent lactation. *Anim.Prod.*, 20 : 421-424.
46. Zoli AP., Beckers JF., Wouters-Ballman P., Closset J., Falmagne P., Ectors F. (1991), Purification and characterization of a bovine pregnancy associated glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 45 : 1-10.

Cinétique de la bPAG (bovine pregnancy associated glycoprotein) dans le plasma et dans le lait au cours des trois semaines suivant le part chez la vache laitière

D. TAINTURIER*, M. BEDEL*, J.F. BECKERS**, F. FIENI* ET J.F. BRUYAS*

* *Service de Pathologie de la Reproduction - Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes C.P. 3013 - 44087 Nantes-Cédex 03 - France.*

** *Physiologie de la reproduction - Faculté de médecine vétérinaire, Boulevard de Colonster n° 20 - B41 - P71 - 54000 Sart Tilman - Belgique.*

La bPAG est une protéine placentaire bovine découverte en 1988 (1-2).

Synthétisée par les cellules binuclées du placenta, elle est décelée entre le 22ème, et le 35ème jour suivant la saillie ou l'insémination fécondante dans le sérum ou le plasma de la vache gravide.

Elle persiste pendant toute la durée de la gestation pour disparaître 120 jours après la mise -bas. Elle peut être utilisée dans le cadre d'un diagnostic (précoce) de la gestation(4). Elle est aussi retrouvée dans le sérum du veau dès la naissance, mais son taux augmente après la tétée de colostrum(5) ce qui fait donc suspecter sa présence dans cette sécrétion mammaire.

I. Matériel et méthodes

Animaux

13 vaches de race Prim'Holstein, âgées de 30 mois à 9 ans, du même élevage de la région nantaise (France) ont fait l'objet d'un prélèvement de 10 ml de sang sur héparinate de lithium tous les trois jours et d'un prélèvement de 20 ml de lait de mélange des 4 quartiers après avoir éliminé les premiers jets, tous les jours à compter du jour de vêlage jusqu'au 20ème jour (tableau n°1)

Tableau 1. Commémoratif des 13 vaches suivies

VACHE	AGE (année)	SEXE DU VEAU	VÊLAGE
1	2,5	F	N
2	7	F	N
3	3,5	M	N
4	3	M	N
5	3	M	N
6	3	M	N
7	2	M	N
8	9	F	N
9	3,5	M	N
10	3,5	F	N
11	2,5	F	N
12	2	M	N
13	4	M	N

N : vêlage normal

Prélèvements

Le sang était conservé à plus 4°C pendant au maximum 6 jours avant d'être acheminé au laboratoire du service de Pathologie de la Reproduction où il était centrifugé à 5000 tours/mn pendant 10 mn. Le plasma était ensuite recueilli et congelé à -25°C. Le lait était immédiatement congelé à -25°C après sa récolte.

Dosage de la bPAG

Les échantillons ont ensuite été expédiés au laboratoire de Physiologie de la Reproduction de la Faculté de Médecine Vétérinaire de Liège sous couvert du froid.

Les concentrations plasmatiques de la bPAG ont été déterminées par une technique radio-immunologique classique, utilisant l'iode 125 comme marqueur(2). Les résultats du dosage sont exprimés en ng de bPAG/ml de plasma.

II. Résultats

Sang

Le taux de bPAG diminue de moitié au cours de la première semaine, il passe de 1400ng/ml le jour du part à 708 ng/ml le 6ème jour pour atteindre 262 ng/ml le 15ème jour et 165 ng/ml le 21ème jour (figure 1, tableau 2)

Cinétique de la bPAG (bovine pregnancy associated glycoprotein) dans le plasma et dans le lait au cours des trois semaines suivant le part chez la vache laitière

Figure 1. Cinétique de la bPAG dans le sang et le lait au cours des trois semaines suivant le part chez la vache laitière.

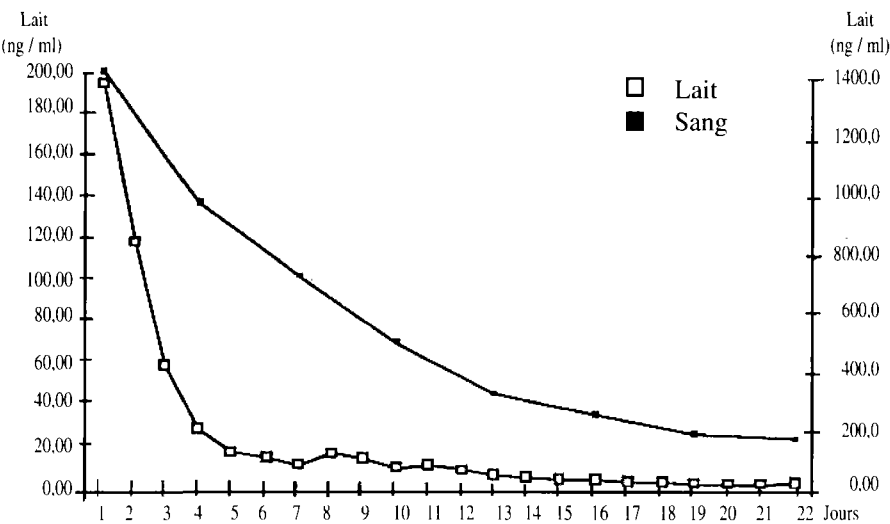


Tableau 2. Cinétique de la bPAG dans le sang de J0 à J21 après la mise bas

jours	Vache													Moyenne
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0	1542	1018	1916	2200	1546	1405	391		1792	791	1186	1607		1399,5
3	896	632	1074	1536	1509	1072	401				697	810		958,6
6	596	762	894	1064	1187	839	260	688	875	287	463	568		706,9
9	442	256	466	660	1075	542			624	178	217	383	550	490,3
12	264	202	554	540		411	132	364	447	134	116	214	431	317,4
15	220	142	268	346	601	299	114	312	245	92	111	180	340	251,5
18	138	100	164	260	529	205	53	233	206	75	77	86	319	188,1
21	78	82	160	180	369	169	44,5	222					240	171,6

Lait

La valeur de bPAG est de 194ng/ml, dans le colostrum le jour du velage, elle chute à 58 ng/ml le 3ème jour, pour atteindre 10 ng/ml le 6ème jour, 4.12ng/ml le 16ème jour et 2.45ng/ml le 21ème jour (figure 1, tableau 3)

Tableau 3. Cinétique de la bPAG dans le lait de j0 à j21 après la mise bas

Jours	Vache													Moyenne
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0	145,2	146,5	145,9	250,0	676	47,7	122		63,5	150,2				194,11
1	41,1	88,8	96	29,6	504	53,5	40,1		65,8	136,7				117,29
2	18,2	87,1	84,8	17,9	185	43,1	11,8		49,2	25,05				58,02
3	18,6	15,2	18,1	18,3	100,0	21,9	18,1		17,3	12,76	13,53	42,3		26,92
4	11,7	15,3	14,2	13,3	46,5	18,8	5,4		14,5	9,777,08	9,05	19,0		16,14
5	9,7	9,8	5,1	12,3	39,2	20,0	4,3		15,1	4,88	1,10	14,64		13,39
6	7,9	9,2	8,7	10,7	24,7	14,8	4,6		11,4	5,3	8,24	8,28		10,31
7	7,9	5,2	8,2	9,2	24,9	10,6	6,3	82,3	15	3,61	7,75	8,38		15,92
8	6,1	5,2	7,1	9,0	18,9	9,7	3,9	50,9	8,25	3,04	6,24	8,15	35,5	13,27
9	5,2	4,6	7,4	7,0	18,0	8,1	3,8	19,7	9,53	3,0	4,83	6,35	26,1	9,51
10	5,1	3,5	5,4	6,1	11,7	6,3	6,5	20,5	11,4	1,75	3,43	5,43	54,7	11,0
11	4,5	3,1	5,4	6,9	12,3	5,7	2,4	16,8		2,02	4,67		33,4	8,81
12	3,1	2,7	2,3	4,6	14,3	5,7	2,5	14,0	8,87	1,39	3,02	4,33	7,22	5,74
13	3,5	2,5	3,0	3,7	7,5	4,1	1,3	14,8	3,37	1,93	3,08		10,2	5,2
14	3,5	2,4	2,6	4,0	8,2	3,6	1,5	11,8	4,18	1,13	5,9		8,38	4,83
15	2,4	2,1	2,8	3,5	7,1	2,9	1,4	9,4	5,45	0,81,57	2,67	1,8	8,54	4,12
16	2,3	2,2	2,3	3,2	4,8	3,1	1,2	9,90	2,23	1,93	1,86	3,18	7,45	3,32
17	2,2	2,0	1,9	2,6	4,9	3,5	0,8	10,6	3,65	0,81	1,3	1,65	5,15	3,33
18	1,7	1,7	1,9	2,5	3,9	2,3	0,7	8,9	2,1		3,65		3,1	2,77
19	1,7	1,8	2,1	2,5	4,7	2,4	0,6	8,7	3,23		0,86		2,91	2,69
20	1,5	2,1	1,5	1,6	3,4	2,3	0,9	10,5					2,86	2,96
21	1,4	1,2	1,0	1,5				13,6					2,45	3,53

III. Discussion

50% de la bPAG disparaît dans le sang en 6 jours contre 95% dans le lait.(3)

D'autres études ont montré depuis, qu'elle passait au dessous du seuil de détection (0,2 ng/ml) le 30ème jour.

Cette disparition très rapide de cette hormone dans le lait par rapport au sang au cours du post-partum (1 mois contre 4 mois) ne permettra pas de retenir le lait comme prélèvement pour un diagnostic précoce préavi de la gestation chez la vache par dosage de la bPAG.

Bibliographie

1. Bekers J.F., Dewulf M., Verstegen J., Wooters-Ballman P., Ectors F. (1988), Isolation of a bovine chorionic gonadotrophin (bCG) - *Theriogenology* 29, 1, 218 (abstr).
2. Bekers J.F., Wouters-Ballman P., Ectors F. (1988), Isolation and radioimmunoassay of a bovine pregnancy specific protein - *Theriogenology* 29, 1, 219 (abstr).
3. Bedel M. (1995), Cinétique de la bPAG (bovine Pregnancy Associated Glycoprotein) au cours du post-partum chez la vache dans le sang et dans le lait. *Thèse Médecine Vétérinaire de Nantes*.
4. Bisson B. (1992), Diagnostic de la gestation chez la vache par dosage d'une protéine trophoblastique : la protéine bovine associée à la gestation (bPAG - bovine Pregnany Associated Glycoprotein). *Thèse Médecine Vétérinaire de Nantes*.
5. Chemli J. (1993), Cinétique plasmatique d'une protéine placentaire (la bPAG : bovine Pregnancy Associated Glycoprotein) chez la vache en pré et post-partum et chez le veau en période post-natale - Travail de recherche - Concours d'assistant hospitalo-universitaire en médecine Vétérinaire Sidi-Thabet

La gestion informatisée de la production : un outil de diagnostic pour les élevages laitiers

CH. HANZEN, J.Y. HOUTAIN, Y. LAURENT

Université de Liège

Faculté de Médecine Vétérinaire

Service d'Obstétrique et des Troubles de la Reproduction

B41 Sart Tilman. B-4000 Liège

Introduction

Le rôle de la profession vétérinaire en élevage bovin a connu au cours de ces dernières décennies de profondes modifications (Radostits et Blood 1985). Ayant au début pour objet l'élimination de maladies contagieuses, il s'est davantage caractérisé entre les années 1945 et 1965 par une approche individuelle de l'animal malade. Par la suite, une approche plus planifiée de la santé et de la productivité s'est progressivement mise en place entre les années 1965 et 1980. Elle se caractérisait par une surveillance des animaux et une gestion du troupeau basée sur des visites régulières (H.H.M.: Herd Health Management) et avait pour but de développer la qualité sanitaire et la productivité des élevages ainsi que leur rentabilité économique. Son application impliquait divers aspects : la définition d'objectifs biologiques et économiques, leur comparaison aux performances observées dans l'exploitation et, le cas échéant, la formulation de recommandations pour leur réalisation (Fetrow et al. 1987). Nécessitant l'accès à de nombreuses données, l'atteinte de ces objectifs supposait un système d'enregistrement flexible et fiable permettant à l'éleveur de gérer journalièrement son troupeau et au vétérinaire de contrôler les performances, d'analyser les problèmes et d'avoir une information suffisante pour l'examen clinique des animaux. Dans ce contexte, il est bien vite apparu que l'informatique constituait l'outil le plus adapté à la tâche car elle contribuait notamment à réduire de manière drastique le temps requis par la préparation et l'analyse des données récoltées (Meek et al. 1975, Blood et al. 1978, Speicher 1981). L'ordinateur fut utilisé dès les années 1950 et 1960 aux Etats-Unis et au Canada, par les services du contrôle laitier, pour enregistrer les productions laitières, (DHI: Dairy herd Improvement; ROP : Record of Performance) (Voelker 1981). Ainsi, progressivement et simultanément aux progrès techniques de l'informatique, des programmes de contrôle des performances laitières et de reproduction et de l'état sanitaire du troupeau se sont développés dans différents pays.

La conception d'un programme informatisé de gestion de la reproduction (suivi mensuel de reproduction et bilan de reproduction) répond à des objectifs de terrain et de recherche. La médecine vétérinaire s'inscrivant de plus en plus dans un contexte préventif et le monde agricole étant de plus en plus demandeur de services et de conseils, il était important de mettre au point un outil permettant aux uns et aux autres d'assurer au mieux leurs activités respectives d'examen clinique et d'observation (Hanzen et al. 1990 a, 1990b). L'élaboration d'un système de collecte de données constitue une étape préliminaire indispensable à la constitution d'une banque de données dont l'analyse doit permettre de déterminer les performances de reproduction possibles des spéculations laitières et viandeuses concernées et d'étudier les facteurs qui directement ou indirectement en sont responsables.

Le matériel informatique et les données

Le programme GARBO fonctionne sur tous les microordinateurs de type IBM ou compatibles disposant au minimum de 4 MB de mémoire vive et équipés du système d'exploitation DOS.3.0 ou de l'une de ses versions plus récentes. Initialement conçu au moyen du programme D-Base, il a par la suite été adapté au langage de programmation Clipper.

Les données ne concernent que les femelles bovines de l'exploitation c.à.d. les veaux, les génisses et les vaches primipares ou pluripares. Leur nature est double : les **enregistrements primaires** concernent les informations relatives à l'identification de l'animal. Les **enregistrements secondaires** concernent tout événement normal ou pathologique de nature symptomatique, diagnostique ou thérapeutique observé ou effectué par l'éleveur (E) et le vétérinaire (V) au cours de la vie de l'animal dans l'exploitation. Leur nombre n'est pas limitatif et peut être adapté aux besoins de l'utilisateur. Chaque enregistrement secondaire fait référence à l'animal (9 caractères), à la date et à l'heure (2 caractères) de l'observation ainsi qu'à la nature de l'observation à laquelle un code numérique de trois caractères a été attribué pour en faciliter l'introduction, la vérification et l'analyse ultérieure. Chaque observation peut être précisée par une remarque complémentaire en texte libre (15 caractères) concernant par exemple l'identité du taureau utilisé ou le nom commercial du traitement effectué.

Tant les enregistrements primaires que secondaires subissent des vérifications préalables à leur introduction. Elles concernent l'existence de l'identité de l'animal dans le fichier du troupeau ou la possibilité physiologique de certaines données (longueur de gestation, confirmation d'une gestation sans insémination, introduction d'une insémination, de pathologies ou de traitements relatifs à un animal confirmé gestant.....).

Le suivi de reproduction

Le suivi de reproduction consiste en une **approche coordonnée** entre l'éleveur et le vétérinaire pour assurer au premier des conditions d'observation optimales de ses animaux et au second des délais minimaux d'examen clinique des animaux ainsi qu'une anamnèse aussi complète que possible pour établir un diagnostic précis et un traitement approprié. Il doit être **régulièrement effectué**. Classiquement il suppose une visite mensuelle de l'exploitation. Il a des **exigences** qui ont pour nom l'identification correcte des animaux par l'éleveur, la notation précise et régulière des observations ainsi que la motivation et la

compétence de ses acteurs principaux. Il doit être **planifié** par l'édition de listes d'attention (inventaire du cheptel, planning des vêlages, planning des chaleurs et des inséminations, planning d'insémination des génisses). Il se concrétise par l'examen clinique des animaux (planning de visite et de notation). Il se conclut par une évaluation de la situation de reproduction (bilan mensuel de reproduction) et par des recommandations d'observation ou de thérapeutique à court terme (planning de synthèse).

Les **listes d'attention** illustrent le traitement à court terme des données récoltées au cours du mois précédant la visite. Destinées à planifier le travail de l'éleveur et du vétérinaire, elles sont donc réactualisées mensuellement en fonction des entrées et réformes des animaux et en fonction de leur évolution physiopathologique au cours du temps. Ces listes d'attention concernent :

- L'inventaire du troupeau et le planning des vêlages et des tarissements.
- Le planning d'examen clinique (tableau 1) : il concerne toutes les vaches et les génisses dont la gestation n'a pas encore été confirmée manuellement. Ces animaux sont répartis en différentes catégories d'examen éventuel : anoestrus pubertaire, anoestrus du postpartum, anoestrus de détection, anoestrus de gestation, involution utérine, diagnostic de gestation par la progestérone, par échographie ou par palpation rectale, repeat-breeder.
- Le calendrier des chaleurs et des inséminations
- La décision de réforme et le planning d'insémination des génisses
- Le planning de synthèse de la visite.

Tableau 1. Planning d'examen clinique

Identité	N	VEL	R	L	C	Mérite kyste				Interv		C	NI	IA	Remarque
						I	D	I	D	1	2				
Adagio	1	131				12	76	96	35	49	21	7	2	5	R.A.S PGF 35J Inj.uter.5J
Adda	2	118	+			13	105	20	98	0	21	52	1	52	DGEchographie Inj.uter..132J
Adeline	7	131				12	119	0	0	0	49	24	2	24	Anoestrus Gest Inj.uter..119J.
Baby	3	151	+			12	139	24	127	48	22	20	2	22	R.A.S Inj.uter..138J
Belrose	6	116				0	0	0	0	22	28	17	3	17	Repeat Breeder
Calypso	0	129				0	0	0	0	75	24	26	1	25	Anoestrus Gest
Dolce	1	138				0	0	0	0	0	19	20	2	74	DG Palpation
Elvira	2	82				0	0	47	35	0	18	18	1	17	R.A.S
Eva	0	73				0	0	0	0	0	0	21	0	0	R.A.S
Janeton	5	53				0	0	34	19	13	15	12	0	0	R.A.S Vér.Kyste Nymphalon 19J
Babette	0	88				0	0	0	0	21	24	12	1	11	R.A.S
Karin2	4	149				0	0	0	0	21	21	31	3	31	DG.Echographie Nymphalon 31J
Leonce	1	54				0	0	0	0	0	12	27	0	0	Anœstrus Detec
Leontine	0	157				0	0	0	0	0	0	0	0	0	Anœstrus Puber
Madona	2	94				0	0	0	0	0	20	40	1	40	DG Echographie
Meike2	3	20				0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTRL Involution
Olivia	0	116				0	0	0	0	20	20	23	2	22	DG Progesterone
Penelope	2	26				0	0	0	0	0	0	0	0	0	CTRL Involution
Sirène	1	110				11	55	0	0	19	20	13	4	13	Repeat Breeder
Suske	3	99				0	0	44	55	0	18	43	1	42	DG Echographie
Valente	2	85				0	0	0	0	0	0	0	0	0	Anœstrus PP

Il est important que la composition du troupeau, ses performances et ses problèmes de reproduction puissent être régulièrement évalués. Le **bilan mensuel de reproduction** renseigne pour les 10 dernières visites effectuées dans l'exploitation, la valeur de 35 paramètres relatifs à la situation numérique du troupeau (4 paramètres), la situation de reproduction du troupeau (8 paramètres), les performances de reproduction (9 paramètres), les pathologies de reproduction (7 paramètres), le niveau de reproduction (8 paramètres) (tableau 2).

Tableau 2. Evaluation mensuelle des performances de reproduction

	Oct	Nov	Déc	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil
Date de la visite:	8	10	8	12	9	9	22	11	15	15
Intervalle (J)	30	33	28	35	28	28	44	19	35	32
GEN < 14 mois	18	18	17	17	16	18	20	19	18	20
GEN > 14 mois	12	11	12	11	12	10	10	10	13	12
Vaches	31	30	29	29	30	30	33	32	30	30
Troup.Reprod.	43	41	41	40	42	40	43	42	43	43
% GEN >14 mois Gest.	100	91	83	82	67	70	40	30	31	46
% Vaches Gest.	58	77	86	79	63	57	33	31	13	20
% Vac >90J.Non.Ins.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
% G >15 mois.Non.Ins.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Anoestrus Puber	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
Anoestrus PP	0	0	0	3	3	3	0	3	0	0
Anoestrus Detec	0	0	20	0	0	0	14	4	3	4
Repeat Breeder	17	50	33	20	33	40	15	0	20	18
N Velages	1	1	1	2	5	3	8	3	4	1
N Reformée	0	4	1	1	0	2	0	2	0	0
Vel-1Cha	0	36	30	0	37	33	41	40	37	35
Vel-1IA/S	64	0	60	74	0	59	64	59	70	65
Vel-IF	99	95	96	88	90	91	102	109	116	98
IFR Genisses	1.9	1.8	1.8	1.8	1.9	1.9	2.0	1.3	1.5	1.3
IFR Vaches	2.9	1.9	2.0	2.0	2.0	2.2	2.6	3.0	3.3	2.5
Index Detection	84	84	100	64	88	100	88	78	81	81
Freq.Detect.	13	6	4	2	5	4	6	5	6	6
% RAF	0	0	0	0	20	33	0	0	25	0
% Fievre lait	0	0	0	0	0	33	13	33	25	0
% Avortement	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
% Metrite	1	0	0	1	1	10	1	20	0	5
% Kyste	1	0	20	1	0	10	0	10	0	10
HRS	80	91	90	94	85	92	94	80	63	65
% Vaches>100J	10	3	0	3	7	3	3	9	17	10
JMPP	205	228	230	246	221	191	158	141	110	143
JMPP>100J	121	149	110	105	121	137	117	122	127	120
HRS Genisses	100	100	90	82	100	87	70	100	89	90
% Genisses>465J	0	0	5	7	0	7	13	0	6	5
JM(NAIS+365)	214	222	210	223	224	176	130	103	109	105
JM(NAIS+365)+100	0	0	130	148	0	104	129	0	115	112

Le bilan annuel de reproduction

La définition et la réalisation d'un bilan de reproduction présuppose la formulation de quatre questions fondamentales relatives à : 1) la nature du problème, 2) la période sur laquelle l'analyse va être effectuée, 3) la population concernée par l'analyse et enfin 4) la définition spécifique du critère étudié. D'une manière générale, on ne peut que constater d'une part la multiplicité des paramètres d'évaluation proposés dans la littérature et d'autre part leur manque de définition ou de méthode d'évaluation. Les efforts d'harmonisation proposés sont en général encore peu généralisés ce qui rend difficile les comparaisons et la proposition d'objectifs de reproduction standards applicables à toutes les situations d'élevages laitiers et viandeux qu'ils soient de type extensif ou intensif. Par ailleurs, la nature et le nombre des paramètres d'évaluation proposés dépendent non seulement du nombre, de la fréquence, de la nature et de la précision des données récoltées par l'éleveur et le vétérinaire mais également du système informatisé ou non de collecte et d'analyse de données récoltées. Enfin, les résultats sont habituellement présentés par leur valeur moyenne sans référence systématique à la déviation standard ou sans effort de stratification en fonction de l'âge, du numéro de lactation des animaux ou de l'intervalle par rapport au dernier vêlage ou à la naissance.

Les performances de reproduction annuelles sont établies au moyen de paramètres de fécondité et de fertilité. Ils comprennent :

- L'intervalle entre le vêlage et l'insémination fécondante.
- L'âge du premier vêlage.
- L'intervalle moyen entre le vêlage et la première chaleur.
- L'intervalle moyen entre le vêlage et la première insémination.
- La qualité de la détection des chaleurs (précision de la détection : index de Wood, et la fréquence de la détection : index de Klingborg), (Wood 1976, Klingborg 1987).
- La fertilité (index réel et apparent de fertilité).
- Le taux de gestation en première insémination.
- Les pathologies du postpartum (rétention placentaire, fièvre vitulaire, métrite, kyste ovarien, adhérence et la bride utérine).
- L'avortement et la mortalité embryonnaire tardive.
- Les réformes

Conclusions

Le suivi mensuel de reproduction s'inscrit dans une approche préventive des pathologies de la reproduction. Basé sur un examen clinique régulier des animaux à risque, il permet une identification et un traitement précoce des problèmes de reproduction. Il génère des informations permettant d'optimiser la surveillance sanitaire et zootechnique des animaux. Mis en place en 1986 et à titre expérimental dans une trentaine d'exploitations laitières et viandeuses, notre programme informatisé de gestion de la reproduction GARBO a connu un développement certain puisqu'à l'heure actuelle, il est appliqué dans 250 élevages par une trentaine de vétérinaires. Il a été traduit en langue anglaise, allemande, espagnole et polonaise. Sur le plan pratique, il place le vétérinaire dans une attitude active et préventive

face à l'élevage. Les animaux à risque ne sont plus diagnostiqués par l'éleveur mais par le vétérinaire qui, au moyen du programme, édite des listes d'intervention. Le programme se caractérise par un emploi aisé ne nécessitant aucune connaissance particulière en informatique. L'introduction des données est rapide. Par ailleurs, leur nombre n'est pas limitatif et peut être augmenté en fonction des besoins diagnostiques de l'utilisateur. Par delà les implications techniques de mise en place d'un suivi de reproduction et de l'utilisation d'un programme informatisé, c'est une démarche plus épidémiologique de gestion de la production qui a été mise au point.

Un bilan de reproduction suppose l'optimisation des événements observés au cours d'une période déterminée et l'obligation de prendre en compte tous les individus réformés ou non du troupeau. Il doit permettre au vétérinaire en charge de la gestion de la reproduction d'un troupeau de quantifier une situation et de lui apporter les premiers éléments d'interprétation. La précision et la fiabilité d'un bilan de reproduction dépendent notamment de la qualité et de la quantité des données récoltées. Des observations manquantes ou fausses, des contrôles de reproduction irrégulièrement effectués, une mauvaise interprétation des symptômes observés, une méthode inadéquate de dépistage des pathologies sont en effet de nature à sous-estimer, voire à conclure à un diagnostic étiologique d'infertilité ou d'infécondité erroné.

L'étude réalisée dans trois types d'élevages allaitant, mixte et laitier a permis d'identifier et d'objectiver les différences de performances de reproduction existantes. L'infécondité des vaches caractérise davantage les élevages allaitants que mixtes ou laitiers. Celle-ci est davantage imputable à un allongement du délai de la première insémination, conséquence d'un anoestrus fonctionnel qu'à une moins bonne fertilité. Les trois spéculations se caractérisent par un retard du premier vêlage, de moins bonnes performances des vaches primipares et une insuffisance de la qualité de la détection des chaleurs. Au sein de chaque spéculation, certains élevages ont des performances comparables aux objectifs considérés comme souhaitables. Par ailleurs, on peut observer de larges différences entre troupeaux tant dans les paramètres de fécondité et de fertilité que dans la fréquence des pathologies du postpartum.

Bibliographie

1. Blood D.C., Morris R.S., Williamson N.B., Cannon C.M., Cannon R.M. (1978), A health program for commercial dairy herds. 1. Objectives and methods. *Austr. Vet J.*, 54 : 207-215.
2. Fetrow J., Harrington B., Henry et Anderson K.L. (1987), Dairy herd health monitoring. Part.1. Description of monitoring systems and sources of data. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, F389-F398.
3. Hanzen C., Laurent Y., Lambert E., Delsaux B., Ectors F. (1990a), Etude épidémiologique de l'infécondité bovine. 1.Mise au point d'un programme informatique de gestion de la reproduction. *Ann.Méd. Vet.*, 134 : 93-103.
4. Hanzen C., Laurent Y., Lambert E., Delsaux B., Ectors F. (1990b), Etude épidémiologique de l'infécondité bovine. 2. L'évaluation des performances de reproduction. *Ann.Méd. Vet.* 134 : 105-114.
5. Klingborg D.J. (1987), Normal reproductive parameters in large California style dairies. *Vet. Clin. North Americ. Food Anim.Pract.*, 3 : 483-499.
6. Meek A.H, Mitchell W.R., Curtis R.A., Cote J.F. (1975), A proposed information management and disease monitoring system for dairy herds. *Can. Vet J.*, 16 : 329-340.
7. Radostits O.M., Blood D.C. (1985), Dairy cattle General approach to a program. In «Herd Health», pp 48-65 WB Saunders Company.

8. Speicher J.A. (1981), Computerized data acquisition systems for dairy herd management. *J. Anim.Sci.*, 53 : 531-536.
9. Voelker D.E. (1981), Dairy herd improvements associations. *J.Dairy Sci.*, 64 : 1269-1277.
10. Wood P.D.P. (1976), A note on detection of œstrus in cattle bred by artificial insemination and the measurement of embryonic mortality. *Anim.Prod.*, 22 : 275-278.

Etude de l'activité lutéolytique d'un analogue de prostaglandine, l'étiproston, chez les femelles bovines présentant de l'anoestrus ou du suboestrus

F. ASCHER*, D. TAINURIER**, B. LEBREUX*, F. FIENI**

* Laboratoires Virbac, B.P. 27, F - 06516 Carros Cedex, France

** Ecole Nationale Vétérinaire, C.P. 3013, F - 44087 Nantes Cedex 03, France

Résumé

L'activité lutéolytique de l'étiproston pour l'induction de l'oestrus, chez des vaches présentant un anoestrus-suboestrus dû à la présence d'un corps jaune sécrétant, a été testée chez 158 sujets. Dans cette étude randomisée, conduite en double aveugle, l'étiproston a été comparé au cloprosténol. Evaluée à partir de la cinétique de la progestérone plasmatique, la lutéolyse a été obtenue dans 85% des cas avec l'étiproston et dans 83% des cas avec le cloprosténol. Les taux de conception de la première insémination postérieure au traitement ont été de 48 et 51% respectivement.

Summary

The luteolytic activity of etiproston for induction of oestrus in cows suffering of anoestrus-suboestrus caused by a secreting luteal structure was tested in 158 animals. In this randomized double blind trial, etiproston was compared to cloprostenol. Regarding the plasmatic progesterone concentrations, luteolysis was induced in 85% and 83% of the cases in etiproston and cloprostenol groups respectively. The conceptions rates of the first insemination post treatment were 48 and 51% respectively.

Introduction

L'anoestrus chez la femelle bovine est lié à diverses causes. Il peut y avoir absence de modification structurale de l'ovaire avec un taux de progestérone uniformément bas (frigidité vraie) ou au contraire absence de détection de l'oestrus alors que le fonctionnement ovarien cyclique est révélé par les variations du taux de progestérone dans le temps. Cet anoestrus peut aussi être dû à la présence d'une structure lutéale sécrétrice et persistante, postérieure à une ovulation, cette présence se traduisant alors par une progestéronémie élevée.

Dans les deux derniers cas, l'injection de prostaglandines conduit à la lyse des structures lutéales, encore appelées "corps jaunes", initiant ainsi un nouveau cycle.

D'un point de vue clinique, en présence d'une structure ovarienne palpable et sécrétrice de progestérone, anoestrus et suboestrus peuvent être confondus dans un même syndrome associant absence et non-détection de l'oestrus, malgré une observation appropriée des animaux.

L'objectif de notre étude était donc d'évaluer l'activité de l'étioproston, un nouvel analogue de prostaglandine, dans l'induction de la lutéolyse chez les vaches souffrant d'anoestrus-suboestrus.

Matériel et méthodes

Animaux

L'étude a été effectuée en France et en Allemagne. Cent cinquante huit femelles bovines des races laitières FFPN-holsteinisée et Deutsche Schwartz Bunte y ont été incluses. Ayant déjà vêlé au moins une fois, les animaux étaient élevés dans des conditions permettant l'obtention de performances courantes de reproduction. Poids moyen et parité étaient respectivement de 583 kg et 2,4 vêlages. La production lactée de l'année précédente, lorsqu'elle était connue ou mesurée (n=92), était de 7224 kg en moyenne. La durée moyenne écoulée entre le vêlage et l'injection initiale de prostaglandine était de 112 jours. Les vaches sélectionnées pour l'étude présentaient toutes une formation ovarienne palpable de type lutéal et/ou une progestéronémie élevée et /ou un taux de progestérone élevé dans le lait avant l'injection de prostaglandine. Malgré une surveillance correcte, elles ne devaient pas avoir présenté de chaleurs depuis 50 jours après le vêlage ou 23 jours depuis le dernier oestrus. Toute vache présentant une affection ou une anomalie palpable ou observable du tractus génital était exclue de l'essai.

Traitements

Deux produits ont été comparés dans le cadre de cette étude de type multicentrique et en double aveugle : étioproston^a et cloprosténol^b. Les vaches ont été réparties par randomisation en deux groupes de traitement selon le produit administré.

^a PROSTAVET ®, Laboratoire Gifavet, Groupe Virbac

^b ESTRUMATE ®, Pitman Moore France S.A.

Le traitement était constitué par l'injection par voie intramusculaire d'une dose de prostaglandine, soit 5 mg d'étiproston ou 0,5 mg de cloprosténol. Les vaches qui n'avaient pas présenté de chaleurs dans les 11 jours suivant l'injection, reçurent une seconde injection par voie intramusculaire toujours identique à la précédente.

Protocole

Au fur et à mesure de leur inclusion dans l'essai, les animaux ont été répartis au hasard dans un groupe de traitement. Ni le vétérinaire investigateur, ni l'éleveur ne connaissaient la nature du traitement administré. Chaque animal a été examiné au moins 4 fois par l'investigateur, à des temps prédéterminés.

Lors de la première visite, après l'examen gynécologique et la sélection, mais avant l'injection de prostaglandine, un prélèvement de sang a été effectué systématiquement pour dosage quantitatif ultérieur de la progestérone plasmatique. En outre, la sélection de 99 des 158 cas a pu être confirmée à la ferme par un dosage colorimétrique de la progestérone effectué sur le lait ou le sang (test semi-quantitatif).

Trois jours après l'injection de prostaglandine, une seconde visite était effectuée et du sang à nouveau prélevé.

Si l'oestrus était détecté, l'animal était inséminé et revu 21 jours plus tard pour contrôle de non retour en oestrus. Si aucun oestrus n'était détecté, un échantillon de sang était prélevé et une seconde injection était effectuée 11 jours après l'injection initiale 72 heures plus tard, un quatrième échantillon de sang était prélevé et deux inséminations artificielles effectuées systématiquement 72 et 96 heures après l'injection de rappel. Les inséminations étaient effectuées même en l'absence de chaleurs visibles.

Dans tous les cas, 3 semaines après l'insémination, un échantillon supplémentaire de sang était prélevé. Un diagnostic de gestation fut effectué systématiquement 6 semaines après l'insémination présumée fécondante.

La surveillance de l'oestrus était effectuée par l'éleveur à raison de 3 périodes d'observation de 20 minutes chacune. Le comportement oestral a été évalué par une note attribuée à l'intensité des signes de l'oestrus : 0 = absence de chaleurs, 1 = chaleurs légères, 2 = normales, 3 = intenses.

Critères d'évaluation

Le critère principal pour l'évaluation de l'effet des injections de prostaglandine était le taux de lutéolyse (taux de succès). Il a été considéré que la lutéolyse avait été obtenue lorsque la concentration de progestérone plasmatique était passée après injection d'une valeur supérieure à 1 ng/ml à une valeur inférieure à ce seuil, dans les 3 jours suivant l'injection. Cette lutéolyse n'était pas obtenue (échec) lorsque la concentration restait au-dessus de 1 ng/ml. Les dosages de progestérone plasmatique ont été effectués par radio-immunologie. Le sang était prélevé à la veine coccygienne. Les tubes à prélèvement étaient centrifugés puis conservés à -20°C avant expédition groupée au laboratoire d'analyses. Les autres critères étaient le comportement oestral et le diagnostic de gestation.

Analyses statistiques

Les calculs ont été effectués avec un logiciel informatique spécialement conçu pour les analyses statistiques (STATMATIC CLINIC). Les tests utilisés ont été le test de Student pour les paramètres quantitatifs et le test du Chi2 avec correction de continuité ou

probabilité exacte de Fisher pour les paramètres qualitatifs. Pour les tests concernant l'évolution d'un paramètre en fonction du temps (chute des concentrations de progestérone) des tests unilatéraux ont été utilisés, avec le risque $\alpha = 5\%$. Tous les autres étaient des tests bilatéraux avec le risque $\alpha = 5\%$.

Résultats

Les 158 vaches ont été réparties à raison de 78 sujets dans le groupe étiproston et 80 dans le groupe cloprosténol. Après une première injection de prostaglandine, 49 vaches dans chaque groupe (63% et 61% respectivement) ont présenté un oestrus (tableau 1).

L'intervalle moyen entre l'injection et la détection de l'oestrus était de 75,2 et 77,8 heures. L'intensité moyenne des chaleurs était respectivement de 1,51 et 1,41 dans les groupes étiproston et cloprosténol respectivement (tableau 2).

Hormis deux sujets sortis de l'essai dans chaque groupe, les vaches n'ayant pas montré d'oestrus ont reçu une deuxième injection, 11 jours plus tard. 27 et 19 vaches ont donc été retraitées avec la prostaglandine initiale. Parmi celles-ci, 5 (19%) et 6 (21%) respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol, ont présenté des chaleurs.

L'intervalle moyen entre injection et oestrus était de 64,1 (n=5) et 65,8 (n=6) heures et l'intensité moyenne des chaleurs notée 1,80 et 1,50 respectivement.

Ainsi, après une ou deux injections selon le cas, 69% des femelles de chaque groupe ont présenté un oestrus.

Tableau 1. Induction des chaleurs après une ou deux injections de prostaglandine à 11 jours d'intervalle

sujets	étiproston			cloprosténol		
	nombre de traitements			nombre de traitements		
	1	2	total	1	2	total
traités	78	27	78	80	29	80
en chaleurs après I ₁	49 (63%)			49 (61%)		
en chaleurs après I ₂		5 (19%)			6 (21%)	
en chaleurs après I ₁ et I ₂			54 (69%)			55 (69%)

p > 0,05

I₁ = première injection de prostaglandine

I₂ = seconde injection de prostaglandine

Tableau 2. Délai d'apparition et intensité des chaleurs induites par une ou deux injections de prostaglandine à 11 jours d'intervalle

sujets en chaleurs après I ₁ ou I ₂	étiproston			cloprosténol		
	nombre de traitements			nombre de traitements		
	1	2	total	1	2	total
nombre	49	5	54	49	6	55
intervalle traitement-chaleurs (h)	75,2	64,1	74,2	77,8	65,8	76,5
intensité des chaleurs	1,51	1,80	1,54	1,41	1,50	1,42

$p > 0,05$

Sur la base des concentrations plasmatiques de progestérone avec 1ng/ml pour valeur seuil, parmi les 158 vaches en anoestrus-suboestrus entrées dans l'étude, 43 (55%) et 50 (63%) en fait étaient en phase lutéale au moment de la première injection de prostaglandine, respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol. Trois jours plus tard, la lutéolyse ($P_4 < 1$ ng/ml) était constatée chez 37 (86%) et 42 (84%) d'entre elles respectivement (tableau 3). La progestéronémie moyenne avant la première injection, chez les vaches en phase lutéale, était de 4,47 et 5,39 ng/ml respectivement.

Trois jours plus tard, les concentrations moyennes de progestérone plasmatique avaient chuté de 3,41 et 4,61 ng/ml respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol. Les différences intra-groupes (concentrations avant et après traitement) sont significatives (risque $\alpha < 1\%$) mais la comparaison des variations entre groupes traduit l'absence de différence inter-groupe.

56 vaches au total ont reçu une seconde injection de prostaglandine. 16 (59%) des 27 vaches du groupe étiproston et 20 (69%) des 29 du groupe cloprosténol étaient en phase lutéale lors de la seconde injection. Trois jours plus tard, la lutéolyse était enregistrée chez respectivement 13 (81%) et 16 (80%) de ces sujets. Les progestéronémies moyennes avant répétition de l'injection de prostaglandine étaient de 4,03 (n=16) et 3,34 (n=20) ng/ml. Trois jours plus tard, les progestéronémies avaient en moyenne chuté de 3,35 et 2,68 ng/ml respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol. Les différences intra-groupes étaient là aussi significatives ($\alpha < 1\%$) alors qu'elle ne l'étaient pas entre les groupes.

Globalement, 59 vaches dans le groupe étiproston et 70 vaches dans le groupe cloprosténol étaient en phase lutéale ($P_4 > 1$ ng/ml) lors de la première ou de la seconde injection de prostaglandine. Trois jours plus tard, la lutéolyse était constatée chez 85% (n=50) et 83% (n=58) d'entre elles respectivement (tableau 3).

Tableau 3. Effet lutéolytique de l'étiproston et du cloprosténol 3 jours après une première ou une seconde injection, chez les sujets dont la concentration plasmatique de progestérone était > 1 ng/ml lors de l'injection

	première injection		seconde injection		total	
	sujets avec une concentration plasmatique de progestérone					
groupe	> 1 ng/ml avant I ₁	< 1 ng/ml après I ₁	> 1 ng/ml avant I ₂	< 1 ng/ml après I ₂	> 1 ng/ml avant I ₁ I ₂	< 1 ng/ml après I ₁ I ₂
	n	n (%)	n	n (%)	n	n (%)
étiproston (n=78)	43	37 (86%)	16	13 (81%)	59	50 (85%)
cloprosténol (n=80)	50	42 (84%)	20	16 (80%)	70	58 (83%)

p > 0,05

La relation entre concentration plasmatique de progestérone et extériorisation de l'oestrus (chaleurs) a pu être faite. Lors de la première injection de prostaglandine, 75 des 98 vaches ayant été observées en chaleurs postérieurement à cette injection (tableau 1), avaient un taux de progestérone > 1 ng/ml. La chute de progestérone mesurée 3 jours plus tard chez ces 75 sujets a été associée à l'observation des chaleurs chez 94% (n=33) et 85% (n=34) d'entre eux respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol (tableau 4). Onze jours plus tard, 56 sujets qui n'avaient pas été vus en chaleurs après la première injection de prostaglandine, ont reçu une seconde injection. Seuls 7 d'entre eux avaient une progestéronémie > 1 ng/ml le jour de cette seconde intervention. Trois jours plus tard, les 4 vaches concernées du groupe étiproston (100%) et 2 des 3 vaches (67%) du groupe cloprosténol associaient oestrus et chute de la concentration plasmatique de progestérone.

Tableau 4. Relation entre la concentration plasmatique de progestérone et l'observation des chaleurs (vaches observées en chaleurs uniquement)

groupe	injection I ₁		injection I ₂	
	P ₁ > 1 ng/ml avant	P ₁ < 1 ng/ml après	P ₂ > 1 ng/ml avant	P ₂ < 1 ng/ml après
étiproston	35	33 (94%)	4	4 (100%)
cloprosténol	40	34 (85%)	3	2 (67%)

p > 0,05

. vaches observées en chaleurs après la première injection de prostaglandine (I₁) : 49 dans chaque groupe

. vaches observées en chaleurs après la seconde injection de prostaglandine (I₂) : 5 dans le groupe étiproston, 6 dans le groupe cloprosténol

69 et 75 vaches respectivement dans les groupes étiproston et cloprosténol furent inséminées, soit sur chaleurs observées après la première injection, soit systématiquement 72 et 96 heures après la seconde injection. 28 et 25 d'entre elles respectivement retournèrent en chaleurs entre 16 et 170 jours post-insémination, alors que 33 (48%) et 38

(51%) d'entre elles étaient diagnostiquées gestantes à la suite des inséminations effectuées immédiatement après I₁ ou I₂ (tableau 5).

144 vaches purent être suivies plusieurs mois, jusqu'à ce que la gestation soit constatée ou la décision de réforme pour stérilité décidée. Les taux de gestation à l'issue de cette période, après une ou plusieurs inséminations successives, étaient respectivement de 79% (53 vaches/69) dans le groupe étioproston et de 75% (56 vaches/75) dans le groupe cloprosténol.

Tableau 5. Résultat des inséminations effectuées sur chaleurs apparentes après I₁ ou systématiquement 72 et 96 heures après I₁

groupe	sur chaleurs apparentes		insémination 72 et 96 h après I ₁		total
	inséminées	gestantes	inséminées	gestantes	inséminées
	n	n (%)	n	n (%)	n
étioproston	46	25 (54%)	23	8 (35%)	69
cloprosténol	48	24 (50%)	27	14 (52%)	75

p > 0,05

Aucun effet secondaire ne fut constaté durant cet essai, ni avec l'étioproston, ni avec le cloprosténol.

Discussion et conclusion

Les prostaglandines provoquent la régression du corps jaune lorsqu'elles sont administrées entre le cinquième et le seizième jour du cycle oestral dans l'espèce bovine (1, 2). Cette régression conduit à une chute de la progestéronémie. Les variations du taux de progestérone sont facilement quantifiables et plus fiables que les changements morphologiques et comportementaux liés au cycle oestral. Une valeur seuil de 1 ng/ml (3,2 nmol/l) a été proposée (3-7) afin de distinguer les phases oestrale et lutéale. En-dessous de 1 ng/ml, la femelle est en phase oestrale ; au-dessus de cette valeur, elle est en phase lutéale. Il est donc convenu qu'il y a lutéolyse après injection de prostaglandine lorsque la concentration de progestérone plasmatique passe d'une valeur > 1 ng/ml à une valeur inférieure à ce seuil. Il n'y a pas lutéolyse lorsque la valeur reste > à 1 ng/ml. Par contre, lorsque la concentration plasmatique de progestérone est inférieure à 1 ng/ml lors de l'injection de prostaglandine, l'effet de cette dernière ne peut pas être évalué puisqu'il n'y a pas de structure lutéale fonctionnelle.

La chute du taux de progestérone plasmatique se produit dans les 24 à 36 heures suivant l'injection de prostaglandine et ne se rétablit qu'en plusieurs jours lorsqu'il y a eu ovulation (7-10). Il était donc possible d'évaluer l'effet des prostaglandines dans le cadre de cet essai en s'appuyant, comme nombre d'autres auteurs, sur un dosage de contrôle effectué 3 jours après chaque injection.

La sélection des vaches a été faite sur l'absence de chaleurs et l'existence de formations ovariennes palpables. Ce diagnostic clinique a pu être confirmé dans 99 cas au moment même de la sélection par une évaluation semi-quantitative (colorimétrique) à la ferme du taux de progestérone dans le lait ou le sang. L'adjonction de ce dosage a permis de réduire l'inclusion de sujets dont les formations ovariennes palpées ne correspondaient pas à une structure lutéale fonctionnelle (11). En effet, sur les 59 vaches incluses avant la mise en oeuvre de ce contrôle, 46 (78%) présentaient un taux de progestérone < 1 ng/ml le jour de

la première injection de prostaglandine. Ceci confirme ce que plusieurs auteurs ont déjà rapporté à propos de la proportion relativement élevée d'erreurs liées aux seuls critères de diagnostics morphologiques et comportementaux dans le cas de l'anoestrus-suboestrus (11-13). Après une ou deux injections de prostaglandine effectuées à 11 jours d'intervalle, les chaleurs ont été observées dans 69% des cas, ceci dans chaque groupe. Ces taux sont comparables à ceux déjà publiés (14-15). Cependant, dans notre étude, les taux de femelles en chaleurs après la seconde injection sont faibles (19 et 21% selon le groupe). Il est probable que l'utilisation de ce critère ait été biaisée, les éleveurs étant moins motivés par les observations répétées des animaux concernés. En effet, les inséminations étaient alors effectuées systématiquement 72 et 96 heures après l'injection, que l'oestrus ait été détecté ou non. Cependant, l'importance de ce paramètre est limitée lorsqu'utilisé seul eu égard aux variations de la progestéronémie et à la fertilité ultérieure.

L'intervalle de temps séparant l'injection de l'observation des chaleurs après une ou deux injections est du même ordre dans les deux groupes et semblable à ce qui a déjà été publié (6, 8, 10-12, 16-17).

Le taux de lutéolyse, après une ou deux injections est de 85% dans le groupe étiproston et de 83% dans le groupe cloprosténol. Ces taux sont inférieurs à ceux (96%) déjà rapportés par nous-mêmes dans une étude portant sur la synchronisation de femelles bovines cyclées (18). Cette diminution apparente d'activité a été aussi constatée dans la littérature avec diverses prostaglandines, sans pour autant lui apporter d'explication : cette différence entre femelles cyclées et femelles suspectes de frigidité pouvant se rapporter au fait que dans la première catégorie de sujets aucune anomalie ne vient perturber le cycle alors que dans la seconde catégorie, la perturbation de la cyclicité s'associerait peut être à une diminution du nombre de récepteurs à la PGF₂ (ou à une réduction de leur affinité pour cette dernière (19, 22). Quoiqu'il en soit, ce taux de lutéolyse semblable dans les deux groupes reste cependant similaire à ce qui a été déjà publié pour les prostaglandines et nettement supérieur à l'effet d'un placebo (13, 23).

Les taux de gestation sont en outre semblables à ceux déjà rapportés dans la littérature, (11, 14, 23), ceux-ci variant de 40 à 60% en première intention selon les auteurs.

Cette étude confirme donc que le nouvel analogue de prostaglandine testé, l'étiproston, peut être utilisé avec succès pour le traitement des vaches présentant un anoestrus-suboestrus, pospartum ou post-insémination, dû à la présence d'une structure lutéale sécrétante.

Références

1. Cooper M.J. (1974), *Vet. Rec.*, 07.09.200.
2. McMillan K.L. (1983), *NZVJ*, XXXI, 110.
3. Ott R.S., Bretzlaff K.N., Hixon J.E. (1986), *JAVMA*, 188, XII, 1417.
4. Dieleman S.J., Bevers M.M., Van Tol H.T.M., Willems A.H. (1986), *Anim. Reprod. Sci.* 1986, X, 275.
5. Kiracofe G.H., Xright J.M., Newby T.J. (1988), *Therio.*, 30, V, 931.
6. Desaulnier D.M., Guay P., Vaillancourt D. (1990), *Therio.*, 34, IV, 667, 680.
7. Rajamahendran R., Robinson J., Desbottes S. (1988), *J. Anim. Sci.*, 66, Supp. 1, 309.
8. Hafs H.D., Mann J.G. (1975), *Anim. Prod.* XXI, 13.
9. King M.E., Kiracofe G.H., Stevenson J.S., Schalles R.R. (1982), *Therio.*, 18, II, 191.
10. Momont H.W., Seguin B.E. (1988), 11th Int. Cong. on Anim. Reprod. and Al., Dublin (Ireland).
11. Lajili H., Humblot P., Thibier M. (1989), *El. Et Ins.*, 233, 3-10.

Etude de l'activité lutéolytique d'un analogue de prostaglandine, l'étiproston, chez les femelles bovines présentant de l'anoestrus ou du suboestrus

12. Kelton D.F., Leslie K.E., Etherington W.G., Bonnett J.N., Walton J.S. (1991), *Can. Vet. J.*, 32, 286-291.
13. Jöchle W., Schneemann W., Grunert E. (1989), *Zuchthyg.*, 24, 57-66.
14. Seguin B.E., Gustafsson B.K., Hurtgen J.P., Mather E.C. and al. (1978), *Therio.*, 10, I, 55-64.
15. Eddy R.G. (1977), *Vet. Rec.*, 01.22. 100, 62-65.
16. Johnson C.T. (1978), *Vet. Rec.* 02.09. 204.
17. Roche J.F., Prediville D.J. (1979), *Therio.*, 11, II, 153.
18. Ascher F., Tainturier D., Lebreux B., Fieni F. (1994), XVIII World Buiatric Congress, Bologna (Italy).
19. Agudo L.S., Zahler W.L., Smith M.F. (1984), *J. of Anim. Sci.*, 58, 4, 955-962.
20. Kindahl H., Edqvist L.E., Larsson K., Malmqvist A. (1983), *Curr. Top. Vet. Med. Anim. Sci.*, 20, 173-196.
21. Brambaifa N. (1982), Inaugural Dissertation, Free University, Berlin-West.
22. Evrard-Herouard M., De la Llosa-Hermier M.P., Martined J., Mauleon P. et coll. (1981), *J. Reprod. Fert.*, 61, 225-233.
23. Leidl W., Bodstedt H., Stolla R., Schefels W. and al. (1977), *Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.*, 90, 109-314.

Utilisation des comptages cellulaires du lait dans la lutte contre les mammites bovines

F. BADINAND.

Ecole nationale vétérinaire d'Alfort

Comme tout liquide biologique, le lait contient des cellules somatiques, même lorsqu'il est parfaitement sain. La connaissance de ces cellules est déjà ancienne puisque leur méthode de comptage de référence date de 1910 (Prescott et Breed 1910). D'autre part, la réaction inflammatoire à l'infection mammaire est de type presque exclusivement cellulaire, par afflux leucocytaire dans le lait. Aussi, le comptage cellulaire du lait s'est-il développé depuis une cinquantaine d'années chez la vache, bien avant de trouver, récemment, une application chez la Brebis et la Chèvre (Berthelot et Bergonier, 1995 ; Heuchel et de Crémoux, 1995). Les taux leucocytaires du lait de vache servent couramment au diagnostic des mammites et sont utilisés, dans les pays où le lait et ses dérivés sont de consommation courante, pour le paiement du produit au même titre que sa teneur en matière grasse, matière azotée ou germes. Il est donc intéressant de faire le point sur le sujet : quelles sont les cellules présentes dans le lait, comment utiliser leur comptage pour le diagnostic épidémiologique des mammites et pour mettre en œuvre des mesures de lutte adaptées ?

Les cellules du lait

Nature des cellules somatiques présentes dans le lait

Bien que connues depuis très longtemps, l'identification des cellules contenues dans le lait a été un peu confuse, jusqu'à leur étude en microscopie électronique qui a permis de distinguer clairement quatre catégories principales (Lee et al., 1980) :

- les lymphocytes, de petite taille à gros noyau dense, de type B ou T, qui participent aux réactions immunitaires et à la production d'anticorps. En l'absence d'infection bactérienne, ils représentent de 10 à 27 p.100 des cellules du lait.
- les macrophages, grosses cellules arrondies dont le cytoplasme contient un appareil enzymatique très développé. Leur pouvoir phagocytaire vis à vis des globules gras, des débris cellulaires et des bactéries est intense bien que moins efficace que celui des leucocytes.
- les cellules épithéliales, souvent en amas. Elles proviennent de la desquamation des épithéliums des canaux galactophores et des acini et sont souvent en partie lysées. Leur taille, leur morphologie, leur noyau et le contenu de leur cytoplasme les font souvent confondre avec le type précédent, les macrophages. C'est sans doute la raison pour laquelle, selon les auteurs, soit elles sont en petit nombre (de 0 à 7 p.100 pour Lee et al., 1980), soit elles constituent la majorité des cellules (de 40 à 85 p.100 pour Giesecke et Van Den Heever, 1967). Cellules épithéliales et macrophages représentent plus des deux-tiers de toutes les cellules somatiques d'un lait normal.
- Les leucocytes polynucléaires neutrophiles dont le rôle est essentiel dans la défense contre les infections par phagocytose et lyse des bactéries. Dans un lait sain, ils ne représentent que 0 à 11 p.100 des cellules (environ 2 p.100 en moyenne).

Lors d'infection d'un quartier (les mammites sont considérées d'origine infectieuse dans la grande majorité des cas), il y a un appel leucocytaire important, si bien que les leucocytes polynucléaires neutrophiles deviennent très nombreux, représentant de 40 à 50 p.100 des cellules dans le lait (Schalm et al., 1971) (tabl. 1).

Tableau 1. Proportion des différentes cellules dans le lait normal ou provenant d'un quartier infecté (d'après Ruffo, 1968)

Statut des quartiers	p.100 de type cellulaire			
	Lymphocytes	Polynucléaires neutrophiles	Cellules épithéliales et macrophages	Cellules lysées
Sain	5,2	7,5	68,9	18,4
Infecté par <i>Sta. aureus</i>	2,8	39,0	35,5	12,7
Infecté par <i>Str. agalactiae</i>	5,0	41,0	41,1	13,9

Si l'infection est de type aigu, l'afflux leucocytaire est tel que ces cellules constituent jusqu'à 90 p.100 du nombre total de cellules somatiques. Elévation du nombre de leucocytes et élévation du nombre de cellules somatiques sont étroitement liées. Il est donc tout à fait justifié de compter les cellules dans leur ensemble sans tenir compte de leur nature exacte pour estimer le degré d'inflammation de la mamelle. On parle donc indifféremment de cellules somatiques ou de leucocytes même si sur le plan fondamental

elles ne sont pas de même nature; il y a abus de langage à dire comptage leucocytaire pour comptage des cellules somatiques mais, sur le plan pratique, l'interprétation est la même.

Variations du nombre total de cellules somatiques

En dehors de toute infection

Sérieys (1985a) a suivi pendant plus de 2 ans toutes les vaches d'un troupeau par analyses bactériologiques et cytologiques. Il constate qu'en dehors d'infections le nombre de cellules par millilitre de lait varie en fonction de l'âge de l'animal ou «numéro de lactation», mais reste toujours très faible. A la première lactation, le nombre moyen est de 39 000 par ml et de 66 000 pour 4 lactations et plus. Seulement 20 p.100 des laits non infectés contenaient plus de 100 000 cellules par ml et moins de 5 p.100 plus de 300 000. Ce résultat en confirme d'autres (Blackburn,1966,1968; Eberhart et al.,1979) et permet d'affirmer que l'augmentation du taux cellulaire du lait avec l'âge est due à l'augmentation du nombre d'infections au cours des lactations successives et en aucun cas au seul phénomène de l'âge.

En ce qui concerne le stade de lactation, il faut d'abord éliminer la période colostrale et celle du tarissement au cours desquelles, physiologiquement, le nombre de cellules est très élevé. Si on ne tient compte que de la période de production du lait proprement dit, on note une légère et régulière augmentation du taux cellulaire qui reste toujours inférieur à 90 000 par ml, passant de 31 000 entre le 16ème et le 45ème jours de lactation à 78 000 environ un mois avant le tarissement (Sérieys,1985b). Comme pour l'âge de l'animal, un taux cellulaire élevé en fin de lactation est lié à la pression infectieuse et non au stade de la lactation.

Il existe également des variations nycthémérales (Smith et Shulze,1967), saisonnières (Durand, 1983), mensuelles (Reichmuth,1975), et quotidiennes (Westgarth,1975) de ± 25 p.100, mais elles restent toujours dans la limite de 100 000 cellules par ml.

Quant à la production laitière, elle n'intervient pas non plus. On peut seulement noter, sans que cela ait une valeur significative, une plus faible teneur en cellules du lait produit au pic de lactation par rapport à la fin de celle-ci. Cela signifie que le comptage cellulaire réalisé entre 15 et 45 jours de lactation (1er ou 2ème contrôle laitier) est plus faible que celui obtenu à une autre période (Sérieys,1985a; Ickowicz,1985). Cependant, sur une lactation, la moyenne des taux cellulaires est indépendante de la production moyenne par jour de lactation (Sérieys,1985b; Lindström et al.,1981; Miller et al.,1983). Le nombre de cellules libérées avec le lait ne dépend pas du potentiel laitier de la vache.

Enfin, il en est de même en ce qui concerne l'environnement et les conditions de traite. Une frayeur subie par une vache ou une température extérieure élevée (Whittlestone et al.,1970) ne modifient pas le taux cellulaire d'une mamelle saine. La faible valeur du nombre de cellules n'est pas non plus modifiée chez des vaches saines soumises à des conditions de traite très sévères : fluctuation du vide (Olney et al.,1989), niveau de vide et surtraite (Olney et Mitchell,1983) ou vitesse de pulsation (Olney et Scott,1983).

Toutes les données que nous possédons vont dans le même sens : une mamelle saine a toujours un lait contenant peu de cellules somatiques de l'ordre de 30 à 70 000, inférieur à 100 000 dans plus des trois quarts des cas. L'élévation du taux cellulaire est toujours liée à un phénomène inflammatoire, une mammite d'origine infectieuse le plus souvent.

Lors d'infection

Il est courant de distinguer deux types d'agents pathogènes pour la mamelle de la vache : les majeurs et les mineurs. Les premiers sont responsables le plus souvent de formes cliniques et leur présence s'accompagne d'une forte réaction de l'organisme ; il s'agit de *Saphylococcus aureus*, des streptocoques : *Srt. agalactiae*, *Str. dysgalactiae* et *Str. uberis* et des entérobactéries, notamment *Escherichia coli* et *Klebsiella*. On leur adjoint parfois des agents infectieux plus rares comme Actinomyces (autrefois *Corynebacterium*) pyogenes, *Bacillus cereus*, *Nocardia*, *Candida*, mais ceux-ci sont beaucoup plus rares et peuvent, dans une étude générale des mammites, être omis.

Les pathogènes mineurs entraînent le plus souvent une réaction modérée de la mamelle, se comportant à la limite entre des agents saprophytes et des agents pathogènes. Ils peuvent cependant parfois être à l'origine de mammite clinique aiguë. Il s'agit en particulier, parmi les plus fréquents, des staphylocoques non *aureus* (ou catalase -), notamment *Sta. intermedius*, *Sta. hyicus* et *Sta. epidermidis*, des autres streptocoques que les trois cités précédemment, de *Corynebacterium bovis* et de divers *Bacillus*.

Pour donner une idée de la fréquence relative de ces catégories d'agents pathogènes dans un pays laitier, les résultats de la dernière enquête française à notre connaissance, ayant porté sur 7 852 prélèvements de lait effectués en dehors d'épisodes de mammite clinique, sont indiqués au tableau 2.

Tableau 2. Fréquence des différentes catégories de germes pathogènes pour la mamelle de la vache, en dehors d'épisodes de mammite clinique (d'après Faye et al. 1994)

Pathogènes majeurs	14,8 p.100
Pathogènes rares	0,5 p.100
Pathogènes mineurs	39,8 p.100
Germes de contamination	7,9 p.100
Total des prélèvements contenant des agents infectieux *	53,0 p.100

(* 9,2 p.100 des prélèvements contenaient plusieurs germes)

Pathogènes mineurs

Le taux cellulaire d'un quartier infecté par un pathogène mineur est toujours supérieur à celui d'une vache saine même s'il reste peu élevé : plus de 90 p.100 des laits contiennent moins de 300 000 cellules par ml dont la moitié compris entre 100 000 et 300 000, contre, rappelons-le, 80 p.100 en dessous de 100 000 pour les laits non infectés (Sérieys, 1985b). Une nuance doit être cependant apportée en ce qui concerne les staphylocoques non *aureus* dont certains peuvent entraîner une réaction cellulaire importante, les rapprochant plus des pathogènes majeurs (Liu, 1988).

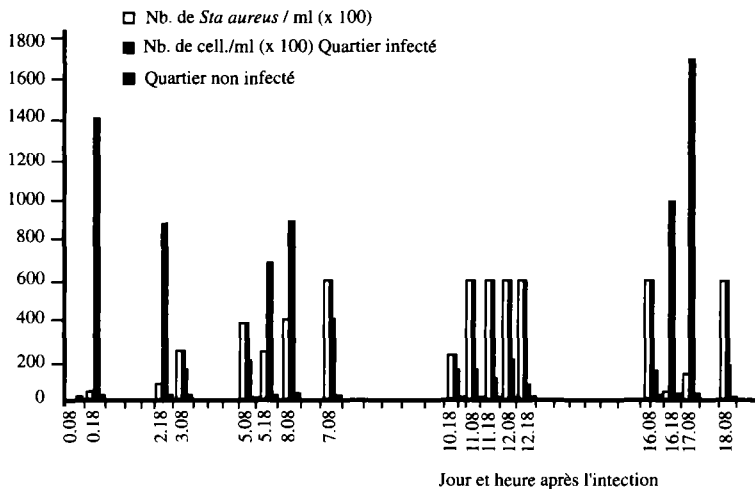
Une vache ou un quartier dont le lait contient de façon régulière entre 100 000 et 300 000 cellules par ml ou dont plusieurs comptages par lactation donnent un résultat supérieur à 300 000 sans jamais dépasser 800 000 peut être considéré comme infecté par un pathogène mineur (Eberhart et al., 1979 ; Balloy, 1984).

Pathogènes majeurs

Bactéries Gram +

Lorsque plusieurs quartiers sont infectés par *Sta aureus*, *Str. agalactiae*, *dysgalactiae* ou *uberis*, les taux cellulaires du lait de la vache sont très élevés alors que les épisodes cliniques sont relativement rares. Ces taux peuvent atteindre 10 millions de cellules par ml parfois et, en tout cas, sont presque toujours supérieurs à 800 000. Si un seul quartier est atteint, le taux cellulaire du lait de celui-ci peut atteindre jusqu'à 25 millions de cellules par ml, le taux du lait de la vache étant très variable. La variation des taux cellulaires d'une vache infectée par une bactérie Gram + vient de la variation importante de la libération des cellules dans le lait ainsi que le montre la figure 1.

Fig. 1. Comptages bactériens et cellulaires obtenus après l'infection expérimentale d'un quartier d'une primipare avec *Staphylococcus aureus* (d'après Neave, 1975)



La figure 1 montre également que les quartiers sains ont un taux cellulaire constant, toujours inférieur à 25 000 par ml. Elle explique ce que l'on observe souvent dans les élevages : il n'y a pas de relation directe, à un moment donné, entre l'état d'infection et le comptage cellulaire. Cependant, alors que les vaches saines ou infectées par un pathogène mineur ont, au cours d'un seul examen, un taux cellulaire inférieur à 300 000 par ml dans 93 p.100 des cas, ce n'est le cas que pour 27 p.100 des vaches infectées par un pathogène majeur (Sérieys, 1985b). D'autre part, si l'on suit sur une lactation les comptages cellulaires mensuels, la discrimination entre infectées ou non par un pathogène majeur est encore plus nette. Les niveaux qui permettent de mieux faire la distinction sont 300 000 et 800 000 cellules par ml. (Sérieys, 1985b).

Une vache, qui présente toujours un taux cellulaire inférieur à 300 000 par ml, est certainement non infectée par un pathogène majeur dans 69 p.100 des cas, et risque de l'être seulement 8 fois sur 100. Une autre, dont au moins deux comptages sont supérieurs à 300 000 par ml dont une fois au moins au dessus de 800 000, est infectée dans 68 p.100 des cas, non infectée seulement 8 fois sur 100, ainsi que l'indique le tableau 3.

Tableau 3. Relation entre des séries de numérations cellulaires individuelles au cours d'une lactation et l'état d'infection de la mamelle de la vache (Sérieys, 1985b).

Numérations cellulaires d'une lactation (x 1000 cell. par ml)	p.100 de vaches	
	Non infectées	Infectées
	durablement par un	pathogène majeur
Toujours < 300	69	8
Intermédiaires	23	24
2 au moins > 300 dont au moins 1 > 800	8	68
Total	100	100

Les résultats intermédiaires ne permettent pas de conclure car il y a environ un quart de faux positifs et le même nombre de faux négatifs.

En abaissant ou élevant les seuils de 300 000 et 800 000, on augmente notablement les résultats faux positifs ou faux négatifs. Ce sont ces taux qui seront retenus dans la pratique.

Bactéries Gram -

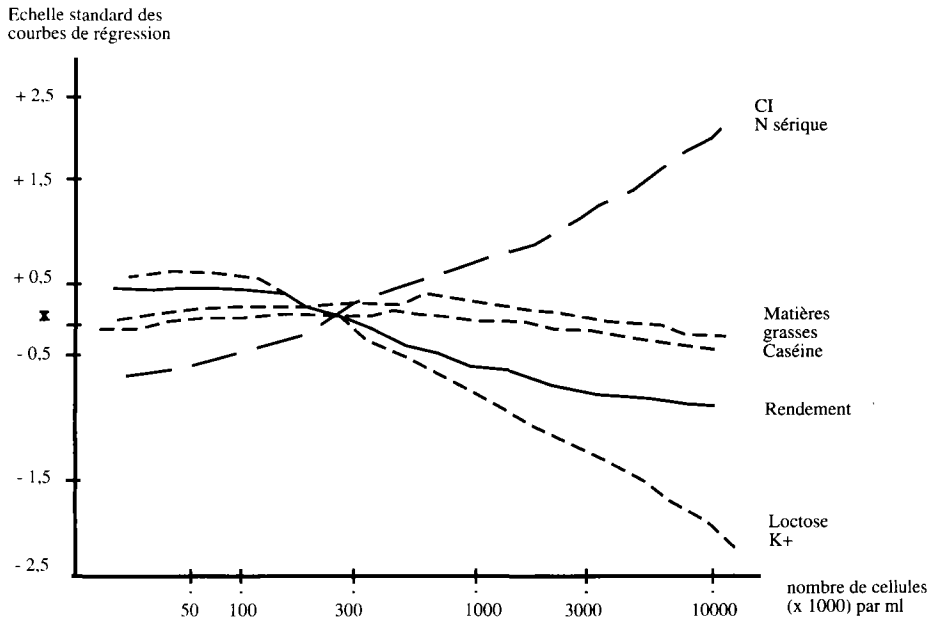
Les entérobactéries ont la propriété de provoquer des mammites cliniques aiguës mais de courte durée car elles sont éliminées rapidement de la mamelle. Au moment où elles surviennent, ces mammites s'accompagnent d'un nombre considérable de leucocytes mais, comme l'inflammation, ils disparaissent assez vite. Il n'est donc pas rare qu'une infection par *E. coli* passe inaperçue sur le plan cellulaire si le comptage cellulaire est effectué une fois par mois. Il y a dissociation complète entre mammite à entérobactéries et nombre de cellules dans le lait analysé sur une lactation.

Relation cellules-composition du lait. Importance hygiénique.

Un taux cellulaire élevé dans le lait traduit toujours une inflammation de la mamelle. Les acini sont dans presque tous les cas touchés, de telle sorte que la sécrétion est perturbée, en même temps que le rendement ou kg de lait produit par jour baisse de façon nette surtout le lactose, alors qu'augmentent les taux de chlorures et d'azote sérique. Cette variation est le simple résultat du maintien de la pression osmotique de la sécrétion, par appel direct à partir de la circulation sanguine de chlorures et de l'azote, pour compenser la baisse en lactose puisque les acini atteints ne secrètent plus ce sucre.

En ce qui concerne la matière grasse, peu de modifications sont notées, pas plus que pour le taux de caséine. Cependant, cette dernière représente, en fonction du nombre croissant de cellules somatiques, un pourcentage de plus en plus faible de la matière azotée totale. La figure 2 représente les variations de la composition moyenne du lait en fonction de son taux cellulaire.

Fig. 2. Composition du lait en fonction de son taux cellulaire (d'après Reichmuth, 1975 et Ng-Kwai-Hang et al., 1984)



La perte et les modifications de la production laitière apparaissent dès que le taux cellulaire atteint 60 à 80 000 par ml, taux considéré habituellement comme très faible. Elles sont aussi importantes lorsqu'on passe de 100 000 à 200 000 cellules par ml que de 200 000 à 400 000 (Sérieys, 1985b). Ceci confirme le rôle économique des infections dues à des germes mineurs, signalé il y a déjà longtemps (Natzke et al., 1972).

En ce qui concerne les infections par des pathogènes majeurs, c'est l'intensité et encore plus la durée de la réaction inflammatoire qui altère la production lactée. Une infection clinique aiguë par *E. coli* ne se répercute que peu sur la quantité et la qualité du lait analysées sur l'ensemble de la lactation alors qu'une infection subclinique par *Sta. aureus* n'entraîne aucune modification apparente du lait mais une perte économique très importante.

La présence sur une longue période de cellules en grand nombre signifie que la mamelle est infectée par des bactéries Gram + essentiellement. Parmi celles-ci, les staphylocoques sont les plus fréquents. Or, certaines souches de *Sta. aureus* sécrètent des entérotoxines qui peuvent entraîner de graves intoxications alimentaires. Cependant, il faudrait ingérer des produits contaminés par plus de 500 000 à 1 000 000 de germes par gramme pour risquer une intoxication (Kaplan et al., 1966), alors que le nombre de *Sta. aureus* ne dépasse jamais 50 000 par ml. (Neave, 1975). Aussi, la consommation de lait cru juste après sa traite ne présente pratiquement aucun danger. Par contre, *Sta. aureus*, dans certaines conditions de pH et de température, se multiplie très facilement dans le lait et ses produits dérivés. Le risque d'intoxication alimentaire par le lait mal conservé ou ses produits est réel. Un troupeau dont le taux cellulaire moyen du lait est élevé est donc suspect, voire dangereux, sur le plan de l'hygiène publique.

En ce qui concerne les Streptocoques, qui provoquent également une forte élévation du nombre de cellules dans le lait, le risque est minime car ce ne sont pas les mêmes espèces qui sont pathogènes pour l'homme et la mamelle bovine.

Dans ce cadre, il ne faut pas oublier non plus, même si elle a actuellement disparu de France, la mammite tuberculeuse dont l'agent est très contagieux pour l'espèce humaine.

Utilisation des comptages cellulaires pour améliorer la qualité du lait

Méthodes de comptage

Le dénombrement des cellules peut être réalisé de différentes façons que nous ne ferons qu'évoquer pour comprendre leur utilisation et savoir les interpréter.

La méthode de référence consiste à fixer sur une lame (lame de Breed) une quantité donnée de lait et à compter les cellules mises en évidence par un colorant. Cette méthode est difficile à mettre en œuvre et ne sert que de référence pour étalonner les appareils de comptage automatique.

Ceux-ci sont fondés sur deux principes : soit le comptage d'impulsions électriques résultant du passage de particules entre deux électrodes (Coulter counter), soit le comptage des noyaux cellulaires rendus fluorescents par le bromure d'éthidium (Fossomatic). Le premier compte toutes les cellules de dimensions données et le second seulement les cellules nucléées. Les résultats obtenus sont très semblables pour les deux appareils même si pour des valeurs inférieures à 100 000 ou supérieures à 1 000 000 par ml une différence de l'ordre de 10 p.100 peut être notée (Lutz et al., 1975 ; Schmidt-Madsen, 1975).

Parmi les nombreuses méthodes indirectes d'appréciation du nombre de cellules du lait, une seule continue à être utilisée mais elle l'est très largement, le California mastitis test ou CMT (Schalm et Noorlander, 1957). Un détergent, le teepol, ajouté au lait, fait éclater les cellules dont les ADN du noyau, au contact du détergent, se gélifient. L'importance du gel est fonction du taux cellulaire du lait. L'intensité de la réaction est notée de - à +++ ou de 0 à 4 ce qui donne les valeurs cellulaires indiquées au tableau 4

Tableau 4. Correspondance entre la note du CMT et la numération cellulaire du lait (d'après Schalm et Noorlander, 1957, Schneider et al., 1966)

Note du CMT	Nombre de cellules (x1000) par ml	
	Moyenne	Extrêmes
0 ou -	100	0 - 200
1 ou ±	300	150 - 600
2 ou +	900	400 - 2 700
3 ou ++	2 700	800 - 8 000
4 ou +++	8 100	5 000

Si les méthodes de mesure directe permettent d'avoir des résultats précis, par contre, elles demandent l'aide d'un laboratoire. A l'inverse, le CMT est très approximatif mais il peut être mis en œuvre à l'étable, au cours de la traite. Ses résultats sont obtenus immédiatement et concernent la production de chaque quartier alors que les mesures directes sont réalisées sur le mélange des laits des quatre quartiers ou sur le lait de tank.

L'étude du comptage cellulaire de la production laitière d'un troupeau fait appel aux deux mesures, directe pour le lait de tank ou de vache, indirecte pour le lait de quartier.

Analyse des mammites dans un troupeau par les comptages cellulaires

Taux cellulaire de troupeau

La concentration en cellules somatiques du lait de mélange d'un élevage dépend essentiellement de deux facteurs (Westgarth,1975) :

- le nombre de quartiers infectés le jour de la numération cellulaire,
- l'intensité de la réaction inflammatoire des quartiers infectés.

En effet, les cellules du lait de tank parviennent pour la majeure partie d'entre elles des seuls quartiers infectés comme le montre le tableau 5 pour une étable où la prévalence des mammites est assez élevée.

Tableau 5. Origine des cellules du lait de tank (d'après Pearson et al.,1971)

Lait de quartier		Lait de mélange	
Note au CMT	p.100 de quartiers	Nb. de cellules par ml	p.100 par rapport au nb. total de cellules
-	49	49 000	6,2
±	19	57 000	7,2
+	13)) 31	117 000	14,8)) 76,3
++	18)	486 000	61,5)
+++	1	81 000	10,2
TOTAL	100	790 000	100

Dans le cas présenté, sur les 790 000 cellules par ml du lait de mélange, plus des trois quarts proviennent de quartiers atteints de mammites subcliniques, alors que ceux-ci ne représentent que 31 p.100 de l'ensemble. Le poids des mammites subcliniques est donc essentiel dans le comptage cellulaire du lait de tank. Les cas de mammite clinique ou à la limite (CMT +++) apparaissent très peu car ils sont peu nombreux et, la plupart du temps, le lait est écarté de la collecte.

Il existe une corrélation entre le nombre de cellules du lait de tank et le niveau d'infection du troupeau ou pourcentage de quartiers infectés. Cependant, il peut y avoir des variations importantes d'un jour à l'autre et à fortiori d'un mois à l'autre de ce nombre de cellules. Aussi, l'étude sur une moyenne de plusieurs comptages cellulaires successifs améliore le coefficient de corrélation. Dans la pratique, il est possible d'estimer le pourcentage de quartiers atteints de mammite subclinique grâce à la moyenne du taux cellulaire du lait de mélange compté sur plusieurs mois (tableau 6).

Tableau 6. Evaluation du niveau d'infection d'un troupeau à partir du nombre moyen de cellules du lait de mélange calculé sur au moins 6 mois (Sérieys, 1985c)

Nombre de cellules par ml de lait de tank	Pourcentage de quartiers atteints de mammites subclinique dans le troupeau
200 000	3 à 7
400 000	8 à 12
800 000	20 à 25

Il est nécessaire cependant d'apporter aujourd'hui une nuance dans l'interprétation des comptages cellulaires de tank. En effet, les producteurs de lait savent que le nombre de cellules intervient dans le paiement du lait. Aussi, lorsqu'ils possèdent des animaux présentant des mammites à la limite de la clinique (quelques grumeaux de temps à autre, induration d'un quartier,...) ils peuvent détourner leur lait du tank pour l'utiliser par exemple à nourrir des veaux. Les animaux restent dans le troupeau où ils constituent une source permanente de contamination mais n'apparaissent pas dans le comptage cellulaire effectué pour la laiterie. Avant d'analyser les comptages cellulaires d'un lait de mélange, il faut se renseigner sur les pratiques de l'éleveur face à cette question.

L'étude des comptages cellulaires du lait de tank permet d'avoir une idée assez juste du niveau d'infection d'un troupeau pour des germes pathogènes majeurs responsables de mammites subcliniques. En ce qui concerne les autres agents le plus souvent de mammites cliniques, comme *Escherichia coli*, les renseignements sont très limités puisque l'infection et la réaction cellulaire qui la suit sont brèves. Dans ce cas, c'est le nombre élevé de mammites cliniques, alors que le taux cellulaire reste bas, qui permettra d'orienter le diagnostic.

Taux cellulaire individuel

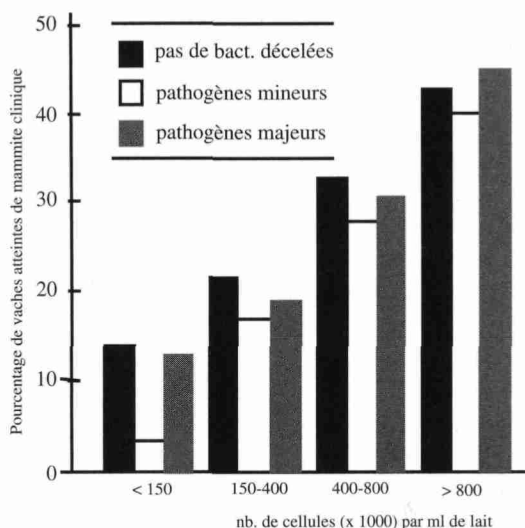
Les cellules du lait de chaque vache sont dénombrées mensuellement pour tous les élevages adhérant au contrôle laitier. Cette donnée est donc disponible chez ces éleveurs mais uniquement chez ceux-ci.

Le taux cellulaire individuel permet de connaître les animaux dont un ou plusieurs quartiers sont ou ont été récemment atteints de mammite. Même si, comme nous l'avons vu précédemment (fig. 1), il n'existe pas de relation directe entre le nombre de cellules et l'intensité de l'infection, une vache qui présente ou vient de présenter une mammite a toujours un taux cellulaire nettement supérieur à celui d'une vache saine.

Si le comptage cellulaire est effectué à la même traite que l'examen bactériologique, on peut noter que, la plupart du temps, le comptage est le plus élevé lors d'infection par un pathogène majeur, suivi des infections par un pathogène mineur puis par l'absence d'infection. Ce sont les streptocoques, *Str. uberis* et *Str. dysgalactiae*, qui entraînent la plus forte réaction cellulaire à un moment donné alors que *Sta. aureus* provoque une réaction très variée (Liu, 1988). Malgré cette tendance, le nombre de cellules est trop variable d'un cas à un autre et d'un moment à l'autre pour être utilisé dans le diagnostic étiologique des mammites.

Lorsque le comptage cellulaire est réalisé en dehors de l'épisode de mammite clinique, la corrélation entre numération cellulaire et existence préalable ou ultérieure de mammite au cours de la même lactation est nette comme le montre la figure 3.

Fig. 3. Relation entre le comptage cellulaire du lait individuel et l'existence de mammite clinique au cours d'une même lactation (d'après Faye et al.,1994).



La présence de bactéries au moment du comptage cellulaire n'intervient pas. En effet, les mammites cliniques sont traitées, de telle sorte que le germe responsable de la mammite a été le plus souvent éliminé, parfois remplacé par un autre, au moment du prélèvement.

Cependant, la variation du nombre de cellules déterminé à un moment donné est trop grande pour servir sans erreur au diagnostic des mammites. Pour assurer ce diagnostic, il faut utiliser les résultats obtenus tout au long de la lactation. Rappelons seulement ce que nous avons vu précédemment : en ce qui concerne les infections subcliniques dues à des germes pathogènes majeurs, les seuils les plus significatifs sont de 300 000 et 800 000 cellules par ml.

Les vaches dont le taux cellulaire est supérieur plusieurs fois à 800 000 par ml peuvent être considérées avec certitude comme infectées durablement. Ce sont des sources de contamination et elles devront être éliminées en priorité.

On peut également, à chaque contrôle, calculer le pourcentage de vaches à plus de 800 000 cellules par ml de lait et celles à moins de 300 000. C'est ce que fait systématiquement la feuille de contrôle laitier. Un élevage sain doit avoir respectivement moins de 5 p.100 des vaches dans le premier cas et plus de 85 p.100 dans le second.

En ce qui concerne la qualité du lait proprement dite, nous avons vu que tout comptage cellulaire supérieur à 100 000 par ml signifie une baisse de la qualité et du rendement laitiers (fig. 2). Pour les élevages dont la santé mammaire des vaches est bonne, il est possible d'aller plus loin en proposant des mesures visant à abaisser au maximum les comptages cellulaires individuels afin d'optimiser la production laitière. Soulignons cependant que ces mesures sont difficiles à mettre en place, souvent sans résultats parfaitement tangibles, de telle sorte que, la plupart du temps, elles ne sont pas économiquement valables.

Taux cellulaire de quartier

Hormis les études expérimentales pour lesquelles le comptage peut être direct, c'est à dire donner des chiffres précis, dans la pratique courante, le comptage cellulaire de quartier est estimé par le CMT selon la grille présentée au tableau 3. Il ne s'agit que d'une estimation mais elle peut être réalisée dans tous les élevages au cours d'une visite de traite et permet, encore plus que le taux cellulaire individuel, de détailler l'état d'infection dans un troupeau. Le CMT se réalise sur le lait de début de traite si bien que ses résultats ne correspondent pas forcément à ceux obtenus sur l'ensemble de la traite. Sa valeur sera estimée en tant que telle, sans comparaison avec les autres modes de comptage.

Tous les CMT positifs, +, ++ ou +++, proviennent de quartiers présentant une mammite car contenant au moins 400 000 cellules par ml. Leur pourcentage dans l'élevage permet d'avoir une idée précise du niveau d'infection du troupeau. Comme l'étude porte sur un nombre important d'échantillons (4 fois le nombre de vaches), les fluctuations individuelles s'annulent et le niveau d'infection obtenu peut être considéré comme fiable.

Le manque de précision de la méthode et les variations importantes du nombre de cellules dans le lait produit par un quartier atteint de mammite ne permettent pas de préciser le germe en cause (Ickowicz, 1985).

A l'inverse, le suivi précis du comptage cellulaire de quartiers à partir de la deuxième lactation permet d'établir un pronostic. Un comptage cellulaire moyen de moins de 250 000 par ml (CMT - ou $\pm$) en début de lactation signifie que le quartier est stérile, de 800 000 (CMT + ou ++) qu'il y a infection par des pathogènes mineurs et de plus de 3 000 000 (CMT +++) que l'infection est due à des pathogènes majeurs. Entre 15 et 40 jours de lactation, les taux cellulaires baissent dans les trois cas, n'étant plus significativement différents entre eux mais ils retrouvent leurs valeurs initiales à compter de 45 jours (Ickowicz, 1985). Un comptage cellulaire par quartier en début de lactation permettrait de discriminer de façon assez précise ceux qui risquent de rester sains pendant la lactation, ou d'être infectés par un pathogène mineur ou par un pathogène majeur.

Association des comptages cellulaires avec les autres examens.

La visite de traite.

Les comptages cellulaires de troupeau, d'individu ou de quartier ne suffisent pas à eux seuls à définir une mammite. Celle-ci est en effet la résultante de nombreux facteurs tenant, d'une part, au milieu en favorisant la présence au contact des trayons des agents pathogènes et, d'autre part, à la résistance de la mamelle contre l'invasion puis la multiplication de ces mêmes agents pathogènes. Excepté quelques cas, disparus de l'élevage français comme la mammite tuberculeuse, l'infection se fait toujours par le canal du trayon.

Les bactéries sont présentes soit dans la litière, soit sur la peau de l'animal ou dans la mamelle d'un autre animal infecté et pénètrent dans la mamelle entre les traites ou au cours de celles-ci. Il faut donc rechercher les sources d'infection par l'analyse des bâtiments d'une part, par l'étude des mammites sur l'ensemble du troupeau d'autre part. En ce qui concerne ce deuxième point, les comptages cellulaires individuels ou de quartier doivent être associés à la recherche d'indurations intramammaires qui signent une infection chronique.

Lorsque, cas de loin le plus fréquent pour les bactéries Gram +, l'infection a lieu au cours de la traite, c'est la traite elle-même qui est cause de la contamination. D'où l'importance

de la visite de traite. Le clinicien s'attache à rechercher tous les facteurs de risque de contagion d'un quartier infecté à un quartier sain. L'hygiène générale de la traite : propreté des mamelles, technique de traite, caractéristiques de la machine à traire, état des manchons trayeurs et des canalisations, est notée avec précision. Durant cette visite, l'observation des trayons, forme, lésions éventuelles de leur extrémité et de leur tégument permet de connaître l'impact de la technique de traite sur l'état sanitaire des quartiers et sur la capacité de résistance des trayons à la pression infectieuse.

L'examen bactériologique du lait peut être proposé. En effet, chaque espèce bactérienne est liée à une forme épidémiologique particulière, si bien que les mesures de lutte à mettre en œuvre lui seront définies sans difficulté. Cependant, la bactériologie est difficile à réaliser, demandant un laboratoire et des techniciens spécialisés ; d'autre part, la visite de traite et les comptages cellulaires permettent à eux seuls une précision épidémiologique suffisante ; enfin, l'excrétion bactérienne étant inconstante, les résultats du laboratoire, même lors de mammité avérée, peuvent être négatifs. Ainsi, les examens bactériologiques seront réservés aux cas particulièrement compliqués qui ne trouvent pas de solution avec les mesures classiques.

Mesures de lutte en fonction des comptages cellulaires

Les comptages cellulaires permettent de classer la majeure partie des cas de mammites dans un troupeau en deux modèles épidémiologiques : les mammites dites de traite et les mammites dites d'environnement.

Les premières sont caractérisées par une contamination au cours de la traite d'un quartier infecté à un quartier sain. Les bactéries responsables de l'infection sont toutes Gram + : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *dysgalactiae* ou *uberis* ; elles se multiplient dans l'épithélium des canaux et des acini puis dans le parenchyme, créant des nodules inflammatoires où elles peuvent persister plusieurs mois ou années. La permanence de l'inflammation et la contagion d'une vache à l'autre ont pour conséquence des taux cellulaires de quartiers, d'individus et de tank élevés. Le lait de mélange contient souvent plus de 800 000 cellules par ml, signant l'infection de plus de 20 p100 des quartiers (Tab VI). A l'inverse, les mammites cliniques sont rares, de telle sorte que l'éleveur ne s'inquiète pas nécessairement.

La mammité d'environnement se propage à partir de la litière, entre les traites, dans un troupeau dont les taux cellulaires sont faibles. Elle est due essentiellement aux Entérobactéries, *Escherichia coli* ou *Klebsiella*, et *Streptococcus uberis*. L'inflammation mammaire est intense, traduite par une mammité aiguë, mais de courte durée, car l'infection par les Entérobactéries s'élimine le plus souvent d'elle-même en quelques jours. La forme épidémiologique de la mammité d'environnement est donc l'inverse de celle de la mammité de traite : taux cellulaire du troupeau bas et nombre des mammites cliniques élevé.

D'autres formes de mammites, intermédiaire ou d'association, peuvent exister mais elles dérivent dans tous les cas des deux modèles épidémiologiques décrits ci-dessus.

Les mesures de lutte contre les mammites découlent directement des données épidémiologiques rappelées succinctement. Un taux cellulaire élevé avec peu de mammites cliniques signe une prévalence de l'infection importante. Les mesures à prendre visent donc en premier lieu à diminuer la prévalence. Un comptage cellulaire individuel ou de quartier

permet de connaître les animaux infectés. En fonction de leur nombre et de la gravité de leur mammite, ils seront soit éliminés, soit traités, notamment au moment du tarissement. La lutte contre les nouvelles infections fait appel à l'hygiène de la traite, réglage et hygiène de la machine à traire, lavage des mamelles avant la traite avec des lavettes individuelles, trempage des trayons après la traite et prévention pendant la période sèche par un traitement antibiotique.

Si le taux cellulaire du troupeau est faible et le nombre de mammites cliniques élevé, ce sont surtout les nouvelles infections, l'incidence des mammites, qui sont préoccupantes. Les mesures indiquées plus haut ne peuvent pas grand chose contre cette forme de mammite. Il faut dans ce cas lutter essentiellement contre la contamination par une hygiène stricte des locaux. Le trempage des trayons avant la traite, dit prétrempage, a un intérêt controversé, de même que les produits de trempage prévu pour obstruer le canal du trayon pendant plusieurs heures. A l'heure actuelle, il n'existe pas de moyen ni même d'ensemble de moyens sûrement efficaces pour s'opposer aux mammites d'environnement.

En dépit de cette réserve, les mesures mises en place depuis plus de vingt ans dans les pays où le lait de vache constitue un aliment de base, ont permis de faire régresser dans une proportion très élevée la fréquence des mammites.

Conclusion

Les comptages cellulaires du lait de quartiers, de vaches et de troupeaux permettent de connaître la forme épidémiologique des mammites. Associés à d'autres examens simples réalisés au cours de la visite de traite, ils fournissent des renseignements essentiels sur les mesures à mettre en œuvre pour lutter contre les mammites de façon adaptée. La preuve de leur efficacité est démontrée dans les pays où la prévention des mammites est un objectif de tous les producteurs de lait, ses transformateurs et ses consommateurs. Les comptages cellulaires réalisés régulièrement montrent également que la qualité sanitaire du lait se maintient quand les mesures adaptées sont poursuivies.

Bibliographie

1. Balloy D. (1984), Contribution à l'étude des relations entre analyses bactériologiques et cytologiques des laits de quartiers chez la Vache. *Thèse Doct. vét., Paris-Créteil*, pp. 99.
2. Berthelot X. et Bergonier R. (1995), Infections staphylococciques chez la Brebis. Données récentes. in Filière laitière et Staphylocoques dorés. *Arilait. Paris*. 30 mars 1995, 31-40.
3. Blackburn PS. (1966), The variations in the cell count of cow's milk throughout lactation and from one lactation to the next. *J. Dairy Res.*, 33, 193-198.
3. Blackburn PS. (1968), The cell count of cow's milk and the microorganism cultured from the milk. *J. Dairy Res.*, 35, 59-65.
4. Dumoulin E. et Leseur R. (1991), La qualité du lait : aspects réglementaires in Mammites des vaches laitières. *Soc. franç. Buiatrie, Toulouse*, 3-5.
5. Durand R. (1983) in Serieys F. (1985 b).
6. Eberhart RJ., Gilmore HC., Hutchinson LS. et Spencer SB. (1979), Somatic cell count in dairy herd improvment samples XVIII annual meeting of National Mastitis Council. *Washington*. 32-40.
8. Faye B., Dorr N., Lescourret F., Barnouin J. et Chassagne M. (1994), Les infections intramammaires chez la vache laitière dans l'enquête écopathologique Bretagne. *INRA Prod. anim.*, 7, 55-65.
9. Giesecke WH. et Van Den Heever LW. (1967), in Schalm et al. (1971).

10. Heuchel V. et de Cremoux R. (1995), Les infections mammaires à *Staphylococcus aureus* chez la Chèvre. Possibilité d'utilisation des numérations cellulaires pour leur dépistage et leur contrôle. in Filière laitière et Staphylocoques dorés. *Arilait*. Paris. 30 mars 25-30.
11. Ickowicz A. (1985), Cinétique du nombre total de cellules du lait de quartier chez la vache. Application à la détection et au traitement des mammites subcliniques. *Thèse Doct. vét.*, Paris-Créteil, pp. 113.
12. Kaplan MM., Abdussalam M. et Bijlenga G. (1966), Les maladies transmises par le lait. in Hygiène du lait. *OMS*, Genève, 13-77.
13. Lee CS., Wooding FB. et Kemp P. (1980). Identification, properties and differential counts of all populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrum and milk from normal cows. *J. Dairy Res.*, 47, 39-50.
14. Lindstrom UB., Kenttämies H., Arstila J. et Tuovila R. (1981). Usefulness of cell counts in predicting bovine mastitis. *Acta Agr. Scand.*, 31, 193-203.
15. Liu Y. (1988), Contribution à l'étude des relations entre numérations cellulaires et bactériologiques des laits de quartier en cas d'infection subclinique chez la vache. *Maîtrise ès-Sci. vét.*, Alfort, pp. 58.
16. Lutz H., Breer C. et Meyer B. (1975), Counting somatic cells in milk with a flow-through-cytophotometer. in Proceed. Seminar on mastitis control. FIL-IDF, Doc. 85, Bruxelles, 130-132.
17. Miller RH., Emanuelson U., Persson E., Brolund LÅ., Philippon J. et Funke H. (1983), Relationships of milk somatic cell counts to daily yield and composition. *Acta Agr. Scand.*, 39, 209-223.
18. Natzke RP., Everette RW., Guthrie RJ., Keown JF., Meek AM., Meril WG., Roberts SJ. et Schmidt GH. (1972), Mastitis control proGramm : effect on milk production. *J. Dairy Sci.*, 55, 125b-1260.
19. Neave FK. (1975), Diagnosis of mastitis by bacteriological methods alone. in Proceed. Seminar on mastitis control. Doc. 85. FIL-IDF, Bruxelles, 19-36.
20. Ng-Kwai-Hang DF., Hayes JF., Moxley JE. et Monardes HG. (1984), Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 67, 361-366.
21. Olney GR. et Mitchell RK. (1983), Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection. II. Vacuum level and overmilking. *J. Dairy Res.*, 50, 141-148.
22. Olney GR. et Scott GW. (1983), Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection. III. Pulsator rate. *J. Dairy Res.*, 50, 149-152.
23. Olney GR., Scott GW. et Mitchell RK. (1983), Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection. I. Vacuum fluctuations. *J. Dairy Res.*, 50, 135-140.
24. Pearson JKL., Geer DO. et Spence BK. (1971), *The relationship* between bulk milk cell counts and cow and quartier mastitis incidence. *Vet. Rec.*, 88, 488-494.
25. Prescott SC. et Breed RS. (1910) The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *J. inf. Dis.*, 7, 632-640.
26. Reichmuth J. (1975), Somatic cell counting. Interpretation of results. in Proceed. Seminar on mastitis control. FIL-IDF, Doc 85, Bruxelles, 93-115.
27. Ruffo G. (1968), in Schalm et al. (1971).
28. Schalm OW. et Noorlander DO. (1957), Experiments and observations leading to the development of the California Mastitis Test. *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, 130, 199-204.
29. Schalm OW., Carroll EJ. et Jain NC. (1971), Bovine mastitis. Lea et Febiger, Philadelphie, éd. Chap. 6. Number and types of somatic cells in normal and mastitic milk. 94-157.
30. Schmidt-Madsen P. (1975), Fluoro-opto-electronic cell counting of milk. in Proceed. Seminar on mastitis control. FIL-IDF, Doc. 85, Bruxelles, 133-135.

31. Serieys F. (1985a), Concentration cellulaire du lait individuel de vache : influence de l'état d'infection mammaire, du numéro, du stade de lactation et de la production laitière. *Ann. Rech. vét.*, 16, 255-261.
32. Serieys F. (1985b), Utilisation de la numération des cellules du lait de vache dans la lutte contre les mammites. *Thèse Doct. Ing.* ENSA Montpellier, pp. 83.
33. Serieys F. (1985c), La numération des cellules du lait : interprétation pour le diagnostic et le suivi des infections mammaires. *Rec. Méd. vét.*, 161, 553-566.
34. Smith JW. et Schultze WD. (1967), Variation in cell content of milk associated with time of sample collection. I. Diurnal variation. *J. Dairy Sci.*, 50, 1083-1091.
35. Westgarth DR. (1975), Interpretation of herd bulk milk cell counts. in Proceed. seminar on mastitis control. FIL -IDF, Doc. 85, Bruxelles, 110-115.
36. Wittlestone WG., Kilgour R, Delangehn et Duirs G. (1970), Behavioral stress and cell count of bovine milk. *J. Milk Food Techn.*, 33, 217-220.

La mammite subclinique : étude épidémiologique utilisant le CMT, le CCS et la microbiologie

Z. ZOUAGUI*, H. LAKHDISSI**, H. IDRISSE***, G. BONIFACE**

* *Département de Pathologie Médicale et Chirurgicale des Ruminants. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II - Rabat.*

** *Département de Reproduction et d'Insémination Artificielle - Institut Agronomique et vétérinaire - Hassan II*

*** *Département de Microbiologie, Immunologie et Maladies Contagieuses. Institut Agronomique et Vétérinaire - Hassan II.*

Introduction

La rentabilité d'un élevage bovin laitier est le résultat d'un long processus d'intensification de productions et de contrôle continu d'entités pathologiques très diverses. Les infections mammaires représentent à cet égard un handicap sérieux au développement du secteur laitier. Très répandues dans le monde, les mammites se classent parmi les affections les plus lourdes de conséquences sur un élevage laitier (16, 18, 23, 27). Causées par des germes très variés et à multiples conditions d'apparition, elles s'accompagnent d'une importante baisse de production pouvant atteindre les 50% (6). Elles sont également associées à une baisse de la qualité nutritive et hygiénique du lait et produits dérivés (2, 6, 26), avec des répercussions défavorables sur la santé humaine (17).

70 à 80% de ces pertes sont dues à la forme subclinique (4, 21, 23) dont le seul élément de suspicion est la modification organoleptique et physicochimique du lait. Les résultats d'une enquête réalisée en 1985 montre qu'au Maroc plus de 53,8% des mammites sont subcliniques (28).

En dépit de cette forte prévalence, seul le CMT (California Mastitis Test) est utilisé (à échelle réduite) pour le dépistage précoce et régulier. Certes la production d'un lait de qualité n'est pas rémunératrice actuellement, mais l'initiative d'un programme de contrôle de qualité pourrait tout de même sensibiliser davantage les éleveurs pépiniéristes sur l'utilisation du comptage des cellules somatiques (CCS).

Cette étude s'est fixée comme objectifs :

- 1 - l'étude de la prévalence des mammites subcliniques dans la région de Meknes.
- 2 - l'étude de la complémentarité du CMT et du CCS dans le cadre d'un programme de lutte contre les mammites subcliniques.
- 3 - l'étude du profil bactériologique des germes responsables dans la région.

Matériel et méthode

Huit (8) exploitations dans la région de Meknes (tableau 1), dont les effectifs varient entre 8 et 60 vaches laitières, ont été concernées par cette étude menée sur une période de 5 mois (décembre 1994 - avril 1995). Ces troupeaux sont soumis à un contrôle laitier mensuel. La production laitière moyenne varie de 3870 à 6257 en 305 jours.

Tableau 1. Caractéristiques des exploitations

Exploitation	Effectif	Numéro de lactation moyen	Système de traite (CMT)	Diagnostic des mammites	Traitement au tarissement (lavage des trayons)	Hygiène de la traite (lavage des trayons)
E ₁	60	4,56	Manuelle	Non	Irrégulier	Oui
E ₂	50	3,46	"	Oui	Oui	"
E ₃	8	4,62	"	Non	Irrégulier	"
E ₄	30	5,02	"	Non	"	"
E ₅	30	2,49	"	Non	"	"
E ₆	28	3,43	"	Non	"	Non
E ₇	30	3,03	"	Non	"	Oui
E ₈	25	2,80	"	Non	"	Oui

Les vaches en lactation ont été soumises à un CMT individuel par quartier en début de traite à une fréquence mensuelle. Tout quartier présentant un score CMT supérieur ou égal à 2 a fait l'objet d'un prélèvement pour réaliser le CCS. Les échantillons ont été prélevés dans des flacons de 25 ml après nettoyage des trayons et élimination des premiers jets. Le comptage cellulaire direct a été réalisé par microscopie directe selon la méthode décrite par Packard et al. (20).

Les prélèvements pour la bactériologie ont été effectués selon le rythme suivant :

- Un échantillon sur quatre pour les scores CMT2.
- Un échantillon sur deux pour les scores CMT 3 et 4.

Dans ce cas, les échantillons ont été prélevés dans des tubes stériles de 20 ml après nettoyage, désinfection des trayons et élimination des premiers jets. Tous les échantillons sont identifiés et placés dans une glacière à température réfrigérée (4-8°C) et transportés au laboratoire où ils sont analysés dans les 24 heures. L'analyse bactériologique a été réalisée selon les procédures standard (3).

Les données du contrôle laitier, de reproduction et de santé ont été saisies à l'aide du logiciel DairyCHAMP® (29).

Analyses statistiques : Le test d'indépendance (KHI - 2) a été utilisé pour mettre en évidence les relations existantes entre le CMT et le CCS ainsi qu'entre différentes variables testées.

Résultats

Au total 3448 quartiers ont été soumis au test CMT et 1114 au comptage cellulaire direct. Les résultats du CMT (tableau 2) montrent que 31% des quartiers sont atteints de mammites subcliniques (CMT $\geq$ 2). Il a été d'autre part mis en évidence que 4% des quartiers sont taris.

Tableau 2. Répartition des quartiers sains et ceux atteints de mammite subclinique.

Score CMT	Nombre de quartiers	Pourcentage (%)
CMT 0 et 1	2236	64,5%
CMT 2, 3 et 4	1114	31%
Quartiers taris	162	4,5%

En fait, cette moyenne masque des situations différentes dans les exploitations étudiées. L'analyse détaillée par exploitation fait ressortir 4 groupes significativement différents les uns des autres (tableau 3).

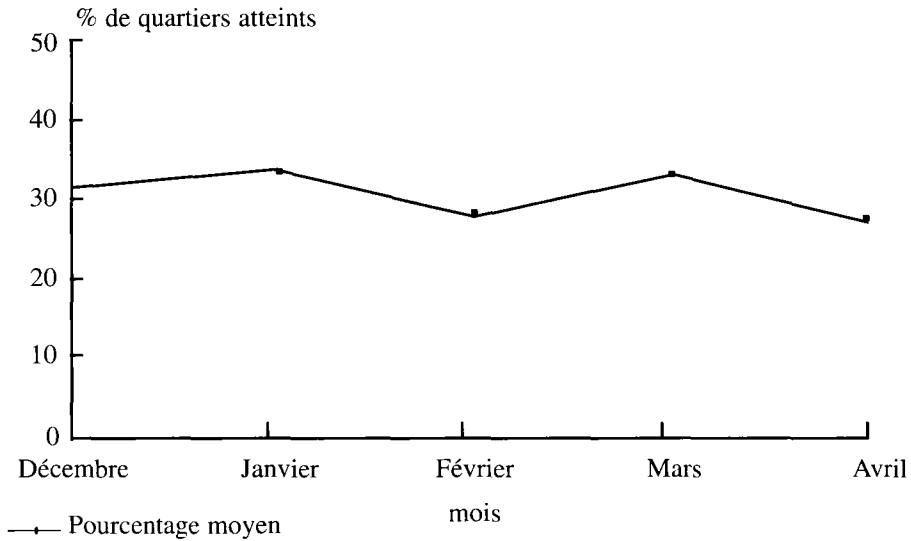
Tableau 3. Proportion des mammites subcliniques par exploitation (CMT $\geq$ 2).

Exploitation	E1 N=909	E2 N=640	E3 N=123	E4 N=415	E5 N=427	E6 N=295	E7 N=251	E8 N=388	Total N=3448
Scores CMT									
Pourcentage de mammites 2 subcliniques	36 c	5 b	10 b	29 c	47 a	49,5 a	19 d	59 a	31

- Les exploitations E5, E6 et E8 (G1) : plus de 47% de quartiers atteints.
- Les exploitations E1 et E4 (G2) avec 30 à 36% de quartiers atteints.
- L'exploitation E7 (G3) avec 19% de quartiers atteints.
- Les exploitations E2 et E3 (G4) dans lesquelles moins de 10% de quartiers sont atteints de mammites subcliniques.

Par ailleurs, l'analyse de l'évolution mensuelle du pourcentage de mammites subcliniques montre une légère fluctuation de ce taux sans pour autant qu'elle soit significative (figure 1).

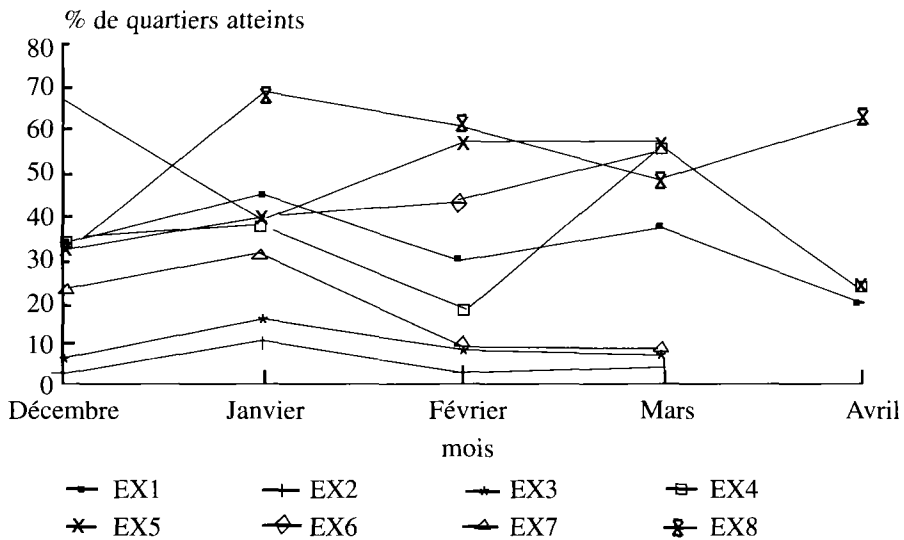
Figure1. Evolution mensuelle du pourcentage moyen des mammites subcliniques.



Dans le but de mieux élucider la représentativité de cette évolution, l'analyse a été reprise, comme pour le cas de la moyenne globale, exploitation par exploitation (figure 2) : les constatations suivantes peuvent être faites :

- Le groupe 4 présente une évolution pratiquement linéaire pendant les 5 mois de l'étude.

Figure 2. Evolution mensuelle des mammites subcliniques par exploitation



*La mammite subclinique :
étude épidémiologique utilisant le CMT, le CCS et la microbiologie*

- Le groupe 2 avec un tiers des quartiers atteints reproduit exactement la moyenne globale et explique avec le groupe 4 la diminution enregistrée au mois 3.
- La forte incidence de quartiers mammitiques dans le groupe 1 accentue le pic du mois 2 et explique en partie l'atténuation de la chute du mois 3.

Les différences enregistrées entre les groupes sont-elles dues à des facteurs intrinsèques ou extrinsèques aux exploitations ? Pour répondre à cette question, nous avons procédé à l'analyse des facteurs suivants :

- Effet de la taille d'exploitation :

Lorsqu'on écarte l'exploitation E3 avec 8 vaches et dans laquelle le pourcentage de quartiers atteints est de 10% ainsi que l'exploitation E2 qui présente un bon degré d'hygiène, la taille des exploitations varie de 25 à 30 vaches.

- Effet du numéro de lactation :

Trente six pour-cent (36%) des quartiers des vaches en 2ème et 3ème lactation sont atteints de mammites subcliniques contre 20% pour les primipares et les vaches à plus de 4 lactations ($P < 0.05$) Cette situation se retrouve dans le groupe 2 uniquement et ne se vérifie pas dans les autres groupes (tableau 4)

Tableau 4. Effet du numéro de lactation sur les mammites subcliniques.

Numéro de lactation Groupes d'exploitations	Primipares N=263	2-3 L N=400N	3-4 L N=205	> 5 L N=242
G1 (E5, E6, E8)	31	37	25	7
G2 (E1, E4)	12	34,5	10	43,5
G3 (E7)	36	36	28	0
G4 (E2, E3)	25	33	20	22
Global	23	36	19	22

- Effet du stade de lactation :

Il ressort de l'analyse de l'effet du stade de lactation (tableau 5) que le pourcentage de quartiers atteints de mammites subcliniques est de 36% dans le premier mois après vêlage. Il descend à 10% au 2ème mois pour remonter à 25% en fin de lactation.

Cette situation se retrouve dans les exploitations des groupes 1 et 2 uniquement. Par contre, les exploitations du groupe 4 présentent une évolution croissante avec le stade de lactation, alors que l'exploitation 7 présente un taux stable au cours de la lactation.

Tableau 5. Effet du stade de lactation sur les mammites subcliniques.

Stade de lactation par groupes d'exploitation	1er mois	2-3 mois	4-6 mois	> 6 mois
G1	35	8	27	30
G2	41	11	26	22
G3	29	24	20	27
G4	8,5	10,5	15	66
Global	36	10	26	28

- Relation entre le CMT et le CCS

Les résultats du comptage cellulaire par score CMT sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6. Moyenne du CCS en fonction des scores CMT.

Score CMT	Moyennes des CCS Cellule (103 / ml)	Moyenne théorique
2	766 ± 143	500.000 à 1.500.000
3	3325 ± 324	800.000 à 5 M
4	9740 ± 1134	> 5 M

Ces données montrent que le nombre de cellules somatiques est proportionnel au score CMT. Les tests KHI-2 réalisés à partir des données globales montrent l'existence d'une relation de dépendance linéaire entre les 2 tests (P = 0.001).

D'autre part et sur la base de 500.000 cellules par millimètre qu'on s'est fixé comme limite entre quartier sain et quartier atteint de mammite subclinique, la comparaison des résultats du CMT et du CCS montre que (tableau 7) :

- Le pourcentage des CCS conformes aux scores CMT, augmente significativement avec le score CMT : 56,5% pour le score CMT 2, 63% pour le score CMT 3 et 97% pour le score CMT 4.
- 15% des CCS du score CMT 2 sont supérieurs aux normes de ce score et de ce fait le test CMT sous-estime l'état d'infection de la mamelle à ce stade. Par ailleurs, 28% environ des CCS sont inférieurs aux normes requises pour ce score et de ce fait le test CMT surestime l'état d'inflammation de la mamelle.

Les mêmes remarques peuvent être faites avec le score CMT 3.

Cependant la gravité est moindre dans ce cas puisque les animaux, présentant des scores CMT de ce genre, sont systématiquement traités.

Tableau 7. Pourcentage des scores CMT à niveau cellulaire différent du comptage.

CMT	2	3	4
Normes			
Scores CCS = normes CMT	63		97%
Scores CCS < aux normes CMT	15	9,5%	7%
Scores CCS > aux normes CMT	27,5%	27,5	0%

- Profil bactériologique des germes responsables

Le nombre de prélèvements traités s'élève à 592 échantillons. Le pourcentage de cultures négatives est de 44%.

Parmi les germes pathogènes isolés, on note la prédominance des streptocoques hémolytiques et de *Staphylococcus aureus* avec respectivement 33, 51 et 24,8 % du total des germes isolés (tableau 8). Les germes dit hautement pathogènes (*Staphylococcus aureus* et les streptocoques hémolytiques) ont été isolés dans plus de 50% des cas dans les

exploitations du groupe 1, ayant aussi le taux le plus élevé de quartiers atteints. Ce pourcentage est de l'ordre de 40% pour les exploitations du groupe 2 et de 30% pour le groupe 3.

Tableau 8. Nombre et nature des germes isolés par exploitation.

Nature du germe Exploitation	Staph. aureus	Strept. hémolytiques	Pourcentage des Staph aureus et des strept hémolytiques (%)	Streptocoques non hémolytiques	Staphylocoques non pathogènes	Coliformes	Levures	Autres	Total
1	12	15	40	34	1	3	1	1	67
2	2	9	31	16	6	-	1	1	35
3	-	-	0	11	7	3	-	-	21
4	12	8	44	15	3	3	1	3	45
5	33	9	58	13	2	11	2	2	72
6	11	8	54	10	2	2	1	1	35
7	9	7	40	12	8	1	3	-	40
8	13	10	45	13	10	1	3	1	51
TOTAL	92	66	158	124	39	24	12	9	366
Pourcentage	24,86	17,84	43	33,5	10,54	6,5	3,24	2,43	

Discussion

La proportion des quartiers présentant un CMT supérieur ou égal à 2 (31%) est un indicateur de la forte prévalence des mammites subcliniques dans la région de Meknès. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans d'autres régions du Maroc et qui avoisinent les 35% (28), mais loin des normes recommandées (24).

L'analyse par exploitation fait cependant ressortir que le taux de mammites subcliniques varie de 5 à 59% et que différents groupes peuvent être distingués. Ces différences entre les fermes montre que les mammites subcliniques peuvent revêtir des aspects différents correspondant à des situations propres à chaque exploitation, comme cela a été rapporté pour les métrites (15). Ainsi le faible taux de mammites pourrait être expliqué dans le cas de l'exploitation 3 par son faible effectif, dans la mesure où les mesures d'hygiène sont plus faciles à appliquer (8). Dans l'exploitation E2 et malgré son effectif important, ce sont surtout les mesures prophylactiques (dépistage, traitement au tarissement) qui maintiennent ce taux bas comme cela a été rapporté (11).

La mauvaise hygiène et l'absence d'une synergie adéquate entre facteurs humains et techniques à des degrés plus ou moins importants selon les étables comptent parmi les facteurs extrinsèques expliquant la forte prévalence dans les autres exploitations (19).

La répartition globale des quartiers atteints (CMT $\geq$ 2) en fonction du numéro de lactation

se vérifie pour les animaux du groupe G1 et moins pour les animaux des groupes G3 et G4. Concernant les animaux du groupe G2, nous notons en plus que les individus ayant plus de 5 lactations sont plus touchés, ce qui correspond à des situations déjà décrites (25, 13, 21). Par ailleurs, la prédominance des streptocoques hémolytiques et de *Staphylococcus aureus* parmi les germes pathogènes expliquent en grande partie la forte prévalence des mammites dans la région en général et dans certains groupes d'exploitation en particulier. Le pourcentage d'isolement de ces germes dépasse dans ces exploitations les 45%. En effet, les germes de contamination sont par rapport aux germes environnementaux beaucoup plus liés à une forte prévalence des mammites subcliniques (9, 10, 22).

Or, la lutte contre ces germes dépend essentiellement des mesures d'hygiène pendant la lactation (hygiène de la traite et trempage des trayons) et pendant la période de tarissement (traitement au tarissement) (11, 23).

D'autre part, les taux élevés observés pendant les premières et les dernières semaines de lactation correspondent à ce qui a été rapporté par plusieurs auteurs et qui s'explique par l'effet de concentration cellulaire dans un volume de lait relativement faible en début et vers la fin de chaque lactation (10, 13, 23).

Le taux mensuel moyen des quartiers atteints de mammites subcliniques reste stable pendant la période d'étude. Ceci est en accord avec les résultats d'Hamadou (8). Cependant d'autres auteurs (10, 14) ont rapporté que le taux de mammites subcliniques tend à augmenter pendant la saison chaude. Ces auteurs faisaient allusion à la prolifération des germes de l'environnement comme explication à cette augmentation. Dans cette étude et comme cela a été souligné plus haut, les germes de contamination sont dominants. D'autre part, la période d'étude s'est étalée du mois de décembre au mois d'avril et n'a donc pas concerné la saison chaude. Notons également que les variations en dents de scie enregistrées dans certaines de ces exploitations sont probablement dues à des traitements irréguliers des vaches atteintes comme suggéré par Fadriq (7).

Parmi les 592 prélèvements analysés, 44% se sont révélés stériles. Ce chiffre est comparable à celui de Bazins (1) et inférieur à celui de Taoufiq (28) pour des scores CMT identiques. Ceci serait dû entre autres à l'existence d'antibiotiques ou d'inhibiteurs naturels dans le lait, soit encore à l'inadéquation des milieux d'isolement pour certains germes comme *Mycoplasma bovis* (5, 12).

La comparaison du CMT et du CCS a montré l'existence d'une relation très hautement significative entre les deux tests. Cependant, 27,5% des quartiers ayant des scores CMT 2 ont des comptages cellulaires qui les placent dans la fourchette du niveau des mammites subcliniques CMT 3, comme cela a été rapporté par Hamadou (8). Ces résultats doivent être considérés lorsqu'une lutte contre les mammites est envisagée.

Dans ce cadre, seule une complémentarité entre les tests CMT et le CCS pourrait faciliter un repérage correct des vaches nécessitant un traitement immédiat ou différé.

Références

1. Bazins (1983), Les mammites subcliniques : diagnostic, incidence et dynamiques des infections. *Bul. Soc. Vet. Prot. France*. Janvier. T: 67, N°1 : 28-50.
2. Bennet R. (1992). Lead, follow or get out of the way. the new PMO Sc. c policy National mastitis council, JNC 31st annual Meeting. Arlington, Virginia : 52-58.
3. Blobel H. and Schliver T. (1980). *Handbuch der bakteriellen Infektion bei tieren*. Bd. II. Gustav Fisher Verlag, Jena.

*La mammite subclinique :
étude épidémiologique utilisant le CMT, le CCS et la microbiologie*

4. Blosser T.H. (1979), Economic losses and the National Research programs on mastitis in U.S. *J of Dairy Sci* 62 : 119-126.
5. Bouchot et al. (1995), Diagnostic bactériologique des infections mammaires des bovins. *Rec. Med. Vet*; 161 (67) : 587-601.
6. Eberhart R.J., Harmon R. et al. (1987), Current concepts of bovine mastitis. The national mastitis council. Arlington V.A 2220 L 3d edition 6-47.
7. Fadriq A. (1988), Contribution à l'étude d'un programme anti-mammmites dans dix élevages laitiers de la SO.DE.A. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*, I.A.V. Hassan II, Rabat-Maroc.
8. Hamadou G. (1994), Dépistage des mammmites subcliniques dans les exploitations laitières : Le comptage des cellules somatiques. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*. I.A.V. Hassan II, Rabat-Maroc.
9. Hogan J.S., Hablet K.K., Schoenberger P. S. et al. (1988), Monitoring bulk tank milk in ten well managed herds. National Mastitis Council, INC, 27th Ann.Meeting, Reno, Nevada.
10. Harmon Robert J. and Reneau J.K. (1993), Factors affecting somatic cell counts in milk. National mastitis council; INC. 32nd Ann. Meeting.
11. Faul W.B. and Huges J.W. (1987), Mastitis notes for dairy practitioners. 4th revised edition. Liverpool Univ. Press : 16-28.
12. Jasper D.E. (1981), Bovine mycoplasmae mastitis. *Adv. Vet. Sci. Comp.Med.* 25 : 121-159.
13. Kennedy B.W., Sethar M., Tong A. and Moxley J. (1982), Environmental factors influencing test day somatic cell counts in Holstein. *J. of Dairy. Sci.*, 65 : 275-280.
14. Lahlou-Kassi A. and Marie M. (1976), Etude des mammmites bovines dans une exploitation laitière. Hommes-Terres et Eaux. Rabat - 5 : 3-26.
15. Lakhdi H. (1990), Le programme d'action vétérinaire intégré de reproduction : Outil de gestion de reproduction dans les élevages laitiers. *Thèse Doct. es. Sci. Agro.* I.A.V Hassan II. Rabat.
16. Millet V. (1988). Mammmites : Attention danger : BITA - *Revue française de la génétique et la reproduction*. N° 50 : 42-44.
17. Morris R.S. and Marsh W.E. (1985), An economic assesment of control measures for bovine mastitis progress in the control of bovine mastitis. IDF seminar. Feder. Dairy res. center, Kiel 244-252.
18. Natzke R.P. (1981), Elements of mastitis control. *J. of Dairy Sci.* 64 : 1431 - 1442.
19. Neave F.K., Dodd F. H., Kingwill R.G. and Westger (1969), Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J. Dairy. Sc.* 52 (5) : 696-707.
20. Packard V.S. and Ginn R.E. (1985), Direct microscopic methods for the examination of dairy products. 15th Edition 219-237.
21. Reneau J.K. (1986), Dairy herd performance evaluation : Mastitis monitors. *The bovine proceedings* N°18 : 38-49.
22. Reneau J.K. (1986), Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. of Dairy Sci* : 69 : 1708-1720.
23. Reneau J.K. (1990), Somatic cell counts. Monitoring new infections and Herd status. National Mastitis council. INC. 29th Ann. Meeting. Louisville, Kentucky.
24. Rivard G.M.V. (1987), Séminaire technique sur la production laitière. 2 juillet 1987, INAV Hassan II. Rabat.
25. Schalm D.W., Carrol E. J., Jain N.C. (1971), Bovine mastitis, School of Veter. Med. University of California. Lea and Febriger pH. 94- 157.
26. Shearer J.K., Schmidt R.M. and R J.K. (1992), Monitoring milk quality and udder health in large herd management. *Ame. Dairy Sci. Assoc.* Edit. Van Horn H. H Wilcox. 475-486.
27. Schukken Y., Grommers F., Van de Green D. and Erb H. (1990), Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. *J. of Dairy, Sci.* 73 : 34-63.
28. Taoufiq H. (1986), Epidémiologie des mammmites bovines : Résultats d'une enquête. *Thèse de Doctorat Vétérinaire*. I.V.A Hassan II. Rabat.
29. Undoprasert P. and Williamson N.B. (1990), The dairy-CHAMP program : a computerized recording system for dairy herds. *Vet. Record.* 127, (10) : 256-262. *Thèse pour le Doctorat Vétérinaire*. I.N.A.V. Hassan II - Rabat - Maroc.

Diagnostic précoce de gestation chez les bovins par dosage d'une protéine trophoblastique : la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : Bovine Pregnancy Associated Glycoprotein)

J. CHEMLI*, D. TAINTURIER**, J.F. BECKERS***, L. HMIDI*, I. ZAIEM*

* Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

** Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, C.P. 3013, 44087 Nantes Cedex 03, France.

*** Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, B 4000, Sart-Tilman, Belgique.

Résumé

Quarante cinq femelles bovines (32 vaches et 13 génisses) Prim'Holstein et «Croisées» ou «Locales» ont été choisies pour évaluer la méthode du diagnostic précoce de gestation par dosage radio-immunologique de la bPAG (bovine Pregnancy Associated Glycoprotein) dans leur plasma. Les résultats ont été comparés avec ceux obtenus par palpation transrectale. La fiabilité de la méthode chez les génisses est nettement supérieure à celle des femelles pluripares. Pour le diagnostic précoce de gestation, la valeur seuil de 0,5 ng de bPAG/ml de plasma peut être abaissée à 0,4 ng/ml chez la génisse; mais le diagnostic ne peut être pratiqué avec une fiabilité suffisante qu'après le 35ème jour post-insémination artificielle ou saillie naturelle, et à condition d'être chez la vache, particulièrement celle de race laitière, à plus de 100 jours du vêlage précédent, en raison de la persistance d'un taux de bPAG résiduel au cours du postpartum.

Mots-Clés : Protéines trophoblastiques - bPAG - Diagnostic de gestation - Bovins.

Summary

Early pregnancy diagnosis in bovine females by titration of one trophoblastic protein: bovine Pregnancy Associated Glycoprotein (bPAG).

By J. CHEMLI, D. TAINTURIER, J.F. BECKERS, L. HMIDI, I. ZAIEM

Forty five bovine females (32 cows and 13 heifers) were selected for appraisal of early diagnosis of pregnant by RIA titration of bovine Pregnancy Associated Glycoprotein (bPAG) in their plasma. The results of this method were compared with transrectal palpation. Fiability of this method is plainly better in the heifers than in the cows. For the early pregnancy diagnosis, the value of 0,5 ng of bPAG/ml of plasma can be lowed at 0,4 ng/ml in heifers. The best fiability of method can be observed in 35th day post-insemination, and in a condition that the dairy cow is tested 100 days after the last parturition, on account of residual persistence concentrations of bPAG during postpartum period.

Key-Words : Trophoblastic proteins - bPAG - Pregnancy diagnosis - Cattle.

Introduction

Depuis le stade blastocytaire et jusqu'à la parturition, les cellules trophoblastiques bovines synthétisent et sécrètent un grand nombre et une grande quantité de molécules, dont quelques unes seulement sont parfaitement connues.

A côté des protéines à activité hormonale, d'autres, présentes pendant toute ou une partie de la gestation, ont un rôle inconnu. Mises en évidence au cours de ces dernières années, la plupart de ces protéines, apparemment sans activité hormonale, restent localisées au niveau de l'utérus. Elles ne paraissent donc pas utilisables pour de nouvelles méthodes de diagnostic de gestation.

Cependant, à l'heure actuelle, certaines de ces protéines semblent très intéressantes : elles sont mieux identifiées et surtout, se retrouvent dans le sang maternel, ce qui permet de les utiliser comme méthode de diagnostic de gestation chez les bovins. Ce sont la protéine B de Sasser ou PSPB (Pregnancy Specific Protein B) (11,15,20,21), la protéine sérique de gestation ou PSG60 (3) et, tout récemment isolée, purifiée puis caractérisée par des chercheurs en Belgique, la protéine bovine associée à la gestation ou bPAG (bovine Pregnancy Associated Glycoprotein) (1,22,23,25).

Très étroitement associée à la gestation, la bPAG, tout comme la PSPB et la PSG60, est libérée précocement et tout au long de la gestation dans le sang maternel. Elle est détectée dans la circulation maternelle de certaines femelles gestantes à partir du 22ème jour et chez toutes les femelles à partir du 35ème jour après la conception (22,25). La bPAG pourrait donc être utilisée comme méthode alternative pour un diagnostic précoce de gestation chez les bovins, dont l'intérêt économique considérable n'est plus à démontrer. Mais tout comme la PSPB et la PSG60, la cinétique de la bPAG dans le sang maternel au cours du postpartum se caractérise par la persistance d'une quantité résiduelle importante de la protéine (3,11,12,13,14,17,22). La bPAG ne disparaît du sang maternel qu'environ 100 jours après la parturition, ce qui constitue un inconvénient majeur pour le diagnostic précoce de la gestation suivante chez les femelles bovines pluripares, particulièrement celles de race laitière bien souvent inséminées précocement après le vêlage (22).

L'objectif du présent travail est d'évaluer, en se basant sur une étude expérimentale menée dans un grand troupeau laitier et un moyen troupeau «allaitant», les résultats du dosage radio-immunologique de la bPAG en vue d'un diagnostic précoce de gestation chez les bovins, en comparaison avec ceux obtenus par palpation transrectale.

I. Matériel et méthodes

L'expérimentation s'est déroulée du mois d'octobre 1992 au mois de mars 1993, dans deux exploitations différentes: la ferme du CPRVE (Centre de Perfectionnement, de Recyclage et de Vulgarisation en Elevage) située à Sidi Thabet, dans le gouvernorat de l'Ariana, et la ferme Zayana, relevant du Ministère de la Défense Nationale, implantée à Fondouk Jedid, dans le gouvernorat de Nabeul, toutes deux distantes d'une vingtaine de kilomètres de Tunis.

1. Animaux

Au cours de cette étude, 45 femelles bovines laitières et «allaitantes» (32 vaches et 13 génisses), ont fait l'objet de notre travail.

* **Les femelles laitières**, de race Prim' Holstein, au nombre de 31, appartiennent à la ferme du «CPRVE». Elles se répartissent en 22 vaches âgées de 3,5 à 9,5 ans et 9 génisses âgées de 1,5 à 2,5 ans. Les animaux reçoivent une alimentation à base de fourrage (ensilage et foin) complétée par du concentré pour vaches laitières dont la quantité est distribuée selon le stade physiologique de la femelle. Dans cette exploitation, le recours à l'insémination artificielle est de règle.

* **Les femelles allaitantes**, de population «Croisée» ou «Locale», au nombre de 14, appartiennent à la ferme Zayana. Elles se répartissent en 10 vaches âgées de 3 à 9,5 ans et 4 génisses âgées de 1,5 à 2,5 ans. L'alimentation est à base de fourrage vert ou de chaumes. Elle est complétée par un aliment concentré, associé au foin.

Deux taureaux de race «Locale» et deux autres métis: «Charolaise x Blonde d'Aquitaine» constituent les reproducteurs du troupeau.

2. Critères de choix des animaux

2.1. Critères d'inclusion

Le choix des animaux s'est basé sur des critères qui peuvent avoir une influence directe ou indirecte sur les résultats.

Il s'agit de la race des femelles (Prim' Holstein ou «Croisée» et «Locale»); de l'âge des animaux ou parité (vaches ou génisses), du rang d'insémination (nombre d'inséminations entre le dernier vêlage et l'insémination fécondante), du délai entre le vêlage et le prélèvement sanguin pour le dosage de la bPAG ($\geq$ ou $<$ à 100 jours) et de l'état sanitaire des femelles (toutes les femelles retenues étaient en bon état de santé et d'entretien).

2.1. Critères d'exclusion

Toutes les femelles ayant présenté un retour en chaleurs après l'insémination artificielle ou la saillie naturelle présumée fécondante n'ont pas été concernées par notre étude.

3. Protocole expérimental

3.1. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG

3.1.1. Prélèvements de sang

Les 45 femelles choisies ont fait l'objet chacune d'un prélèvement de sang (20 ml) sur héparinate de Lithium, effectué à la veine jugulaire. Ces prélèvements ont été réalisés entre le 21^{ème} et le 41^{ème} jour après l'insémination artificielle ou la saillie naturelle présumée fécondante pour 41 d'entre-elles et entre le 61^{ème} et le 77^{ème} jour post-conception pour les génisses «Croisées» ou «Locales».

Après décantation, les échantillons sanguins sont centrifugés à 3000 tours par minute, pendant 10 minutes. Les plasmas obtenus sont recueillis et répartis dans deux tubes. Ils sont ensuite identifiés puis stockés à -20°C dans un congélateur.

Les échantillons, ainsi conservés, ont été envoyés en Belgique et congelés dans de la carboglace.

3.1.2. Dosage radio-immunologique de la bPAG

Tous les plasmas ont été dosés au laboratoire de Physiologie de la Reproduction de la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège (Service du Professeur Beckers).

Les concentrations plasmatiques de la bPAG ont été déterminées par une technique radio-immunologique classique, utilisant l'Iode125 comme marqueur. Cette méthode est spécifique, sensible et précise (1,22,23,25).

Les résultats du dosage sont exprimés en ng de bPAG/ml de plasma et le seuil de positivité retenu pour le diagnostic de gestation est de 0,5 ng/ml (1,22,25).

3.2. Diagnostic de gestation par palpation transrectale

Les 45 femelles choisies ont également fait l'objet chacune d'un diagnostic de gestation par palpation transrectale (PR), réalisé entre le 45ème et le 90ème jour post-insémination ou saillie naturelle. Ce diagnostic a été à chaque fois confirmé (PR+) ou infirmé (PR-) par une deuxième palpation transrectale effectuée 4 à 5 semaines après le premier examen.

Le diagnostic de gestation par palpation transrectale n'a été en aucun cas influencé par les résultats du dosage radio-immunologique de la bPAG.

3.4. Influence de la race et/ou de la parité sur la concentration plasmatique moyenne de la bPAG au stade précoce de gestation

3.4.1. Influence de la race de la mère

Pour étudier une éventuelle influence de la race de la mère sur la concentration plasmatique moyenne de la bPAG au stade précoce de gestation (entre J26 et J41), nous avons comparé, chez les femelles pluripares à bPAG+ uniquement (n=24), les concentrations plasmatiques moyennes de la bPAG entre les deux races retenues (Prim' Holstein et «Croisée» ou «Locale»).

3.4.2. Influence de la parité

Pour l'étude d'une éventuelle influence de la parité sur la concentration plasmatique moyenne de la bPAG au stade précoce de gestation, nous n'avons comparé que les moyennes des concentrations entre les femelles pluripares (n=22) et les génisses (n=9) de même race, Prim' Holstein en l'occurrence.

4. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été analysés en utilisant les tests de comparaison des moyennes et des pourcentages, au risque de 0,05.

Résultats

L'utilisation du dosage radio-immunologique de la bPAG permet de déterminer les concentrations plasmatiques de la protéine, et pour le diagnostic précoce de gestation chez les bovins, les taux de positivité (bPAG+) et de négativité (bPAG-) de la méthode, par rapport à la palpation transrectale (PR+ et PR-), qui a été retenue comme test de référence, faute d'avoir pu utiliser un moyen de diagnostic de gestation plus précoce, tel que l'échotomographie, dont nous ne disposons pas au moment de la réalisation de ce travail. (tableau 1).

*Diagnostic précoce de gestation chez les bovins par dosage d'une protéine trophoblastique :
la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : Bovine Pregnancy Associated Glycoprotein)*

Tableau 1. Résultats du dosage plasmatique de la bPAG, au stade précoce de la gestation, chez des vaches (n=32) et des génisses (n=13), de deux races différentes («Primi Holstein» et «Croisées» ou «Locales»).

VACHES								
«Primi Holstein» (n=22)								
N° Vache	Age (ans)	Rang Vêlage	Nombre IA	(V/IA) (jours)	Stade de gestation (jours)	Intervalle Vêlage-Prélevement (jours)	bPAG (ng/ml)	Palpation Rectale
							DG+ ou DG-	DG+ ou DG-
3	4	2	1	75	26	101	1,5(+)	59(-)
5	2,5	1	1	47	26	73	1,5(+)	57(+)
7	5,5	4	2	47	27	74	0,9(+)	55(+)
8	2,5	1	2	150	28	99	1,3(+)	60(+)
9	7,5	5	2	71	28	99	1,3(+)	60(+)
13	5,5	3	8	500	29	529	0,7(+)	45(+)
16	6,5	3	5	330	30	360	0,7(+)	45(+)
21	4	2	3	183	31	214	3,1(+)	63(+)
22	7,5	1	4	235	31	266	0,1(+)	62(-)
23	6,5	4	8	338	31	369	0,0(+)	46(+)
26	2,5	1	6	222	32	254	2,4(+)	49(+)
27	8,5	6	5	310	32	342	18,3(+)	60(+)
28	5,5	4	2	103	32	135	0,6(+)	57(-)
29	4,5	2	7	493	32	525	0,1(+)	46(-)
30	4,5	25	500	32	5	32	0,4(+)	61(-)
31	9,5	6	7	440	32	472	0,0(+)	51(-)
33	4	2	3	124	34	158	0,1(+)	71(-)
38	5	2	8	315	36	351	0,1(+)	72(-)
41	8	6	3	90	38	128	3,7(+)	52(-)
43	4,5	3	2	77	39	116	0,1(+)	57(-)
44	7	5	4	292	40	332	2,3(+)	53(+)
45	6	3	5	167	41	208	1,6(+)	43(+)
«Croisées» ou «Locales» (n = 10)								
N° Vache	Age (ans)	Rang Vêlage	Nombre IA	(V/IA) (jours)	Stade de gestation (jours)	Intervalle Vêlage-Prélevement (jours)	bPAG (ng/ml)	Palpation Rectale
							DG+ ou DG-	DG+ ou DG-
4	4,5	1	1	63	26	89	1,5(+)	68(+)
17	3	1	5	198	30	228	2,0(+)	68(-)
18	8	3	1	46	30	76	1,6(+)	68(-)
24	6	2	1	46	31	77	11,9(+)	73(+)
25	6	2	1	73	31	104	6,1(+)	72(+)
34	6	2	4	205	34	239	5,4(+)	68(+)
35	3	1	2	167	34	201	6,4(+)	89(+)
36	3	1	2	85	34	119	1,6(+)	68(+)
37	4	1	1	61	35	96	11,8(+)	78(+)
42	9,5	3	3	189	38	210	1,3(+)	85(+)

GENESSES					
«Primi Holstein» (n=9)					
N° Génisse	Age (ans)	Nombre IA	Stade de gestation (jours)	bPAG (ng/ml)	Palpation Rectale
				DG+ ou DG-	DG+ ou DG-
1	2,5	7	21	0,1(+)	54(-)
6	1,5	2	27	0,1(+)	52(-)
10	1,5	1	29	0,9(+)	53(+)
14	2,5	8	30	0,4(+)	52(-)
19	2,5	3	31	1,6(+)	57(+)
20	2	2	31	1,6(+)	56(+)
32	2,5	6	33	0,4(+)	55(-)
39	1,5	1	37	0,1(+)	62(-)
40	1,5	1	38	2,5(+)	63(+)
«Croisées» ou «Locales» (n = 4)					
N° Génisse	Age (ans)	Nombre IA	Stade de gestation (jours)	bPAG (ng/ml)	Palpation Rectale
				DG+ ou DG-	DG+ ou DG-
2	2,5	1	61	6,4(+)	5(+)
46	1,5	3	61	4,6	(+)
49	2	3	66	4,8(+)	(+)
50	2	3	77	20,5(+)	(+)

1. Influence de la race et/ou de la parité sur la concentration plasmatique moyenne de la bPAG au stade précoce de gestation

1.1. Influence de la race de la mère

Au stade précoce de la gestation (entre J26 et J41), la concentration plasmatique moyenne de la bPAG est de 2,85 ng/ml chez les vaches de race Prim' Holstein alors qu'elle est de 4,96 ng/ml chez les vaches de population «Croisée» ou «Locale» (tableau 2).

Tableau 2. Concentrations plasmatiques moyennes de bPAG chez des vaches de deux races différentes (n=24) au stade précoce de gestation.

Race des vaches	Prim' Holstein	«Croisée» ou «Locale»
Nombre de vaches	14	10
Taux moyen bPAG(ng/ml)	2,85	4,96
Variance	20,62	7,24
Ecart-type	4,54	4,15

L'analyse statistique, utilisant la comparaison des moyennes à faible effectif, n'a pas révélé de différence significative dans les concentrations plasmatiques de la bPAG, au stade précoce de gestation, entre les vaches de race Prim' Holstein et celles de population «Croisée» ou «Locale» ($p>0,05$).

1.2. Influence de la parité

La concentration plasmatique moyenne de la bPAG, au stade précoce de la gestation, est de 1,85 ng/ml pour les vaches de race Prim' Holstein alors qu'elle est de 0,85 ng/ml pour les génisses de la même race (tableau 3).

Tableau 3. Concentrations plasmatiques moyennes de bPAG chez des vaches (n=22) et des génisses (n=9) de même race au stade précoce de gestation.

Parité des femelles	Vaches	Génisses
Nombre de femelles	22	9
Taux moyen bPAG(ng/ml)	1,85	0,85
Variance	14,58	0,74
Ecart-type	3,82	0,86

De la même manière que pour la race, l'analyse statistique ne révèle pas de différence significative dans les concentrations plasmatiques de la bPAG, au stade précoce de

gestation, en fonction de la parité des femelles d'une même race, Prim' Holstein en l'occurrence ($p>0,05$).

2. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG entre J21 et J41

Sur les 41 femelles bovines testées, nous avons obtenu:

- * 22 femelles vraies gestantes (bPAG+ et PR+)
- * 13 femelles sont effectivement non gestantes (bPAG- et PR-)
- * 6 femelles sont des faux positives (bPAG+ et PR-)

L'exactitude des diagnostics positifs est de 100%, tandis que l'exactitude des diagnostics négatifs n'est que de 68,42%.

La fiabilité des diagnostics positifs est de 78,57%, alors que la fiabilité des diagnostics négatifs est de 100% (tableau 4).

Tableau 4. Exactitudes et fiabilités du diagnostic de gestation par dosage de la bPAG entre J21 et J41 chez des femelles bovines (n=41) de deux races différentes.

Exactitude (+): 100% (22/22)	Fiabilité (+): 78,57% (22/28)
Exactitude (-) : 68,42% (13/19)	Fiabilité (-) : 100% (13/13)

3. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG en fonction du moment du prélèvement

3.1. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG à J25

Sur les 14 femelles prélevées à une période moyenne de 25 jours (entre 21 et 30 jours) post-insémination artificielle ou saillie naturelle, nous obtenons une exactitude des diagnostics positifs de 100% et une exactitude des diagnostics négatifs de 42,85%.

La fiabilité des diagnostics positifs est de 63,63% tandis que la fiabilité des diagnostics négatifs est de 100% (tableau 5).

3.2. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG à J36

Sur les 27 femelles prélevées à une période moyenne de 36 jours (entre 31 et 41 jours) post-insémination artificielle ou saillie naturelle, nous avons une exactitude des diagnostics positifs de 100% et une exactitude des diagnostics négatifs de 83,33%.

La fiabilité des diagnostics positifs est de 88,23% tandis que la fiabilité des diagnostics négatifs est de 100% (tableau V).

Tableau 5. Comparaison des exactitudes et des fiabilités du diagnostic de gestation par dosage de la bPAG à J25 et à J36 chez des femelles bovines de deux races différentes.

	Exactitude (+) % n	Exactitude (-) % n	Fiabilité (+) % n	Fiabilité (-) % n
J25	100 (7/7)	42,85 (3/7)	63,63 (7/11)	100 (3/3)
J36	100 (15/15)	83,33 (10/12)	88,23 (15/17)	100 (10/10)

L'exactitude et la fiabilité du diagnostic de gestation par dosage radio-immunologique de la bPAG à J36 sont significativement plus élevées qu'à J25 ($p < 0,05$).

4. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG en fonction de la parité

4.1. Diagnostic de gestation chez les génisses

Les diagnostics de gestation positifs obtenus chez 13 génisses de deux races différentes, par dosage radio-immunologique de la bPAG effectué entre le 21ème et le 41ème jour après l'insémination artificielle ou la saillie naturelle, sont tous confirmés par la palpation transrectale (tableaux 1 et 6).

La comparaison entre la fiabilité et l'exactitude n'a pas révélé de différence significative ($p > 0,05$).

Le diagnostic de gestation chez les génisses entre le 21ème et le 41ème jour post-conception est d'autant plus fiable qu'exact.

4.2. Diagnostic de gestation chez les femelles pluripares

Les résultats du diagnostic de gestation chez les 32 femelles pluripares de deux races différentes, par dosage radio-immunologique de la bPAG réalisé entre le 26ème et le 41ème jour post-insémination artificielle ou saillie naturelle sont présentés dans le tableau 6. Ces résultats ne tiennent pas compte de l'intervalle dernier vêlage-moment du prélèvement, et la méthode de référence reste toujours la palpation transrectale effectuée à deux reprises.

Tableau 6. Comparaison des exactitudes et des fiabilités du diagnostic précoce de gestation par dosage de la bPAG chez des génisses et des vaches de deux races différentes.

	Exactitude (%)		Fiabilité (%)	
	DG+	DG-	DG+	DG-
Génisses (n=13)	100 (5/5)	100 (8/8)	100 (5/5)	100 (8/8)
Vaches pluripares(n=32)	100 (18/18)	57,14 (8/14)	75 (18/24)	100 (8/8)

Les faux positifs représentent 42,86% (6/14) des femelles pluripares alors que les vrais positifs atteignent un taux de 75% (18/24).

La différence pour l'exactitude (-) et la fiabilité (+) entre les génisses et les vaches est statistiquement significative ($p < 0,05$).

La fiabilité des résultats positifs est plus élevée pour les génisses que pour les vaches (100% vs 75% respectivement).

5. Diagnostic de gestation chez les femelles pluripares en fonction du délai vêlage-moment du prélèvement

Pour mieux étudier les qualités de la méthode chez les femelles pluripares, il nous faut séparer les vaches en fonction de l'intervalle dernier vêlage-moment du prélèvement, selon que celui-ci est $<$ ou $\geq$ à 100 jours.

5.1. Résultats du dosage de la bPAG à un intervalle vêlage-prélèvement $\geq$ à 100 jours

Le dosage de la bPAG effectué chez 25 femelles pluripares à un intervalle vêlage-

prélèvement $\geq$ à 100 jours permet d'obtenir une fiabilité des diagnostics de gestation positifs de 76,47%, une exactitude des diagnostics négatifs de 66,66%, mais aussi un taux de faux positifs de 33,34% (tableau 7).

Tableau 7. Exactitudes et fiabilités du diagnostic de gestation par dosage de la bPAG chez des femelles pluripares (n=25) à un intervalle vêlage prélèvement $\geq$ à 100 jours.

Exactitude (+): 100% (13/13)	Fiabilité (+): 76,47% (13/17)
Exactitude (-) : 66,66% (8/12)	Fiabilité (-) : 100% (8/8)

5-2- Résultats du dosage de la bPAG à un intervalle vêlage-prélèvement < à 100 jours

Le dosage de la bPAG effectué chez 7 femelles pluripares à un intervalle vêlage-prélèvement < à 100 jours permet d'obtenir une exactitude des diagnostics de gestation positifs de 100%, mais la fiabilité des vrais positifs n'est que de 71,42% (tableau 8).

Tableau 8. Exactitude et fiabilité du diagnostic de gestation positif par dosage de la bPAG chez des femelles pluripares (n=7) à un intervalle vêlage prélèvement < à 100 jours.

Exactitude (+): 100% (5/5)	Fiabilité (+): 71,42% (2/7)
----------------------------	-----------------------------

Le dosage de la bPAG chez les femelles pluripares à moins de 100 jours postpartum ne permet donc pas de détecter que 71,42% des diagnostics de gestation positifs, ce qui est faible par rapport aux résultats obtenus au cours de l'intervalle vêlage-prélèvement $\geq$ à 100 jours.

La fiabilité des résultats positifs est d'autant plus élevée pour les femelles pluripares lorsque le dosage de la bPAG pour un diagnostic précoce de la gestation est effectué plus de 100 jours que moins de 100 jours après le dernier vêlage (76,47% vs 71,42% respectivement).

III. Discussion

1 - De l'influence de la race et/ou de la parité sur la concentration plasmatique moyenne de la bPAG au stade précoce de gestation

La comparaison des concentrations plasmatiques moyennes de la bPAG au stade précoce de la gestation (entre J26 et J41), en fonction aussi bien de la race que de la parité des femelles, n'a pas montré de différence statistiquement significative entre les vaches Prim' Holstein et «Croisées» ou «Locales» d'une part, et entre les génisses et les femelles pluripares d'autre part.

- Pour ce qui concerne *l'influence de la race*, Guilbault et coll. (6) ont montré que les valeurs plasmatiques moyennes de la bPAG obtenues en péripartum (-20 jours prépartum jusqu'à +2 jours postpartum) sont plus élevées chez les vaches Hereford que chez les vaches Holstein (3500 ng/ml vs 1500 ng/ml respectivement). La concentration périphérique en bPAG semble être soumise, en période périnatale, à un facteur de variation relevant de la race de la mère. Il faut donc approfondir davantage les études sur ce facteur de variation, comme cela a été constaté pour d'autres protéines trophoblastiques.

- Pour ce qui concerne *l'influence de la parité*, des concentrations en bPAG plus élevées chez les génisses que chez les vaches, au fur et à mesure que la gestation avance, ont été rapportées par Zoli (21). Les mêmes constatations ont été faites par Guilbault et coll. dans la période du prépartum (5 jours avant la mise bas), chez des génisses (4200 ng/ml de plasma) et des vaches (3000 ng/ml de plasma) de race Holstein (6,7).

Ne connaissant pas le rôle exact de la bPAG, ces différences dans les concentrations en bPAG en fonction de la parité, et au fur et à mesure de l'avancement de la gestation, ne peuvent être pour le moment, correctement expliquées. Elles pourraient être le reflet de différences dans la masse du placenta, donc dans la fonction placentaire (22).

2. De l'utilisation du dosage de la bPAG pour le diagnostic précoce de gestation chez les bovins

2.1. Diagnostic de gestation par dosage de la bPAG entre J21 et J41

L'association de tous les résultats, sans tenir compte de la race ni de l'âge, permet de constater que les femelles bovines qui ont un taux de bPAG $\geq 0,5$ ng/ml, ne sont pas nécessairement détectées positives par palpation transrectale. Nous distinguons ainsi trois groupes de femelles :

- **Les femelles du groupe I** qui sont au nombre de 22 : vaches et génisses de deux races différentes et qui ont des concentrations plasmatiques de bPAG variant entre 0,7 et 18,3 ng/ml. Ces femelles étaient confirmées positives par la palpation transrectale et constituent par conséquent de vraies gestantes. Le pourcentage de ces femelles déclarées gestantes après dosage de bPAG est de 78,57% (22/28).
- **Les femelles du groupe II**, au nombre de 13, qui possèdent des concentrations plasmatiques de bPAG $< 0,5$ ng/ml (entre 0,1 et 0,4 ng/ml) et qui sont détectées non gestantes par la palpation transrectale. Ces femelles sont, du fait des résultats de la palpation transrectale, de vraies négatives. Ces échecs de gestation sont probablement dus à des erreurs de conduite de la reproduction dans les deux exploitations. Elles se manifestent par les problèmes majeurs d'infertilité que connaissent les femelles âgées (jusqu'à 9,5 ans) et/ou ayant subi un nombre élevé d'inséminations artificielles ou de saillies naturelles (6 à 8).

Si on considère les sources d'erreurs liées directement au dosage de la bPAG (sensibilité de la technique du dosage radio-immunologique de bPAG) comme négligeables (24,25), elles correspondraient à la mortalité embryonnaire précoce, qui n'est pas différenciable de la non fécondation, et qui pourrait avoir lieu juste avant le prélèvement de sang (10,13,15,16,18).

- **Les femelles du groupe III** sont au nombre de 6. Elles ont des taux de bPAG compris entre 0,6 et 3,7 ng/ml, mais elles sont confirmées non gestantes par la palpation transrectale. Deux d'entre elles (vaches N°7 et N°18) ont été prélevées moins de 100 jours après le dernier vêlage (74 et 76 jours respectivement). Chez ces deux femelles, les concentrations plasmatiques en bPAG peuvent provenir de la persistance résiduelle de la protéine au cours du postpartum. Les 4 autres femelles par contre, ayant été prélevées plus de 100 jours postpartum, peuvent être considérées comme des fausses positives qui ont subi, assurément, une mortalité embryonnaire tardive survenue juste avant, après ou au moment du prélèvement de sang (8,9,16,17,22).

Les analyses statistiques utilisant l'écart type réduit pour la comparaison de l'exactitude des diagnostics négatifs du dosage radio-immunologique de la bPAG entre nos résultats [68,42% (13/19)] et ceux de Zoli [97,90% (140/160)], n'ont pas montré de différence significative (22,25).

L'interprétation de ces erreurs par excès serait attribuée à la mortalité embryonnaire tardive qui est de 14,28% (4/28) dans notre cas, ce qui est élevé par rapport à la moyenne tolérée (10 à 12 % suivant les troupeaux) (4,9,10,13,15,19). Mais ceci rend bien compte des cas d'infertilité qui constituent le problème majeur des élevages bovins tunisiens, et pour ce qui concerne les deux élevages dans lesquels l'étude a été menée, celui du CPRVE en particulier.

2.2. Amélioration des qualités de la méthode en fonction du moment du prélèvement

- Les résultats du diagnostic précoce de gestation obtenus par dosage radio-immunologique de la bPAG à J36 sont significativement meilleurs que ceux obtenus à J25 (88,33 vs 63,63 respectivement; $p < 0,05$). Ces résultats concordent bien avec les recommandations qui indiquent que dans les conditions actuelles, il ne faut effectuer le prélèvement qu'à partir du 35^{ème} jour post-insémination artificielle ou saillie (2,22,25).
- Nous constatons également qu'à J36, et pour les faux diagnostics positifs, la concentration en bPAG est en moyenne plus faible que celle obtenue pour les vaches réellement gestantes, mais la différence n'est pas significative (tableau 1). Nous ne pourrions donc pas distinguer, par dosage de la bPAG à J36, les femelles à mortalité embryonnaire tardive de celles qui restent réellement gestantes (2).

2.3. Amélioration des qualités de la méthode en fonction de la parité

- Les résultats du tableau VI montrent une différence statistiquement significative entre les génisses nullipares et les vaches pluripares aussi bien pour l'exactitude que pour la fiabilité de la méthode de diagnostic de gestation par dosage de la bPAG .
- La fiabilité des résultats positifs en particulier, est plus élevée pour les génisses que pour les vaches (100% vs 75%). Cette constatation est comparable à celle obtenue par d'autres auteurs, aussi bien par dosage de la bPAG, que par celui de la PSPB ou de la progestérone (2,15,22).

La différence constatée entre les résultats positifs chez les génisses et chez les vaches pourrait être due à l'effet immuno-suppresseur plus prononcé des protéines trophoblastiques chez les génisses (5,22). Il nous semble alors intéressant chez ces dernières, de ne pas se limiter à un seuil de positivité $\geq$ à 0,5 ng/ml pour confirmer la gestation.

Un dosage 35 jours après l'insémination, avec un seuil de positivité de 0,4 ng/ml, pourrait donner une bonne fiabilité des diagnostics de gestation chez les génisses, car le risque de la présence de taux résiduels de la protéine est totalement absent (2,22).

2.4. Amélioration des qualités de la méthode en fonction du délai vêlage-moment du prélèvement

- La fiabilité des résultats positifs chez les vaches à partir desquelles le dosage était effectué quand l'intervalle vêlage-prélèvement est $\geq$ à 100 jours est supérieure à celle trouvée quand l'intervalle vêlage-prélèvement est $<$ à 100 jours (76,47 % vs 71,42 % respectivement).
- L'interprétation des résultats faux positifs obtenus, quand le dosage est effectué à un intervalle vêlage-prélèvement $<$ à 100 jours, ne peut être attribuée qu'aux taux résiduels persistants de la bPAG au cours du postpartum (2,22,25).

La quantité de bPAG résiduelle ne semble devenir très faible et négligeable (inférieure au seuil de détection de la protéine) qu'à partir du 100ème jour environ après le vêlage (2,22). Cette persistance de la bPAG dans le sang maternel pourrait s'expliquer par les concentrations très élevées atteintes à la fin de la gestation et par la demi-vie très longue de la protéine (7 à 8 jours). Par contre, elle ne peut s'expliquer par une production extraplacentaire, vu la quantité extrêmement faible de cette production (1,22,23,25).

Ce qui veut dire que chez les femelles pluripares inséminées précocement, le dosage de la bPAG en vue du diagnostic de gestation ne doit pas être effectué moins de 100 jours postpartum.

Ce délai constitue un inconvénient majeur pour le diagnostic précoce de la gestation suivante, surtout chez les vaches de race laitière, où la saillie ou l'insémination artificielle a lieu, comme c'est de plus en plus le cas, dès le 45ème-55ème jour après le dernier vêlage. Par contre, chez les génisses, tout comme chez les vaches allaitantes rarement saillies ou inséminées avant le 70ème jour postpartum, le dosage de la bPAG à J35 post-insémination peut constituer un test simple, spécifique et fiable pour diagnostiquer précocement la gestation.

Conclusion

Le dosage radio-immunologique de la bPAG peut être utilisé comme une méthode plasmatique ou sérologique alternative pour le diagnostic précoce de la gestation chez les bovins. Il semble assurer, comparativement aux autres méthodes utilisées, un bon compromis entre fiabilité et précocité.

La fiabilité de la méthode chez les génisses est nettement supérieure à celle des femelles pluripares.

La valeur seuil de 0,5 ng/ml de plasma (ou de sérum) peut être abaissée à 0,4 ng/ml chez la génisse; mais le diagnostic ne peut être pratiqué avec une fiabilité suffisante qu'après le 35ème jour post-insémination ou saillie naturelle, et à condition d'être chez la vache, particulièrement celle de race laitière, à plus de 100 jours du vêlage précédent, en raison de la persistance d'un taux de bPAG résiduel au cours du postpartum.

Bibliographie

1. Beckers J.F., Wouters-Ballman P., Ectors F. (1988), Isolation and radioimmunoassay of a bovine pregnancy-specific protein. *Theriogenology*, 29 (1), 219 (Abstr.).
2. Bisson B. (1992), Diagnostic de gestation chez la vache par dosage d'une protéine trophoblastique : la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : bovine Pregnancy Associated Glycoprotein). *Thèse Doct. Vét.*, Nantes.
3. Camous S., Charpigny G., Guillomot M., Martal J. (1988), Purification of one pregnancy-specific protein by high-performance liquid chromatography (HPLC). In *Proc. Int. Workshop on maternal recognition of pregnancy and maintenance of corpus luteum*, Jerusalem (Abstr. 2).
4. Chaffaux S., Bianchi M., Bhat P., Hedge G.V., Reddy G.N.J., Thibier M. (1988), L'échographie en temps réel par voie transrectale, sa valeur pour le diagnostic de gestation chez la vache. *Rec. Méd. Vét.*, 1988, 164 (2), 101-108.
5. Dunbar M.M., Wong T.S., Ruder-montgomery C.A., Chew B.P., Sasser R.G. (1990), Partial characterization of the immunosuppressive properties of pregnancy-specific protein B (PSPB). *Theriogenology*, 1990, 33 (1), 220 (Abstr.).

6. Guilbault L.A., Beckers J.F., Lapierre S., Zoli A.P., Benitez W., Roy G.L. (1991). Peripartum concentrations of placental protein hormones (bPL and bPAG) in Holstein and Hereford recipients carrying purebred Holstein fetuses. *Theriogenology*, 1991, 35 (1), 208 (Abstr.).
7. Guilbault L.A., Thatcher W.W., Collier R.J., Wilcos C.J. (1985). Periparturient endocrine changes of conceptus and maternal units in Holstein heifers bearing genetically different conceptuses. *J. Anim. Sci.*, 1985, 61 (6), 1505-1515.
8. Hansel W., Hickey G.J. (1988). Early pregnancy signals in domestic animals. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 1988, 541, 472-484.
9. Hanzen C., Lauren Y. (1990). Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. IIème Congrès International Vétérinaire. Lyon. L'échographie vétérinaire aujourd'hui et demain, 12-15 Juin p. 81-83.
10. Humblot P. (1986). La mortalité embryonnaire chez les bovins. Dans *Recherches récentes sur l'épidémiologie de la fertilité*, p. 213-242. Société Française pour l'étude de la fertilité. Masson Paris Ed.
11. Humblot P. (1992). Utilisation de la PSPB pour le diagnostic de gestation des ruminants. *BTIA*, N° 64, Septembre 30-34.
12. Humblot P. (1988). Protéines spécifiques de la gestation chez les ruminants. *Reprod. Nutr. Develop.*, 28 (6B), 1753-1762.
13. Humblot P. (1991). Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants. *Rec. Méd. Vét.*, 167 (3-4), 193-202.
14. Humblot P., Camous S., Martal J., Charlery J., Jean-Guyot N., Thibier M., Sasser R.G. (1988). Diagnosis of pregnancy by radioimmuno assay of a pregnancy-specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology*, 30 (2), 257-267.
15. Humblot P., Camous S., Martal J., Charlery J., Jean-Guyot 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.
16. Humblot P., Dalla Porta M.A., Schwartz J.L. (1981). Etude de la mortalité embryonnaire. *Elev. et Ins.*, 183, 3-13.
17. Humblot P., Jean-Guyot N., Ruder C.A., Leriche I., Thibier M., Sasser R.G. (1988). Accuracy of pregnancy diagnosis by bPSPB RIA in the plasma of dairy cows 28 days after AI. In Proc. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. and Artif. Insem., 26-30 June, Dublin (Short communication), Vol. 2, p. 94.
18. Humblot P., Oliveira D., Ruder C.A., Jean-Guyot N., Thibier M., Sasser R.G. (1988). Progesterone and PSPB concentrations at time of AI at the beginning of pregnancy in the dairy cow. In Proc. Bard Int. Workshop on maternal recognition of pregnancy and maintenance of corpus luteum, Jerusalem (Abstr.), p. 62.
19. Kummerfeld H.L., Olernacu E.A.B., Foote R.H. (1978). Embryonic mortality in dairy cows estimated by no return to service, estrus, and cyclic milk progesterone patterns. *J. Dairy Sci.*, 61, 1773-1777.
20. Sasser R.G., Crock J., Ruder-Montgomery C.A. (1989). Characteristics of pregnancy-specific protein B in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 37, 109-113.
21. Sasser R.G., Ruder C.A., Ivani K.A., Butler J.E., Hamilton W.C. 1986. Detection of pregnancy by radioimmuno assay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biol. Reprod.*, 35, 936-942.
22. Zoli A.P. (1992). Isolement, purification et caractérisation d'une protéine placentaire associée à la gestation chez les bovins. *Thèse Doctorat Sciences Vétérinaires*, Université de Liège. Faculté de Médecine Vétérinaire.
23. Zoli A.P., Beckers J.F., Wouters-Baliman P., Closset J., Falmagne P., Ectors F. (1991). Purification and characterization of a bovine pregnancy associated glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 1991, 45, 1-10.

24. Zoli A.P., Demez P., Beckers J.F., Reznik M., Beckers A. (1992), Light and electron microscopic immunolocalization of bovine pregnancy associated glycoprotein in the bovine placentome. *Biol. Reprod.*, 46, 623-629.
25. Zoli A.P., Guilbault L.A., Delahaut P., Benitez Ortiz W., Beckers J.F. (1992), Radioimmuno assay of a bovine pregnancy associated glycoprotein in serum : its possible application for pregnancy diagnosis in cattle. *Biol. Reprod.*, 46, 83-92.

La rétention placentaire chez la vache : essai de prévention par l'injection d'ergométrine et de sérotonine

I. ZAIEM*, D. TAINURIER**, T. ABDELGHAFAR* et J. CHEMLI*

* Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire - 2020 Sidi Thabet - Tunisie

** Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes - Case Postale 3013 - 44087 Nantes Cedex 03.

Résumés

Cent vingt vaches de race Prim'Holstein sont réparties en deux groupes Témoin et Traité de 60 chacun. Les animaux du groupe Témoin ont reçu une injection de 20 ml de soluté isotonique de chlorure de sodium effectuée dans l'heure, dans l'intervalle de 1-6 heures et dans l'intervalle de 6- 12 heures suivant le vêlage alors que les vaches du groupe Traité ont été traitées par une injection de 20 ml de Sergotonine (N.D) , association d'Ergométrine - Sérotonine , réalisée selon le même protocole.

Le taux de rétention placentaire enregistré est de 38,33 p.100 dans le groupe Témoin contre 10 p.100 dans le groupe Traité. La différence est significative ($p < 0,05$).

Mots clés : Ergométrine - Sérotonine - Rétention placentaire - Vache.

One hundred and twenty Prim-Holstein cows were assigned randomly in two groups of sixty animals each.

In the control, the animals were individually injected with 20 ml of physiological saline (I.M).

In the treated group, the animals received an individual dose of 20 ml of Sergotonine (N.D). The injection were done, one hour, 1 to 6 hours and 6 to 12 hours after calving.

In the control group 38.33 p.100 of the cows developed placental retention, against only 10 p.100 in the Sergotonine group. There was significant difference between the two groups for percentage of retained placenta.

Key words : Ergometrine - Serotonine - Retained placenta - Cow.

Introduction

La délivrance chez la vache, qui se traduit par l'expulsion des enveloppes fœtales, survient généralement deux à six heures après la mise-bas. Quand il apparaît un retard d'expulsion, on parle de rétention placentaire ou de non délivrance, considérée comme effective si les enveloppes ne sont pas éliminées en totalité 24 heures après le vêlage (3).

Cette affection, souvent considérée comme peu grave, est régulièrement associée à une diminution de la production de lait et à une baisse des performances de reproduction (5, 7).

Dans cette espèce, la non délivrance est courante puisque selon les auteurs sa fréquence varie de 2 p.100 (3) à 32 p.100 (6) suivant les élevages.

En France, on estime qu'en moyenne 7 à 10 p.100 des vaches ne délivrent pas normalement.

En Tunisie, l'incidence de cette affection est évaluée à 15 p.100 (13).

La fréquence de la rétention placentaire d'un côté et ses conséquences néfastes sur la reproduction de l'autre ont amené des scientifiques à essayer de nombreux traitements notamment l'ocytocine et les prostaglandines (9, 10). Nous avons voulu de notre côté, en vue de prévenir cette affection, tester l'efficacité d'une autre substance dont l'activité utérotonique est connue depuis très longtemps, l'Ergométrine, alcaloïde de l'Ergot de Seigle, associée à la Sérotonine et commercialisée sous le nom de Sergotonine(N.D)*.

L'objectif du présent travail n'est pas d'approfondir le mécanisme d'action de l'association Ergométrine-Sérotonine dans le déroulement de la délivrance mais seulement de savoir s'il peut y avoir dans les conditions naturelles de l'élevage laitier un avantage à réaliser une injection systématique de ce produit après la mise-bas pour prévenir la non délivrance.

I. Matériel et méthode

L'expérimentation s'est déroulée dans une exploitation de la région d'Utique, située à 40 kilomètres de Tunis, de Mars 1992 à Janvier 1993.

1. Animaux

Au cours de cette étude, 120 vaches de race Prim'Holstein, âgées de 3 à 13 ans, d'un niveau de production annuel compris entre 6000 et 7000 kg de lait, ont fait l'objet de notre travail. Ces animaux appartiennent à un grand troupeau laitier, bien suivi sur le plan de la reproduction, comprenant 230 vaches au total. Elles reçoivent une alimentation à base de fourrage (foin, paille, herbe) équilibrée par du concentré pour vache laitière distribué automatiquement.

L'hygiène générale de l'exploitation est correcte et les vaches ne présentent pas de maladies spécifiques du tractus génital ni d'affections chroniques pouvant altérer leur état général.

2. Produit utilisé

La Sergotonine est une association de maléate d'Ergométrine et de Sérotonine présentée en solution injectable, répondant à la composition suivante:

* Rhône Mérieux - 17, rue Bourgelat 69002 Lyon - France

- Maléate d' Ergométrine	0,020 g
- Sérotonine (sulfate de créatinine monohydraté)	0,109 g
- Excipients q. s. p	100 ml

3. Protocole

Les animaux choisis sont répartis en deux groupes, Traité et Témoin, de 60 vaches chacun. Le groupe Traité est divisé ensuite en trois lots, I, II et III, de 20 vaches chacun.

Les vaches du lot I ont reçu une injection de 20 ml de Sergotonine par animal et par la voie intramusculaire (I.M) dans l'heure qui suit le vêlage.

Les animaux du lot II ont fait l'objet d'une injection du même produit à la même dose et par la même voie mais 1 à 6 heures après la mise-bas.

Les 20 vaches du lot III ont reçu une injection de 20 ml de Sergotonine par la voie I.M 6 à 12 heures après le vêlage.

Les animaux du groupe Témoin ont reçu une injection de 20 ml d'une solution isotonique de Cl Na par la voie I.M dont 20 dans l'heure qui suit le vêlage, 20 dans l'intervalle de 1 à 6 heures et 20 dans 6 à 12 heures après la mise -bas.

Il est à signaler que les femelles qui avortent sont écartées de l'expérimentation.

Pour plus d'objectivité, les injections ont été effectuées d'une façon alternative et au hasard pour les deux groupes et pour les trois lots.

Dans le but d'étoffer le plus possible nos résultats, l'influence de l'âge de la vache, des conditions de vêlage (eutocique, dystocique), de la gémellité et de la durée moyenne de la gestation sur la rétention placentaire sont étudiés.

II. Résultats

De l'examen des commémoratifs des vaches, recueillis tout au long de cette étude, il apparaît une certaine homogénéité entre les deux groupes d'animaux. En effet, 29 vêlages dystociques, ayant nécessité une assistance vétérinaire sont observés (13 et 16 dans les groupes 1 et 2 respectivement). Le nombre de portées gémellaires est de 8 sur 120 accouchements, soit un taux de 6,67 p.100 , 5 dans le groupe Témoin et 3 dans le groupe Traité.

Concernant la parité, c'est à dire le rang du vêlage, le nombre de vaches ayant eu moins de 3 gestations est de 33 pour le groupe 1 contre 28 pour le groupe 2.

Enfin, la durée moyenne de la gestation est comparable pour les deux groupes, $277,4 \pm 6,5$ j et $277,8 \pm 6,3$ j respectivement dans les groupes 1 et 2 (tableau n° 1).

Tableau 1. Caractéristiques des 120 vaches des groupes Témoin et Traité

	Groupe Témoin	Groupe Traité	Totale Traité
Vêlage normal	47	44	91
Vêlage dystocique	13	16	29
Portée gémellaire	5	3	8
Moins de 3 gestations	33	28	61
Plus de 3 gestations	27	32	59
Durée moyenne de gestation (Jours)	$277,4 \pm 6,5$	$277,8 \pm 6,3$	

Vingt neuf vaches sur 120 ont présenté une rétention placentaire soit un taux de 24,16 p.cent (enveloppes foetales non expulsées au bout de 24 heures), 23 pour le lot Témoin soit un taux de 38,33 p.100 et 6 pour le groupe Traité par la Sergotonine soit un taux de 10,00 P.100. La différence entre les deux groupes, Témoin et Traité, est significative ($p < 0,05$).

Dans le groupe Traité, les taux de non délivrance enregistrés sont de 10 p.100 , 15 p.100 et 5 p.100 dans les lots I, II et III respectivement (tableau n° 2). Cependant la différence n'est pas significative entre les lots ($p > 0,05$).

Tableau 2. Influence d'une injection de Sergotonine sur la délivrance de la vache au cours du post-partum

	Groupe Témoin	Groupe Traité			Total
		Lot I	Lot II	Lot III	
Délivrance normale	37	18	17	19	91
Rétention placentaire	23	2	3	1	29
Taux de rétention en %	38,33 (n=60)	10,00	15,00	5,00	24,16 (n = 120)
		10,00 (n = 60)			

G . Témoin v.s G. Traité : $p < 0,05$

() nombre d'animaux

Treize rétentions placentaires sont enregistrées parmi les vaches ayant eu moins de trois gestations soit 21,30 p.100 contre 16 rétentions placentaires pour les vaches ayant eu trois gestations et plus, soit 27,12 p.100 (tableau n°3). La différence n'est pas significative ($p > 0,05$).

Tableau 3. Influence du numéro d'ordre du vêlage sur la fréquence des non délivrances.

	Moins de 3 gestations	Trois gestations et plus	Total
Délivrance naturelle	48	43	91
Non délivrance	13	16	29
Taux de non délivrance en %	21,3 * (n = 61)	27,12* (n = 59)	24,17 (n = 120)

* $p > 0,05$

() nombre d'animaux

Quant aux conditions de vêlage, dans les deux groupes confondus, 11 non délivrances sur 91 vêlages eutociques sont notées, soit un taux de 12,00 p.100, contre 18 sur 29 vêlages dystociques soit un taux de 62,00 p.100 (tableau n°4). La différence est hautement significative ($p < 0,0001$).

Tableau 4. Influence des conditions de vêlage sur la fréquence des rétentions placentaires.

	Vêlage eutocique	Vêlage dystocique	Total
Délivrance naturelle	80	11	91
Non délivrance	11	18	29
Taux de non délivrance en %	12,00 * (n =91)	62,00 * (n =29)	24,16 (n= 120)

* p < 0,0001

() nombre d'animaux

Sur 8 vêlages gémellaires, 6 ont été compliqués de rétention placentaire soit un taux de 75 %, contre 23 rétentions placentaires sur les 112 vêlages uniques soit un taux de 20,53 p.100 (tableau n°5). La différence est très significative (p < 0,001).

Tableau 5. Influence de la gémellité sur la fréquence des rétentions placentaires.

	Naissance gémellaire	Naissance simple	Total
Délivrance naturelle	2	89	91
Non délivrance	6	23	29
Taux de non délivrance en %	75,00 * (n = 8)	20,53 * (n = 112)	24,16 (n= 120)

* p < 0,001

() nombre d'animaux

Enfin, la relation entre la durée moyenne de la gestation et l'incidence de la non délivrance est comparable pour les deux groupes, (277,4 ± 6,5) j et (277,8 ± 6,3) j respectivement dans les groupes Témoin et Traité (p > 0,05) (tableau n° 6).

Tableau 6. Influence de la durée de la gestation sur la rétention placentaire dans le groupe Témoin et le groupe Traité

	Durée moyenne de la gestation ± Ecart-type (jours)	
Groupe Témoin	277,4 ± 6,5 *	(n = 60)
Groupe Traité	277,8 ± 6,3 *	(n = 60)
Groupe Témoin avec rétention placentaire	276,3 ± 6,1 *	(n = 23)
Groupe Traité avec rétention placentaire	276,3 ± 6,1 *	(n = 6)

* p > 0,05

() = nombre d'animaux

III. Discussion

Les résultats obtenus, dans les conditions de notre expérimentation, nous permettent de relever que l'emploi d'un dérivé de l'Ergométrine associé à la Sérotonine dans les 12 heures qui suivent le vêlage intervient de façon très significative dans la réduction du taux de rétention placentaire.

De même dans le groupe traité, l'incidence de la non délivrance est faible en comparaison avec le groupe Témoin, quel que soit le moment d'intervention, dans l'heure, 1 à 6 heures et 6 à 12 heures après le part car la différence n'est pas significative entre les trois lots traités ($p > 0,05$).

Les résultats montrent aussi que l'utilisation de la Sergotonine dans la prévention de la non délivrance est une méthode qui n'est pas sans opportunité puisqu'elle permet de réduire le taux de rétention placentaire sans complications suite à l'usage de cette molécule.

De même, le recours à la Sergotonine laisse suffisamment de temps : d'une part, pour l'opérateur d'intervenir et d'autre part, pour les vaches qui pourraient délivrer normalement, étant donné que l'injection peut se faire dans les 12 heures qui suivent le part, diminuant ainsi le nombre de vaches traitées.

Le mécanisme d'action de ce produit reste à préciser mais il semble intervenir par deux actions différentes :

- action vasoconstrictrice au niveau de l'utérus responsable d'une anémie partielle et d'une nécrose de l'épithélium placentaire.
- action utérotonique qui a pour effet l'activation du désengrènement des enveloppes foetales en diminuant les surfaces chorio-utérines.

Les études hormonales révèlent qu'un taux élevé d'oestrogènes consécutif à une imprégnation progestéronique de l'utérus stimule la production par celui-ci de la prostaglandine $F2\alpha$ responsable à la fois de la lyse du corps jaune gestatif et de la tonicité utérine nécessaire à l'élimination du placenta (1,5).

Selon Horta (10), un déséquilibre de synthèse de la $pgF2\alpha$ et de la $pgE2$ au cours des 60 premières minutes suivant la mise bas, conduisant à un défaut de $pgF2\alpha$ et une augmentation de $pgE2$, est associée à la rétention placentaire.

La Sergotonine donne des résultats, non seulement comparables à ceux obtenus par d'autres molécules éprouvées dans le même sens, notamment la $pgF2a$ ou de l'un de ces analogues de synthèse, mais apparaît aussi beaucoup plus avantageuse car elle coûte moins cher et elle est plus commode à l'emploi. En effet, l'injection des prostaglandines dans l'heure qui suit le vêlage diminue notablement la fréquence de la non délivrance de 10 p.cent (2,10) à 15 p.cent (13) Cependant cette injection effectuée dans l'heure qui suit le vêlage sous-estime les vaches qui peuvent délivrer normalement, alors que la Sergotonine peut être injectée dans les 12 heures qui suivent la mise-bas; et il est même recommandé de l'injecter dans l'intervalle de 6 à 12 heures, ce qui diminue le nombre d'animaux traités car la délivrance naturelle se déroule le plus souvent entre 1 heure et 6 heures post-partum.

Contrairement à la $pgF2\alpha$, l'utilisation de l'ocytocine après un accouchement ne réduit pas l'incidence de la rétention placentaire chez la vache laitière(9).

Par ailleurs, d'autres travaux ont suggéré l'existence d'une part, d'une relation entre la non délivrance et les carences en vitamine E - Sélénium et d'autre part, l'intervention du métabolisme du Calcium et du Phosphore (11). Malheureusement, l'étude de la bibliographie concernant le rôle de ces éléments montre des résultats souvent contradictoires (8, 11, 12).

De cette étude ressort aussi, que ni le numéro d'ordre du vêlage ni la durée de la gestation, dans les deux groupes confondus, ne semblent influencer le taux de rétention placentaire.

La gémellité, bien que le nombre de cas soit réduit 8 cas au total, ainsi que l'assistance au vêlage notamment dystocique, semblent intervenir dans l'incidence de la rétention placentaire, comme cela a été observé par ailleurs par certains auteurs (3, 4).

Conclusion

L'administration de Sergotonine (N.D) semble, d'après notre essai, réduire l'incidence de la non délivrance chez la vache.

Cette constatation pourrait être intéressante à vérifier par d'autres travaux sur un grand effectif, compte tenu des avantages, notamment économiques conférés par l'utilisation de ce produit et de l'incidence de la non délivrance dans les élevages bovins laitiers.

Bibliographie

1. Agthe O. et Kolm H.P. (1975), Oestrogen and progesterone levels in the blood plasma of cows with normal parturition or with a retained placenta. *J. Repro. Fert.* 43, 163-166.
2. Bade K.(1980). Non infectious causes of placental retention in the cow with reference to the duration of gestation. Inaugural disserlation, Tierarztliche Hochschule Hannover 67 pp abstract 7399.
3. Badinand F. et Sensenbrenner A. Non délivrance chez la vache. Données nouvelles à propos d'une enquête épidémiologique. *Le Point Vétérinaire*, Vol 16, N° 84, 13-26.
4. Chassagne M. et Brochart M. (1985), Facteurs prédisposants de la non délivrance : synthèse des observations dans deux élevages I.N.R.A. *Bull. Tech. C.R.Z.V. THEIX*. I.N.R.A.,1985, (621), 5-11.
5. Chew B.P. Keller H.F. Erb R.E et Malven P.V(1977), Periparturient concentrations of prolactin, progesterone and oestrogens in blood plasma of cows retaining foetal membranes. *J. Anim. Sci.* 44 (6), 1055-1060.
6. Duncanson G.R. (1980 - 1981), Retained placenta and endometritis. Traitement and control. Brit. Catt. Vet. Ass. Proceed. 58-62.
7. Fuquay J.W. Mc Gee W.H et Elliott R.M. (1976), Reproductive efficiency after placenta retention. *J. Anim. Sci.* 42, 208.
8. Gwazdauskas F.C Bibb T.L. Mc Gilliard M.L et Lineweaver J.A. (1979), Effet of prepartum Selenium-Vitamine E injection in time for placenta to pass and on productive functions. *J. Dairy Sci.* 62, 978-981.
9. Hichey G.J., White M.E, Wichenden R.P and Armstrong D.A. (1984), Effects of oxytocin on placental retention following dystocia. *Veterinary Record* 114, 189-190.
10. Horta A.E.M., Chassagne Michelle and Brochart M. (1986), Prostaglandin F2 Alpha and Prostacyclin imbalance in cows with placental retention : New Findings. *Ann. Rech. Vet.* 17 (4) , 395-399.
11. Julien W.E et Conard H.R. (1976), Selenium and Vitamin E and incidence of retained placenta in parturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 59, 1954-1959.
12. Vallet A. (1985), La rétention placentaire chez la vache. Essai de prophylaxie par le Sélénite de sodium. *Recueil de Médecine Vétérinaire* 161, n°5, 431-436.
13. Zaeid M.L. (1989). Utilisation d'un analogue de synthèse de la PGF2a dans la prévention de la non délivrance chez les femelles bovines. *Thèse de Doctorat Vét.* Sidi Thabet.

3^{ÈME} SESSION

**LES NOUVELLES BIOTECHNOLOGIES
AU SERVICE DE LA REPRODUCTION**

Actualités sur les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction en élevage bovin

M. THIBIER* et M. NIBART**

* Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires - 23 Avenue du Gal De Gaulle - BP 19 - 94701 Maisons Alfort - France

** Union Nationale des Coopératives d'Elevage et d'Insémination Artificielle- Laboratoire de transfert embryonnaire - 13 rue Jouët-BP 65 - 94703 Maisons Alfort - France

Résumé

Parmi les biotechnologies au service de la reproduction, le sexage des embryons et la fécondation in vitro sont celles qui sont l'objet des principales avancées scientifiques et techniques permettant leur développement sur le terrain dès aujourd'hui. La présente étude vise à rassembler quelques-unes d'entre elles appliquées à l'espèce bovine.

Le sexage est désormais largement utilisé en France à partir de l'outil mis au point par la filière INRA-Rhône Mérieux-UNCEIA. Les qualités de la méthode sont excellentes et les taux de gestation non différents de ceux obtenus à partir d'embryons transférés classiquement lorsqu'ils le sont à l'état frais. Il demeure un léger point de conflit pour les embryons ultérieurement congelés entre les avantages et les inconvénients de la technique de prélèvement et les taux de fertilité. Des études en cours devraient permettre de progresser sur ce dernier point. Quant à la fécondation in vitro, deux aspects essentiels sont ici envisagés. Le recours à un hôte intermédiaire, la brebis pour la culture du jeune zygote jusqu'au stade morula-blastocyste, permet d'améliorer le taux de succès de gestations pour les embryons congelés. C'est là encore un des facteurs limitants principaux de cette technique. En outre, le recours à la collecte d'ovocytes in vivo avant leur maturation et fécondation in vitro permet de contourner, dans de nombreux cas, le facteur limitant des traitements de superovulation classiques pour l'obtention d'un nombre moins limité d'embryons par femelle donneuse.

Ces progrès techniques récents devraient permettre l'utilisation plus large de ces deux technologies grâce à un investissement moins grand et un retour de celui-ci plus avantageux pour l'éleveur.

Introduction

Il est classiquement reconnu quatre générations de biotechnologies au service de la reproduction (Thibier, 1990). Les deux premières, l'Insémination Artificielle (I A) et la Transplantation Embryonnaire (T E) sont les plus largement employées de par le monde (Chupin et Thibier, 1994, et Thibier, 1994) et ne sont plus désormais la cible que de travaux particuliers visant à améliorer tel ou tel aspect de sa technologie. En revanche, les éléments de la troisième génération constituent le noyau actuel du développement et du pré-développement. Ils sont, à ce titre, l'objet d'intenses investigations scientifiques et techniques afin de permettre à l'éleveur de pouvoir en tirer tous les bénéfices dans des limites d'investissements compatibles avec son entreprise agricole. Il a déjà été signalé (Thibier, 1993) que plus le numéro de la génération de ces biotechnologies augmentait, plus l'investissement était grand et le retour différé. Il y a donc là un vrai problème de développement, celui de pouvoir mettre à la disposition de l'éleveur, des outils auxquels il peut économiquement avoir accès. Seuls les progrès techniques peuvent accomplir cet objectif en réduisant de telle sorte les coûts de revient que l'éleveur peut effectivement appliquer la technique en question dans son élevage avec l'espérance d'un retour positif de son investissement.

Parmi les techniques de troisième génération, le clonage des embryons n'a pas encore complètement atteint le stade du pré-développement en dehors de quelques stations d'élevage particulières. En revanche, le sexage des embryons dont la diffusion est assurée en France depuis cinq ans maintenant, et la fécondation in vitro dont la diffusion se développe dans l'Union Européenne depuis 1993, sont en pleine phase d'ajustement technique et scientifique correspondant à ce possible recours par l'éleveur.

La présente revue a pour but de mettre en évidence quelques traits principaux des modifications techniques intervenues en matière de sexage et de fécondation in vitro, ces dernières années.

1. Le sexage des embryons

Le développement du sexage des embryons en France est à plus d'un titre exemplaire et dans la constitution du programme de recherches et dans la diffusion de cette technique. Au plan de la constitution du programme, le point de départ est l'identification initiale par un laboratoire de recherches fondamentales, en l'occurrence celui de l'INRA et de laboratoires de recherches associés (Bishop et al., 1987), d'une séquence spécifique du génome du chromosome Y et qui a permis de construire une sonde, elle-même utilisable pour détecter la présence éventuelle de cette séquence d'ADN dans une cellule. Dès cette époque, un laboratoire de recherches et de développement, en l'occurrence celui de l'Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'Insémination Artificielle, s'est attaché à préciser les conditions d'emplois sur le terrain et à définir une stratégie d'étude relative à la nature de l'échantillon et son traitement pour assurer la détection de cette séquence génomique avec efficacité tout en obtenant des taux de gestation d'embryons ayant ainsi subi le prélèvement cellulaire compatibles avec l'intérêt de l'éleveur. Enfin, le troisième partenaire indispensable dans ce genre d'aventures de développement fut l'industriel, en l'occurrence les laboratoires Rhône Mérieux qui ont pu mettre à la disposition du système leur compétence de fabrication et de contrôle de qualité de leurs kits. C'est donc en seulement quelques années, moins de cinq, que cette découverte de laboratoire, l'isolement de la séquence spécifique, a pu entraîner une application dans l'élevage pour le bénéfice de l'éleveur.

Envisageons quelques résultats récents, fruits d'ajustements permanents par l'équipe de l'UNCEIA et des Coopératives d'Élevage et d'Insémination Artificielle associées. Une revue récente a été publiée par Thibier et Nibart (1995) et nous leur emprunterons plusieurs résultats.

1.1. Echantillonnage

Dès le début du programme, nous avons indiqué un certain nombre d'objectifs à respecter pour que l'échantillonnage cellulaire soit à la fois suffisant pour une détermination efficace du sexe et sans conséquence néfaste pour la survie de l'embryon (Thibier, 1989). Toutes ces conditions sont désormais remplies. Le nombre de cellules à prélever peut être d'une seule (minimum réel...), cependant pour des raisons pratiques, le praticien souhaite souvent pouvoir disposer de trois à cinq cellules afin de rendre sa tâche de manipulation plus aisée et plus sûre et ne pas risquer de perdre le prélèvement en chemin.

Deux procédures peuvent être utilisées, soit le prélèvement par micro-biopsie, par micro-lame, soit par aspiration. Cette dernière technique, un peu plus délicate est plus particulièrement utilisée dans le cas des embryons qui seront ensuite congelés, (voir ci-dessous). Dans le cas de prélèvements issus de blastocystes, ce sont les cellules du trophoblaste qui sont l'objet de ces prélèvements. Seuls les embryons de qualité 1 sont en général l'objet de tels prélèvements. Des embryons de qualité 2 sont parfois l'objet de détermination de sexe à la demande expresse de l'éleveur mais les résultats de gestation (cf. ci-dessous) sont nettement inférieurs.

Il est important de noter que ces embryons généralement prélevés à J 7 (J 0 = le jour de l'oestrus) et déposés dans un milieu classique PBS sont l'objet de 10 lavages avant d'attenter à l'intégrité de la zone pellucide afin de bien s'assurer de la stérilité du milieu environnant au contact duquel l'embryon va se trouver directement, désormais sans la «barrière sanitaire» que constitue la membrane pellucide. Ceci est non seulement une des plus sages précautions pour éviter de contaminer l'embryon avec des agents pathogènes mais aussi, et d'ailleurs pour cette raison précise, une des obligations que doit remplir l'équipe officiellement agréée de transplantation embryonnaire pour pouvoir utiliser de tels embryons avec des cellules prélevées, dans le cadre de la monte publique (transport d'une ferme à une autre).

L'embryon est alors conservé soit à température ambiante (mode le plus souvent pratiqué sur le terrain), dans l'obscurité, avant sa remise en place, soit dans des conditions particulières (éloignement important de la ferme du laboratoire de sexage) à 4° C. Enfin, depuis quelques mois, la procédure combinée de prélèvements-congélation ayant progressé, les embryons sexés peuvent être congelés.

1.2. La détermination du sexe

Le principe de la technique a déjà été rapporté à plusieurs reprises (Nibart, 1991). En bref, à partir de la sonde dite BC 1.2 (Léonard et al., 1987) et des amorces afférentes, on s'efforce d'amplifier par réaction en chaîne de polymérase (PCR), cette séquence d'ADN de la cellule, si elle existe, c'est à dire dans le cas où l'embryon est de sexe mâle. Puis on dépose, après amplification, la phase aqueuse du milieu réactionnel sur un gel d'agarose afin de révéler la bande de la séquence dans le cas où la cellule originelle est de sexe mâle. Différents témoins, contrôles et gammes d'ADN sont ajoutés dans la manipulation afin d'en valider les résultats à chaque série.

La durée de telles opérations a longtemps été considérée comme un des points critiques (Thibier, 1989). Actuellement, il faut compter environ une heure pour biopsier ou aspirer les cellules d'une demi-douzaine d'embryons, une fois ceux-ci collectés et repérés. On s'efforce d'obtenir cet ordre de grandeur d'embryons pour mettre en place ce chantier de sexage. L'ensemble de la technique de sexage dure environ trois heures ou plus confortablement trois heures et demie. C'est donc en gros une opération qui dure cinq heures.

Cette donnée va entraîner l'organisation du chantier selon les contingences pratiques: lieu du laboratoire de sexage et éloignement de la ferme de collecte et destination des embryons sexés : sur place ou congélation pour être stockée dans la banque d'embryons.

Pratiquement, en France, si l'exploitation d'où sont collectés les embryons n'est pas trop éloignée du centre de l'équipe de transfert embryonnaire (moins d'une heure de voiture) et que les embryons doivent être transférés à l'état frais, le prélèvement cellulaire est l'objet de la détermination du sexe à ce Centre. Dans certains cas éloignés, on peut assurer la détermination du sexe dans une camionnette- laboratoire conduite dans l'exploitation, avec des résultats satisfaisants (Nibart et al., 1992). Pour des raisons sanitaires autant que pour des risques de contamination d'ADN, nous ne réalisons pas de détermination du sexe dans les bâtiments de la ferme, sauf dans le cas précis où de grandes fermes ont pu aménager une pièce en laboratoire exclusivement destinée à cette fin et respectant les règles d'hygiène, de propreté et de contrôle d'accès.

1.3. Qualité de la méthode

Les trois principaux critères techniques *in vitro* à prendre en compte pour évaluer la procédure sont la sensibilité, l'efficacité et l'exactitude.

1.3.1. La sensibilité

Celle-ci peut s'apprécier par le nombre minimum de cellules nécessaires pour reconnaître avec 95 % de probabilité d'y parvenir, le sexe de l'embryon d'où proviennent la ou les cellules. Les nombreuses investigations réalisées par le laboratoire de l'UNCEIA montrent qu'une seule cellule dissociée permet d'obtenir cet objectif. De nouveau, pour des raisons pratiques, le praticien préfère pouvoir disposer d'un peu plus de cellules, trois à cinq. Nibart et al., (1992) ont pu montrer que la sensibilité de détection avec de tels prélèvements (trois à cinq) ne différait pas significativement de celle d'une cellule.

1.3.2. L'efficacité et l'exactitude

L'efficacité s'évalue par le rapport du nombre de prélèvements donnant un résultat de sexe par rapport au nombre de prélèvements effectués. L'exactitude s'apprécie par le rapport des sexes déterminés en laboratoire et constatés sur le produit de conception. L'ensemble de l'échantillon étudié dépasse les 3 000.

Le tableau 1 rapporte l'efficacité observée selon les techniques d'échantillonnage et le traitement concomitant relatif aux embryons. Il permet d'observer un taux d'efficacité égal à 95 % environ pour les embryons biopsiés ultérieurement transférés frais. Dans ces mêmes conditions, des résultats récents issus d'une unité de transfert embryonnaire (Midatest-Soual- France) montrent au cours de quatre exercices successifs (Lacaze, non publié, 1995) des taux d'efficacité compris entre 85 et 97 % (tableau 2). La technique d'aspiration qui, par ailleurs, donne des résultats intéressants pour la congélation, ne procure pas encore un tel taux d'efficacité et des travaux en cours devraient permettre d'améliorer ce point. Nibart

et al. (1992) ont pu montrer que les conditions de manipulation (laboratoire fixe ou mobile) ne modifiaient pas ce taux d'efficacité. En revanche, un des facteurs principaux de variation de celui-ci est celui de la compétence des opérateurs. A partir de 573 embryons biopsiés par des techniciens en formation, seuls 64,7 % d'entre eux ont donné lieu à une détermination du sexe. On peut enfin remarquer que les embryons préalablement congelés, puis décongelés et biopsiés, ont fourni un taux d'efficacité proche de 90 %, ce qui est original et tout à fait intéressant pour certains embryons actuellement présents dans les banques d'embryons.

Tableau 1. Taux d'efficacité du sexage d'embryons bovins selon la technique de prélèvements et le type d'embryons (Thibier et Nibart, 1995)

Technique de prélèvements	Embryons	Nombre d'essais	Sexe déterminé	Douteux	Non déterminé
Biopsie (micro lame)	Frais	1660	94,7 %	2,2 %	3,1 %
	Congelé	67	89,7 %	4,0 %	6,3 %
Aspiration	Sans rinçage	98	51,0 %	18,4 %	30,6 %
	Rinçage	47	72,3 %	8,5 %	19,2 %

Tableau 2. Taux d'efficacité du sexage d'embryons bovins(*) au cours de quatre exercices consécutifs pour l'unité MIDATEST (Lacaze, 1995, non publié)

Année	Nombre d'embryons		% d'efficacité
	Biopsiés	sexés	
1991	150	128	85 %
1992	142	138	97 %
1993	204	191	93 %
1994	124	117	94 %
TOTAL	620	574	93 %

(*) prélèvements par biopsies.

Quant à l'exactitude, divers essais préliminaires en laboratoire avaient montré une exactitude de 100 % quand les embryons avaient été l'objet de prélèvements de 4 à 5 cellules. Les résultats d'essais de terrain (tableau 3) montrent une exactitude de 98%. On remarque que bien que le nombre d'embryons mâles transférés soit moindre que celui des femelles pour des raisons zootechniques évidentes, l'exactitude est semblable pour les deux sexes. La proportion de résultats de femelles douteux est légèrement supérieure à celle des mâles mais surtout, les résultats observés démontrent que dans le cas de résultats douteux, il est impératif de se garder de tenter de décider car la répartition des sexes observés pour ces tests in vitro douteux, est voisine de 50 %, c'est à dire égale à celle du hasard.

Tableau 3. Taux d'exactitude des embryons biopsiés par microlame (Thibier et Nibart, 1995)

		Mâle	Femelle
Mâle	38	37	1
Femelle	149	2	147
Mâle douteux	1	0	1
Femelle douteux	21	8	13

1.4. Sexage et taux de gestation

Cet indice est évidemment celui qui intéresse le plus directement l'éleveur car cette technologie n'a de chance de se développer que s'il n'y a pas d'effet défavorable induit sur le taux de gestation.

A partir d'un total de 833 embryons sexés et transférés pour lesquels le suivi des gestations a été particulièrement rigoureux, le taux de gestation calculé a été de 45 %. Cependant cette moyenne recouvre diverses situations. Ainsi pour les embryons frais, toutes les conditions étant semblables par ailleurs, le taux de gestation au cours de trois exercices consécutifs est passé de 45 % la première année (n = 168) à 48 % la seconde année (n = 292) et 51 % la troisième année (n = 150). Ceci était directement lié à la compétence progressivement améliorée des opérateurs.

La qualité des embryons exerce aussi une influence significative. Ainsi, 301 embryons de qualité 1 (excellente), biopsiés et transférés, ont fourni un taux de gestation de 53 % en regard d'un taux de 34% ($p < 0,05$) pour les embryons de qualité 2 (n = 103). Les conditions dans lesquelles les embryons ont été conservés pendant le temps du sexage influencent aussi les taux de gestation (tableau 4).

Tableau 4. Taux de gestation des embryons bovins de qualité 1 selon leurs conditions de conservation (Thibier et Nibart, 1995)

Conditions de conservation	Nombre	Gestations	
		Nombre	Pourcentage (%)
20 °C (6h)	170	82	48
4 °C (6h)	214	119	56
4 °C (24h)	53	21	40

Un autre travail récent effectué par l'Unité Midatest et portant sur des embryons de qualité 1, biopsiés rapporte (tableau 5) un taux de gestation de l'ordre de 50 % recouvrant une variation de 34 à 59 % selon l'exercice considéré.

Tableau 5. Taux de gestation d'embryons bovins de qualité 1, biopsiés, sexés et transférés frais au cours de quatre exercices consécutifs, par l'unité MIDATEST (Lacaze, 1995, non publié).

Année	Nombre d'embryons transférés	Taux de gestations (*)
1991	83	34 %
1992	61	59 %
1993	82	52 %
1994	65	53 %
TOTAL	291	49 %

(*) Taux de mise-bas

Ainsi que le montre le tableau 6, les embryons biopsiés ne semblent pas supporter le processus de congélation. Ceci est la raison pour laquelle la technique d'aspiration cellulaire a été mise en oeuvre. On voit sur ce tableau que les vingt premiers embryons ainsi traités ont permis d'observer un taux de gestation de 55 % bien supérieur à celui des embryons biopsiés. Les essais réalisés in vitro, visant à estimer leur développement en incubateur, tendent également à montrer une amélioration obtenue par ce type de prélèvement. Enfin, notons que les embryons préalablement congelés puis décongelés et biopsiés et remis en place immédiatement ont entraîné un taux de gestation de 55 % (n = 49). Ces résultats sont tout à fait encourageants.

Tableau 6. Taux de développement in vitro et de gestation d'embryons sexés et congelés selon le mode de prélèvement des cellules (Thibier et Nibart, 1995)

Technique	Taux de développement (*)	Taux de gestation
Micro-lame	36 % (n = 78)	28 % (n = 92)
Aspiration	55 % (n = 38)	55 % (n = 20)
Témoins (sans prélèvement de cellules)	57 % (n = 28)	49 % (n = 37)

(*) 24h de culture à 39° C.

La technique de sexage des embryons peut donc désormais s'effectuer sur le terrain avec des résultats satisfaisants. Le tableau 7 résume les différentes caractéristiques de la technique française dans l'état actuel de sa mise en place. Il reste à mieux préciser les conditions techniques de traitement des embryons sexés destinés à être congelés.

Tableau 7. Sexage des embryons bovins (1990-1994) (méthode INRA-RHONE MERIEUX-UNCEIA)

Plus de 3000 embryons (Produits in vivo et in vitro) biopsiés et sexés		
Sensibilité	1 cellule embryonnaire	
Efficacité	Cellules prélevées au microcouteau	95 % des embryons biopsiés sont sexés
	Cellules prélevées par aspiration	70 % des embryons biopsiés sont sexés
Exactitude	Comparaison de plusieurs biopsies de mêmes) embryons)	
	Comparaison de cellules dissociées de mêmes) embryons)	100 %
	Comparaison du sexe de l'embryon déterminé) au laboratoire et du sexe phénotypique du veau)	98 %
		(n = 187 comparaison au 01/06/1994)
Transfert	> de 800 embryons sexés	
Taux de gestation	Embryon frais **	52 %
	Embryons congelés classiques	
	- biopsie au microcouteau	30 %
	- biopsie par aspiration	50 %
	Embryons décongelés puis biopsiés ***	54 %

* Pour les embryons de qualité excellente ou bonne

** Après six heures d'attente (durée biopsie + sexage)

*** Transfert immédiat après biopsie.

2. La fécondation in vitro

Cette technique de troisième génération est en cours de développement pendant cette moitié de décennie. Les conditions techniques et économiques de son utilisation sur le terrain ont été étudiées récemment (Dauzet et Marquant-Le Guienne, 1994). Elles montrent que sous réserve que le prix de revient de la mise en place d'un embryon soit égal à deux fois le prix d'une insémination, avec un taux de gestation égal à celui induit par IA, le bénéfice que peut en attendre l'éleveur se monte à une valeur comprise entre 600 et 1100 FF.

Les caractéristiques biologiques et techniques ont été l'objet de revues récentes (Marquant-Le Guienne, 1991, Thibier 1993). On assiste cependant actuellement à des avancées particulières dans deux domaines. Le premier se rapporte au recours à un hôte intermédiaire pour cultiver l'embryon fécondé in vitro, tel que celui de la brebis (Lazzari et Galli, 1993). Nous en évoquerons quelques traits ici. Le second a trait à la récolte d'ovocytes in vivo afin qu'ils soient ensuite l'objet de fécondation in vitro, de culture et de transfert. Cette technique encore souvent appelée «ovum pick up» a été initialement mise au point par l'équipe d'Utrecht (Pieterse et al., 1988)

2.1. Culture d'embryons cultivés sur brebis

Devant la difficulté actuelle d'obtenir des taux de gestation économiquement satisfaisants à partir d'embryons fécondés in vitro et congelés (Hassler, 1995), divers chercheurs et tout particulièrement Galli en Italie se sont efforcés de recourir à la culture des embryons ainsi fécondés chez des brebis en phase lutéale. Les résultats de cet auteur ont en effet montré

que la qualité des embryons ainsi produits permettait avec une plus grande efficacité, de transférer de tels embryons congelés donnant ainsi toute la souplesse requise d'utilisation de ces zygotes. Les taux de gestation annoncés sont en effet supérieurs ou égaux à 50 % (Galli et Lazzari... 1994).

Divers essais ont été conduits par les laboratoires de l' UNCEIA (Guyader-Joly et al., 1995, non publiés). Ainsi une série récente de 801 embryons obtenus par fécondation in vitro ont été transférés, aux stades de 1 ou 2-4 cellules, à J 1 chez 8 brebis. Comme l'indique le tableau 8, plus de 20 % des embryons initialement transférés se sont développés harmonieusement (soit 168 embryons) et 76 d'entre eux ont pu être congelés. Le taux de développement est légèrement inférieur à ce que l'on a obtenu sur les embryons témoins cultivés in vitro sur lignée cellulaire mais cependant le potentiel d'embryons congelables s'est révélé être supérieur. Ces données sont voisines de celles rapportées par Galli et al., (1994) sur de plus larges effectifs. En outre, les premiers essais de transferts de tels embryons ont été particulièrement satisfaisants puisque sur 34 embryons mis en place après avoir été décongelés en une seule étape (un par receveuse), quinze receveuses se sont avérées gestantes (44 %). Ce taux est près de deux fois supérieur à celui observé sur les embryons congelés issus de culture in vitro et transférés à la même période.

Tableau 8. Production d'embryons bovins fécondés in vitro et cultivés pendant 6 jours dans l'oviducte de brebis (selon Guyader-Joly et al ; non publiés).

Etapes de production	Nombre	pourcentage
Nombre d'embryons mis en culture dans l'oviducte de brebis	801	100 %
Nombre d'embryons récupérés	472	59 %
Nombre d'embryons congelés	76	10 %
Témoins développés après culture in vitro	-	31 %

2.2. Collecte d'ovocytes in vivo et fécondation in vitro

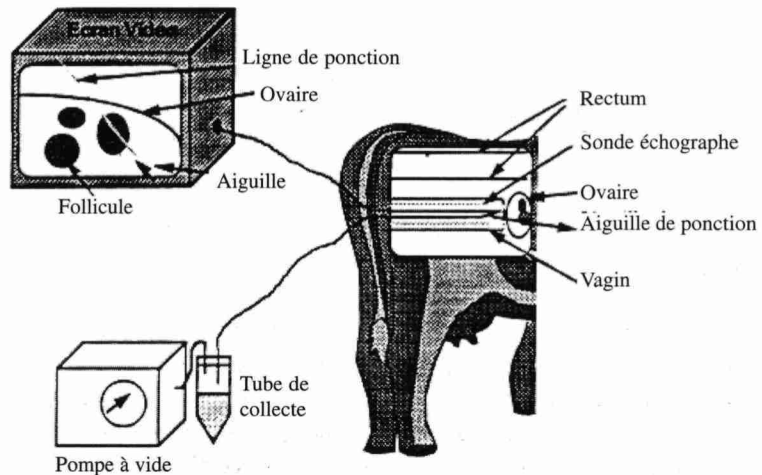
Cette technique en raison de son coût lié à la sophistication de la procédure est essentiellement réservée à des animaux de haute valeur génétique. Elle a pour but de collecter de nombreux ovocytes chez l'animal, sans avoir à le sacrifier, susceptibles d'être fécondés in vitro, cultivés puis transférés. Une des indications principales est celle des animaux soumis à des traitements de superovulation pour collecte et transfert d'embryons produits in vivo mais qui ne répondent pas ou plus aux traitements. Cependant, il n'est pas exclu, si les résultats sont à la hauteur des espérances, de pouvoir envisager une telle technique chez des animaux dont on ignorerait leur capacité de réponse à la superovulation. Le choix repose alors sur l'espérance de nombre d'embryons transférables par unité de temps.

2.2.1. Technique de collecte

Le principe repose sur l'aspiration par une aiguille adéquate, de follicules de taille supérieure à 2 mm de diamètre, susceptibles d'héberger des ovocytes capables d'être maturés et fécondés in vitro, et repérés simultanément par examen échographique.

Les vaches sont initialement contenues dans un travail et soumises à un traitement de sédation et d'anesthésie locale par voie épidurale. La sphère génitale est très soigneusement lavée. La visualisation des follicules ovariens s'effectue par un échographe généralement muni d'une sonde sectorielle de 7,5 MHZ. Cette sonde est maintenue par un manchon rigide de 50 cm de long qui supporte le guide de l'aiguille de ponction. Le schéma de la figure 1 illustre un tel mode opératoire. La ponction folliculaire s'effectue à l'aide d'une aiguille en général longue de 58 cm, simple et de diamètre 18 gauge (technique de Nibart, 1994). Par un système de tuyauterie adapté en plastique, les aiguilles de ponction sont raccordées à un tube de collecte de 50 ml environ à travers lequel on exerce une dépression par une pompe à vide. L'ordre de grandeur de cette dépression est de 50 mm de mercure. La sonde de l'échographe et son manchon, recouverts d'une chemise sanitaire sont introduits jusqu'au fond du vagin puis la main dans le rectum amène un ovaire puis l'autre en face de la tête de la sonde. Grâce à un logiciel, le tracé théorique de l'aiguille est inscrit en pointillé sur l'écran de l'échographe. Lorsqu'un follicule s'inscrit sur ce tracé, un aide avance l'aiguille de ponction et la dépression est maintenue jusqu'à ce que les follicules susceptibles d'être collectés le soient. Le traitement des follicules ainsi retrouvés est semblable à ce qui est classiquement mis en oeuvre pour les follicules prélevés sur des ovaires issus de l'abattage (cf. Marquant-Le Guienne, 1991).

Figure1. Technique de ponction sous échographie



2.2.2. Production

Celle-ci s'analyse selon que les animaux aient été l'objet ou non de traitements de superovulation préalablement à la collecte d'ovocytes. Dans le cas où un tel traitement a été mis en œuvre, les animaux peuvent être soumis à de telles collectes, toutes les trois à quatre semaines. De telles fréquences ont été mises en œuvre pendant plus d'un trimestre mais il est tout à fait possible que ceci puisse être poursuivi plus longtemps. En revanche, dans le cas où les animaux ne sont pas ainsi traités, la collecte peut être beaucoup plus fréquente. Le rythme adopté par l'équipe de l'UNCEIA est celui de deux collectes par semaine. Certains auteurs ont eu recours à une collecte par semaine chez des vaches pendant une année (Looney et al., 1994). Cependant Hasler et al. (1995) indiquent que le nombre de follicules collectés diminue significativement au delà de 50 collectes.

Pour des vaches superovulées, l'équipe de l' UNCEIA obtient en moyenne (tableau 9) 13 ovocytes avec des taux de collecte de 60 % environ. Ces résultats sont voisins de ceux obtenus par d'autres équipes telles que celle de Looney aux Etats-Unis (Paul et al., 1995). On observe cependant un facteur individuel important dans le nombre de follicules accessibles. Dans ces conditions, le nombre d'ovocytes viables est de l'ordre de 10 chez les vaches et 8,5 chez les génisses selon l'étude française rapportée par Silva Peixer (1995), en accord avec les résultats de Paul et al. (1995). Ceci conduit à une production de 3 à 4 embryons viables par collecte chez la vache et de 2,3 chez la génisse cyclée de 16 mois (Silva Peixer, 1995).

Tableau 9. Production d'embryons par fécondation in vitro après collecte d'ovocytes in vivo (*)
(selon Nibart et Marquant-Le Guienne, 1995)

		Femelles superovulées	Femelles non superovulées
Ovocytes collectés	Vaches	13	6
	Génisses	9,5	4,5
Ovocytes viables	Vaches	10	4
	Génisses	8,5	3,5
Embryons viables	Vaches	3,5	1,3
	Génisses	2,3	0,6

(*) Nombre moyen arrondi par séance de collecte d'ovocytes

Chez les femelles non superovulées, le rythme de collecte de une ou deux par semaine n'influence pas les résultats, on peut donc produire deux fois plus en collectant deux fois par semaine ainsi que l'ont montré Den Daas et Merton (1994). Le nombre de follicules collectés varie en moyenne de 4 à 8 selon les équipes et les divers protocoles, soit un ordre de grandeur moyen de 6. Notons qu'il est possible de collecter de tels follicules sur des femelles gestantes (Kruip et al., 1994). L'infertilité préalable des femelles ne semble pas être un handicap. Le nombre moyen d'ovocytes viables par séance est de l'ordre de 4, il dépend d'abord du nombre de follicules collectés puis du taux de viabilité, lui-même variable d'un animal à l'autre ou d'une séance à l'autre. Ainsi le nombre d'embryons viables produits varie de 0,5 à 1,6 par séance de collecte.

L'ensemble de ces résultats a permis à Nibart et Marquant-Le Guienne (1995) de modéliser la production d'embryons et de veaux nés par femelle selon que l'on a recours au transfert embryonnaire classique ou à la collecte d'ovocytes in vitro selon divers schémas de traitement. Dans la majorité des cas, leur conclusion montre qu'il est possible de produire deux à trois fois plus d'embryons par unité de temps par une telle collecte d'ovocytes que par les techniques de transfert embryonnaire classique. La variabilité entre individus demeure mais semble être plus facilement contournable dans le cas de collecte d'ovocytes, ne serait-ce que par un plus grand nombre d'essais pour obtenir un nombre déterminé d'embryons désirés.

Conclusion

La troisième génération des biotechnologies de la reproduction et en particulier le sexage et la fécondation in vitro sont donc en cours d'adaptation et de perfectionnement technique qui devraient leur permettre une diffusion encore plus large dans l'avenir. Les techniques deviennent plus sûres et les rendements ne cessent de progresser garantissant un prix de revient plus modeste et par conséquent les rendant plus accessibles à de nombreuses exploitations. Aussi utiles soient-elles, ces techniques ne seront toujours que des compléments à la technologie de la première génération, l'Insémination Artificielle. Cependant le nombre d'éleveurs qui auront les moyens économiques de faire un choix raisonné entre ces différentes techniques devrait croître, contribuant ainsi à améliorer l'efficacité de l'élevage bovin sur notre planète.

Références bibliographiques

1. Bishop CE., Cotinot C., Fellous M., Kirzenbaum M., Vaiman M. (1987), Sondes d'ADN spécifiques du génome mâle des ruminants, leur préparation et utilisation. Application filed with European Patent Office (EPO), Publication No 235046 A1.
2. Chupin D. (1992), Résultats d'une enquête sur l'état de l'insémination artificielle dans les pays en voie de développement. *Elevage et Insémination*. 252, 1 - 26.
3. Chupin D. et Thibier M. (1994), Résultats d'une enquête sur l'état d'insémination artificielle dans les pays développés. *Elevage et Insémination*, 263 , 1-18.
4. Dauzet H. et Marquant-Le Guienne B. (1994), Intérêt économique de la fécondation in vitro en élevages laitiers et allaitants. *Elevage et Insémination*. 264, 1-8 .
5. Léonard M., Kirszenbaum M., Cotinot C., Chesné P., Heyman Y., Stinnakre MG., Bishop C., Delouis C., Vaiman M. (1987), Fellous M. Sexing bovine embryos using Y Chromosome specific DNA. *Theriogenology*, 27 , 248 (Abstract).
6. Den Daas N. et Merton S. (1994), In vitro embryo production; its use. In «10^e Réunion de l'AETE «Lyon, 9-10 Septembre 1994. Fondation M. Mérieux Ed. (Lyon). 117- 124.
7. Galli C et Lazzari G. Large scale production of bovine embryos. Proc. first european conf. on progress in Embryo Technology and Genetic engineering in cattle and sheep Breeding. Krakow, Pologne, 111-116.
8. Galli C., Duchi R., et Lazzari G. (1994), Production of purebred embryos from beef cattle by in vitro embryo technology. *Theriogenology*. 41 , 201. (Abstract).
9. Hassler J F., Henderson WB., Huntsen PJ., Jin ZQ., McCauley AD., Mower SA., Neely B., Shuey LS., Stokes JE., Trimmer SA. (1995), Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43, 141-152.
10. Kruip TAM. , Boni R., Wurth YA., Roelofsen MWM et Pieterse.MC. Potential use of ovum pick up for embryo production and breeding in cattle. (1994), *Theriogenology*. 42, 675- 684.
11. Lazzari G. et Galli C. (1993), Salvage of valuable germplasm of sterile cattle by in vitro embryo technology..In 9^{ème} Réunion de l'AETE 8-9 septembre 1993. Fond M Mérieux Ed. (Lyon , France) 87-99
12. Looney CR., Lindsay BR., Gonseth GC. et Johnson DL. (1994), Commercial aspects of oocyte retrieval and in vitro fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology*, 41, 67 - 72
13. Marquant-Le Guienne B. (1991), La fécondation in vitro: l'exemple des bovins.. *Rec Med Vet*. No Spécial «Reproduction des Ruminants» 303-312.
14. Nibart M. (1991), Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées: bissection et sexage. *Rec Med Vet* . No Spécial «Reproduction des Ruminants», 261-290

15. Nibart M., Kohen G., Esposito L., Baudu P., Thuard JM., Desmettre P., Thibier M., (1992), Rapid bovine embryo sexing by DNA probe. Field results. In : Proc. XIIth Intern Congress on Anim Reprod. La Haye. (Pays Bas) 727 - 729.
16. Nibart M., Thuard JM., G. Esposito L., Herpe P., Hascoet J., Marrec. Lebru D., Rohou A. (1993), Bovine Embryo sexing and modelisation in an attempt to produce female calves by embryo transfer. In Proc. IXth AETE meeting. 224 (Abstract).
17. Nibart M. (1992), Practical application of two advanced biotechnologies to bovine embryo transfer: splitting and sexing. In: Embryonic development and manipulation in animal production. Trends in research and applications. Lauria and Gandolfi(eds). Portland Press Ltd Londres pp. 215-224.
18. Nibart M. et Marquant-Le Guienne B. (1995), (Production d'embryons et de veaux par OPU-FIV chez les bovins. Elevage et Insémination. sous presse.
19. Paul JB., Looney CR., Lindsay BR., et Godke RA. (1995), Gonadotropin stimulation of cattle donors at oestrus for transvaginal oocyte collection. *Theriogenology*. 43 , 294 (Abstract)
20. Pieterse MC., Kapen KA., (1988), Kruip TAM et Taverne MAM. Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*. 1988 , 30, 751 - 762.
21. Silva Peixer M., Thuard JM., Guyader-Jolly C., Ponchon S., Marquant-Le Guienne B. et Nibart M. (1995), Production d'embryons par OPU-FIV, sous presse.
22. Thibier M. (1989), Les nouvelles techniques de reproduction chez les bovins : actualités et perspectives. In «Biotechnologies et développement des productions animales»(Chambres d'Agriculture de France) Suppl. au No 768 : 5-10.
23. Thibier M. (1990), New Biotechnologies in cattle production. In 7th Congress of the F A V A 4-7 Nov. Pattaya (Thailand). p. 513-524.
24. Thibier M. (1993), Les nouvelles biotechnologies de la Reproduction. In : «L'Amélioration génétique des bovins en Afrique de l'Ouest» ed by Chupin, Wagner and Wilson. FAO (Rome) 110, 151-167.
25. Thibier M. (1994), Statistics of the embryo transfer industry around the world. IETS Newsletter. 12 , 13-16.
26. Thibier M. et Nibart M. (1995), The sexing of bovine embryos in the field. *Theriogenology*. 1995. 43. 71 - 80.

Les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction des petits ruminants

D. TAINURIER*, F. FIENI*, J.-F. BRUYAS*, I. BATTUT *

** Service de Pathologie de la Reproduction*

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes CP. 3013 - 44087 Nantes Cédex 03

I. Insémination artificielle

A. Brebis

750 000 I. A. en France, ce qui représente 9% des brebis (38% des brebis laitières : Roquefort, Pyrénées Atlantiques en juin/juillet, 4% I.A. chez les brebis allaitantes 76% d'avril à juillet).

21 laboratoires préparent la semence, 2 font de la mise en place mais 3 centres fournissent la semence pour 75% des brebis, 4 pour 80%.

I. A. avec de la semence fraîche réfrigérée à + 4°C, mise en place 6 à 12 heures après le prélèvement, 65 à 70% de fécondité.

a) Production de semence par le bélier

La production d'un bélier par an est de 400 à 500 doses (800 à 1000 doses sous programme photopériodique) utilisables par la voie cervicale (concentration : 400 millions de spermatozoïdes par paillette de 0,25 ml).

b) Conditionnement de la semence

- Fraîche : 15° c pendant 10 h. (400 millions de spermatozoïdes par brebis).
- Réfrigérée : 4° c pendant 24 h. (400 millions de spermatozoïdes par brebis).
- Congelée : (le sperme congelé est peu utilisé) 5611 I. A. en 1990, soit 1,1% des inséminations (surtout par endoscopie).

c) Moment de l'insémination artificielle

- Par voie cervicale :

- . chez la brebis 55 h après le retrait des éponges,
 - . chez l'agnelle 50 h.
- Par voie intra-utérine :
- . Lors d'insémination intra- utérine, il est nécessaire d'intervenir 5 à 10 heures après l'heure habituelle d'insémination par voie cervicale, soit entre 62 et 65 heures après l'arrêt du traitement progestatif chez la brebis (figures n° 6-11 en annexe).
 - . Pour éviter le stress dû au changement de lieu de séjour chez la brebis qui se traduit par une diminution de la fécondité, il faut rentrer en bergerie les brebis la veille de l'I. A. et 18 h. de diète complète sont nécessaires pour assurer une vacuité suffisante des réservoirs digestifs.
 - . L'insémination intra-utérine permet de multiplier par 4 ou 5 le nombre de doses d'un reproducteur. Par ailleurs, cette technique rend possible chez cette espèce l'emploi de la semence congelée (tableau 1). (concentration : 50 millions de spermatozoïdes, soit 8 à 10 fois moins que par la voie cervicale).

Tableau 1. Taux de gestation après insémination chez la brebis et la chèvre.

	Cervicale	Intra-utérine	Cervicale	Intra-utérine	Cervicale	Intré-utérine
Nombre de spermatozoïdes	400.10 ⁶ (frais ou réfugéré)	100.10 ⁶ (congelé)	200.10 ⁶ (congelé)	100.10 ⁶ (congelé)	2 x 200 x 10 ⁶	200 x 10 ⁶ (congelé)
Taux de fécondation	37	65	52	56	41	82
	Brebis synchronisées		Chèvres synchronisées		Chèvres superovulées	

d) Durée d'une séance d'I.A.

- 60 à 70 brebis inséminées à l'heure chez un éleveur bien organisé en I.A. cervicale (qui chez l'agnelle peut-être vaginale à l'aveuglette car on ne voit pas toujours le col).
- 20 à 25 brebis à l'heure par endoscopie.

B. Chèvres

a) L'insémination artificielle par voie cervicale

1. Généralité

Elle a été modeste jusqu'en 1984 où pour la première fois le seuil des 10000 inséminations artificielles a été dépassé en France (figure 1 en annexe).

Depuis ce nombre augmente régulièrement avec un accroissement net ces dernières années. 50 000 I. A. en 1989 (dont 1 000 par endoscopie : 400 au Service de Reproduction à l'E. N. V. de Nantes), 53 000 I. A. en 1992.

L'I.A. par voie cervicale, associée à la synchronisation des chaleurs, permet d'obtenir avec une paillette de 0,5 ml contenant 200 millions de spermatozoïdes (avec du sperme frais), une fécondité variant de 50% avant la saison de lutte, à 65% en saison (4-8), (tableau n° 1).

Il est donc possible avec un éjaculat moyen de réaliser 20 inséminations donnant environ 10 gestations.

Le dépôt de la semence est effectué à l'entrée du col ou dans le canal cervical.

2. Moment de l'I. A.

l'I.A. se réalise en race Alpine 43 à 45 heures après le retrait des éponges respectivement chez les chèvres et les chevrettes.

En race Saanen elle est plus tardive et se réalise 45 heures chez les chèvres et 47 h chez les chevrettes après le retrait des éponges respectivement.

Chez les chèvres superovulées, en raison de la difficulté rencontrée pour déposer le sperme dans l'utérus et d'autre part de la variabilité des heures d'ovulation après retrait des éponges, il est nécessaire d'avoir recours à 2 voir 3 I.A. par voie cervicale afin d'obtenir un taux de fécondité acceptable.

Les spermatozoïdes ont un pouvoir fécondant après capacitation de 30 à 46 heures et atteignent après insémination par voie cervicale, le site de fécondation en 6 à 12 heures.

3. Durée d'une séance d'I.A.

L'insémination par voie cervicale est rapide, elle ne demande que deux minutes chez la chèvre contre 3 minutes chez la chevrete.

Cette différence tient au cathétérisme cervical qui est beaucoup plus difficile à réaliser chez les femelles nullipares.

b) Insémination artificielle par voie intra-utérine

l'I.A. avec de la semence congelée s'est surtout développée par dépôt de la semence à l'intérieur de l'utérus sous contrôle endoscopique (1-4-5).

En 1988 : 87 000 inséminations intra-utérines, transpéritonéales ont été réalisées chez les brebis en Australie.

En France, d'abord développée chez les ovins, cette technique a été adaptée à la chèvre par Vallet.

Matériel

1 - Endoscope de 41cm de long, 6,5 mm de diamètre.

2 - Le matériel d'insémination est composé :

d'un transcap,

d'un palpateur

d'un aspic

(figures n° 2, 3, 4 en annexe)

Moment de l'I.A.

En raison du dépôt direct de la semence dans la lumière utérine, il est nécessaire d'intervenir entre 5 et 10 heures après l'heure habituelle d'insémination par voie cervicale chez les chèvres synchronisées.

Les chèvres étant beaucoup plus sensible que les brebis, pour éviter stress et mouvements désordonnés au cours de l'intervention, il convient de les tranquilliser par injection par la voie I.V., de 20 mg d'acépromazine pour un animal de 50 kg.

L'insémination sous contrôle endoscopique est alors possible 5 mn plus tard.

L'animal placé sur la table d'opération, en décubitus dorsal, incliné cradialement selon un angle de 45°, est tondu puis désinfecté au niveau d'une zone se situant en avant de la mamelle.

Chez la chèvre superovulée

L'I. A. intra-utérine doit avoir lieu 46h30 après le retrait des éponges, le taux de fécondité est de 70% contre 84% lorsque l'on utilise 2 saillies 36 et 48 h après le retrait des éponges et 50% si on insémine par voie cervicale.

Opérateurs

Outre l'insémination, 3 personnes sont nécessaires pour cette intervention : deux aides assurent la contention et le transport des animaux, tandis qu'un troisième s'occupe du conditionnement de la semence.

En raison du caractère chirurgical de cette intervention, l'inséminateur revêt une blouse propre voire stérile. Ses mains et avant-bras sont lavés et désinfectés et le port de gants chirurgicaux est recommandé.

Elle nécessite donc un personnel plus important que pour l'I. A. par voie cervicale où 1 ou 2 aides sont nécessaires.

4. Durée d'une séance d'I.A.

Lorsque les conditions d'organisation sont bonnes, la réalisation de l'insémination par la voie transpéritonéale demande 3 à 5 mn.

Contrairement à ce qui est observé lors d'insémination cervicale, ce sont les chevrettes qui sont le plus facilement inséminées par voie transpéritonéale. Ceci tient d'une part, à une absence de développement des mamelles et d'autre part, à un état d'engraissement peu prononcé (figures n° 5 - 6 - 7 en annexe).

Ce dernier facteur explique aussi, qu'en règle générale, les chèvres de race Alpine sont beaucoup plus faciles à inséminer que les chèvres de race Saanen.

La semence doit être reconditionnée en paillette de 0,25 ml, les inséminations sont réalisées avec 100 millions de spermatozoïdes, mais le nombre des spermatozoïdes pourraient encore être diminué.

II. Transplantation embryonnaire

Généralités

Chèvres

1934 - Transfert embryonnaire dans l'espèce caprine Warwick

1984 - Cette technique a été mise en œuvre en France chez la chèvre Angora(2)

1986 - Application en France aux races à vocation laitière Alpine et Saanen.

Brebis

En 1990 : 113 brebis donneuses

350 embryons congelés mis en place sur une soixantaine de brebis receveuses.

1. Préparation des donneuses

Ce sont des femelles de grande valeur choisies en fonction de leur qualité génétique améliorée.

Troupeau indemne de Bucellose, Chlamydiose, Fièvre Q, Salmonellose.

Traitement

- PMSG, la demi-vie est de 21 heures chez la brebis, il suffit d'une seule injection par la voie IM ou SC (entre J9 et J13) ou au moment du retrait des éponges.

700 à 3000 UI chez les adultes

500 à 1000 UI chez les agnelles (figure n° 8 en annexe).

3 à 9 ovulations.

- FSH, la demi-vie est de 20 à 70 mn chez la brebis

24 mg en 6 injections (5-5, 4-4, 3-3) (figure n° 9 en annexe).

9 ovules

Superovulation successive d'une donneuse

La superovulation peut être répétée chez la brebis au rythme d'une fois tous les 3 mois avec 1000 U.I. de PMSG voire même plus fréquemment tous les 17 jours.

Saillie : en main par 2 béliers successifs à 12 heures d'intervalle.

Par laparotomie ou endoscopie (Legendre et Bousseau) à J3 par lavage des oviductes.

Entre J4 et J7 par lavage de l'oviducte et de la corne utérine (J7 l'embryon sort de la zone pellucide) (figure n° 10 en annexe - tableau 2).

Tableau 2. Cinétique de la bPAG dans le sang de JO à J21 après la mise bas

jours	Vache													Moyenne
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0	1542	1018	1916	2200	1546	1405	391		1792	791	1186	1607		1399,5
3	896	632	1074	1536	1509	1072	401				697	810		958,6
6	596	762	894	1064	1187	839	260	688	875	287	463	568		706,9
9	442	256	466	660	1075	542			624	178	217	383	550	490,3
12	264	202	554	540		411	132	364	447	134	116	214	431	317,4
15	220	142	268	346	601	299	114	312	245	92	111	180	340	251,5
18	138	100	164	260	529	205	53	233	206	75	77	86	319	188,1
21	78	82	160	180	369	169	44,5	222					240	171,6

Récolte non chirurgicale

- Sous pré-anesthésie par la voie I. M. 10 mg d'acépromazine

- Saisir le col par voie vaginale à l'aide d'une pince de Kocher et l'attirer au niveau du vestibule, introduire une sonde de Foley (cheminement facilité par un contrôle digité par voie rectale ou mieux vaginale 60% de succès) (9).

Récolte chirurgicale

(Les animaux peuvent être mis à la diète pendant 24 heures).

Brebis

A la faveur d'une laparotomie après anesthésie locale à l'aide de 10 ml de xylocaïne à 2% au niveau de la ligne d'incision.

La table d'opération doit être placée en position déclive, brebis tête en bas.

Chèvre

Anesthésie gazeuse :

- Association Tilétamine-Zolazepam (Zoetel N.D., 4 à 6 mg/kg).

0,5 g de Thiopental sodique (Nesdonal N.D.) puis anesthésie gazeuse au fluothane (2) (3) (8) après intubation.

Anesthésie fixe :

- Association Xylazine(Rompum N.D.), Kétamine (Imalgene N.D.) 0,13 ml/kg et 2-3 mg/kg respectivement

- Association Tiletamine-Zolazepam (Zoetel) 4-6 mg/kg I. V. fausses déglutitions évitées par intubations, injection de la demi-dose initiale en cas de réveil prématuré au cours de l'opération.

Technique

- Classique : - sonde de Foley à la base de l'une des cornes (récolte)

- cathéter introduit dans l'oviducte par l'ostium pavillonnaire (injection du liquide de récolte) (figures n° 11-12 en annexe).

- Variantes : - lavage de l'oviducte (technique de Hunter) (figure n° 12 en annexe).

- lavage des 2 cornes en une seule opération (Technique de Moor et Rowson 1966) (figure n° 14 en annexe)

- Récolte sous endoscopie (figure n° 7 en annexe)

Préparation des receveuses

Les éponges pour la synchronisation des chaleurs doivent être laissées en place 13 jours 1/2 chez les receveuses et 14 jours chez les donneuses (décalage de 12 heures).

Transfert

Le transfert est chirurgical à la faveur d'une laparotomie par la ligne blanche, 1, 2 ou 3 embryons sont mis en place (un dans chaque corne, si chaque ovaire porte un corps jaune, sinon dans la corne utérine ipsi-latérale à l'ovaire qui porte un ou deux corps jaunes) (tableau 3).

Tableau 3. Cinétique de la bPAG dans le lait de JO à J21 après la mise bas

Jours	Vache													Moyenne
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
0	145,2	146,5	145,9	250,0	676	47,7	122		63,5	150,2				194,11
1	41,1	88,8	96	29,6	504	53,5	40,1		65,8	136,7				117,29
2	18,2	87,1	84,8	17,9	185	43,1	11,8		49,2	25,05				58,02
3	18,6	15,2	18,1	18,3	100,0	21,9	18,1		17,3	12,76	13,53	42,3		26,92
4	11,7	15,3	14,2	13,3	46,5	18,8	5,4		14,5	9,777,08	9,05	19,0		16,14
5	9,7	9,8	5,1	12,3	39,2	20,0	4,3		15,1	4,88	1,10	14,64		13,39
6	7,9	9,2	8,7	10,7	24,7	14,8	4,6		11,4	5,3	8,24	8,28		10,31
7	7,9	5,2	8,2	9,2	24,9	10,6	6,3	82,3	15	3,61	7,75	8,38		15,92
8	6,1	5,2	7,1	9,0	18,9	9,7	3,9	50,9	8,25	3,04	6,24	8,15	35,5	13,27
9	5,2	4,6	7,4	7,0	18,0	8,1	3,8	19,7	9,53	3,0	4,83	6,35	26,1	9,51
10	5,1	3,5	5,4	6,1	11,7	6,3	6,5	20,5	11,4	1,75	3,43	5,43	54,7	11,0
11	4,5	3,1	5,4	6,9	12,3	5,7	2,4	16,8		2,02	4,67		33,4	8,81
12	3,1	2,7	2,3	4,6	14,3	5,7	2,5	14,0	8,87	1,39	3,02	4,33	7,22	5,74
13	3,5	2,5	3,0	3,7	7,5	4,1	1,3	14,8	3,37	1,93	3,08		10,2	5,2
14	3,5	2,4	2,6	4,0	8,2	3,6	1,5	11,8	4,18	1,13	5,9		8,38	4,83
15	2,4	2,1	2,8	3,5	7,1	2,9	1,4	9,4	5,45	0,81,57	2,67	1,8	8,54	4,12
16	2,3	2,2	2,3	3,2	4,8	3,1	1,2	9,90	2,23	1,93	1,86	3,18	7,45	3,32
17	2,2	2,0	1,9	2,6	4,9	3,5	0,8	10,6	3,65	0,81	1,3	1,65	5,15	3,33
18	1,7	1,7	1,9	2,5	3,9	2,3	0,7	8,9	2,1		3,65		3,1	2,77
19	1,7	1,8	2,1	2,5	4,7	2,4	0,6	8,7	3,23		0,86		2,91	2,69
20	1,5	2,1	1,5	1,6	3,4	2,3	0,9	10,5					2,86	2,96
21	1,4	1,2	1,0	1,5				13,6					2,45	3,53

Le taux de gestation est de 50%, mais peut atteindre 70 à 80%.

L'inconvénient majeur de la voie chirurgicale est que sa répétabilité est très limitée : une chèvre ne peut être collectée que 2 ou 3 fois dans sa vie, au-delà, l'importance des adhérences interdit toutes manipulations et le risque de stérilité est très important.

Par contre l'endoscopie ne provoque pratiquement pas d'adhérence (figure n°10 en annexe).

Bibliographie

1. Cesbron E. (1990), Insémination artificielle caprine. Etude d'une technique intra-utérine sous contrôle endoscopique - *Thèse Doctorat Vétérinaire* - Nantes.
2. Deguet M., Toisel SF., Boender G. et Dobbelaere Th.. (1989), Transplantation embryonnaire dans l'espèce caprine. Applications pratiques dans 3 élevages de chèvre Angora - *Rev. Méd. Vét.* 165, 10, 807-813.
3. Fieni F., Buggin M., Bruyas J.F., Tainturier D., Dumont P., Perrin J., Beckers J. F. et Daubie M. (1991), Développement embryonnaire caprin in-vitro : étude des conditions de culture - *Rev. Méd. Vét.* 167, 5, 435-444.
4. Fieni F., Buggin M., Tainturier D., Bruyas J.F., Bach-Lijour B., Cesbron F. et Vallet J. C. (1990), L'insémination artificielle intra-utérine, transpéritonéale chez la chèvre. 1 technique et mise en oeuvre. *Rev. Méd. Vét.* 166, 5, 471-478.

5. Fieni F., Buggin M., Tainturier D., Bruyas J.F., Mercier A. Utilisation de l'insémination artificielle intra-utérine chez la chèvre synchronisée et chez la chèvre superovulée. *Bulletin des G.T.V.* 91-4-06082, 65-72.
6. Fieni F., Roques J.M., Tainturier D., et Bruyas J.F. (1992), Utilisation du contrôle endoscopique pour l'insémination intra-utérine chez les petits ruminants. *Rev. Méd. Vét.* 168 (3/4), 295-302.
7. Legendre X. et Bousseau S. (1992), Récolte et transfert d'embryons sous contrôle endoscopique chez les petits ruminants. *Rev. Méd. Vét.* 1992, 168, 3/4, 289-293.
8. Maron P. (1992), Blastographie du développement précoce de l'embryon chez la chèvre superovulée. *Thèse Doctorat Vétérinaire* - Nantes.
9. Mylne M.J.A. Mc Kelvey W.A.C., Fernie K. et Matthews K. (1992) Use of a transcervical technique for embryo recovery in sheep. *Vét. Rec.* 130, 450-451.
10. Perrin J. et Casamitjama P. La transplantation embryonnaire : réalités et perspectives dans l'espèce caprine. *Bulletin des G.T.V.* 88 - 1 - C - 078 - 53 - 58.
11. Roques J. M. L'insémination intra-utérine chez la brebis. *Bulletin des G.T.V.* 91 - 5 - OV - 100 - 75 - 81

Figure 1. Évolution du nombre d'inséminations artificielles par voie cervicale chez les caprins en France

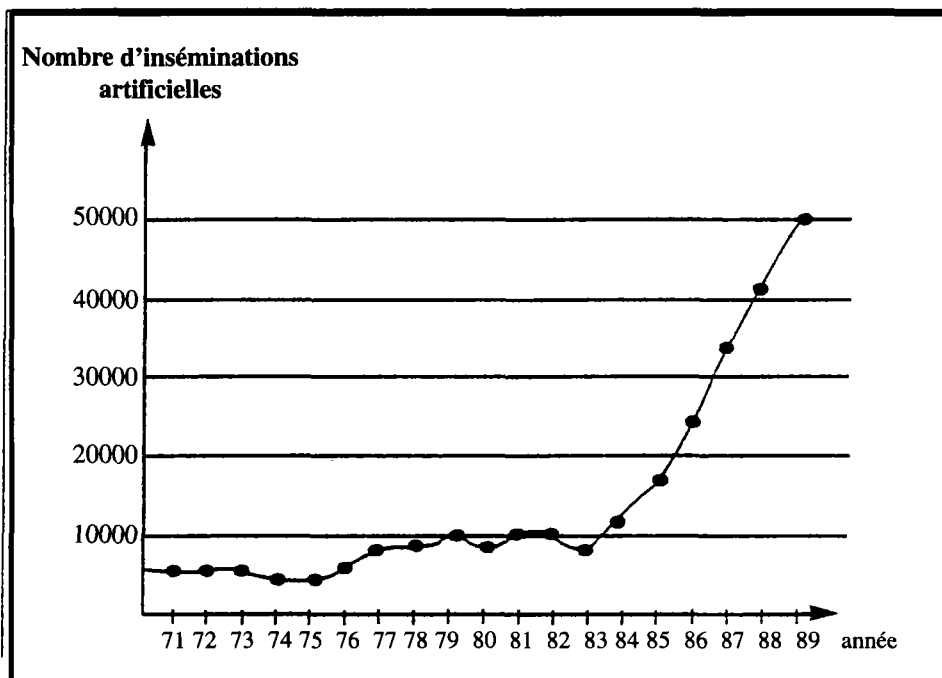


Figure 1B. Evolution du nombre d'IA chez la brebis en France en fonction du type de production

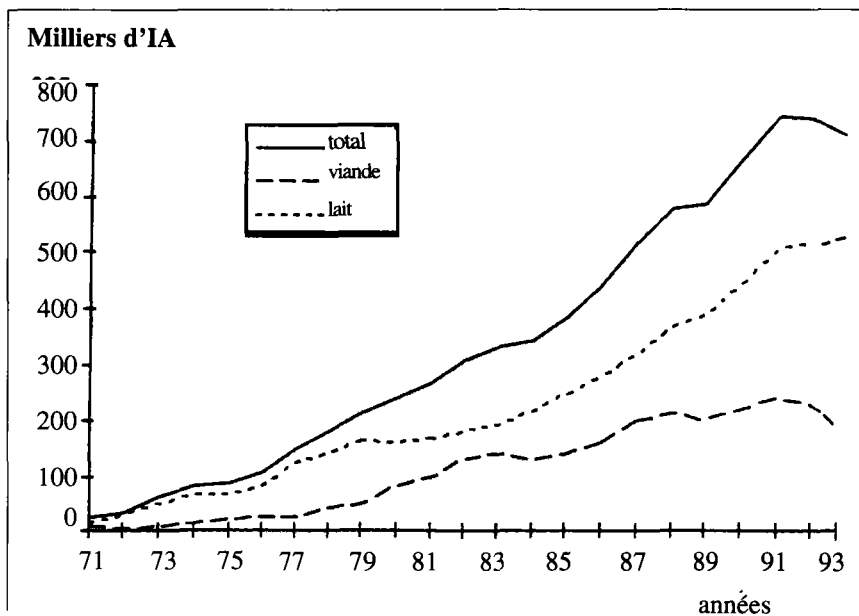


Figure 2. Le transcap

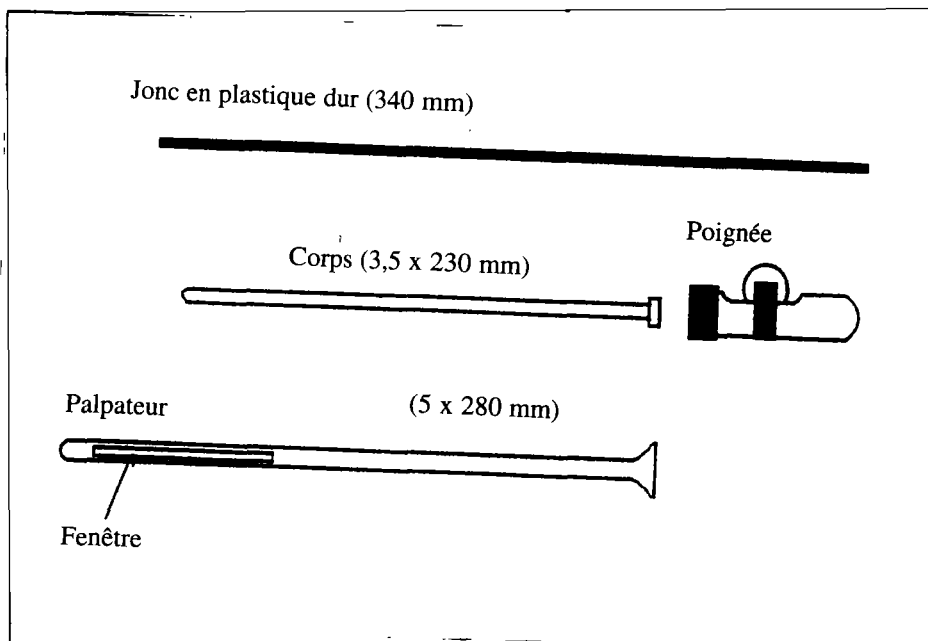


Figure 3. L'Aspic

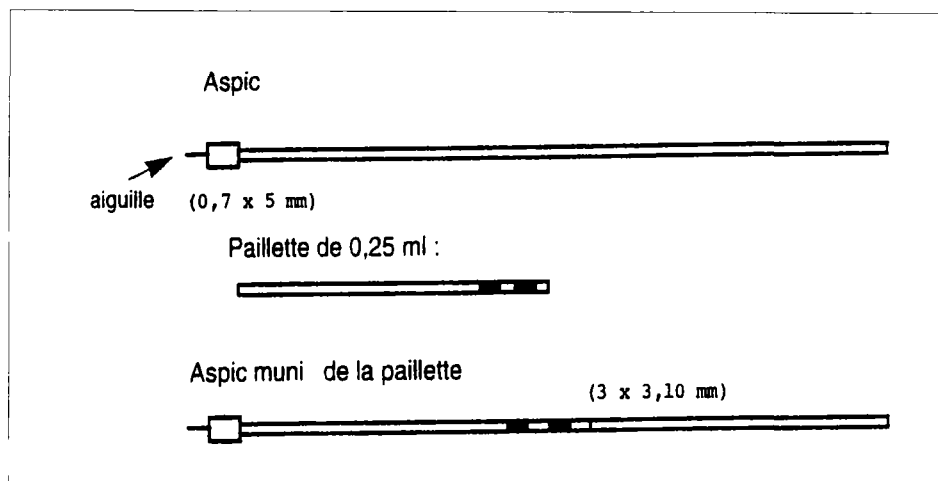


Figure 4. Montage de l'Aspic dans le transcap

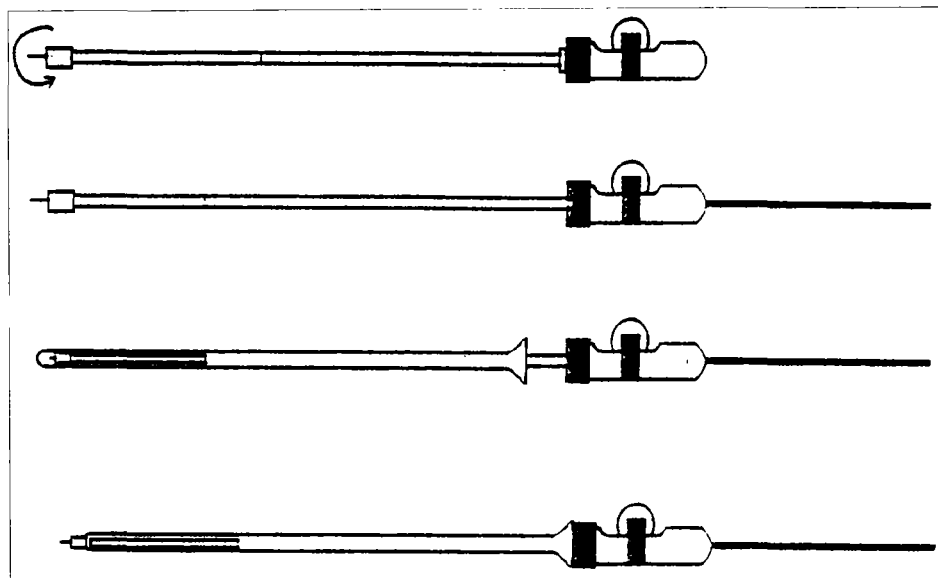


Figure 5. Points de ponction abdominaux

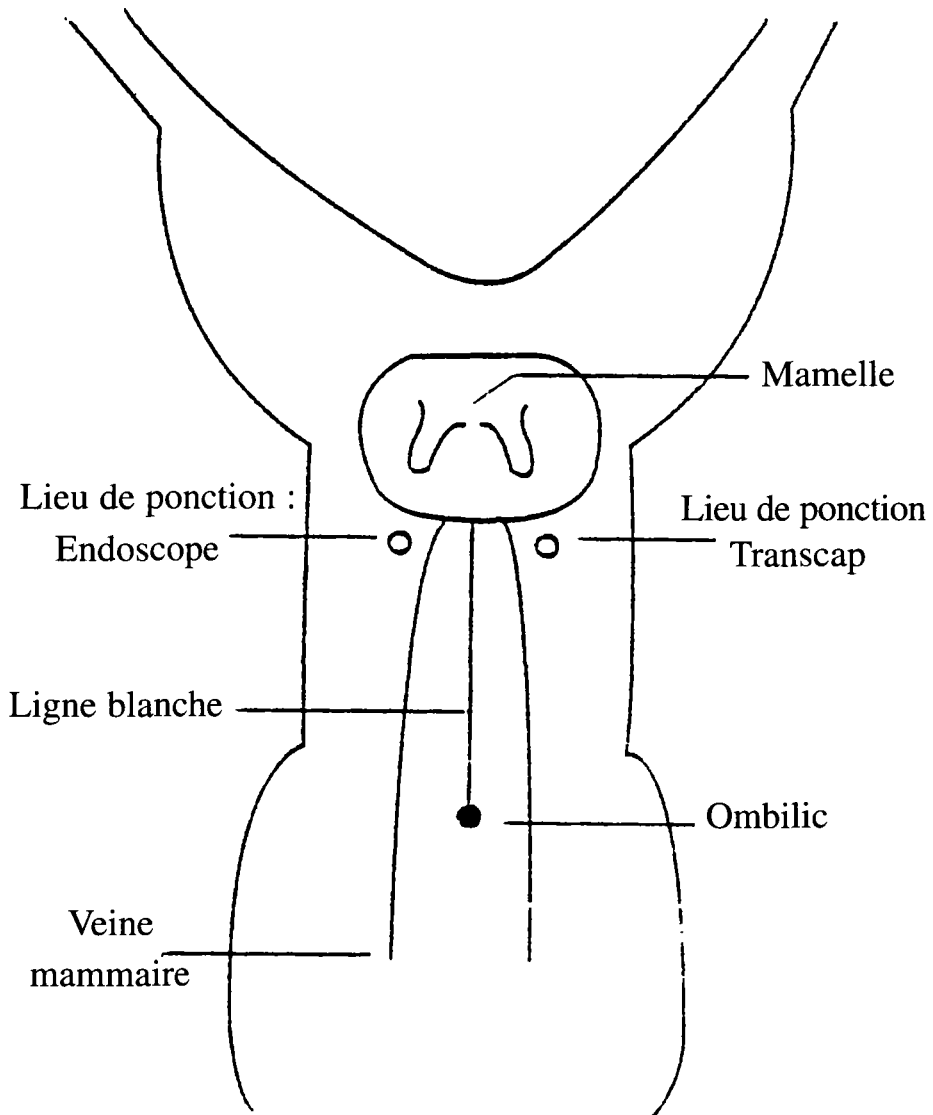


Figure 6. Ponction du transcap lors de la ponction utérine

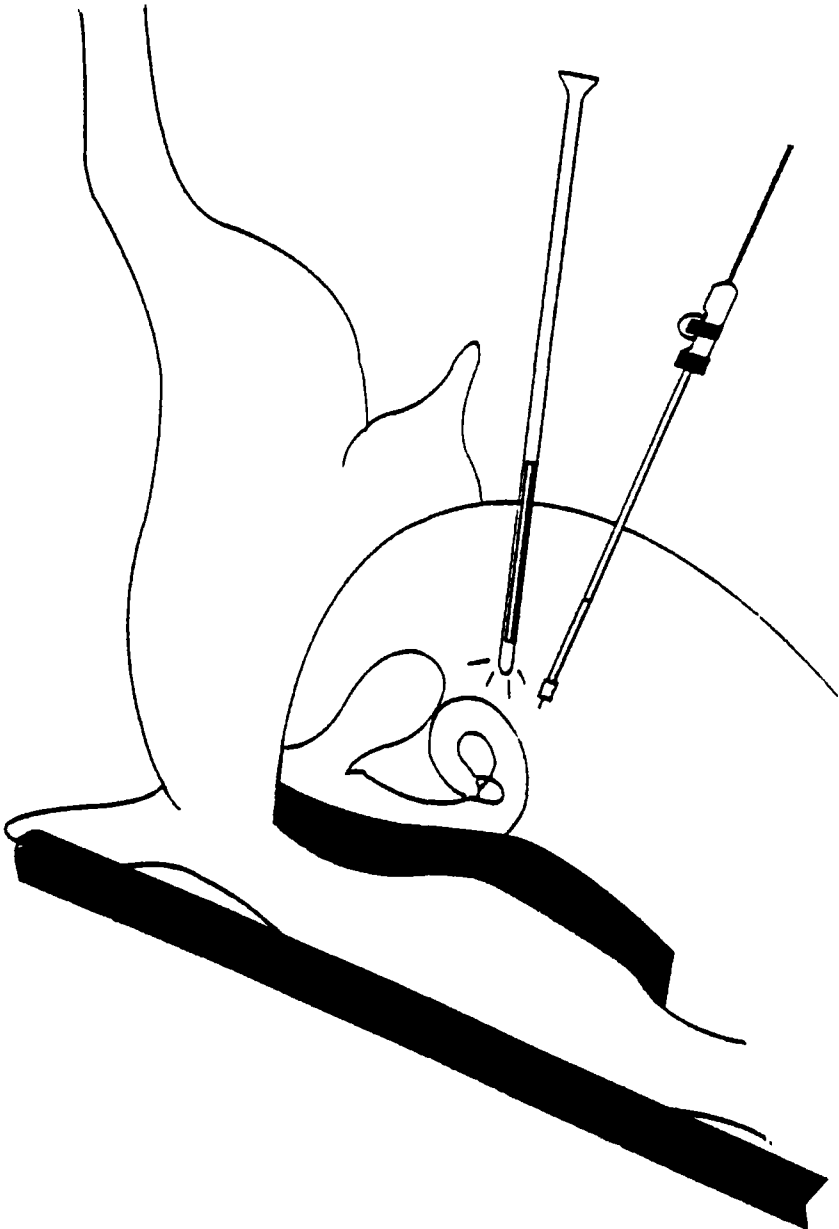


Figure 7. Chantier d'I.A. intra-utérine

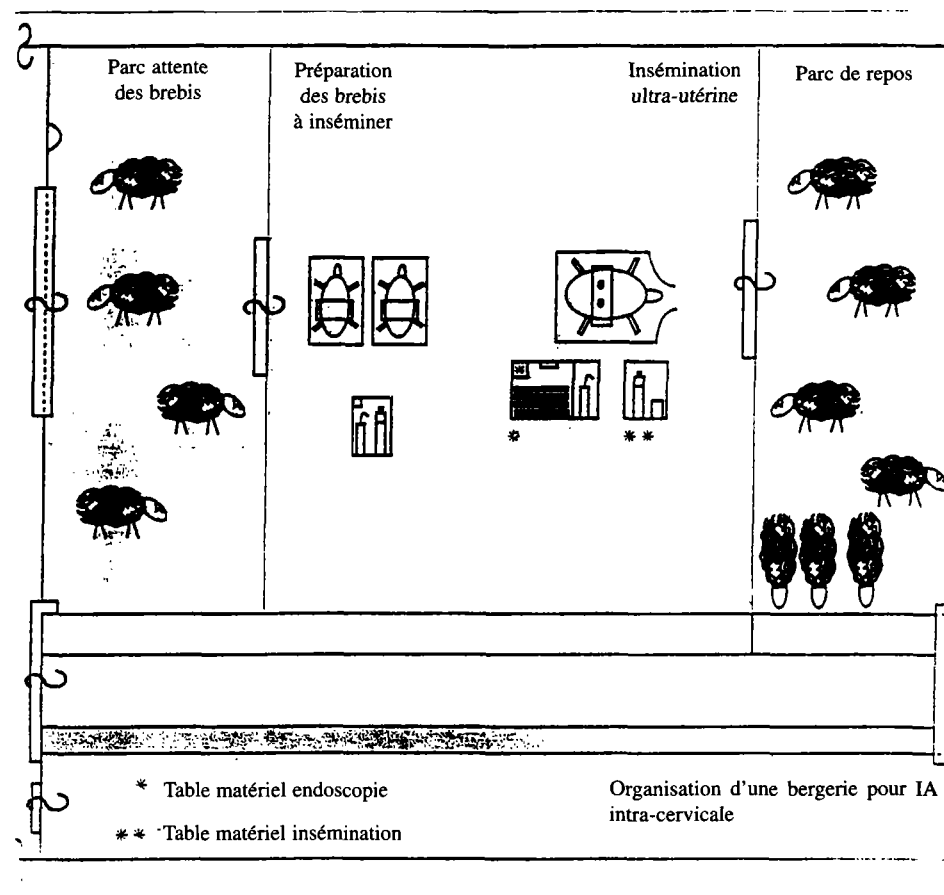


Figure 8. Plan de synchronisation des cycles oestriques de brebis donneuses polyovulées avec 1 500 UI de PMSG et de brebis receveuses dans le cadre d'une transplantation embryonnaire à J 6.

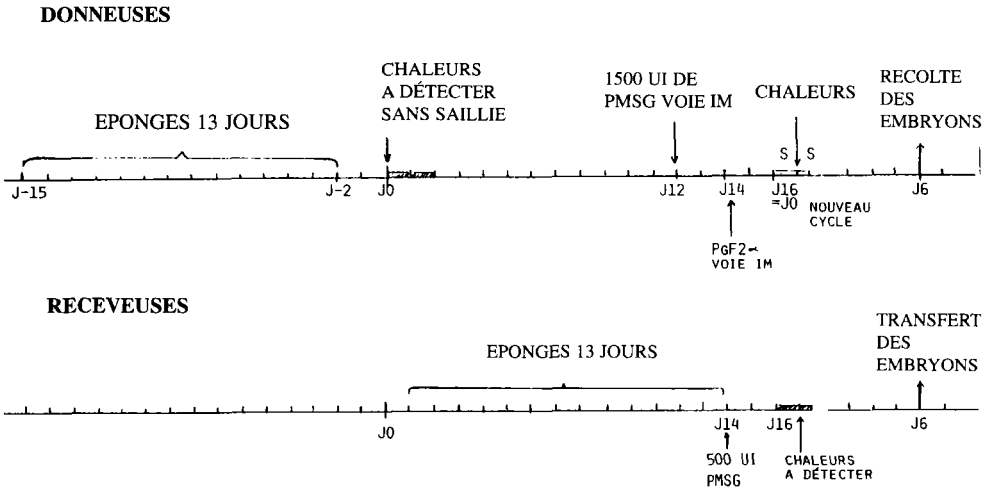


Figure 9. Plan de synchronisation des cycles oestriques de brebis polyovulées avec 24 MG de FSH et de brebis receveuses dans le cadre d'une transplantation embryonnaire à J 6.

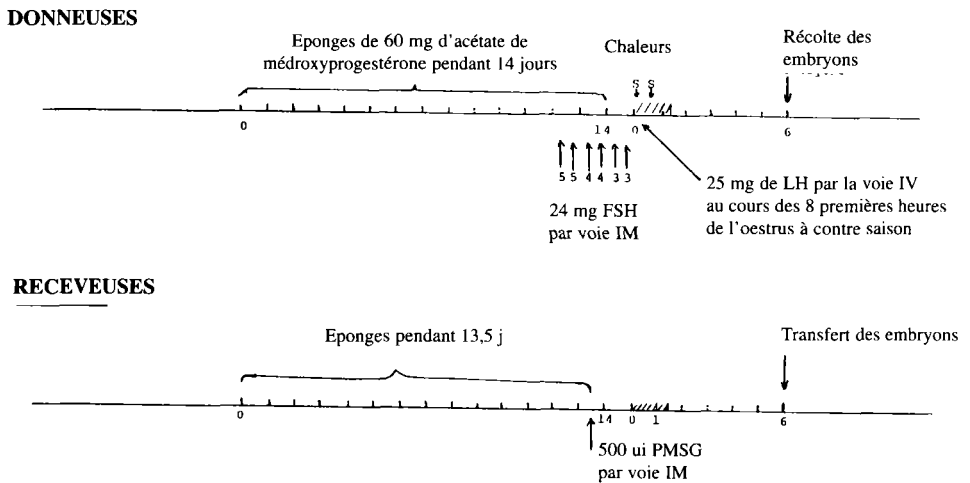
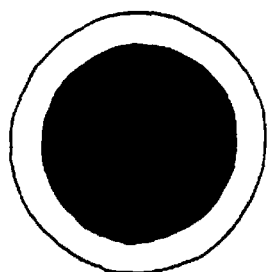
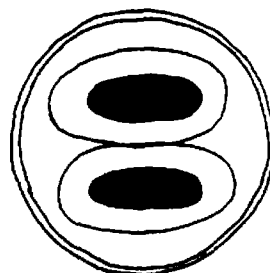


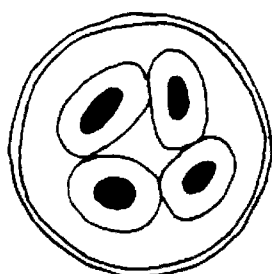
Figure 10. Développement embryonnaire chez la brebis



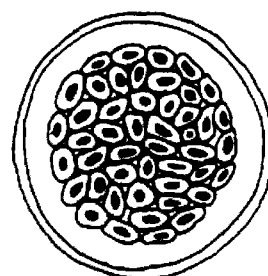
OVULE



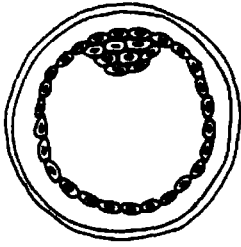
**STADE 2
BLASTOMERES
(J2)**



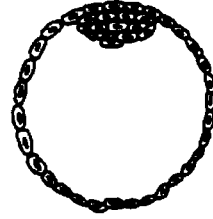
**STADE 4 BLASTOMERES
(68 H)**



**STADE MORULA
(J5)**



**STADE BLASTOCYTE JEUNE
(J6)**



**BLASTOCYTE SORTI DE
SA MEMBRANE PELLUCIDE
(J 8)**



**ALLONGEMENT DU BLASTOCYTE
(J14) (L = 102 MM, Ø = 1,1 MM)**

Figure 11. Technique de Moor et Rowson (4-5)

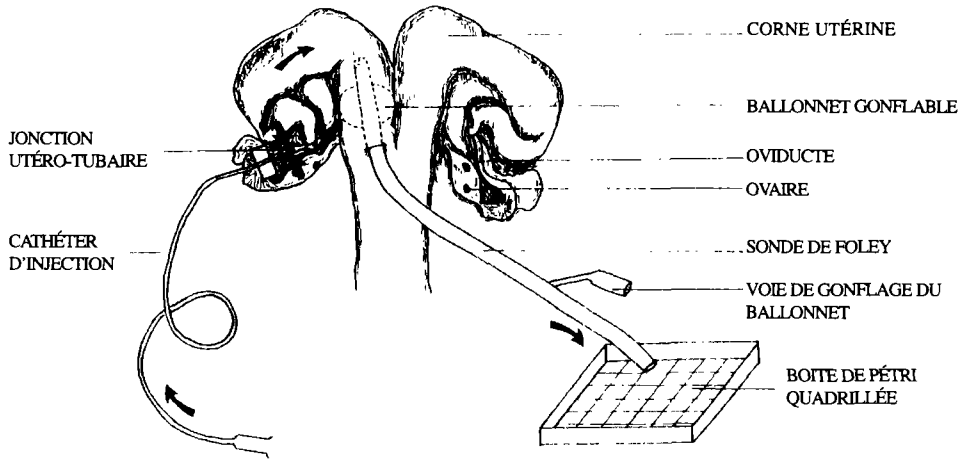


Figure 12. Technique de «Hunter modifiée» (2)

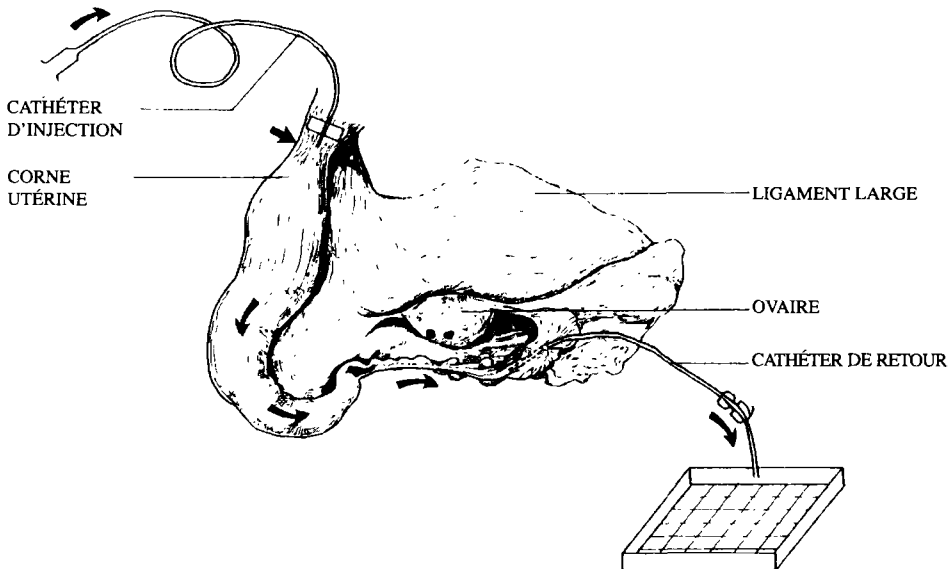


Figure 13. Technique de Hunter (1)

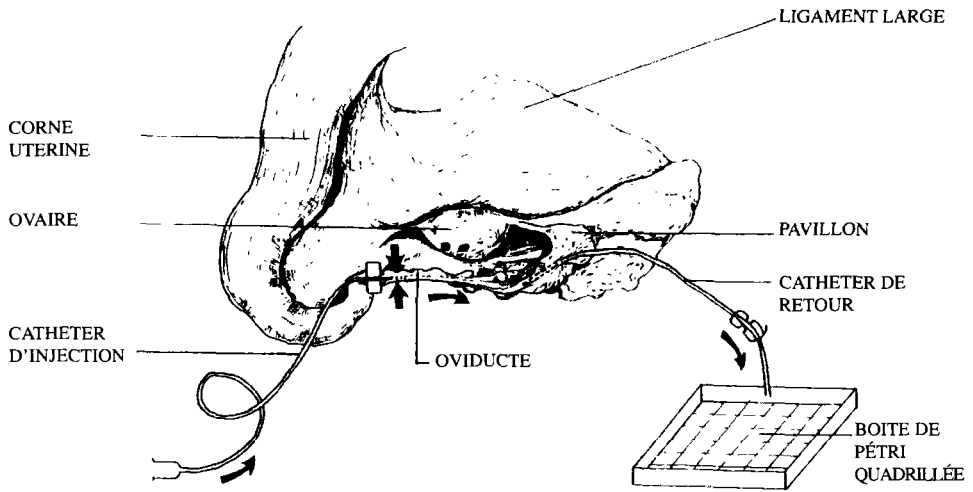
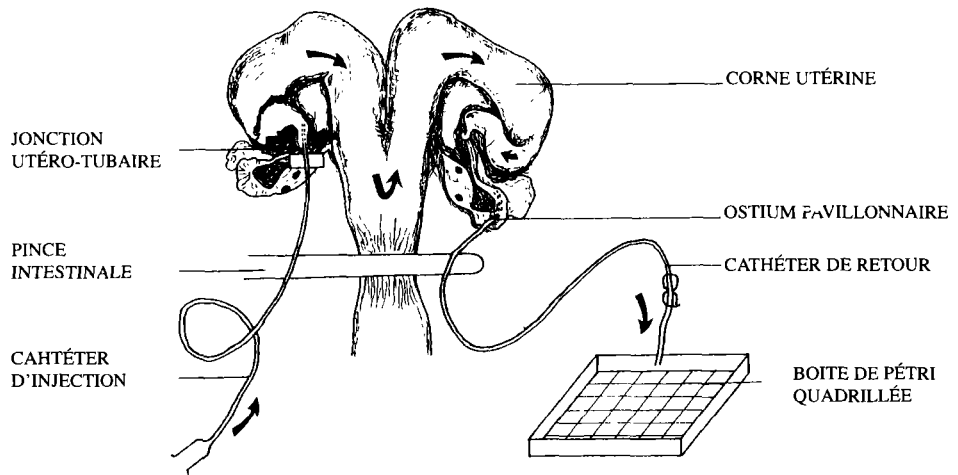


Figure 14. Technique de Hunter (1)



L'hormone de croissance (G.H.) ou somatotropine bovine (BST) et son utilisation en élevage bovin laitier

F. BADINAND * et A. LAHLOU-KASSI**

* *ENV Alfort (France)*

** *Addis Abeba (Ethiopie)*

Depuis plus de cinquante ans, on sait que l'hormone de croissance favorise la lactation. Des essais ont été menés dès 1955 (6) chez la vache laitière avec des extraits hypophysaires pour augmenter la lactation. Cependant, ce n'est qu'avec la possibilité de produire cette hormone par recombinaison génétique, obtenue en 1982, que les essais ont pu être multipliés. Ceux-ci ont été réalisés surtout à la fin des années 1980 alors que depuis 5 ans ils se font beaucoup plus rares. L'utilisation d'hormone d'origine hypophysaire permettait des traitements de courte durée alors qu'avec l'hormone «recombinée» il est possible de poursuivre les traitements plusieurs mois de suite.

L'objet de cet article est de passer en revue, rapidement, les résultats obtenus avec la BST et leurs facteurs de variation, de s'attarder un peu plus sur son mode d'action puis d'analyser les conséquences de son utilisation autres que les modifications de la production laitière, afin de connaître les conditions d'emploi de cette hormone.

Résultats de l'administration de somatotropine bovine sur la production laitière

Modalités d'administration

Courte durée (moins de 3 semaines) - voir revue en 9.

Les injections sont répétées quotidiennement pendant 5 à 21 jours à la dose de 20 à 50 U par animal. Il s'agissait presque toujours d'hormone naturelle extraite d'hypophyse.

L'effet le plus marquant est une augmentation en 24 à 48 h (2 à 4 traites) de la production laitière de 2 à 5 kg/j soit + 5 à + 40 %. En moyenne, cette augmentation est de 4 kg/j soit de 17 %.

Elle ne s'accompagne pas de l'augmentation d'ingestion correspondante, de telle sorte que le bilan énergétique diminue. Si celui-ci était positif au début du traitement, l'administration de BST ne s'accompagne pas de modification de la composition du lait ni du sang. Par contre, si le bilan énergétique était négatif, on note dans le sang une élévation du taux des acides gras non estérifiés et dans le lait une élévation des taux butyreux, d'acides gras longs et d'azote non protéique en même temps qu'une baisse des taux protéique et de caséine.

Longue durée (de 2 à 9 mois)

Les essais réalisés avec l'hormone naturelle sont peu nombreux (9) car il faut avec celle-ci renouveler quotidiennement les injections. Avec l'hormone recombinée, il est possible d'obtenir des produits à longue durée d'action permettant des injections toutes les 2, 3 voire 4 semaines. Les doses utilisées correspondent à une administration quotidienne de 14 à 35 mg. Dans les races laitières, la production laitière augmente de façon importante (2,2 à 10 kg/j, soit + 10 à + 23 %), le maximum étant obtenu en 4 à 10 semaines, comme le montre la fig. 1a.

Figure 1. Effets de la BST retard (500mg tous les 14 jours) sur (a) la production, (b) la consommation, (c) le bilan énergétique de vaches du type européen recevant une ration complète à volonté, d'après (30)

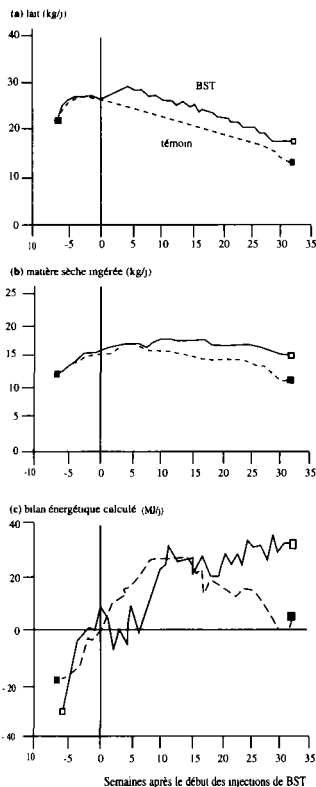
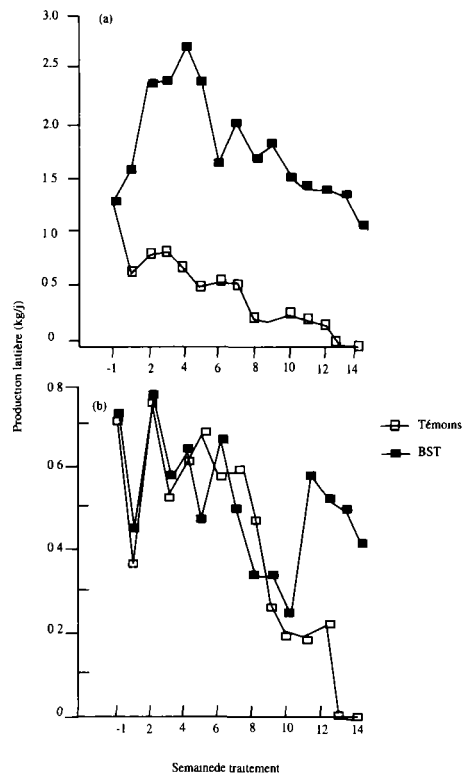


Figure 2. Effets de la BST retard (500mg tous les 14 jours) sur la production laitière chez la vache zébu traitée (a) à partir de 75-95 j. de lactation, (b) à partir de 96-120j. de lactation, d'après (32).



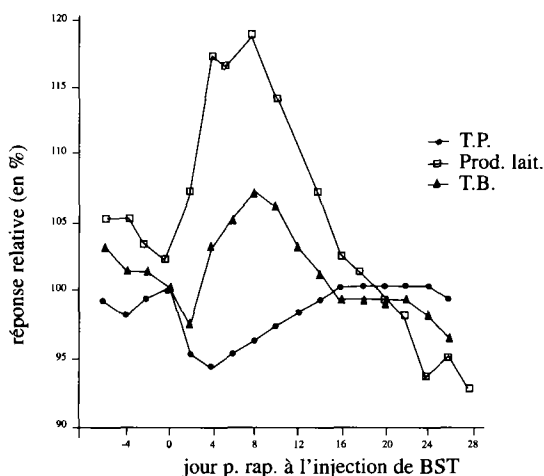
Chez le zébu, si la première injection est réalisée entre le 75^{ème} et le 95^{ème} jours de lactation, l'augmentation de la production laitière est encore plus intense : elle passe en 4-5 semaines de 1,2 à 2,7 kg/j (fig 2) soit, sur les 14 semaines de taitement, d'une moyenne de 0,45 à celle de 1,72 kg/j.

L'effet de la BST disparaît en 1 à 3 semaines après l'arrêt du traitement.

La composition du lait n'est pas modifiée si le bilan énergétique de l'animal est positif. Dans le cas inverse, elle subit les mêmes modifications que lors du traitement court, à savoir, pendant environ un mois, une augmentation du taux butyreux d'environ 1,2 g/l, des teneurs en acides gras longs, azote non protéique et lactalbumine et une baisse du taux protéique, dont la caséine, d'environ 0,3 g/l (9).

Un rééquilibrage de la composition du lait se réalise à la fin du traitement, de telle sorte que, sur l'ensemble de la lactation, on obtient un lait moyen dont la teneur butyrique est de - 0,1 à + 0,7 g/l et azotée de + 0,2 à - 0,4 g/l (9). Cette variation de la composition du lait au cours de la lactation se retrouve sur un cycle de traitement entre deux injections à 4 semaines d'intervalle (fig. 3).

Figure 3. Evolution journalière de la production laitière lors d'injection tous les 28 j de BST retard, d'après (37).



L'ingestion alimentaire n'augmente qu'en 3 à 8 semaines (fig. 1b) de telle sorte que le bilan énergétique demeure négatif durant 10 à 12 semaines (fig 1c). L'ingestion reste cependant toujours inférieure aux besoins théoriques, ce qui signifie que le rendement alimentaire s'améliore (11, 36).

Facteurs de variations de l'activité de la BST chez la vache laitière

Molécule - dose utilisées

La BST recombinée est plus efficace sur la production laitière que la BST naturelle (2, 3, 22). Ceci serait dû à l'existence d'un résidu méthionyl supplémentaire.

Les injections quotidiennes sont plus efficaces que celles qui sont réalisées toutes les 2, 3 ou 4 semaines même lors de doses quotidiennes équivalentes. Il existe une corrélation entre la dose quotidienne et la réponse en kg de lait supplémentaire produit jusqu'à un certain plafond. En injections quotidiennes, on n'obtient pas d'amélioration au dessus de 25 U/j (25 U : + 6,2 kg, 50 U : + 6,5 kg) et, toutes les 4 semaines, la dose quotidienne maximale est de l'ordre de 35 mg (11).

Lactation

Production initiale

La production initiale n'intervient pas sur les résultats de l'administration de BST (29). Le facteur individuel, non prévisible, est prédominant. Il serait dû, entre autres, à des variants génétiques de la somatotropine, notamment pour l'acide aminé en position 127, leucine ou valine (23). Ce caractère ne serait cependant pas héritable (1).

Numéro de lactation

Plus la parité est élevée, plus forte est la réponse à la BST, la meilleure étant obtenue à partir de la 3ème lactation, alors que les primipares voient leur production augmenter nettement moins (p. ex. selon 14 : + 25 % vs + 17 %). Cela tiendrait au fait que les primipares, n'ayant pas fini leur croissance, leur mamelle ne peut pas exprimer tout son potentiel.

Stade de lactation

Administrée au cours du 1er mois de lactation, la BST n'a aucun effet. Durant les 2ème et 3ème mois, l'augmentation de la production laitière est sensible mais modérée (+ 11-12 %). C'est au-delà du 100ème jour que les effets bénéfiques de la BST se font le plus sentir, qu'il s'agisse de primipares ou de multipares (+ 17-25 %) (14). Cette différence en fonction du stade de lactation est liée sans aucun doute au bilan énergétique des animaux.

A l'inverse, en ce qui concerne les zébus, un traitement débuté au delà de la 14ème semaine ne produit aucune amélioration de la lactation (fig 2b). Cela serait dû au fait qu'à cette période, la femelle se trouve sinon tarie, du moins très proche du tarissement naturel, la mamelle n'étant plus capable de réagir.

Bilan énergétique - Alimentation - Etat d'embonpoint

Durant les premières semaines de lactation, le bilan énergétique est toujours négatif, mais une alimentation convenable permet de le rétablir en deux mois environ. Tant que le bilan énergétique reste négatif, la réponse à la BST est nulle ou modérée et la composition du lait est modifiée (TB élevé, TP faible). Lorsque le bilan devient positif, la réponse à la BST est maximale, sans modification de la composition du lait.

Ce phénomène se traduit concrètement par le fait qu'une bonne alimentation, régulière et adaptée permet l'expression d'une production maximale et, qu'à l'inverse, une rupture dans l'approvisionnement, due par exemple à des aléas climatiques lorsque les vaches sont en pâture, se traduira par de moins bons résultats (11).

Une vache traitée par la BST à partir du 3ème mois et pour le reste de sa lactation voit néanmoins son état corporel baisser de 0,2 à 0,5 point et sa réserve lipidique corporelle diminuer de 4 à 13 kg (11) ce qui traduit une amélioration notable de l'efficacité alimentaire pour le lait de 7 à 10 %.

Répétition du traitement sur plusieurs lactations successives

Si une vache subit un traitement au cours de deux lactations successives, l'amélioration de la production laitière due à la BST diminue ; par exemple, dans une étude (29), de + 4,3 kg/j en moyenne à + 3,1 kg/j. Les taux butyrique et protéique, très légèrement améliorés par rapport aux témoins, ne changent pas d'une lactation sur l'autre.

L'efficacité alimentaire ne s'améliore pas plus d'une lactation à l'autre que sans traitement. Par contre, peut-être sous l'effet d'une action persistante de la BST, malgré son interruption, l'ingestion augmente nettement au début de la deuxième lactation dès avant le traitement (+ 15,7 % selon 24). Cela permet un rattrapage pour les animaux traités de la note d'état entre le tarissement et le 2ème vêlage et un maintien de cette note jusqu'à la fin de la 2ème lactation, au même niveau que chez les témoins.

Il semble donc que l'on puisse, sans trop de risques, utiliser la BST pendant plusieurs lactations successives, à condition bien entendu que l'alimentation soit adaptée aux besoins (1).

Mode d'action de la BST

Les intermédiaires entre la BST et les cellules mammaires

La BST n'agit pas directement sur les cellules mammaires qui ne possèdent pas de récepteurs à cette hormone, même si des ARNm de ce récepteur ont pu y être mis en évidence (20). Peut être agit-elle en synergie avec la prolactine.

IGF1

L'injection de BST entraîne une augmentation rapide, en 5 à 7 h, de la synthèse de l'insuline like growth factor 1, IGF1, encore appelée somatomédine C (15). Sa synthèse a lieu essentiellement dans le foie et, secondairement, dans les muscles et l'os. Le taux d'IGF1 est multiplié par 3 pendant toute la durée d'administration de la BST, il est parallèle à l'augmentation de la production laitière.

Au niveau de la mamelle, IGF1 augmente le débit sanguin et le métabolisme des cellules épithéliales, retarde l'involution de celles-ci en fin de lactation et, à long terme, augmente peut-être leur nombre (1).

Thyroxine

Quatre à cinq jours après l'administration de BST, le taux de 5' monodéiodinase est multiplié par 2, et ce uniquement dans la mamelle, de telle sorte que T4 est transformée en T3 active, augmentant le flux sanguin et le métabolisme cellulaire.

Débit sanguin et activité métabolique de la mamelle

Sous l'action de l'IGF1 et de la thyroxine, le débit sanguin de la mamelle augmente, proportionnellement à l'augmentation de la production laitière, sans pour autant que le rythme cardiaque change. Le métabolisme local augmente aussi, libérant sans doute des substances vasoactives qui accroissent également le débit sanguin (1). Ces modifications ont des conséquences directes sur les métabolismes glucidique, lipidique et, dans une moindre mesure, protéique.

Métabolisme glucidique

Le lactose provient du glucose sanguin, le rendement de cette transformation étant de 60 à 85 %. Le glucose provient lui-même des propionates, du glycérol et de certains acides aminés, originaires du tube digestif et des graisses de réserve.

Dans la mesure où, au moins au début, la BST augmente la production de lait sans que l'ingestion énergétique soit modifiée, la synthèse de lactose en quantité importante nécessite une adaptation du métabolisme glucidique. Cependant, ni la glycémie, ni l'insulinémie, ni l'incorporation par les cellules mammaires du glucose ne sont modifiées (29).

Plusieurs modes d'action ont été mis en évidence. Le glucose sanguin est normalement oxydé en CO₂ hors de la mamelle en quantité importante. Cette oxydation diminue d'environ 1/5^e. Dans la mamelle, la transformation de glucose en lactose augmente de près de 12 %. Dans le même temps, la néoglucogenèse hépatique à partir des lactates, du glycérol ou des acides aminés augmente légèrement, celle qui provient des propionates de 60 % durant les 8 premières semaines de traitement (4). Enfin, la transformation des triglycérides en glycérol puis glucose s'accroît, du moins au début du traitement, de 25 % (21).

La baisse de l'oxydation extramammaire du glucose et la néoglucogenèse hépatique sont à l'origine à elles seules des deux tiers des besoins supplémentaires pour le lactose (10).

Bien que l'on connaisse ses effets, on ne sait pas par quelle voie la BST intervient sur le métabolisme glucidique.

Métabolisme lipidique

Les acides gras du lait $\leq$ C16 sont synthétisés par les cellules épithéliales mammaires à partir des acétates et du β OH butyrate en provenance du tube digestif. Les acides gras longs ($\geq$ C17) traversent directement les cellules mammaires vers le lait à partir du tube digestif ou des réserves lipidiques corporelles. La mobilisation des lipides corporels se traduit par l'apparition, entre autres, d'acides gras non estérifiés (AGNE) et de glycérol dans le sang, bons témoins de cette lipomobilisation.

La BST n'a pas d'action lipolytique directe. Elle favorise la libération par les adipocytes de la lipase et la potentialise (26), entraînant une élévation de la teneur sanguine en AGNE et glycérol dont l'utilisation par la mamelle peut augmenter jusqu'à 75 % (1). Le glycérol pourra servir, par la voie du glucose, à la synthèse du lactose alors que les acides gras seront disponibles, selon leur taille, soit pour la synthèse des acides gras courts soit pour leur passage direct dans le lait.

La mamelle n'étant pas apte pendant quelques semaines à augmenter sa capacité de synthèse, la composition du lait en acides gras est modifiée au début du traitement par la BST : baisse des acides gras $\leq$ C16, augmentation des $\geq$ C17.

La BST possède également un effet de type diabétogène en rendant les adipocytes insensibles à l'insuline : la transformation des acétates en acides gras et du glucose en glycérol est freinée de telle sorte que ceux-là sont disponibles pour la synthèse par la mamelle des acides gras $\leq$ C16 et du lactose.

De plus, la BST supprime l'activité de la lipoprotéine-lipase du tissu adipeux, empêchant la capture des lipides par les adipocytes. Les lipides sont ainsi disponibles pour la mamelle.

La GH ne modifie pas le métabolisme lipidique du foie puisqu'aucun des signes qui caractérisent celui-ci, notamment la cétogenèse, n'apparaît après traitement à la BST (19).

Les AGNE libérés par lipomobilisation seraient donc utilisés directement par la mamelle comme source d'énergie et d'acides gras.

Dans l'ensemble, la production d'acides gras dans le lait, de par augmentation de la quantité de lait produit et de son taux butyreux, augmente en valeur absolue de 15 à 57 %. En début de traitement, c'est la lipomobilisation qui prédomine. Lorsque le niveau d'ingestion redevient suffisant en regard de la production laitière, la composition du lait en acides gras se normalise et les réserves lipidiques corporelles peuvent se refaire.

Métabolisme protéique

L'hormone de croissance ne semble pas avoir un rôle important sur les protéines ; peut-être pourrait-elle favoriser la mobilisation des protéines musculaires (5) dans le cas où les besoins énergétiques ne pourraient plus être assurés par les glucides et lipides. En fait elle agit plus comme facteur d'économie des protéines, peut-être en abaissant l'oxydation des acides aminés (14, 18). Cela se traduit par une baisse de l'excrétion azotée mammaire (10) et, dans le lait, en début de traitement, par une baisse du taux protéique global et du taux de caséine, alors que la teneur en lactalbumine du lactosérum, sans que l'on sache pourquoi, augmente (17) et que les autres formes d'azote non protéique restent en quantité à peu près stable (27).

Autres conséquences de l'utilisation de la BST

Sur la santé de la mamelle

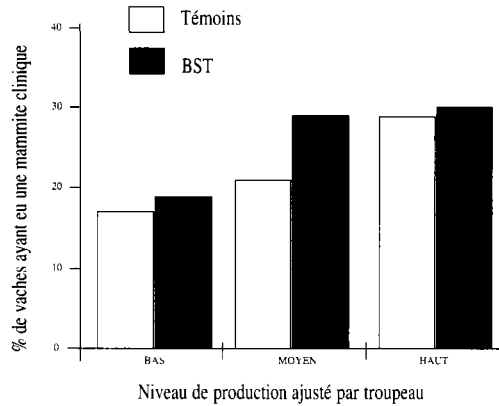
L'inflammation de la mamelle s'exprime de deux façons : soit une mammite clinique, soit une inflammation subclinique caractérisée par un taux cellulaire élevé ; Qu'il s'agisse de l'une ou de l'autre, les avis divergent entre les auteurs quant au rôle de la BST. Ces différences sont dues sans doute à la grande variété des cas étudiés, tant en ce qui concerne les animaux (race, âge, niveau de production laitière, nombre étudié) que le traitement BST (dose, date de début, durée) ou les mammites (critère analysé, niveau d'infection, au départ). De l'ensemble on peut cependant tirer quelques conclusions concordantes.

Mammites cliniques

La somatotropine ne semble pas augmenter le nombre de mammites cliniques, non plus que les nouvelles infections (incidence). Un rapport multinational (26 auteurs de 9 pays différents !) (39) indique cependant que le nombre de traitements pour mammites est supérieur chez les vaches ayant reçu de la BST (29,6 % vs. 21,3 %), bien qu'il n'y ait pas de différence pour le taux de nouvelles infections, la persistance des infections, ni le taux de réinfections des quartiers soignés.

L'administration de BST sur deux lactations successives accroît très légèrement le nombre de quartiers infectés par *Str. uberis* (38) mais, sur une lactation, les infections par les staphylocoques, streptocoques ou entérobactéries ne sont pas plus nombreuses (25). En ce qui concerne cette dernière, la mammite à *Escherichia coli*, une infection expérimentale est plus rapidement guérie chez les vaches traitées à la BST (8). L'amélioration de la guérison proviendrait d'une réponse leucocytaire plus rapide et plus intense sous l'action de la BST. Si l'on prend en compte la production laitière, il apparaît que le nombre de mammites cliniques dépend essentiellement de la production (13, 39), alors que le traitement par la BST n'intervient pratiquement pas (fig. 4). Par kilogramme de lait produit, il y aurait même moins de mammites chez les animaux traités (39).

Figure 4. Relation entre niveau de production, traitement pendant 8 mois à la BST et mammites cliniques, d'après (13)

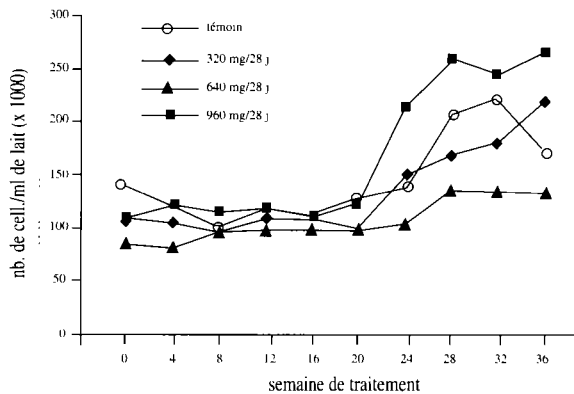


Taux cellulaire

Le lait d'une vache saine contient moins de 200 000 cellules par ml, en moyenne 70 000 à 100 000.

Le traitement par la BST augmente le taux cellulaire d'environ 60 % en moyenne sur l'ensemble des vaches, avec de très grandes variations individuelles (25) (Fig. 5).

Figure 5. Effet de la BST administrée tous les 28 jours sur le comptage cellulaire du lait chez la vache, d'après (24).



Chez les primipares, le taux cellulaire reste toujours inférieur à 200 000/ml mais il peut approcher 300 000 chez les multipares (38). A l'inverse, la BST administrée tout au long d'une lactation diminuerait le taux cellulaire au début de la lactation suivante (24).

L'élévation du nombre de cellules somatiques dans le lait est à mettre sur le compte d'une plus grande disponibilité et efficacité des leucocytes, comme nous l'avons vu plus haut à propos de la mastite colibacillaire (25).

Il n'empêche que le taux de 300 000 cellules/ml est un plafond qui ne doit pas être dépassé, pour des raisons sanitaires et réglementaires.

Sur la santé générale de l'animal

L'utilisation de la somatotropine ne se traduit par aucune augmentation des cas de maladies de type métabolique comme l'acétonémie ou le déplacement de la cailllette. Elle semble même éviter leur survenue (7). Il en est de même pour la pathologie podale (38) sauf si les conditions d'élevage étaient mauvaises au début du traitement (34).

En ce qui concerne les veaux nés suite à une gestation pendant laquelle la mère a reçu de la BST, aucune différence n'a pu être notée pour le poids à la naissance, la croissance, la mortinatalité (7) ou le nombre de jumeaux (38). La répétition du traitement au cours d'une deuxième lactation ne modifie pas ces données.

Les vaches traitées sont-elles plus facilement réformées que les témoins ? Il ne semble pas, car le taux de réforme dans les troupeaux à haut potentiel laitière est déjà très élevé (7). Il va de soi que si la ration alimentaire est insuffisante pour faire face aux besoins accrus, si le nombre de mammites était élevé au départ, si les conditions d'entretien sont mauvaises, le traitement par le BST aggrave la situation et les animaux sont plus fréquemment réformés.

Sur la reproduction

Plusieurs critères ont été analysés pour juger de l'effet éventuel de la somatotropine : les intervalles entre le vêlage et les 1ères chaleurs [V-C1], la 1ère insémination [V-I1], l'insémination fécondante [V-If], entre 2 chaleurs, le nombre d'inséminations nécessaire pour la fécondation ou indice coïtal (Ic), la facilité de détection des chaleurs, les taux de mortalité embryonnaire et d'avortements.

De l'ensemble des études, il ressort que l'emploi de la BST détériore la fécondité selon de nombreux critères, sans pour autant que la pathologie proprement dite (dystocies, non-délivrance, métrite,...) n'augmente (7).

Si le traitement débute au delà du 100ème jour de lactation, aucune conséquence n'apparaît, sans doute parce que le bilan énergétique est redevenu positif et que les vaches ont déjà été inséminées à cette date.

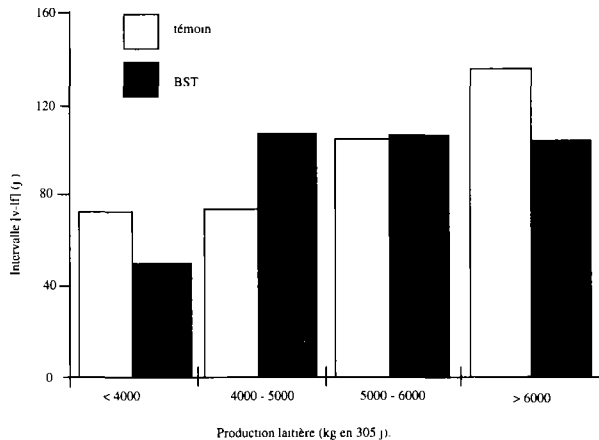
A l'inverse, si le traitement est commencé entre 45 et 80 jours de lactation, on observe un allongement du [V-If] moyen de 6 à 21 jours (11), l'effet étant moins marqué à la 2ème lactation améliorée par la BST (38). Cependant, au cours de celle-ci, existe une différence importante entre le nombre de gestations débutées (diagnostic positif à 35 j) et le nombre de mises bas, signe sans doute de mortalité embryonnaire ou d'avortement précoce.

Enfin, un traitement à la BST débuté à un mois, un mois et demi de lactation entraîne une détérioration de tous les indices de reproduction : [V-I1] augmenté de 30 j, [V-If] de 6 à 40j, Ic de 0,3, chaleurs moins visibles, nombre de traitements pour infertilité plus élevé (7). Sans que l'on puisse expliquer son rôle, on constate que le taux de progestérone plasmatique est plus élevé chez les animaux traités à la somatotropine, le nombre de récepteurs à la LH dans la granulosa étant supérieur (1). La BST interviendrait donc également sur l'équilibre hormonal de la reproduction.

D'autre part, il est bien connu qu'un bilan énergétique négatif s'oppose au développement embryonnaire précoce. Un traitement à la BST effectué peu après le vêlage, aggravant le déficit énergétique, s'oppose à une gestation. On sait également que forte production laitière et fécondité sont sinon contradictoires, du moins peu compatibles, la BST n'étant

qu'un des éléments de la lactation. En comparant la fertilité des vaches en fonction de leur production, il apparaît que celle-ci est plus importante que la présence ou non d'un traitement à la BST (fig 6).

Figure 6. Relation entre niveau de production, traitement à la BST (500 mg tous les 14 jours à partir du 60ème jour de lactation) et fertilité chez la vache, d'après (38).



Toutes ces modalités d'action de la BST expliquent bien son rôle néfaste sur la reproduction si elle est utilisée dans les trois premiers mois de la lactation.

Sur la transformation du lait

Ainsi que nous l'avons vu plus haut, la composition du lait, du moins pendant quelque temps, est modifiée par l'utilisation de la somatotropine : augmentation du taux butyreux, de la teneur en acides gras longs et en lactalbumine, baisse du taux protéique, de la teneur en caséine et en acide gras $\leq$ C16. En ce qui concerne les teneurs en cholestérol, enzymes, vitamines ou minéraux ou l'indice de lipolyse, aucune modification ne peut être notée (27). Les conditions de pasteurisation ou de stérilisation habituelles peuvent être appliquées au lait de vaches traitées sans qu'il soit possible d'en connaître ensuite l'origine (33, 35). Il en est de même pour la transformation du lait en yaourts, tant pour leur acidité que pour leur texture (16), en fromages frais (27) ou en fromages de type Gouda (35).

En ce qui concerne les autres fromages, des divergences apparaissent entre les expérimentations. Les fromages à pâte pressée cuite (Emmental ou Gruyère) sont soit identiques, soit de taille plus importante lorsqu'ils proviennent du lait de vaches traitées à la BST, entraînant un refroidissement plus lent (28). Les fromages à pâte molle comme le Camembert ou le Coulommiers donnent des rendements différents, légèrement inférieurs pour les laits de vaches traitées. Il faut de plus, pour ce dernier, adapter la technique de fabrication en fonction de l'origine du lait (12).

Si toutes les vaches d'un troupeau sont traitées à des moments différents, les modifications de la composition du lait auront tendance à s'annuler. Par contre, si pour des raisons d'organisation du travail, les traitements sont faits aux mêmes dates, toute la production laitière subira des modifications cycliques (cf fig 3) qui se répercuteront certainement sur la technologie fromagère.

Nous ne pouvons pas ne pas évoquer aussi le cas des fromages d'appellation d'origine contrôlée (AOC). Dans la mesure où la technologie devrait être modifiée et où le lait doit provenir selon l'AOC de vaches de races définies, entretenues dans des conditions elles aussi définies, il est peu probable que le comité des AOC accepte du lait provenant de vaches traitées par la somatotropine.

Conclusion

En conclusion, il est possible de définir les conditions et limites d'utilisation de la somatotropine bovine pour la production laitière.

La BST augmente de façon significative la production laitière et peut donc être proposée dans les régions où celle-ci est insuffisante. Pour profiter au mieux de son effet, elle doit être administrée pendant plusieurs mois, voire toute la lactation restant après sa première injection. Elle peut être utilisée plusieurs lactations de suite. A l'inverse, on ne peut pas efficacement l'employer au jour le jour pour pallier un manque passager de lait.

La somatotropine entraîne une forte augmentation des besoins pour répondre à la production supplémentaire de lait. Il est impératif de disposer de réserves fourragères et de complément de production pour faire face à ces besoins, faute de quoi les animaux traités maigriraient de façon importante. D'autre part, pour éviter l'infertilité consécutive à son administration et pour qu'elle soit efficace, la BST ne peut pas être administrée avant la fin du 3ème mois de lactation. Enfin, toute vache ayant présenté une mammite clinique ou subclinique devrait être écartée du lot d'animaux traités.

A ces restrictions s'ajoutent la probable interdiction de la BST dans les régions vivant de la transformation du lait en fromages à appellation contrôlée et, beaucoup plus importantes, les conséquences de l'augmentation de la production laitière individuelle sur les structures de l'élevage. Faire autant, voire plus de lait avec moins de vaches signifie moins d'éleveurs. Tous les pays, toutes les régions, sont-ils prêts à supporter une mutation supplémentaire de leur tissu rural ?

Bibliographie

1. K.C. Bachman, F. Elvin et H.H. Head (1993), Somatotropine, montée laiteuse et production laitière. in J. Martinet et L.M. Houebine : Biologie de la lactation. INSERM-INRA éd. Paris. 221-258.
2. D.E. Bauman, M.J. De Geeter, C.J. Peel, G.M. Lanza, R.C. Gorewit et R.W. Hammond (1982), Effects on recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 65, suppl. 1, 121.
3. D.E. Bauman, P.J. Eppaed, M.J. De Geeter et G.M. Lanza (1985) Responses of high-producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 68, 1352-1362.
4. D.E. Bauman, C.J. Peel, W.D. Steinhour, H.F. Tyrrell, A.C.G. Brown et G.L. Haaland (1987), Effet of growth hormone on metabolism of lactating dairy cows : influence of irreversible loss and oxidation of glucose and non esterified fatty acids. in 27.
5. F. Bocquier, G. Kann et M. Theriez (1990), Relationships between secretory patterns of growth hormone, prolactin, and body reserves on milk yield in dairy ewes under different photoperiod and feeding conditions. *Anim. Prod.*, 51, 115-125.

6. P.J. Brumby et J. Hancock (1955), The galactopoietic role of growth hormone in dairy cattle. *N.Z. J. Sci., Technol.*, 36, 417-436.
7. J.L. Burton, B.W. Mc Brider, J.H. Burtobn et R.G. Eggert (1990), Health and reproductive performance on dairy cows treated for up to two consecutive lactations with bovine somatotropin. *J. Dairy Sci.*, 73, 3258-3265.
8. C. Burvenich, G. Vandeputte-Van Messom, E. Roets, J. Fabry et A.M. Massart-Leen (1989), Effect of bovine somatotropin on milk yield and milk composition in periparturient cows experimentally infected with *Escherichia coli*. in 24.
9. Y. Chilliard (1988), Rôles et mécanismes d'action de la somatotropine (hormone de croissance) chez le ruminant en lactation. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28, 39-59.
10. Y. Chilliard (1993), Adaptations métaboliques et partage des nutriments chez l'animal en lactation. in J. Martinet et L.M. Houdebine *Biologie de la lactation*. INSERM-INRA éd. Paris. 431-475.
11. Y. Chilliard, R. Vérité et A. Pflimlin (1989) Effets de la somatotropine bovine sur les performances des vaches laitières dans les conditions françaises d'élevage. *INRA Prod. anim.*, 3, 301-312.
12. A. Come (1989), Qualité d'usage du lait de vaches traitées à la somatotropine : étude particulière des transformations fromagères. *Thèse Doct. Vét.*, Créteil. 114 p.
13. Craven (1991), Production laitière et sensibilité aux mammites : rôle de la génétique et du traitement à la somatotropine bovine. in J. Espinasse *Mammites des vaches laitières*. Soc. franç. Buiatrie. Toulouse, 50-54.
14. J.R. Davis et A.J. Collier (1955), Mammary blood flow and regulation of substrate supply for milk synthesis. *J. Dairy Sci.*, 68, 1041-1058.
15. J.R. Davis, P.D. Gluckman, I.C. Hart et H.V. Henderson (1987), Effets of injecting growth hormone or thyroxine on milk production and blood plasma concentrations of insulin-like growth factor I and II in dairy cows. *J. Endocrin.*, 114, 17-24.
16. R. Desnouveaux, H. Montigny et J.H. Letreut (1988), Aptitudes à la transformation du lait des vaches supplémentées à la BST. in 26.
17. P.J. Eppard, D.E. Bauman, J. Bitman, D.L. Wood, R.M. Akers et W.A. House (1985), Effect of dose of bovine growth hormone on milk composition : a lactalbumin, fatty acids and mineral elements. *J. Dairy Sci.*, 68, 3047-3054.
18. R.A. Erdman et S.M. Andrew (1989), Methods for and estimates of body tissue mobilization in the lactating dairy cow. in 1.
19. G.F. Gallo et E. Block (1990), Effects of recombinant bovine somatotropin on nutritional status and liver function of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 73, 3276-3286.
20. D.R. Glimm, V.E. Baracos et J. Kennely (1988), Effect of bovine growth hormone on distribution of immunoreactive insulin-like growth factor I in lactating bovine mammary tissue. *J. Dairy Sci.*, 71, 2923-2935.
21. H.M. Goodman (1988), The role of growth hormone in fat mobilization. in *Designing foods*. Nat. Acad. Press. Washington. 163-172.
22. C.F. Hutchinson, J.E. Tomlinson et W.H. Mc Gee (1986), The effects of exogenous recombinant or pituitary extracted bovine growth hormone on performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 69, suppl. 1, 152.
23. M.C. Lucy, J.D. Hauser, P.J. Eppard, G.G. Krivi, J.H. Clark, D.E. Bauman et R.J. Collier (1993) Variants of somatotropin in cattle : gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. *Domestic An. Endocrin.*, 18, 325-333.
24. B.W. Mc Bride, J.L. Burton, J.P. Gibson, J.H. Burton et R.G. Eggert (1990), Use of recombinant bovine somatotropin for up to two consecutive lactations on dairy production traits. *J. Dairy Sci.*, 73, 3248-3257.
25. D.G. Mc Clary, H.B. Green, R.P. Basson et S.C. Nickerson (1994), The effects of a sustained-release recombinant bovine somatotropin (Somidobove) on udder health for a full lactation. *J. Dairy Sci.*, 77, 2251-2271.

26. J.P. McNamara (1989), Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 5. Relationships of lipid synthesis and lipolysis with energy intake and utilization. *J. Dairy Sci.*, 72, 407-418.
27. J.L. Maubois (1990), Incidence de l'utilisation de somatotropine bovine méthionylée recombinée, sur les propriétés technologiques du lait de vache et sur les qualités organoleptiques des produits résultants. *Lait*, 70, 369-382.
28. B. Mietton, Y. Gauzère, A. Poulain, F. Gouaille et D. Dumoulin (1990), Etude comparative en technologie gruyère thermisé de la supplémentation de vaches laitières à la BST. *Rev. Ecole nat. Indus. lait.*, n° 144, 14-24.
29. C.J. Pell et D.E. Bauman (1987), Somatotropin and lactation. *J. Dairy Sci.*, 70, 474-486.
30. R.H. Phipps (1987), The use of prolonged released bovine somatotropin in milk production. *Fed. intern. Lait.*, Helsinki.
31. R.H. Phipps, R.F. Weller, N. Craven et C.J. Peel (1990), Use of prolonged-release bovine somatotropin for milk production in british friesland dairy cows. 1. Effect on intake, milk production and feed efficiency in two consecutive lactations of treatment. *J. Agric. Sci.*, 115, 95-104.
32. R.H. Phipps, C. Madakadze, T. Mutswangwa, D.L. Hard et G. De Kerchove (1991), Use of bovine somatotropin in the tropics : the effect of somatotropine on milk production of *Bos indicus*, dairy cross breed and *Bos taurus* cows in Zimbabwe. *J. Agric. Sci.*, 117, 257-263.
33. P. Ramos (1990), Etude de la stabilité thermique de laits provenant de vaches supplémentées à la somatotropine bovine. in 27.
34. C. Thomas, I.D. Johnsson, W.J. Fisher, G.A. Bloomfield et S.V. Morant (1987), Effect of recombinant bovine somatotropin on milk production, reproduction and health of dairy cows. *Anim. Prod.*, 44, 460-461.
35. G. Van Den Berg et E. De Jong (1987), The influence of the treatment of lactating cows with methionyl bovine somatotropin on milk properties. in 27.
36. R. Vérité et M. Ournet (1978), Vaches laitières. in *Alimentation des ruminants*. INRA. Versailles. 345-376.
37. R. Vérité, H. Rulquin et P. Faverdin (1989), Effects of slow released somatotropin on dairy cow performances. *Proc. EEC Seminar on use of somatotropin in livestock*. Bruxelles. Elsevier applied Science.
38. R.F. Weller, R.H. Phipps, N. Craven et C.J. Peel (1990), Use of prolonged-release bovine somatotropin for milk production in british friesland dairy cows. 2. Effect on health and reproduction in two consecutive lactations of treatment. *J. Agric. Sci.*, 115, 105-112.
39. T.C. White et 25 autres auteurs. (1994), Clinical mastitis in cows treated with somatotropine (recombinant bovine somatotropin, and its relationship to milk yield. *J. Dairy Sci.*, 77, 2249-2260.

Expression du récepteur à l'hormone folliculo-stimulante bovine et d'un anticorps monoclonal anti-FSH bovine par des bactériophages

M.N. DIOUF*, A. HOUDE**, W. SILVERSIDES** et J. LUSSIER**

* *Ecole Inter-Etats de Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV) Service de Chirurgie-Reproduction B.P. 5077 Dakar, Sénégal.*

** *Centre de Recherche en Reproduction Animale (CRRA) Faculté Vétérinaire de l'Université de Montréal CP 5000 Saint-Hyacinthe (Québec) J2S 7C6, Canada.*

L'étude de la cinétique de la FSH chez l'espèce bovine connaît beaucoup de controverses. En effet, selon que les méthodes de dosages soient homologues (Oxender et coll., 1972; Bolt et Rollins, 1983) ou hétérologues (Akbar et coll., 1974; Schams et Schallemburger, 1976; Dobson, 1978), les concentrations plasmatiques de FSH varient. Dans le but de contribuer à l'élaboration d'une méthode de dosage non radioactive sensible et spécifique à la FSH, l'objectif principal de nos travaux est orienté dans la production de deux types de bactériophages recombinants, l'un exprimant la partie variable (ScFV) d'un anticorps monoclonal anti-bêta FSH bovine et l'autre, un fragment correspondant à des segments du domaine extra-membranaire rFSH bovin. Le potentiel de cette technologie pourrait être utilisé dans l'étude des sites de liaison de la FSH sur son récepteur.

Matériel et méthodes

Le récepteur FSH bovin

Amplification des fragments : A chaque amorce sens, un site de restriction de l'endonucléase Sfi I a été inséré à l'extrémité 5' tandis que l'amorce anti-sens abritait un site de restriction de l'endonucléase Not I à l'extrémité 5'. L'emplacement spécifique de ces sites d'enzyme de restriction a permis leur clonage dans le phagemide et leur expression dans le cadre de lecture requis. D'autres sites d'enzymes de restriction, à l'occurrence EcoR I, Pst I ou BamH I selon le fragment de récepteur considéré, ont été rajoutés respectivement en bout 5' en respectant le cadre de lecture afin de produire les peptides correspondants dans le cadre des études ultérieures.

Amorces sens (site EcoR I souligné, Sfi I en caractères gras)

A: 5'- GAATTCCTGGCCCAGCTGGCCTGCCATCATCGACTCTGTCAC -3'
B: 5'- GAATTCCTGGCCCAGCTGGCCAGAATTGAAAAGGCCAACACCTG -3'
C: 5'- GAATTCCTGGCCCAGCTGGCCGATATTTCAAGAACCAGGATCCGTTTC -3'

Amorces anti-sens (site de Not I en caractères gras)

1: 5'- (BamH) IGGATCCTTATGCGGCCGCGCAGATATCGGAGGTTGGGAAGGTT -3'
2: 5'- (Pst I) CTGGAGTTATGCGGCCGCGGTTTGCCGCCTCCAGTTTGC -3'
3: 5'- (Pst I) CTGGAGTTATGCGGCCGCTCTGAGAATATCATCCCCCATGAT -3'

Suite à l'amplification, les trois fragments escomptés A1, B2 et C3 du rFSHb auront la taille respective de 348, 579 et 468 paires de bases (pb). L'amplification de ces derniers a été réalisée par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) à partir de l'ADNc du rFSHb provenant de Houde et coll. (1994). L'enzyme polymérase provenant de *Thermophilus aquaticus* (Ampli Taq ADN polymérase de Perkins-Elmer Cetus) a été utilisée pour les trois amplifications. Chaque réaction d'amplification s'est effectuée dans un volume final de 100,5ml dont 1ml d'ADN plasmidique contenant l'insert correspondant au domaine extramembranaire du rFSHb isolé par la technique de *Magic mini Prep* (Pharmacia), 1ml de l'amorce-sens (20mM), 1ml de l'amorce anti-sens (20mM), 1ml d'un mélange de déoxynucléotides triphosphates (dNTP 20mM de chaque nucléotide), 10ml de tampon PCR 10x (500mM Tris pH 9, 15mM MgCl₂, 200mM ammonium acétate), et 86,5ml d'eau stérile. Ce volume après avoir été recouvert de 50ml d'huile minérale a été placé dans le thermocycleur (Ericomp) afin d'y subir 3 minutes (min) de dénaturation à 95°C suivies de 4 min à 72°C pour l'élongation. C'est durant cette période que 0,5ml d'Ampli Taq a été rajouté dans chaque tube. Les conditions d'amplification appliquées ont été de 35 cycles comprenant chacun 40 secondes (sec) à 95°C, 40 sec à 55°C et 90 sec à 72°C. Après la réaction d'amplification, 20ml du produit de chaque amplification ont été séparés sur un gel d'agarose de 1,5% selon le protocole décrit par Sambrook et coll. (1989). Les bandes ont été isolées et purifiées.

Ligation dans le phagemide pGem-T : Les fragments A1, B2 et C3 amplifiés et purifiés ont été insérés dans un vecteur plasmidique pGem-T (Promega). Les ligations, pour l'ensemble

de nos travaux se sont effectuées dans un volume final de 10,8ml dont 8ml d'ADN purifié, 1ml de vecteur à l'occurrence pGem-T, 1ml de tampon T4 DNA ligase 10x (Promega) et 0,24U de ligase T4 (Promega). Les réactions ont été incubées toute la nuit à 16°C. Suite à la ligation, le terme de recombinant sera utilisé pour tout vecteur (dans ce cas pGem-T) qui aurait incorporé en guise d'insert l'un des fragments du rFSHb soit A1, B2 ou C3.

Transformation de bactéries XL1-Blue compétentes : Des bactéries *Escherichia coli* souche XL1-Blue compétentes ont été transformé par les phagemides pGem-T recombinants selon la technique de Sambrook et coll. (1989). L'incapacité d'alpha-complémentation des colonies bactériennes qui ont incorporé le vecteur plasmidique recombinant (elles sont blanches) sera le critère de sélection. Ainsi, des bactéries blanches ont été repiquées dans 4ml de milieu Luria-Bertani (LB) avec ampicilline. A partir de chaque bouillon de culture, l'ADN plasmidique a été isolé après lyse alcaline des bactéries selon la méthode décrite par Sauders et Burke (1990).

Digestion et purification des ADN plasmidiques : Les différents ADN récupérés après la lyse alcaline ont été digérés par les enzymes de restriction Pst I et EcoR I pour les fragments B2 et C3, EcoR I et BamH I pour le fragment A1. Pour chaque échantillon, la digestion s'est effectuée durant toute la nuit à 37°C dans un volume total de 35ml dont 0,8U de EcoR I (High Concentred; Promega), 0,12U de Pst I ou 0,1U BamH I (Promega) selon le fragment considéré, 22,4ml d'eau stérile, 3,5ml de Buffer B (Promega) et 8ml d'ADN plasmidique. Suite à la digestion, l'électrophorèse sur un gel d'agarose de 1% a permis la séparation des différents fragments d'ADN.

L'ADN plasmidique des bactéries considérées comme positives pour chaque fragment du rFSHb (c'est-à-dire celles qui ont incorporé le vecteur recombinant) a été utilisé à nouveau pour transformer des bactéries XL1-Blue compétentes. Après la seconde transformation, les colonies bactériennes blanches ont été repiquées dans 4ml de milieu LB avec ampicilline. L'ADN plasmidique a été purifié tel que suggéré par la trousse de *Magic mini prep* (Promega).

Caractérisation des fragments amplifiés : Le séquençage des fragments amplifiés a permis de définir les acides nucléiques constituant l'insert en l'occurrence les fragments du rFSH et d'autre part de déceler des éventuelles mutations ou délétions qui pourraient modifier le cadre de lecture des fragments A1, B2 et C3 en comparaison au récepteur natif. Le séquençage a été effectué par la *méthode didéoxy de Sanger* (Sambrook et coll., 1989; Ausubel et coll., 1994) à partir de l'ADN provenant des *Magic mini prep*. Des amorces nucléotides T7, SP6 ou bGAL B selon le cas provenant de l'Institut Armand Frappier (Laval; Québec) et la trousse *T7 Sequencing* de Pharmacia ont été utilisées lors de ce séquençage. Les produits des réactions de séquençage ont été séparés sur un gel de polyacrylamide de 6% pendant une durée de migration variant de 3 à 8 heures selon la taille du fragment considéré.

Amorces nucléotidiques utilisées pour le séquençage des fragments A1, B2 et C3 du rFSH:

T7 5'- TAATACGACTCACTATAGGG
SP6 5'- GATTAGGTGACACTATAG
bGAL B 5'- TGGGTAACGCCAGGGTTTCCCA

Transformation de *E. coli* XLI-Blue par les fragments caractérisés : A la lumière des résultats du séquençage, les clones plasmidiques qui ont présenté peu ou pas de mutations par rapport au récepteur natif ont été choisis pour la suite des travaux.

Digestion par Sfi I et Not I : Les ADN plasmidiques ont été digérés par Not I et Sfi I afin de récupérer l'insert incorporé dans le phagemide pGem-T. Le phagemide pCantab dans lequel les inserts ont dû être clonés, a été préalablement digéré par ces dites enzymes de restriction. Dans un premier temps, les fragments A1, B2 et C3 ont été digérés séparément par Sfi I dans les proportions suivantes: 40ml d'ADN de l'insert isolé par *Magic mini prep*, 5ml de tampon Sfi I 10x (100mM Tris-HCl pH 8, 500mM NaCl, 100mM MgCl₂, 10mM DTT et 1mg/ml BSA <sans DNase>) et 0,4U d'enzyme Sfi I (Pharmacia); le volume final pour cette première réaction est de 50ml. Pour le phagemide, 3,4mg de pCantab ont été utilisés. L'incubation s'est faite à 50°C pendant 5 heures. La digestion Not I, quant à elle, a été réalisée en ajoutant dans les tubes précédents: 2ml de NaCl 5M, 5ml de tampon Not I 10x (100mM Tris-HCl pH 8, 100mM MgCl₂, 0,2% Triton X-100 et 10mM DTT), 35ml d'eau stérile et 1,1U Not I (Pharmacia) puis l'incubation a duré toute la nuit à 37°C. Les produits de digestion ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose de 1,5% qui a permis de visualiser, sous formes de bandes, les fragments du rFSHb et le phagemide pCantab. Les bandes ont été coupées et les différents fragments d'ADN purifiés en vue de la ligation dans pCantab.

Ligation dans pCantab : Pour l'expression ultérieure des fragments du rFSHb A1, B2 et C3 dans les bactériophages M13K07, le phagemide pCantab a été utilisé. Ce vecteur possède l'origine de réplication du phage M13K07 et la résistance à l'ampicilline. La localisation spécifique des sites de restriction de Sfi I (2316 pb) et Not I (2368 pb) a permis une insertion unidirectionnelle des inserts lors du clonage. A cet effet, les fragments A1, B2 et C3 préalablement digérés par Sfi I et Not I ont été clonés dans pCantab qui a été digéré au préalable par ces mêmes enzymes.

Transformation de bactéries TG1 compétentes : La souche TG1 d'*Escherichia coli* provenant de Pharmacia a été utilisée afin de multiplier le phagemide pCantab recombinant avant que ce dernier ne soit incorporé dans le bactériophage. La transformation proprement dite des bactéries TG1 par pCantab recombinant a été réalisée selon la technique décrite par Sambrook et coll. (1989), suivie de leur ensemencement sur gélose contenant le milieu SOBAG agar (Sambrook et coll., 1989). Etant donné que le système d'alpha-complémentation est inexistant dans TG1 et pCantab, la digestion des ADN plasmidiques par EcoR I a permis de distinguer les bactéries recombinantes de celles qui ont incorporé le pCantab dépourvu d'insert.

Expression des fragments par les bactériophages

Infection par M13K07 : suite à la digestion de EcoR I, les clones bactériens considérés comme positifs c'est-à-dire abritant le pCantab recombinant ont été infectés par les bactériophages M13K07 selon le protocole suggéré par Pharmacia. Deux antibiotiques ont donc été utilisés: la kanamycine (50mg/ml) et l'ampicilline (50mg/ml). Ils ont permis la multiplication sélective des bactéries recombinantes, c'est-à-dire celles qui sont non seulement infectées par le bactériophage M13K07 mais hébergeant aussi le pCantab

recombinant. Après cette infection, les phages libérés dans le milieu par les bactéries recombinantes ont été récupérés. Un titre de phages de 10^{10} à 10^{11} pfu/ml (unité de formation de plages) est requis avant de procéder à la sélection des bactériophages. Si tel n'est pas le cas, les phages ont été concentrés par précipitation à l'aide du polyéthylène glycol.

Sélection des bactériophages recombinants : le terme de *bactériophage recombinant* est utilisé pour tout bactériophage qui coexprime avec la protéine 3 de capsid (gp3) un fragment du rFSHb A1, B2 ou C3 selon le cas. Les bactériophages recombinants du fait de leur protéine-fusion gp3-fragment du rFSHb (A1, B2 ou C3) se distinguent des autres bactériophages par leur présumée capacité à lier la FSH. C'est en considérant cette propriété que la méthode de sélection (panning) a été définie. Elle a consisté pour chaque fragment recombinant à adsorber durant toute la nuit à 37°C dans un flacon de culture de 5ml de 40ng/ml de FSH purifiée (Lussier et coll., 1992). Les sites non spécifiques ont été bloqués pendant 1 heure par 5ml de tampon phosphate de blocage contenant 2% de lait écrémé. Les bactériophages recombinants dilués à volume égal avec du tampon de blocage ont été d'abord incubés pendant 15min à la température de la pièce puis pendant 2 heures à 37°C dans les flacons précédents préalablement lavés avec tampon phosphate (130mM NaCl, 20mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, 1,7mM KH₂PO₄, pH 7,4). Les flacons ont été lavés avec du tampon phosphate additionné de 0,1% de Tween 20 (Sigma). Par la suite, à chaque flacon, 1ml de 100mM triéthylamine (Sigma) a été ajouté afin d'éluer les bactériophages adsorbés à la plaque. Les flacons ont été incubés à la température ambiante pendant 10min; après ce délai strict, le volume d'élution a été récupéré dans un tube puis neutralisé immédiatement avec 1ml de 1M Tris-HCl pH 7,4. Ces tubes contenant les bactériophages recombinants sélectionnés ont été conservés à 4°C.

Infection des bactéries TG1 non compétentes : Les bactériophages recombinants sélectionnés ont été utilisés pour infecter des bactéries *E. coli* TG1 non compétentes ayant poussé dans un milieu minimum (Pharmacia). Les bactériophages recombinants issus de cette infection ont été sélectionnés par panning puis utilisés pour infecter à nouveau des bactéries *E. coli* TG1 similaires aux précédentes. Ce cycle sélection-réinfection a été répété quatre fois avant que les bactériophages ne soient utilisés pour les études de liaison.

Etude de liaison des fragments du rFSHb : L'étude de la capacité de liaison des fragments du rFSH coexprimés avec la gp3 du bactériophage a été réalisée par ELISA (*trousse Detection module/ Recombinant Phage Antibody System* ; Pharmacia). En guise d'antigène, la FSH purifiée (idem à celle utilisée lors du *panning*) a été adsorbée sur des plaques de 96 puits en polystyrène (Libro) à une concentration de 40ng/ml. Le système de détection utilisé était constitué par un anticorps anti-gp8 couplé à la peroxydase dont le substrat chromogène est le 2', 2' Azino-Bis (3-Ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) diammonium (ABTS). La coloration verte apparaît dans le puit du contrôle positif (fourni dans la trousse) et les puits dans lesquels les bactériophages recombinants se sont liés à l'antigène. Après 45min d'incubation, la densité optique a été lue à 410nm par un spectrophotomètre.

L'anticorps monoclonal anti-bêta FSH

L'hybridome sécréteur d'un anticorps anti-bêta FSH a été caractérisé par Lussier et coll. (1992). Décongelé de l'azote liquide selon le protocole décrit par Harlow et Lane (1989),

il a été mis en culture dans du milieu RPMI 1640 supplémenté avec 50mg/ml pénicilline-streptomycine (Gibco-BRL), 10% de sérum de veau nouveau-né (Gibco-BRL), 25mM glucose, 2mM glutamine, 10% NCTC.

Isolation de l'ARNm : Après une semaine de culture, les cellules en phase de croissance ont été récupérées par centrifugation (200g, 10min, 4°C). Le culot de cellules fut immédiatement lysé à l'aide d'une solution de 4M d'isothiocyanate de guanidium (Chomczynski et Sacchi, 1987), déposé sur un coussin de 4ml trifluoroacétate de césium à une densité de 1,6g/ml puis centrifugé à 32000 rpm à 22°C pendant 20 heures dans un rotor SW 41Ti de Beckman (Farrel, 1993). Le culot d'ARN total a été extrait par chloroforme et précipité selon le protocole de Farrel (1993). L'ARN total a été quantifié au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 260nm; la qualité quant à elle a été appréciée après une électrophorèse sur un gel d'agarose pour ARN (Houde et coll., 1994). Par la suite, à partir de 75mg d'ARN total, 2mg l'ARNm poly A ont été isolés grâce à l'utilisation de la trousse *Dyna-beads mRNA Purification* (Dyna).

Amplification des régions variables des chaînes lourde et légère : Séparément, chaînes lourdes et légères ont été amplifiées par réaction de polymérisation en chaîne à partir des ADNc en utilisant trousse *Mouse ScFv module* (Pharmacia). Les fragments amplifiés ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose de 1,5% et purifiés. La taille escomptée des fragments d'ADN est de 340 pb et 325 pb respectivement pour la chaîne lourde et légère.

Production de l'ADNc du fragment variable : Les chaînes lourde et légère ont été assemblées en une simple chaîne variable (ScFV) de l'anticorps afin de former un paratope. A cet effet, un segment (linker) de 45pb codant pour un peptide de 15 acides aminés (Gly4 Ser)3 a été utilisé. Afin d'obtenir le ScFV, l'assemblage des fragments par la Taq polymérase a été réalisé avec un mélange équimolaire (1ml) de l'ADNc de la chaîne lourde et légère et du linker-Primer Mix (mixture équimolaire des amorces de la chaîne lourde et légère). A ce mélange, s'ajoute 2,5ml de tampon PCR 10x (Pharmacia), 10ml de dNTP Mix (Pharmacia), 2,5ml de 25mM MgCl₂ et 18,5ml d'eau stérile. Ce volume a été recouvert par 25ml d'huile minérale. Après la dénaturation des fragments d'ADN à 95°C pendant 2 min, 1ml d'*Ampli Taq DNA polymérase* a été rajouté puis l'amplification s'est déroulée en 7 cycles (40 sec. à 94°C, 4 min à 63°C). Suite à ce premier assemblage, une réaction de polymérisation en chaîne a été réalisée dans le but d'amplifier le ScFV et d'y insérer les sites de Sfi I et Not I en vue du clonage dans pCantab. A cet effet, au produit de l'amplification précédente ont été rajoutés: 2,5ml de tampon PCR 10x avec 15mM MgCl₂, 2ml de RS primer mix (mixture d'amorces pour les sites de restriction Not I et Sfi I) et 20,5ml d'eau stérile. La réaction de polymérisation s'est effectuée pendant 30 cycles (1 min à 94°C, 2 min à 55°C, 2 min à 72°C). Le produit d'amplification a été séparé puis purifié. La taille du ScFV prévue était de 750 pb.

Ligation dans les vecteurs pGem-T et pCantab : Le ScFV purifié a été inséré par ligation dans le plasmide pGem-T. A partir de cette étape, toutes les manipulations conduisant à l'expression du fragment variable par les bactériophages sont similaires à celles décrites pour les fragments A1, B2 et C3 du rFSHb. Cependant, afin d'identifier les clones positifs c'est-à-dire ayant incorporé pCantab possédant l'insert ScFV, la digestion des ADN plasmidiques a été réalisée avec 0,05U de Pvu II (Pharmacia).

Etude des réactions croisées : L'étude des réactions croisées est nécessaire pour déterminer la spécificité à la FSH des bactériophages recombinants considérés comme positifs après l'étude de liaison. A cet effet, des protéines telles la LH bovine (bLH-1072-2; Dr. Reichert L.E, Albany Medical College, NY, USA), l'ovalbumine de poule (Grade V; Sigma) et des protéines virales (réovirus aviaire souche vaccinale S1133 fourni par Dr. Amer Silim, Université de Montréal) ont été utilisées. Dans des plaques d'ELISA en polystyrène (Libro) la LH à raison de 20ng/puits, ovalbumine (20ng/puits), la FSH (40ng/puits) et les protéines virales (1mg/puits) ont été adsorbées toute la nuit à 37°C dans du tampon bicarbonate pH 9,6. L'ELISA a été réalisé selon le protocole de Pharmacia (*trousse Detection module /Recombinant Phage Antibody System*) avec différentes dilutions des bactériophages recombinants. Le contrôle positif est fourni par la trousse M13K07 type sauvage qui a servi de contrôle négatif.

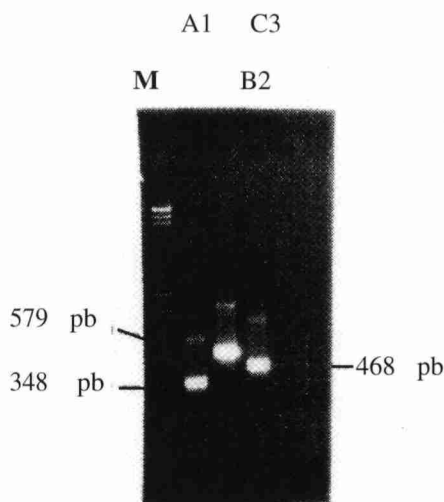
En utilisant les mêmes concentrations de LH, d'ovalbumine, FSH et protéines définies ci-avant, un autre ELISA a été réalisé avec de l'ascite contenant l'anticorps monoclonal anti-bêta FSH selon le protocole décrit par Silversides, 1986.

Résultats

Les fragments du rFSH bovin

Production et caractérisation : La réaction de polymérisation en chaîne a généré trois fragments A1, B2 et C3 dont les tailles respectives sont 348 pb, 579 pb et 468 pb (fig. 1).

Figure 1. Produits d'amplification par polymérisation en chaîne des fragments A1 (348 pb), B2 (468 pb), C3 (579 pb) du rFSH mis sur gel d'agarose de 1% et teints au bromure d'éthidium. (M : marqueur de poids moléculaire lambda DNA Hind III digest et ϕ x174 RF DNA Hae III digest; Pharmacia).



Après avoir été purifiés, ces fragments ont été insérés dans pGem-T. Les ADN plasmidiques de différents clones de bactéries recombinantes ont été digérés par EcoR I et BamH I pour le fragment A1; EcoR I et Pst I pour les fragments B2 et C3. Les clones sont

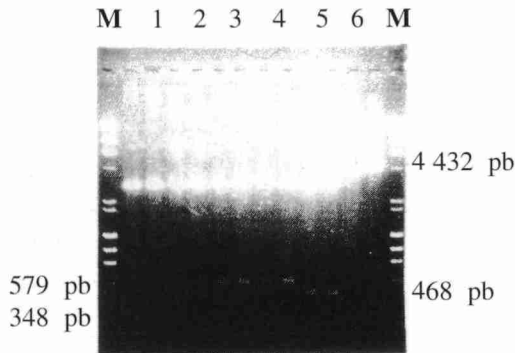
considérés comme positifs si après la digestion des bandes de 348 pb, 579 pb et 468 pb ont été obtenus respectivement pour les fragments A1, B2 et C3.

Par rapport au récepteur natif, des mutations se traduisant par des changements d'acides aminés ont été observées sur l'ensemble des clones séquencés. Hormis deux clones qui ont présentés des mutations au niveau des sites de Sfi I et Not I, tous les autres à l'occurrence A1-1, A2-2, B14-2, B18-2 et C8-2 ont été utilisés en vue de leur expression ultérieure par les bactériophages.

Expression par les bactériophages M13K07 : Les ADN plasmidiques des clones pGem-T recombinants A1-1, A2-2, B14-2, B18-2 et C8-2 ont été digérés par Not I et Sfi I (fig. 2). Les résultats de cette digestion montrent la taille initiale des fragments soient 348 pb pour A1-1 et A2-2, 579 pb pour B14-2 et B18-2 et enfin 468 pb pour C8-2. Ces fragments purifiés ont été insérés par ligation dans pCantab. Les ADN plasmidiques des bactéries *E. coli* souche TG1 recombinantes ont été digérés par EcoR I afin de confirmer ou d'infirmer la présence des fragments. Une fois infectées, les bactéries recombinantes ont produit beaucoup de bactériophages recombinants. Ces derniers ont été recueillis puis sélectionnés sur leur capacité à lier l'antigène (panning).

Etude de liaison : L'ELISA a révélé des bactériophages recombinants reconnaissant la FSH adsorbée dans les puits à raison de 40ng/ml. Ainsi, pour le fragment A.1 nous comptons 3 clones positifs sur un total de 96 clones, il en est de même pour le fragment C.3. Le fragment B.2 quant à lui compte 4 clones positifs/96 clones.

Figure 2. Produits de la digestion par Not I et Sfi I des clones recombinants de pGem-T portant les fragments du rFSH bovin par Not I et Sfi I mis sur un gel d'agarose de 1.5% et teints au bromure d'éthidium (M : marqueur de poids moléculaire 1 Kb DNA ladder; Gibco-BRL, 1 : fragment A1-1 (348 bp), 2 : fragment A2-2 (348 pb), 3 : fragment B 14.2 (579 pb), 4 : fragment B 18.2 (579 pb), 5 : fragment C8-2 (468 pb) et 6 : pCantab (4432 pb).

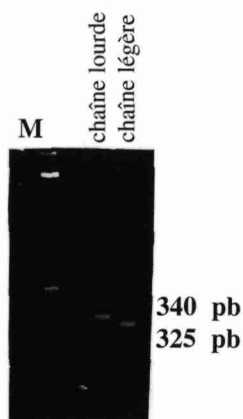


L'anticorps monoclonal anti-bêta FSH

Production du fragment simple variable (ScFv) : L'électrophorèse sur gel d'agarose de l'ARN total du myélome a révélé les bandes de 18S et 28S. A partir de cet ARN total, l'ARNm poly A a été isolé. Ce dernier a servi à la production de l'ADNc.

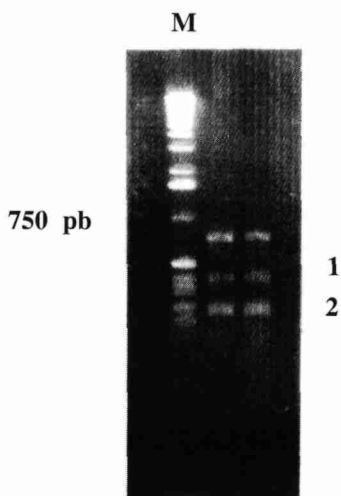
Les amplifications à partir de l'ADNc du myélome ont permis d'obtenir un fragment d'ADN de 340 pb codant pour la chaîne lourde et un autre de 325 pb codant pour la chaîne légère (fig. 3).

Figure 3. Produits de l'amplification par la réaction de polymérisation en chaîne de la partie variable des chaînes lourde (340 pb) et légère (325 pb). Ils ont été séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose de 1.5% et teints au bromure d'éthidium (M : marqueur de poids moléculaire 1Kb DNA ladder; Gibco, BRL).



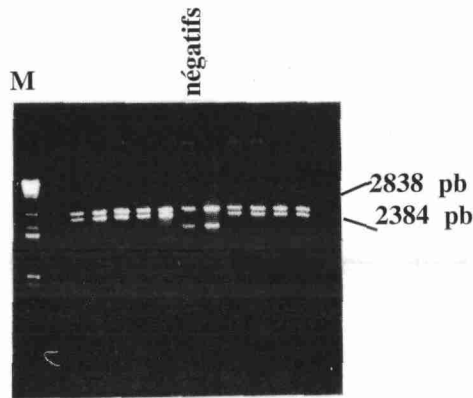
La deuxième amplification a permis d'assembler la chaîne lourde et la chaîne légère grâce au pont peptidique. Le fragment simple variable a été visualisé sur le gel par une bande de 750 bp (fig. 4).

Figure 4. Produits de l'amplification par la réaction de polymérisation en chaîne du fragment variable simple chaîne (ScFV) mis sur gel d'agarose de 1% et teints au bromure d'éthidium; M : marqueur de poids moléculaire 1KB DNA ladder; Gibco-BRL, 1 : produit primaire d'amplification, 2 : dimère d'amorce.



Expression par les bactériophages M13 K07 : Le ScFV a été cloné dans un premier temps dans pGem-T. Les bactéries *E. coli* XL1-Blue compétentes ont été transformées par le pGem-T recombinant; les ADN plasmidiques isolés ont été digérés par Sfi I et Not I. Cette double digestion a permis d'obtenir la bande originale du ScFV soit 750 bp. Ce fragment après purification a été cloné dans pCantab lequel a transformé des bactéries TG1 compétentes. La digestion par Pvu II des ADN plasmidiques provenant des bactéries TG1 transformées a révélé les bandes 2838 pb et 2384 pb pour les clones positifs et 2838 pb et 1634 pb pour les clones négatifs (fig. 5).

Figure 5. Produits de la digestion par PVU II des clones pCantab recombinants mis sur un gel d'agarose de 1.5% et teints au bromure d'éthidium. Suite à cette digestion, les clones positifs ont présenté deux fragments : 2384 pb et 2838 pb (M : marqueur de poids moléculaire 1Kb DNA ladder; Gibco-BRL).



Les bactéries TG1 recombinantes ont été infectées par M13K07 afin de générer les bactériophages recombinants. Ces derniers ont été sélectionnés après quatre *panning* puis leur liaison à la FSH vérifiée par ELISA.

Etude de liaison : En considérant la densité optique des puits, l'ELISA a révélé plusieurs bactériophages recombinants M13K07 positifs. Ainsi, pour la plaque I, il y a eu 47 positifs, 70 pour la plaque II et 64 pour la plaque III. Le puits du contrôle négatif constitué par M13K07 de type sauvage était demeuré incolore.

Les réactions croisées : Suite à l'ELISA, pour chaque type de bactériophages, une courbe représentant la densité optique versus les dilutions de bactériophages a été tracée. Ces courbes ont permis de visualiser le comportement de chaque bactériophage vis à vis de la protéine qui lui a été présentée. Il apparaît que les bactériophages recombinants co-exprimant avec la gp3 les fragments A.1, B.2 et C.3 du rFSH bovin se lient à la LH, l'ovalbumine et aux protéines virales autant qu'avec la FSH. Il en est de même avec les bactériophages recombinants portant le ScFV de l'anticorps anti-bêta FSH. L'anticorps monoclonal anti-bêta FSH contenu dans l'ascite quant à lui présente une affinité plus prononcée pour la FSH; il lie également la LH, l'ovalbumine et les protéines virales.

Discussion

Les fragments du rFSH bovin : Le domaine extramembranaire du rFSH est impliqué dans la liaison avec la FSH (Sprengel et coll., 1990; Dattatreymurty et Reichert, 1992; Moyle et coll., 1994). Des travaux ont rapporté les séquences définies de ce domaine du rFSH qui lient spécifiquement la FSH. Il s'agit de la séquence des acides aminés 9-30 codés par l'exon 1 du rFSH bovin (Dattatreymurty et Reichert, 1992). Récemment, Moyle et coll. (1994) ont suggéré que les séquences des acides aminés codées par les exons 5 et 6 contrôlent la spécificité du rFSH car elles empêcheraient la liaison à l'hCG. En se basant sur ces données, les fragments A1 (348 pb codés par les exons 1, 2, 3 et 4) et B2 (579 pb codés par les exons 4, 5, 6, 7, 8 et 9) en reconnaissant la FSH sont en accord respectivement avec les résultats de Dattatreymurty et Reichert (1992) et ceux de Moyle et coll. (1994). En ce qui concerne le fragment C3 (468 pb codés par les exons 9 et 10) qui reconnaît la FSH autant que les fragments A1 et B2 précédents, nous disposons de peu d'informations sur la fonction de cette région du domaine extramembranaire. En effet, si bon nombre d'auteurs ont décrit l'implication du domaine extramembranaire du rFSH dans la liaison avec son hormone (Sprengel et coll. 1990, Dattatreymurty et Reichert, 1992), peu d'études cependant ont été réalisées sur la capacité de liaison des boucles extracellulaires formées par le domaine transmembranaire. Morris et coll. (1993), en utilisant des peptides synthétiques élaborés à l'image des régions du domaine extramembranaire du récepteur de la TSH ont démontré qu'une portion de l'exon 9 se lie à la sous-unité alpha de la TSH et de la LH. De plus, ces auteurs rapportent que le peptide correspondant aux 20 premiers acides aminés codés par l'exon 10 lierait spécifiquement la sous-unité bêta de la FSH. Les domaines transmembranaire et intracytoplasmique, codés par les exons 9 et 10 demeurent essentiels pour qu'il y ait action biologique du fait de leur implication dans l'activation de la protéine G.

L'anticorps monoclonal anti-bêta FSH : A partir des amorces des segments hypervariables (Complementarity Determining Regions; CDR) et de l'ARNm poly A provenant d'un hybridome sécréteur anti-bêta FSH, les chaînes lourde (340 pb) et légère (325 pb) ont été amplifiées puis elles ont été réunies en un ScFV (750 pb). Une construction similaire a été déjà réalisée pour d'autres types d'anticorps (McCafferty et coll., 1990; Whitlow et Filpula, 1991; Clackson et coll., 1991; Robertson 1992; Chiang, 1992; Clackson et Wells, 1994).

Suite à nos travaux, les bactériophages recombinants obtenus possèdent une ou des protéines-fusion gp3-ScFV anti-bêta FSH. Des auteurs tels McCafferty et coll. (1990), Clackson et coll. (1991), Whitlow et Filpula (1991), Bradbury et coll. (1993), Amberg et coll. (1993), en utilisant le même type d'expression, ont obtenu des bactériophages recombinants co-exprimant la gp3 avec d'autres protéines. La protéine-fusion gp3-ScFV de l'anticorps monoclonal anti-bêta FSH en reconnaissant la FSH porcine confirme les résultats de Lussier et coll. (1992) et démontre qu'il est possible d'exprimer le domaine variable des chaînes légères et lourdes d'un anticorps sur une protéine de capsid d'un bactériophage.

Le système d'expression par bactériophages : Le nombre de *panning* est important à considérer car il influe sur la quantité et l'affinité des bactériophages recombinants sélectionnés, la corrélation est positive (Amberg et coll., 1993; Fischer et coll., 1994). Pour

procéder à cette sélection par *panning*, de la FSH porcine purifiée a été utilisée. Si la provenance de la FSH est peu importante puisque l'homologie est élevée entre les espèces, son degré de pureté l'est par contre pour le *panning* et les études de liaison. En effet, nous n'avons pu sélectionner aucun bactériophage recombinant lorsque nous avons effectué le *panning* avec la préparation commerciale Ovaset (Schering; Canada) telle quelle, c'est-à-dire non purifiée au préalable.

Les bactériophages recombinants produits dans notre étude ne sont pas spécifiques à la FSH car ils reconnaissent par la méthode ELISA d'autres protéines tels la LH bovine, l'ovalbumine de poule et des protéines du réovirus aviaire souche vaccinale S1133. La cause du manque de spécificité des bactériophages recombinants produits suite à nos travaux n'a pu être élucidée au cours de ce projet de recherche. Cependant, nous émettons l'hypothèse que la méthode d'ELISA utilisée pour les réactions croisées n'est pas adéquate. Il est nécessaire de mettre au point un ELISA sensible et spécifique afin de confirmer ou infirmer notre hypothèse. Nous pensons que les protéines-fusion gp3-A1, gp3-B2, gp3-C3 et gp3-ScFV pourraient se lier de façon non spécifique aux protéines adsorbées telles la LH, l'ovalbumine ou les protéines du réovirus. Les contrôles négatifs effectués à l'aide de M13K07 dépourvu de protéines-fusion se sont révélés négatifs (pas de coloration). Ces observations excluent la possibilité que les protéines formant la capside du bactériophage (plus particulièrement la gp3 type sauvage) ne se lient aux protéines adsorbées. Nous en concluons que seul le peptide exprimé avec la gp3 pourrait se lier de manière non spécifique. Afin de réduire ces liaisons non spécifiques, nous suggérons de reconsidérer les conditions de l'ELISA notamment le pH et les concentrations en détergent et sel du tampon de lavage. Cette démarche s'avère nécessaire avant de remettre en question le système d'expression utilisé pour produire les bactériophages recombinants car, avec ce même système, des bactériophages recombinants spécifiques ont été produits (Clackson et Wells, 1994).

Conclusion

La biologie moléculaire plus précisément la technique du PCR et le système d'expression par bactériophages recombinants ont permis de produire séparément deux types de bactériophages M13K07 recombinants. Ces derniers ont eu la particularité d'exprimer des protéines-fusion composées d'une part de gp3 et un des fragments A1, B2 et C3 correspondant au domaine extra membranaire du rFSH bovin et d'autre part, par gp3 et la partie variable (ScFV) d'un anticorps anti-bêta FSH bovin.

Les bactériophages recombinants possédant la protéine-fusion gp3-ScFV anti-bêta FSH ont été capables de lier la FSH. Il en a été de même pour les trois types de bactériophages arborant les protéines-fusion gp3-A1, gp3-B2 et gp3-C3. Cependant, ces types de bactériophages présentent des réactions croisées avec la LH, l'ovalbumine de poule et des protéines du réovirus aviaire (souche vaccinale S1133). Il nous est impossible de définir au terme de ce projet de recherche si ce manque de spécificité est imputable au système d'expression utilisé ou à la méthode ELISA élaborée pour les réactions croisées. D'autres études doivent être menées dans cette perspective.

Le système d'expression par les bactériophages constitue un nouvel outil pour la production des anticorps monoclonaux. Il pourrait être utilisé pour exprimer d'autres protéines à l'image des fragments du rFSH bovin, néanmoins il faudrait étudier la spécificité des bactériophages recombinants produits.

Bibliographie

1. A.M. Akbar, L.E. Reichert, T.G. Dunn, C.C. Kaltenbach et G.D. Niswender. (1974), Serum levels of follicle-stimulating hormone during the bovine estrous cycle. *J. Anim. Sci.* 39 : 360.
2. J. Amberg, H. Hogrefe, A. Lovejoy, B. Hay, B. Shopes, S.R. Mullinax, J.A. Sorge. (1993), SurfZAP vector: linking phenotype to genotype for phagemid display libraries. *Strategies in molecular biology. Analects* 6 : 2-4.
3. F.M. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith, K. Struhl. (1994), Current protocols in molecular biology. Greene Publishing associates Inc and John Wiley and sons Inc.
4. A. Bradbury, L. Persic, T. Werge, A. Cattaneo. (1993), Use of living columns to select specific phage antibodies. *Bio/technology* 11 : 1565-1569.
5. D.J. Bolt, R. Rollins. (1983), Development and application of a radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. *J. Anim. Sci.* 56 : 146-154.
6. P. Chomczynski, N. Sacchi. (1987), Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162 : 156-159.
- Clackson, T., H.R. Hoogenboom, A.D. Griffiths, G. Winter. 1991. Making antibody fragments using phage display libraries. *Nature*. 352: 624-628.
7. T. Clackson, J.A. Wells. (1994) In vitro selection from protein and peptide libraries. *Trends in Biotechnology* 12 : 173-184.
8. B Dattatreya Murty, L.E Reichert Jr. (1992), A synthetic peptide corresponding to amino acids 9-30 of the extracellular domain of the follitropin (FSH) receptor specifically binds FSH. *Molecular and Cellular Endocrinology* 87 : 9-17.
10. H. Dobson (1978), Radioimmunoassay of FSH in plasma of post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 52: 45.
11. R.E. Farrel (1993), RNA methodologies. A laboratory guide for isolation guide and characterization Academic Press, New-York.
12. P. Fischer, S.J.C. Leu, Y. Y. Yang, P.P. Chen (1994), Rapid simultaneous screening for DNA integrity and antigen specificity of clones selected by phage display. *Benchmarks* 16: 829-830.
13. E. Harlow, D. Lane. (1988), Antibodies, a laboratory manual Cold Spring Harbor Laboratory.
14. A. Houde, A. Lambert, J. Saumande, D.W. Silversides, J.G. Lussier. (1994), Structure of the bovine follicle-stimulating hormone receptor complementary cDNA and expression in bovine tissues. *Mol. Reprod. Develop.* 39 (sous presse).
15. J.G. Lussier, C.E. Lindsell, M.C. Maurel. (1992), Monoclonal antibody against a highly conserved epitope of beta-FSH: Application in immunoaffinity chromatography, immunohistochemistry and ELISA. *Biol. Reprod.* 46 (suppl. 1) : 160.
16. J. McCafferty, A.D. Griffiths, G. Winter, D.J. Chiswell. (1990), Phage antibodies: filamentous phage displaying antibody variable domains. *Nature* 348 : 552-554.
17. J.C. Morris, E.R. Berger, D.J. McCormick. (1993), Structure-function studies of the human thyrotropin receptor: inhibition of binding of labeled thyrotropin (TSH) by synthetic human TSH receptor peptides. *J. Biol. Chem.* 268: 10900-10905.
18. W.R. Moyle, R.K. Campbell, R.V. Myers, M.P. Bernard, Y. Han, X. Wang. (1994) Co-evolution of ligand-receptor pairs. *Nature* 368: 251-255.
19. J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis. (1989), Dans: Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor. Deuxième édition.
20. S.E. Sanders, J.F. Burke. (1990) Rapid isolation of miniprep DNA for double strand sequencing. *Nucleic Acids Research* 18 : 49-48.
21. D. Schams, E. Schallenger. (1976), Heterologous radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone and its application during the oestrus cycle in cattle. *Acta Endocrinol.* 81 : 461.

22. R. Sprengel, T. Braun, K. Nikolics, D.L. Segaloff, P.H. Seeburg. (1990), The testicular receptor for follicle stimulating hormone: structure and functional expression of cloned cDNA. *Mol. Endocrinol.* 4 : 525-530.
23. M. Whitlow, D. Filpula. (1991), Single-chain Fv proteins and their fusion proteins. *Methods in Enzymology* 2 : 97-105.

Utilisation des techniques nouvelles de reproduction dans le programme d'amélioration génétique du cheptel bovin laitier au Maroc

N. LOTFI*, A. BENLEKHAL**, A. MAZOUZ***, M. BATTAR*, A. EZZAHIRI****, M. BOUHADDANE *****

* Association Nationale des Eleveurs de Bovins de Races Pures, Rabat.

** Ministère de l'Agriculture et de la Mise en Valeur Agricole.

*** Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.

**** Centre Régional d'Insémination Artificielle Ain Jemaâ.

***** Centre Régional d'Insémination Artificielle Fouarat.

Résumé

L'emploi des nouvelles techniques de reproduction contribue à l'intensification de l'amélioration génétique du cheptel bovin laitier.

Considérée comme l'un des outils de diffusion du matériel génétique performant, l'insémination artificielle a été lancée à grande échelle en 1975 avec le démarrage du plan laitier.

Actuellement le programme national d'I.A. avec deux centres d'I.A., 106 inséminateurs et 88 circuits d'I.A., touche les principales zones à vocation laitière.

Les réalisations ont connu une amélioration progressive passant de 35.000 I.A. en 1975 à 80 000 en 1994. Pendant la même période, la structure génétique du cheptel bovin a subi une mutation permettant l'évolution du cheptel amélioré de 2% à 30%.

En 1991, le schéma d'organisation de l'I.A. est passé du système administratif public, au système géré par les organisations professionnelles représentées par l'Association Nationale des Eleveurs de bovins de races pures.

Ce système a permis d'accroître considérablement les réalisations et le taux de couverture du cheptel. Ce programme d'I.A. a été renforcé en 1989 par le démarrage du programme de testage des géniteurs sur descendance.

Par ailleurs, le transfert d'embryons est utilisé actuellement dans les buts de production de veaux destinés à l'épreuve sur descendance et de multiplication des femelles de haut niveau génétique.

Certains aspects économiques et techniques du développement de ces opérations sont également analysés et discutés.

Introduction

L'élevage bovin à l'échelle nationale se caractérise par un effectif total d'environ 3 millions de têtes (Enquête élevage, 1994). Si le cheptel est encore dominé par la race locale (70%), le pourcentage des animaux améliorés (croisés et purs) n'a cessé d'augmenter lors des dernières années. Ceci résulte des actions soutenues pour son développement en vue d'assurer ou de préserver l'équilibre entre la consommation et la production nationale en produits animaux.

Dans le domaine de la production laitière, le plan laitier, élaboré en 1975, a défini les axes de développement du secteur portant sur les points suivants :

- Diversification des ressources alimentaires,
- Amélioration génétique du cheptel,
- Protection sanitaire,
- Organisation du circuit de commercialisation et de transformation.

Globalement, le secteur laitier a connu un développement appréciable, en dépit des périodes de sécheresse qu'a connues le pays ; la production a évolué de 474,7 millions de litres en 1970 à 930 millions de litres en 1992 soit un taux d'accroissement variant de 3,4% à 7,1% par an (MAMVA, 1994).

Les principales opérations entreprises dans le domaine de l'amélioration génétique du bovin laitier ont été axées sur l'organisation de la production par l'introduction des techniques nouvelles de reproduction (I.A, transfert d'embryon...), de contrôle des performances, en plus de l'importation du bétail amélioré et de la monte naturelle.

Après un bref aperçu sur les grands axes du programme d'amélioration génétique des bovins au Maroc, nous développerons l'utilisation des nouvelles techniques de reproduction, à savoir l'I.A. et le transfert d'embryons dans ce programme.

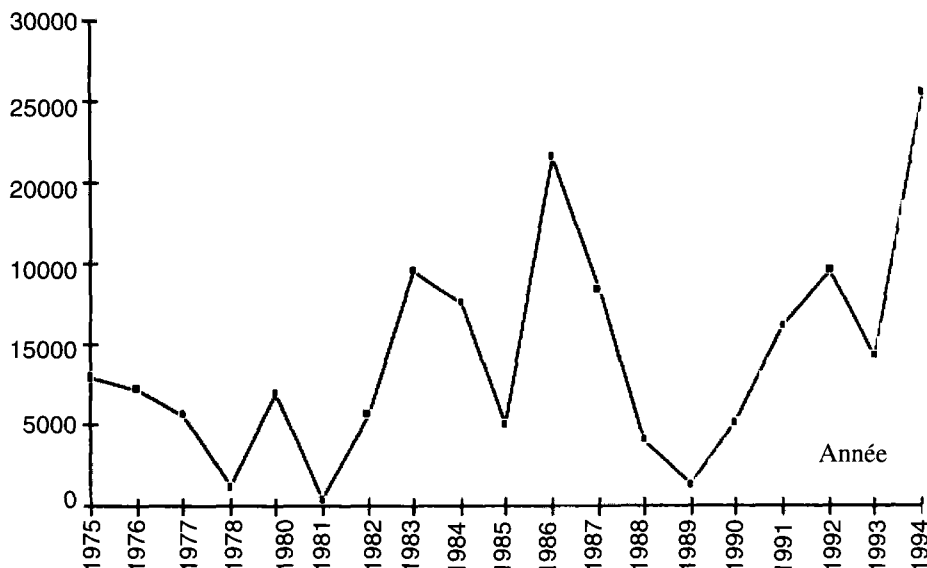
I. Programme d'amélioration génétique

I.1 Importation du bétail

L'importation du bétail laitier de races pures a démarré au Maroc vers le début des années soixante et a concerné les organismes étatiques (COMAGRI, SOGETA). Elle n'a pris de l'ampleur qu'au lendemain de la mise en place du plan laitier (1975) qui prévoyait l'introduction de près de 5 000 génisses par an jusqu'à 1990 : opération qui avait pour but de renforcer la structure génétique du cheptel laitier par la création d'un «Pool génétique». Ainsi, entre 1975 et 1994 , près de 173.500 génisses ont été importées (figure 1) soit, en moyenne, 9135 par an dépassant ainsi largement les objectifs du plan laitier (MAMVA, 1994).

Figure n° 1. Evolution des importations de bétail

**EFFECTIF
IMPORTE**



1.2 Contrôle laitier et sélection

Le contrôle laitier a démarré au Maroc au début des années 70 et était limité jusqu'en 1985 aux fermes étatiques (COMAGRI, SOGETA et SODEA) dans les principales zones d'élevage laitier. Durant cette période, en moyenne, 120 étables ayant un effectif de 5 000 vaches étaient soumises au contrôle laitier.

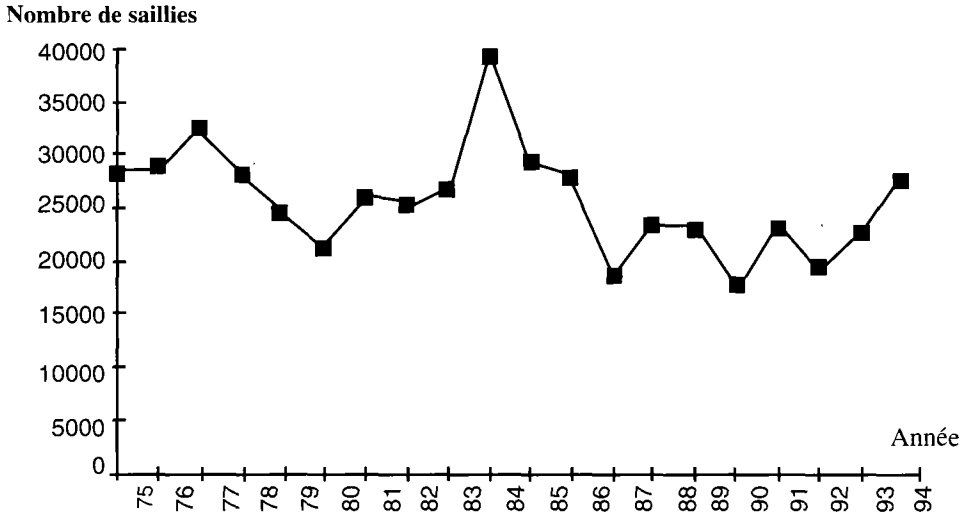
En 1985, la création des unités pépinières a permis une nette augmentation du nombre de vaches contrôlées. En 1994, près de 376 unités pépinières, totalisant un effectif de 10 531 vaches de races pures, sont encadrées par l'opération du contrôle laitier (MAMVA, 1995 (a)). Par ailleurs, le lancement de l'opération «Contrôle laitier» a débouché sur l'organisation de la sélection officielle concrétisée par l'ouverture au MAMVA de livres généalogiques de races pures. Depuis 1975, 27 114 reproducteurs de races pures ont été sélectionnés et inscrits aux livres généalogiques.

1.3 La monte naturelle

Dans les régions d'élevage bovin à accès difficile non touchées par l'I.A., un réseau de stations de monte naturelle est mis en place par l'Etat.

Actuellement 193 stations de monte sont en activité peuplées de 257 géniteurs. Entre 1980 et 1994, près de 366 460 vaches ont été saillies dont 54,14% de races locales, 32,12% de races croisées et 13,74% de races pures (MAMVA, 1994, 1995 (a)); la moyenne de saillies par an est de 26 176 (figure n°2). Ces chiffres montrent que l'activité des stations de monte est tournée essentiellement vers l'amélioration génétique du cheptel local et croisé. D'après une étude sur l'I.A., le coût d'une saillie naturelle varie de 338 à 386 DH selon les zones (Benlekhal,1993).

Figure n°2. Evolution de l'activité des stations de monte



I.4 L'insémination artificielle (Cf. chapitre II)

II. L'application des nouvelles techniques de reproduction en matière d'amélioration génétique.

En matière de reproduction, deux générations de biotechnologies sont appliquées, à savoir l'Insémination Artificielle et le Transfert Embryonnaire.

II.1 L'insémination artificielle

Considérée comme l'un des outils de diffusion du matériel génétique performant, l'I.A. a été lancée à grande échelle avec le démarrage du plan laitier en 1975. Plusieurs actions ont été entreprises dans ce cadre visant le renforcement des infrastructures et le développement du réseau de l'I.A. Ainsi, deux centres régionaux d'insémination artificielle furent créés, le premier en 1968 est situé à Casablanca (Ain Jemaa) couvrant la zone sud et le deuxième, à Kénitra, dessert le nord et l'est du pays.

Depuis leurs créations, les deux CRIA se sont équipés d'infrastructures importantes en faveur du développement de l'I.A. Ces centres assurent la couverture des besoins du pays en semence bovine congelée, en azote liquide et en matériel nécessaire d'IA. Ils assurent également l'organisation de stage de formation et de recyclage des inséminateurs et des contrôleurs laitiers.

La mise en place de l'I.A. est assurée par un réseau de sous centres placés sous la responsabilité des Directions Provinciales de l'Agriculture (D.P.A.) et des Offices Régionaux de Mise en Valeur Agricole (O.R.M.V.A.) en collaboration avec les organisations professionnelles dans les secteurs organisés.

Le service de l'I.A. est organisé en circuits mobiles d'un rayon de 60 à 100 km selon l'infrastructure routière et la densité du cheptel ou en postes fixes. Les circuits mobiles au nombre de 88 sont parcourus quotidiennement par 106 inséminateurs dont l'activité

consiste en trois opérations complémentaires :

- Inséminations des vaches après contrôle des chaleurs,
- Diagnostic de gestation 2 à 3 mois après I.A.,
- Vérification des naissances et bouclage des produits.

Depuis sa mise en place, l'organisation de l'I.A. est passée par deux phases :

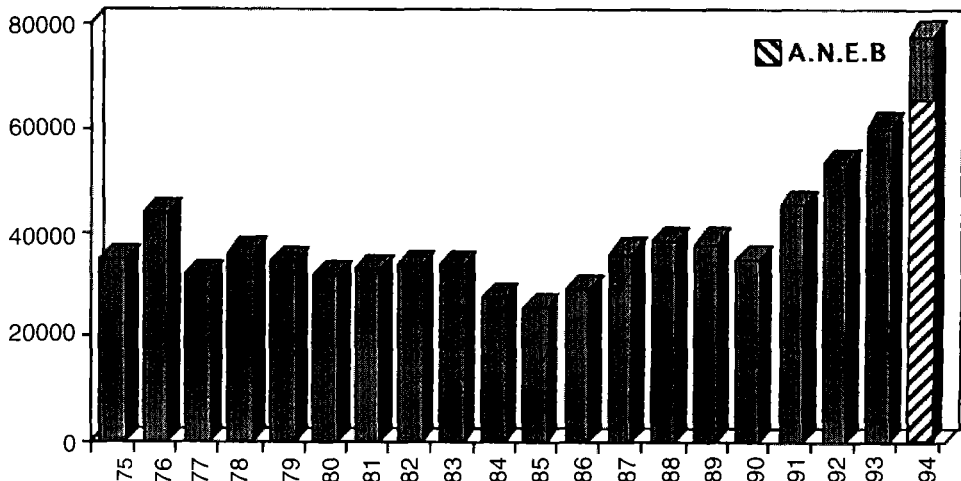
- Une phase de vulgarisation allant de 1975 à 1987 où le programme d'I.A. était axé essentiellement sur les actions de vulgarisation de cette technique dans les zones favorables ; les frais d'intervention étaient en totalité pris en charge par l'Etat.
- La deuxième phase a été marquée, à partir de 1988, par le transfert progressif des frais d'I.A. aux groupements d'éleveurs. Ce transfert a été motivé par la nécessité d'intensification de l'I.A. du cheptel laitier dans les zones favorables (irriguées et bour favorable) eu égard aux exigences et à la spécificité d'intervention en matière d'I.A. (continuité, rapidité, etc....).

Ce programme de transfert a été concrétisé avec la création en 1990 de l'Association Nationale des Eleveurs de Bovins de races pures -A.N.E.B- qui s'est vue confier comme l'une des missions, l'intensification de l'I.A. avec le soutien de l'Etat.

Actuellement le programme d'I.A. transféré à l'ANEB touche 13 zones (Tanger, Asilah, Fès, Meknès, Gharb, Rabat-Salé, Benslimane, Casa, Settât, Haouz, Doukkala, Tadla et Sousse) où existent les coopératives et associations d'éleveurs. Ainsi sur un total de 88 circuits, 52 ont été confiés au secteur organisé au niveau national.

L'évolution des réalisations en I.A. depuis 1973 est donnée par la figure n°3. Il ressort que, depuis son lancement, le nombre d'I.A. a atteint un premier pic en 1976 (43.750 I.A.), puis une régression continue pour chuter à 25.600 I.A. en 1985. De 1986 à 1988, le nombre d'I.A. a connu un redressement pour stagner entre 1988 et 1990 aux alentours de 37.500 I.A. Depuis la contribution des groupements d'éleveurs à ce programme, l'I.A. a connu un développement considérable pour atteindre 77768 I.A. en 1994. Les réalisations du secteur organisé représentent 84.4% des réalisations nationales (Massine 1992, Benlekhal 1993, A.N.E.B.1994)

Figure n°3. Evolution des réalisations en IA



Les types génétiques des femelles touchées par l'I.A. sont répartis en 47% de races pures, 41% de vaches croisées et 12% de races locales.

Le coût moyen de l'I.A. est de 63 DH, variant de 36,3 DH à 134,2 DH selon les zones (Benlekhal 1993).

Cependant l'I.A. ne contribue au progrès génétique qu'à travers la valeur génétique des taureaux utilisés.

Conscient de ce fait, le MAMVA-Direction de l'Elevage a mis en place un programme de testage des géniteurs sur descendance. Le premier lot de ce programme a été lancé en 1988 et a concerné 19 taurillons issus de vaches choisies pour leurs meilleurs index. Les résultats de ce premier lot ont été récemment publiés (MAMVA, 1995 (b)).

Pour assurer la continuité du programme de testage, le MAMVA a eu recours en 1991 à la technique de transfert d'embryons et c'est ainsi qu'elle a été intégrée au programme national d'amélioration génétique.

Actuellement le programme de testage est à sa troisième génération. En effet une bande de 20 à 30 veaux est introduite tous les deux ans pour subir l'épreuve du testage sur descendance.

II.2 Le transfert d'embryons

La pratique de la technique de transfert d'embryons est relativement récente au Maroc puisque les premiers essais n'ont vu le jour qu'au début des années 80. La situation depuis lors peut être décrite en deux phases :

II. 2.1. Phase d'introduction et d'essai (1980-1990)

En 1981, les premiers embryons congelés importés d'Allemagne ont été mis en place chez 32 receveuses au niveau des fermes de la COMAGRI et de l'IAV Hassan II engendrant ainsi la naissance des premiers veaux par transfert d'embryons au Maroc (Lampeter et al.1982).

Plus tard, quelques essais ont également été réalisés dans une ferme de la SOGETA et les premiers embryons récoltés au Maroc et transplantés en frais ont eu lieu en 1987 (Ezzahiri et Lotfi 1993; Houari 1994).

Le Tableau n° 1 résume l'historique de l'introduction de cette technique au Maroc et les résultats obtenus.

Tableau 1. Introduction de la technique de transfert d'embryons au Maroc

Année	Lieu d'essai ou d'introduction	Nombre de receveuses	Origines des embryons	Nombre de naissances ou gestations	Observations
1981	Ferme d'application de l'Iav Hassan II	32	Allemagne	10 naissances	Embryons congelés
	Ferme de Ain Aouda de la COMAGRI				
1987	Ferme de la SOGETA	52	Canada	29 gestations	Embryons congelés
		24	Maroc	14 gestations	Embryons frais

II.2.2. Phase d'application au programme d'amélioration génétique : à partir de 1990

Récemment, la technique de transfert d'embryons a été intégrée au programme d'amélioration génétique dans les domaines suivants :

- a-** Programme de testage des géniteurs sur descendance,
- b-** Multiplication des femelles de haut niveau génétique,
- c-** Sélection et conservation de la race locale Blonde d'Oulmès Zaer.

a. Production des mâles de haut niveau génétique pour le programme de testage des géniteurs sur descendances.

Dans le cadre du programme de testage des géniteurs pour la production de veaux de haute valeur génétique destinés à l'évaluation dans les conditions marocaines de 172 embryons, importés du Canada, ont été transplantés dans des receveuses au centre d'insémination artificielle de Ain Jemaa. Un taux de réussite de 35% a été enregistré et les mâles qui en sont issus constituent la deuxième bande de taureaux du programme de testage des géniteurs sur descendances (Ezzahiri et Lotfi 1993).

Pour le lancement de la troisième bande du programme de testage, des embryons ont également été importés et cette fois-ci leur mise en place a eu lieu dans des élevages privés répondant à certaines normes techniques et sanitaires. Le taux de gestation obtenu est de 50%, les naissances auront lieu au mois de septembre-octobre 1995, les veaux mâles seront acheminés aux centres d'inséminations de Ain Jemaa alors que les femelles seront préservées par les éleveurs (Mazouz et al 1995).

b. Multiplication des femelles de haut niveau génétique.

Des travaux de multiplication de la descendance des femelles de haut niveau génétique sont également entrepris au CRIA de Ain Jemaa en utilisant les femelles issues de l'opération de TE précitée et également au niveau de la ferme d'application du Gharb de l'IAV Hassan II (Houari 1994), en plus des opérations réalisées dans le secteur privé au niveau de certaines unités pépinières (Lakhdiissi et Bouanane 1995).

c. Sélection et conservation de la race Blonde d'Oulmès Zaer.

Dans le cadre de la conservation et de la sélection de la race locale Oulmès-Zaer, plusieurs opérations de production et de transfert d'embryons ont eu lieu dans la région d'Oulmès. Des récoltes et transfert d'embryons ont donné un taux de réussite de 40% en frais (El Aidi et al.1995).

Par ailleurs, notons qu'une évaluation du coût de production des embryons à travers l'estimation des charges des différentes étapes a révélé un prix de 8733 DH par opération de production. Pour une production de 5 embryons transférables, le coût moyen par embryon est de 1757 DH (Houari et al 1995).

Conclusion

L'analyse du bilan global de l'organisation de la reproduction depuis 1975 fait ressortir que l'insémination artificielle est l'outil d'amélioration génétique le plus avantageux. C'est de loin la technologie dont le rapport qualité prix est le plus intéressant (Cunningham, 1990). Actuellement l'I.A. constitue l'un des éléments essentiels de la nouvelle Stratégie d'Elevage définie par le MAMVA. Un schéma de sa réorganisation a été mis en place,

tenant compte à la fois des contraintes qui affectent son extension, des objectifs de productions et des orientations générales de la politique de développement de l'élevage bovin. Par ailleurs, la technique de transfert d'embryons est intégrée au programme d'amélioration génétique entrepris par le MAMVA pour la création et la diffusion du progrès génétique, cette technique continuera à être appliquée aux centres d'I.A. pour la production des mâles pour le programme national de testage. Les femelles obtenues constitueront des donneuses d'embryons en utilisant de la semence de haute valeur génétique. Ces embryons seront transplantés chez les femelles des élevages pépinières de l'A.N.E.B. Les femelles constitueront les génisses de remplacement pour les unités pépinières alors que les mâles seront réorientés vers les centres d'insémination pour le programme de testage.

Par ailleurs, le transfert d'embryons (récoltes et transfert) peut aussi être utilisé au niveau de certaines unités pépinières dans la mesure où l'écart génétique est très élevé chez les vaches indexées. En outre, il peut être envisagé dans le cas de la substitution de l'importation des génisses pleines par les embryons congelés.

Cependant, pour toutes ces perspectives, l'évaluation du gain génétique et du bilan financier doit être étudiée avant d'entreprendre toute opération.

Références bibliographiques

1. A.N.E.B.(1994), Rapport d'Activité sur l'Etat d'Avancement de l'I.A.
2. Benlakhal A. (1993), Gestion de la reproduction et amélioration génétique, Table Ronde du 3 avril 1993, Kénitra.
3. Cunningham E.D.(1990), In Production animale à l'Horizon du troisième millénaire, E.A.A.P. Meeting, Toulouse.
4. El Aidi.L., Ectors.F., Lakhdiissi.H.(1995), Transfert Embryons de la race locale Oulmès-Zaer. IIIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF. Septembre 1995, Rabat.
5. Ezzahiri, Lotfi (1993), Gestion de la reproduction et amélioration génétique, Table Ronde du 3 avril 1993, Kénitra.
6. Houari A. (1994), Contribution à l'étude des contraintes et du coût de production d'embryons bovins à travers quelques essais de récolte. Thèse doctorat vétérinaire I.A.V, Rabat.
7. Houari, Mazouz, Lotfi (1995), Contribution à l'évaluation du coût de production d'embryons bovins au Maroc IIIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF, septembre 1995, Rabat.
8. Lakhdiissi, Bouanane (1995), Résultats préliminaires d'un programme de T.E. conduit en ferme. IIIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF, septembre 1995, Rabat.
9. Lampeter W., Lahlou Kassi A., Glaizel P.(1982), Transversuch Tiefgetrorener embryon mit PGF Synchronivierter marokkanische Emplangerrinder. Berliner und munchiner Tierarztlische Wochenschrift.
10. Massine (1992), L'insémination artificielle chez les bovins : bases physiologiques, situation actuelle et perspectives de développement de cette technique au Maroc. Thèse de doctorat vétérinaire I.A.V, Rabat.
11. MAMVA (1995a), Rapport d'activité de l'année 1994.
12. MAMVA (1995b), Journée nationale sur le programme de testage des géniteurs bovins sur descendance-juin, 1994 Ain Jemaa, Casablanca.
13. MAMVA (1994), Stratégie d'élevage (Tome 1)
14. Mazouz, Lotfi, El Aïch, Lakhdiissi, Hachi, El Aïdi (1995), IIIèmes Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Animales de l'AUPELF-UREF, septembre 1995, Rabat.

La technique de transfert d'embryons bovins chez les éleveurs : moyen d'accroître le progrès génétique.

A. MAZOUZ *, N. LOTFI**, R. EL AICH***, H. LAKHDISSI*
A. HACHI****, L. ELAIDI*****.

* *Département de Reproduction et I.A. - Institut Agronomique et Vétérinaire - Hassan II
Rabat.*

** *Association Nationale des Eleveurs des Bovins de Races Pures (A.N.E.B).*

*** *Direction de l'Elevage M.A.M.V.A.*

**** *Centre Régional d'Insémination Artificielle - Ain Jamaaa - Casablanca.*

***** *Société Nationale de Développement de l'Elevage.(S.N.D.E).*

Résumé

En vue de poursuivre le cycle de testage des géniteurs bovins pour l'insémination artificielle, la Direction de l'élevage a lancé un programme de transfert d'embryons chez les éleveurs dans le but de produire des veaux mâles de haute valeur génétique qui seront destinés à l'évaluation sur descendance.

Sur 452 vaches proposées par les éleveurs, 193 femelles réparties dans 20 étables ont été sélectionnées sur l'intégrité de l'appareil génital et la cyclicité. Les chaleurs de ces femelles ont été synchronisées à l'aide de Prostaglandines (Pg α). Le taux de manifestation des chaleurs était de 84,9% après la deuxième injection de Pg α . Sur 164 femelles détectées en chaleurs et en fonction de la qualité du corps jaune et de l'état de l'appareil génital, 115 soit 70,12% ont été sélectionnées comme receveuses dans ce programme de transfert d'embryons (embryons importés du Canada).

2 à 3 mois après le transfert, le taux de gestation obtenu varie de 23% à 69,6% selon les zones avec une moyenne de 50,4%.

Les contraintes du terrain ainsi que les facteurs de variation (zone, méthode de décongélation, mode d'élevage, opérateur...) ont été analysés et discutés.

Introduction

Le transfert d'embryons chez les bovins constitue un des moyens les plus rapides pour améliorer le potentiel génétique de production du troupeau. En plus de la multiplication rapide des animaux de haute valeur génétique et de la réduction de l'intervalle entre générations (pression de sélection), cette technique est utilisée au Maroc depuis 1992 pour la production des veaux destinés à l'évaluation sur descendance.

En effet la Direction de l'élevage a opté pour l'apport de gènes hautement productifs sous forme d'embryons en vue de poursuivre le cycle de testage des géniteurs bovins laitiers pour l'I.A. et afin d'accroître d'avantage le progrès génétique

Dans ce cadre, une opération de transfert d'embryons a été réalisée chez les éleveurs pour la première fois au Maroc. Cette opération vise la procréation de jeunes veaux issus de parents de haut niveau génétique.

Matériel et méthodes

1. Embryons

Origine : Pour la réalisation de ce programme, la Direction de l'élevage a importé 125 embryons de race Holstein à partir du Canada.

Niveau génétique :

	Production laitière (1ère lactation)	Indice pour la vie (I.P.V)
Père	12147 (8955-13202)	1472 (1114-2288)
Mère	9272 (7734-10640)	1022(330-1602)

Qualité et Stade : L'ensemble des embryons sont de qualité 1 (excellent à très bon) Leurs stade de développement varie de Morula compact (stade 4) 38% au Blastocyste (stade 6) 46%. Le stade 5 ou jeune Blastocyste représente 16% des embryons.

Méthode de congélation : Les embryons importés ont été congelés par deux méthodes:

- Méthode classique (glycérol 10%-1,4 M) : 40% des embryons.
- Méthode ` One Step ` (Ethylène glycol-1,7 M) : 60% des embryons.

2. Choix des receveuses

Le choix des femelles receveuses a été fait selon les critères suivants :

Zones: Le choix est axé sur les zones où existent des fermes pilotes et où l'insémination est bien développée.

Elevages : Les critères de sélections sont les suivants :

- Elevages indemnes de maladies contagieuses.
- Bonne gestion de reproduction et de l'alimentation.
- Pratique de l'I.A.
- Effectif de femelles à intégrer au programme : plus de 5.
- Motivation et réceptivité de l'éleveur.

Pour les femelles , il y a deux catégories:

Les génisses : bonne conformation

- âge: plus de 15 mois
- poids: plus de 350 kg
- cyclicité et intégrité de l'appareil génital.

et les vaches: bonne conformation

- rang de vêlage : moins de 2
- post-partum: plus de 45 jours.
- cyclicité et intégrité de l'appareil génital.

Comme il ressort du tableau (1), 452 femelles appartenant à 58 élevages ont été proposées pour la réalisation de ce programme. En appliquant les critères de choix, seulement 193 femelles ont été retenues soit 42,7%.

Tableau 1. Répartition des fermes et des femelles selon les zones.

Zone	Fermes		Femelles	
	Proposées	Retenues	Proposées	Retenues
Haouz	16	5	93	32
Fes 1.	1	1	60	47
Meknes	6	0	25	0
Ghare	12	2	49	21
Rabat	4	4	40	33
Casa/Benslim.	10	3	73	25
Doukkala	4	0	28	0
Fes 2	4	5	39	3
Total	58	20	452	193

3. Préparation des receveuses

Pour le bon déroulement du travail durant le jour de transfert, des groupes de 20 à 40 femelles ont été préparées au niveau de chaque zone. La préparation des receveuses consistait à :

- La synchronisation des cycles sexuels.
- La détection du côté du corps jaune.

3.1. Synchronisation des cycles sexuels : Le protocole de maîtrise des cycles sexuels utilisé est à base d'un analogue de prostaglandine: Luprostenol (PROSOLVIN.ND) à la dose de 15mg selon le schéma suivant :

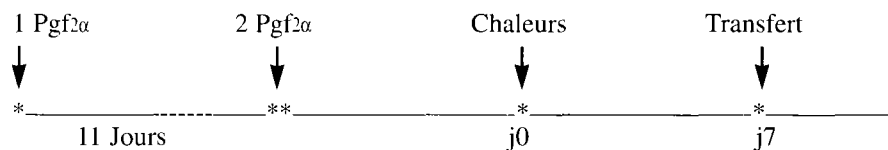


Figure 1 : Synchronisation des cycles sexuels des receveuses.

Le lendemain de la 2^{ème} injection de la Pgf2 α , les femelles sont sujettes au contrôle des chaleurs par des vachers avec l'encadrement des cadres et des inséminateurs de la zone.

3.2. Détection et localisation du corps jaune : Cette opération est effectuée le jour du transfert (7 jours après le début des chaleurs) et elle consiste à vérifier la présence effective d'un corps jaune fonctionnel et de noter de quel côté il se trouve.

4. Mise en place des embryons

4.1. Préparation de la receveuse : La receveuse est attachée dans un local propre, pas trop éloigné du lieu de la préparation des embryons ('Laboratoire mobil'). La région vulvaire est bien nettoyée avec du papier serviette. Pour faciliter le transfert et éviter les efforts expulsifs, on pratique une anesthésie épidurale basse (3-5ml xylocaïne 2%).

4.2. Décongélation des embryons : La décongélation de chaque embryon varie selon la méthode avec laquelle il a été congelé.

Méthode classique :

1. Sortir la paillette de l'azote liquide et la maintenir à la température ambiante (20-30°C) durant 5 secondes.
2. Plonger la paillette dans un bain marie (30°C) pendant 40 secondes.
3. Récupérer l'embryon dans une boîte de pétri.
4. Déglycérolisation par étape.
5. Montage sur pistolet de transfert.

Méthode 'one step' :

Seules les étapes 1, 2 et 5 sont utilisées.

4.3. Mise en place des embryons

Le transfert a été réalisé par la méthode cervicale qui consiste à déposer l'embryon au sommet de la corne utérine ipsilatérale au corps jaune, à l'aide d'un pistolet de transfert muni d'une gaine et d'une chemise sanitaire en passant par les voies naturelles.

5. Diagnostic de gestation

En plus de la non observation du retour en chaleurs 14 jours après le transfert, le diagnostic a été confirmé par palpation transrectale 60 à 90 jours après les chaleurs.

Résultats

1. Réponse ovarienne chez les receveuses au traitement de synchronisation

Sur 193 femelles traitées par les Pgf2 α 164 ont montré les chaleurs 48 à 72 heures après la deuxième injection, soit 84,9% (Tableau 2).

Après examen gynécologique effectué le jour du transfert seule 115 femelles (70,1%) ont été jugées aptes à recevoir un embryon. Les 115 femelles sont composées de 108 génisses et 7 primipares. Les causes d'élimination furent absence du corps jaune, la présence de follicules, de kystes ou des pathologies non liées à la reproduction. Le taux d'élimination est d'environ 30%, il varie de 10,4% à 47,7 % selon les zones.

2. Taux moyens de gestation et facteurs de variation

2.1. Taux de gestation

Comme il ressort du tableau (2), 59 femelles ont été confirmées gestantes par examen transrectal, soit un taux de 50,4%. Ce taux varie de 22,2% à 69,6% selon les zones.

Tableau 2. Taux de gestation par zone.

Zone	Fem. SYN.	Fem. CH.	Fem. T.E.	Fem. D.G.+
Haouz	32	29 (90,6%)	26 (89,6%)	12 (46,1%)
Fes 1	47	40 (85,1%)	33 (82,5%)	23 (69,6%)
Rabat+	33	30 (90,9)	16 (53,3)	10 (62,5%)
Fes 2	35	30 (85,7%)	20 (66,6%)	7 (35%)
Gharb	21	14 (66,6%)	9 (64,2%)	2 (22,2%)
Bens/Casa.	25	21 (84%)	11 (52,3)	4 (36,3%)
Total	193	164 (84,9%)	115 (70,1%)	58 (50,4%))

FEM.SYN: Femelles retenues et synchronisées.

FEM.CH : Femelles vues en chaleurs.

FEM.TE. : Femelles receveuses.

FEM.DG+: Femelles gestantes.

2.2. Les facteurs de variation

2.2.1. *Conduite du troupeau* : Le mode de conduite des receveuses varie en fonction des exploitations et des zones. Ainsi nous pouvons distinguer deux groupes:

- le groupe 1 caractérisé par :
 - une bonne gestion de la reproduction et de l'alimentation.
 - bonne détection des chaleurs
 - grand choix des femelles.
- et le groupe 2 caractérisé par :
 - une gestion satisfaisante.
 - défaillance du système de détection des chaleurs.
 - choix limité des femelles.

Comme il ressort du tableau 3, le taux de gestation varie de 35,5% à 66% selon le mode de conduite des receveuses.

Tableau 3. Variation du taux de gestation selon le mode de conduite des receveuses.

Groupe	nb.fermes	fer. T.E.	frm. DG+
1	7	56	37 (66%)
2	13	59	21 (35,5%)

2.2 .2.Méthode de décongélation :

Sur les 115 embryons transférés, 43 ont été décongelés selon la méthode classique (déglycérolisation par étape) et 72 selon la méthode «one step» (tableau 4).

Le taux de gestation obtenu en fonction de la méthode de décongélation est en faveur de la méthode one step, avec 39 gestations soit 54,1%.

Tableau 4. Taux de gestation selon la méthode de décongélation des embryons.

Méthode	frm .T.E.	frm DG+	Taux
Classique	43	20	45,5%
One step'	72	39	54,1%
Total	115	59	51,3%

Discussion

1. La réponse ovarienne au traitement de synchronisation

Seules 9,3% des femelles n'ont pas manifesté de chaleurs suite au traitement de synchronisation, ce qui correspond à une efficacité d'induction de la lutéolyse de 90,3%. Ce taux est supérieur au taux trouvé par Bougnouche 1992, Peter 1989 et Glatzel et al, 1979. Par contre Thibier et Bosc 1989 ont trouvé un taux similaire au notre. Environ 85% des femelles synchronisées ont manifesté des signes des chaleurs dans les 72 heures après la 2ème injection, ce taux est en accord avec les résultats trouvés par plusieurs auteurs (Hearshaw1976, Chaffaux 1982, Bougnouche 1992). Notre résultat élevé s'explique en partie par la sélection des femelles à synchroniser. Le taux d'élimination après examen gynécologique le jour du transfert est de 30% par absence de corps jaune ou présence des follicules.

2. Taux de gestation

Le transfert des embryons bovins congelés chez les éleveurs dans les conditions du terrain a été couronné par un taux de réussite de 50,4%. Ce taux moyen se situe parmi les taux obtenus par plusieurs auteurs (Leymonie et al. 1988, Florin et al.1982, Nibart 1991, Otter 1994, Vincentil 1994). Nos résultats sont supérieurs aux résultats obtenus au Maroc par Lampeter et al 1982, Boukherouaa 1992, Mazouz et Eddebagh 1992, Houari 1994).

Des écarts importants des taux de gestation ont été trouvés en fonction des zones variant de 22,2% au Gharb à 69,6% à Fès 1. Ceci s'explique en partie par le mode de conduite du troupeau préparation des receveuses, l'habilité et l'entraînement de l'opérateur. En effet l'influence du mode de conduite des receveuses sur les taux de gestation a été démontrée par plusieurs auteurs (Donaldson 1985, Scaramuzzi 1994, Athermondi 1994). Un taux meilleur a été obtenu en faveur de la méthode de décongélation 'One step' (54,1%) par rapport à la méthode classique (45,5%). cette différence peut être attribuée aux conditions du transfert et de manipulation des embryons, comme il a été rapporté par Leibo 1984, Nibart 1991, Volekel et al. 1992 et Aarts et al 1994.

Références

1. Aarts T., Hurkmans H., Klop J., Vanrixerell J., Van. Lieshout J. (1994), Direct rehydration of bovine embryos using ethylene glycol as a cryoprotecting agent. in 10^{ème} réunion A.E.T.E. Lyon, 9-10 sep. 140.
2. Athermond (1994), The effect of mineral nutrition on bovine fertility with particular reference to embryo transfer. in 10^{ème} réunion A.E.T.E. Lyon, 9-10 sep. 105-115. .
3. Bougnouche H. (1992), Essai d'utilisation de la prostaglandine chez la vache laitière : Contrôle du cycle sexuel. *Thèse de Doct.Vet.* IAV Hassan II Rabat.
4. Boukherouaa A. (1992), Le transfert embryonnaire chez les bovins: Etude bibliographique et situation actuelle au Maroc. *Thèse de Doct. Vet.* IAV. Hassan II Rabat.
5. Chaffaux S. (1985), Utilisation de la prostaglandine et ses analogues pour la reproduction chez les bovins. *Le Point Vet.* (1) 63-71.
6. Donaldson L.E. (1985), Recipients as a source of variation in cattle embryo transfer. *Theriogenology*. 23.(188).Abstracts.
7. Florin B., Nibart M., Beaumard M. (1982), Bilan des transferts d'embryons congelés par la méthode chirurgicale et cervicale. in 4^{ème} réunion A.E.T.E Lyon 9-19 sep.
8. Glatzel P., Lahlou Kassi A., Stollar R., Leidl W. (1979), Versuch zur zyklussynchronisation einer milchrinderherde in morokko mit dem Pgf analog (Iliren). *Tierarzliche Umschau*. 11.752-758.
9. Houari M. (1994), Contribution à l'étude des contraintes et du coût de production d'embryons bovins à travers quelques essais de récolte. *Thèse de Doct.Vet.* IAV.HassanII Rabat.
10. Lampetr W., Lahlou. Kassi A., Glatzel P. (1982), Transversuch tiefgetrorener Rinder embryonen mit Pgf Synchroniserte Marokkanische Emplangerrinder Berliner und Munchner Tirearzliche Wochenschrift.
11. Leibo S.P. (1984), A one step method of direct nonsurgical transfer of frozen-thawed embryos. *Theriogenology*. 21. 767-790.
12. Leymonie P., Blanc A., Grange B., Villemague M. (1988), Program 1000 heifers in Loire by TE : Results and discussion about the first 1000 transfers with frozen embryos. in 5^{ème} réunion A.E.T.E. Lyon.
13. Mazouz A., Eddebach A. (1992), Application des biotechnologies dans la maîtrise de la reproduction et d'amélioration génétique des bovins dans les pays du Maghreb. 10^{ème} congrès vétérinaire maghrebin Tripoli 12-15.oct.
14. Nibart M. (1991), Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées: bissection et sexage. *Rec.Med.Vet.Spécial : Reproduction des Ruminants*. Mars-Avril 167..261-290 .
15. Otter T. (1994), Pregnancy rate of fresh and frozen thawed cattle embryo. in 10^{ème} réunion A.E.T.E. 228.
16. Thibier M., Bosc M. (1989), Conception, réalisation et application des médicaments assurant la maîtrise de la reproduction. *B.G.V* 2: 15-19.
17. Scaramuzzi. R., J. Murray. J. F. (1994) The nutrient requirements for the optimum production of gametes in assisted reproduction in ruminant animals. in 10^{ème} réunion A.E.T.E. Lyon. 9-10 sep 85-103.
18. Vincentil L., Quaranta G., Ponzio P., Toni F., Sabattini J. (1994), Seven years of production and transfer of embryos: comparative results. in 10^{ème} réunion A.E.T.E. Lyon 9-10 sep 260.
19. Voelkel S.A., HU. Y.X. (1992), Direct transfer of frozen thawed bovine embryos. *Theriogenology*. January 37(1) 23-37.

Résultats préliminaires d'un programme de transfert d'embryons conduit en ferme

H. LAKHDISSI* et **, B. OUANANE*

* Vétérinaire responsable du troupeau laitier du Domaine Douiet.

** Département de Reproduction et d'Insémination Artificielle.
Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II. Rabat.

Résumé

Dans le cadre de l'amélioration génétique du troupeau bovin laitier de race Holstein du Domaine Douiet, un programme de transfert d'embryons, en grande partie intratroupeau, a été mis en place à l'automne 1993.

36 vaches ont été superovulées au moyen de 40 mg de F.S.Hp à doses régressives entre le 9ème et le 12ème jour du cycle.

31 vaches ont été récoltées au 7ème jour après les chaleurs, soit un taux de réponse à la superovulation de 86%.

Le nombre d'embryons récoltés (par femelle récoltée) a été de 10,3, le nombre d'embryons transférables a été de 4,32, soit un taux d'embryons transférables de 42%.

Le taux de gestation obtenu en transfert direct (embryons frais) sur des génisses dont les chaleurs ont été synchronisées a été de 65%.

Pour les embryons congelés par la méthode rapide (une seule étape) et mis en place sur des génisses de la même façon que pour les embryons frais, le taux de gestation a été de 63%.

Le sex-ratio calculé à partir des naissances survenues (50%) a été de 80% en faveur des produits mâles.

Introduction

Plusieurs essais de transfert d'embryons ont été entrepris à l'échelle du Maroc durant les dernières années (5, 3, 14, 18). Le programme de transfert d'embryons du troupeau laitier du Domaine de Douiet a été mis en place à l'automne 1993.

Ce programme a 3 objectifs essentiels :

1/ L'accélération de l'amélioration génétique du troupeau à travers la multiplication de lignées génétiquement confirmées.

Actuellement un tiers des génisses de remplacement du troupeau est prévu en transfert d'embryons.

2/ La participation à la diffusion du progrès génétique chez les éleveurs marocains en mettant à leur disposition des reproducteurs et/ou des embryons de haute valeur génétique.

3/ Éviter ou du moins minimiser l'importation d'animaux vivants, étant donnée l'ampleur des difficultés qu'engendre une telle opération (sanitaires, d'adaptation ...) (29, 30).

Matériel et Méthodes

Choix des donneuses

36 femelles primipares et multipares ont été sélectionnées parmi les 500 vaches laitières de race Holstein du troupeau du Domaine de Douiet.

Le choix s'est basé sur des critères d'ascendance, de production laitière et de conformation, en plus des exigences de l'intégrité du tractus génital et de la régularité de reproduction.

Choix des receveuses

Les receveuses utilisées dans ce programme sont des génisses nées et élevées dans le Domaine. Seules les génisses ayant atteint le poids et l'âge de l'insémination (390 à 400 kg à 17/18 mois) ont été retenues.

Superovulation des donneuses

La superovulation des donneuses a été induite suite à des chaleurs naturelles ou provoquées.

48 mg de F.S.Hp (ND : Stimufol, Rhône Mérieux) ont été utilisés à doses dégressives entre le 9ème et le 12ème jour du cycle.

Synchronisation des chaleurs

La synchronisation des chaleurs a été réalisée à l'aide d'un analogue de la prostaglandine F2X: Luprostiol (ND: Prosolvin): 7,5 mg chez les génisses et 15 mg chez les vaches.

Collecte et manipulation des embryons

Les embryons ont été récoltés par voie cervicale (sonde à trois voies) au 7ème jour après les chaleurs.

Le milieu de collecte utilisé est le P.B.S. standard (Eurobio).

En cas de congélation, les embryons ont été congelés par la méthode rapide (une seule étape) en utilisant le glycérol à 10% (8,31).

Le jugement des embryons s'est fait selon les règles standard de jugement. (11, 15, 33).

Le diagnostic de gestation a été pratiqué par palper rectal, 40 jours après le transfert, puis confirmé à 90 jours.

Résultats

Sur les 36 vaches superovulées, 5 ont été écartées successivement du programme, soit un taux de récupération de 86%.

Les résultats présentés concerneront les 31 vaches collectées.

1. Taux de récolte

Le nombre moyen d'embryons récoltés a été de $10,3 \pm 6,27$ avec un maximum de 26.

Le tableau 1 représente la répartition des femelles selon le nombre d'embryons récoltés. Il en ressort que les 3/4 des femelles ont donné plus de 5 embryons.

Tableau 1. Répartition des donneuses selon le nombre d'embryons récoltés

	Nombre d'embryons récoltés			
	≤ 5	5-10	10-15	> 15
Nbre	8	11	6	6
%	26	36	19	19
Moyenne	2,87	8,82	13	19,83

L'analyse de l'effet du numéro de lactation sur le nombre d'embryons récoltés (tableau 2) montre une tendance des vaches âgées (≥ 6 lactations) à produire plus d'embryons que les vaches jeunes (≤ 3 lactations). Le test de comparaison des moyennes est cependant resté non significatif.

Tableau 2. Nombre moyen d'embryons récoltés selon le numéro de lactation

	Numéro de lactation	
	≤ 3	≥ 6
Nbre	19	12
Moyenne	$9,26 \pm 6,62$	$11,75 \pm 5,61$

P = 0,15

2. Taux d'embryons transférables

Ce taux a été en moyenne de 42%. En effet, la moyenne du nombre d'embryons transférables a été de $4,32 \pm 5,05$ avec un maximum de 19.

Le tableau 3 montre que le quart des femelles récoltées n'ont pas donné d'embryons transférables. Par contre, presque la moitié a donné moins de 5 embryons transférables et un tiers a donné plus de 5 bons embryons.

Tableau 3. Répartition des donneuses selon le nombre d'embryons transférables

	Nombre d'embryons transférables				
	0	<= 5	5-10	10-15	>15
Nbre	8	13	6	2	2
%	26	42	19,4	6,5	6,5
Moyenne	0	2,38	7,17	12,50	17,60

Le calcul du nombre moyen d'embryons transférables selon le numéro de lactation (tableau 4) montre que si les femelles ayant plus de 6 lactations produisent plus d'embryons que les femelles ayant moins de 3 lactations, la qualité des embryons de ces dernières semble être meilleure. En effet, 5 embryons transférables en moyenne ont été produits par les jeunes femelles contre 3,25 pour les plus âgées. La comparaison des moyennes n'a cependant révélée aucune différence significative.

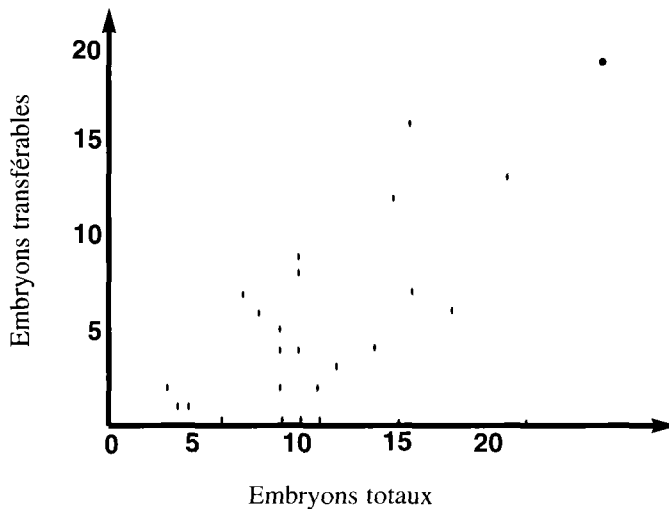
Tableau 4. Nombre moyen d'embryons transférables selon le numéro de lactation

	Numéro de lactation	
	<= 3	>= 6
Nbre	19	12
Moyenne	5,00 ± 5,17	3,25 ± 4,86

P = 0,18

L'effet de la quantité d'embryons récoltés sur le nombre de bons embryons a été étudié à travers le coefficient de corrélation entre les deux variables (figure 1) . Il en ressort que le nombre d'embryons transférables augmente d'une façon significative avec le nombre total d'embryons produits au cours d'une collecte : R= 0,622 avec P= 0,01.

Figure 1. Evolution des embryons transférables en fonction des embryons totaux.



3. Taux de gestation

3.1. Embryons frais

Cinquante sept embryons ont été transférés en frais par méthode cervicale sur des génisses receveuses. 63% ont été jugés de qualité 1, 26 de qualité 2 et 11% de qualité 3. Le taux de gestation moyen obtenu a été de 65%. Comme le montre le tableau 5, le taux de gestation a tendance à s'améliorer avec la qualité des embryons transférés (bien que le test X2 reste non significatif).

Tableau 5. Taux de gestation obtenus selon la qualité des embryons

Qualité des embryons			
	Q1	Q2	Q3
Nbre	36	15	6
Gestation	66,7%	60%	50%

X² = 0,70

DDL = 2

P = 0,71

3.2. Embryons congelés

36 embryons congelés par la méthode rapide en une seule étape ont été transférés sur des génisses dont les chaleurs ont été provoquées par une ou deux injections de prostaglandine. Le taux de gestation obtenu a été de 63,8%.

L'étude de l'effet de la congélation a été réalisée en comparant le taux de gestation global pour les embryons transférés en frais ou après congélation (tableau 6). Le test X² de comparaison des proportions n'a pas révélé de différence significative entre les taux de gestation de transfert en frais et après congélation.

Tableau 6. Taux de gestation obtenus selon la méthode de transfert

	Frais	Congelés
Nbre	57	36
Gestation	65%	63,8%

X² = 0,13

DDL = 1

P = 0,6

4. Le Sex-Ratio :

Le sex-ratio calculé à partir des naissances survenues a été de 80 % en faveur des produits mâles. Aucune différence n'a été relevée entre les taureaux utilisés.

Discussion

Les 5 vaches écartées du programme l'ont été principalement pour des problèmes de réponse à la superovulation. Des pourcentages d'élimination identiques ont été trouvés par d'autres auteurs (6, 7, 12).

Le nombre d'embryons récupérés par collecte a été de 10,3. Ce taux est élevé et est comparable aux meilleurs taux rapportés dans la littérature. (4, 7, 20, 21, 25, 28).

Il est à noter que, dans le cadre de ce programme, une attention particulière a été accordée à la préparation des donneuses aussi bien en alimentation qu'en entretien quotidien.

Les vaches ayant plus de 6 lactations ont tendance à produire plus d'embryons que les femelles jeunes, contrairement à ce qui est rapporté dans la littérature (3). On devrait s'attendre en effet à une diminution du nombre d'embryons chez les femelles les plus âgées étant donné la diminution de la sensibilité des ovaires à la superovulation (17). Mais il est certain que dans le cadre de ce programme, la régularité et la qualité de la reproduction des femelles ont été des points déterminants dans l'acceptation des femelles comme donneuses. Le taux d'embryons transférables a été de 42%. Ce taux est légèrement inférieur aux taux de 45 à 55% rapportés (3, 4, 7, 12, 13, 22, 23). Il y a eu certainement une tendance à la sévérité dans le jugement des embryons étant donné qu'il s'agissait de la première expérience et dans le souci d'avoir de bons résultats en gestation.

Le nombre d'embryons transférables augmente d'une façon significative avec le nombre total d'embryons produits lors d'une collecte, mais il ne suit pas forcément le même rythme d'augmentation, ce qui expliquerait en partie les différences de tendances observées entre les donneuses jeunes et les plus âgées, ceci dénote par ailleurs la qualité de la réponse à la superovulation pour les femelles ayant répondu à ce traitement.

Le taux de gestation obtenu après transfert en frais (65%) est parmi les meilleurs taux rapportés par différents auteurs (7, 19, 21, 22, 23, 24, 26). Ceci pourrait être dû en partie au fait que les deux tiers des embryons transférés en frais étaient de qualité 1, or il y a une tendance à l'amélioration du taux de gestation en fonction de la qualité des embryons transférés.

Le transfert des embryons congelés a été suivi d'un taux de gestation de 63,8%. Ce taux s'inscrit parmi les meilleurs taux de la large fourchette des taux obtenus par différents auteurs utilisant différentes méthodes de congélation (7, 10, 22, 24, 31, 32).

Par ailleurs, nous n'avons noté aucune différence significative entre les résultats des transferts, en frais et après congélation.

Le point le plus surprenant dans ce travail est le sex-ratio de 80% en faveur des produits mâles. Ce ratio est supérieur aux normes décrites dans la littérature (34).

Est-ce un produit du hasard et, auquel cas, ce ratio devrait s'équilibrer sur un plus grand nombre d'observations, ou est-ce dû aux manipulations des embryons récoltés ? Il est décrit dans la littérature que les embryons mâles résistent mieux aux stress du milieu extérieur que les embryons femelles (9). Par ailleurs, dans un lot d'embryons issus de la même collecte, les embryons mâles sont plus développés que les embryons femelles (1, 2, 16, 27). Avery (1991) rapporte que le sex-ratio (pour une collecte faite à j7) est de 89% chez les blastocystes épanouis, et de 75% chez les blastocystes. Il n'est cependant que de 40% chez les jeunes blastocystes.

Toujours est-il que ces constatations seront confirmées sur un nombre plus important de naissances.

Bibliographie

1. Avery B. (1989), Impact of asynchronous ovulations on the expression of sex-dependent growth rate in bovine preimplantation embryos. *J. Repro. Fertil.* 87. 627.
2. Avery B., Madisson V., Greve T. (1991), Sexe and development in bovine in-vitro fertilized embryos. *Therio.* 35. (5). 953.
3. Boucheraoua A. (1992), Le transfert embryonnaire chez les bovins : Etude bibliographique et situation actuelle au Maroc. *Thèse.Doc.Vét.* Rabat. Maroc.
4. Cremonesi F., Stracchezzini S. et al (1992), Superovulation in Maremmama cows. 8ème réunion A.E.T.E. 11-12 sep Lyon, 1992.
5. Ennagi A. (1987), Résultats non publiés.
6. Florin B. (1993), Données non publiées.
7. Florin B. (1994) Assemblée Générale O.G.E.R., Avril. Blain.
8. Florin B., Paul A., Gicquel H. (1992), Utilisation du succrose dans la méthode de décongélation d'embryons bovins. 8ème réunion A.E.T.E. 11-12 sep Lyon.
9. Foote R.H. (1977). Sex ratio in dairy cattle under various conditions. *Therio.* 8. 349.
10. Fuentes S., Payas A. et al (1992), Pregnancy rates of deep frozen and imported embryos. 8ème réunion A.E.T.E. 11-12 sep. Lyon.
11. George E. et al (1989), Embryo tranfert in dairy cattle. Hoard's dairy man. Hoard and son company.
12. Gonzalez A., Lussier J.J. et al (1990), Superovulation of beef heifers with follitropin : A new FSH preparation containing reduced LH activity. *Therio.* 33. (2). 519.
13. Herrler A., Elsaesser F. et al (1990), Superovulation of dairy cows with purified FSH supplemented with defined amounts of LH. *Therio.* 35. (3). 633.
14. Houari M. (1994), Contribution à l'étude de contraintes et du coût de production d'embryons bovins à travers quelques essais de récolte. *Thèse Doc.Vét.* Rabat. Maroc.
15. I.N.R.A (1980), Blastographie du développement précoce de l'embryon superovulé. I.N.R.A. Station centrale de physiologie animale. Jouy en josas. France.
16. Itoh S. Goto T. (1986), Sex frequency of offspring from different development stage of cattle embryos. *Jap.J. Anim.Al. Res.* 8.95.
17. Lamothe P. (1989) Le choix de la donneuse. Journées scientifiques et professionnelles. Mieux maîtriser la reproduction des espèces domestiques par le transfert d'embryons. Sommet de la francophonie. 17-18. Dakkar.
18. Lampeter W., Lahlou Kassi A., Glatzel P. (1982), Transferversuch tiefgetroener Rinder embryonen in mit PGF2 Synchronisierte Marokkanische Emplangerrinder Berliner und Munchen Tierarslischerift.
19. Lee K.W., Son D.S. et al (1990), Transfert of fresh dairy embryos to Korean native cattle after long distance transportation to Korea. *Therio.* 33. (1). 271.
20. Meinecke, B., (1994), Superovulation : recent advances and practical experience. 10ème réunion A.E.T.E. 9-10 sep. Lyon.
21. Morstin J., Pakula A., and Skowron M. (1994), Development of cattle embryo transfert in Polland. 10ème réunion A.E.T.E. Lyon, 9-10 sep 1994.
22. Munar C.J., Nigro M.A. et al (1990), Quality control in a large-scale embryo transfert programm under farm conditions in the Argentine republic. *Therio.*, 33. (1). 5.
23. Nibart M., (1991), Le transfert embryonnaire et les biotechnologies appliquées : Bissection et sexage. *Rec.Med.Vét.* Spécial reproduction des ruminants. Mars, 167, 261-290.
24. Otter T. (1994), Pregnancy rate of fresh and frozen-thawed cattle embryos. 10ème réunion A.E.T.E. 9-10 sep. Lyon 1994.
25. Parez M. (1987), Insémination Artificielle et Reproduction. In : Insémination artificielle bovine. I.T.E.B./U.N.C.E.I.A. Ed Marion 17-136.

26. Rozendaal M.G. (1994), Results from transfer of fresh or frozen embryos in synchronized or non-synchronized heifer or dairy cow recipients. 10ème réunion A.E.T.E, 9-10 sep 1994.
27. Seller M.J., Perkinson-Cole K.J. (1987), Sex difference in mouse embryonic development at neurulation. *J. Repro Fertil.* 79-159.
28. Stitjus S., Vaskas H. Uchockiene D. (1992), Superovulation of cows using F.S.Hp, Follicotropin, Follitropin and Foligon. 8ème réunion A.E.T.E. 11-12 sep, Lyon.
29. Thibier M. (1993), La surveillance sanitaire des échanges d'embryons bovins issus de fécondation in vitro. *Rev.Sci.Tech.Off.Int. Epiz.* 12, (3°, 757-772).
30. Thibier M., Guerin B. (1991), Les biotechnologies de la reproduction et l'amélioration sanitaire du troupeau. *Rec.Med.Vét.* Avril.
31. Touati K., Delcroix P., Bocart C., Ectors C. (1992), Congélation d'embryons de race Blanc Bleu Belge en vue du transfert direct. 8ème réunion A.E.T.E, 11-12 sep. Lyon.
32. Vincentil L., Quaranta G., Ponzio P., Sabatini J. (1994), Seven years of production and transfer of bovine embryos : Comparative results. 10ème réunion A.E.T.E. 9-10 sep. Lyon.
33. Wintenberger S.T., Sevellec C. (1987), Atlas du développement embryonnaire précoce chez les ovins. I.N.R.A. Station de physiologie animale. Ins. Nat. Rech. Agro. Paris.
34. Yadav B.R., King W.A. et al (1990), Sex ratio of embryos produced by fertilization in vivo and in vitro. *Therio.* 33. (1). 356.

Transfert d'embryons dans une unité laitière au Sénégal : LA SOCA

P.E.H. DIOP*, M.A. SOW **, Kh. SENGHOR*,
M.SY**, M.N. DIOUF*, TH. BAZARUSANGA*

- * *Service de Chirurgie-Reproduction
Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires
BP 5077 Dakar, Sénégal*
- ** *Ferme Laitière LA SOCA
BP 8403 Dakar, Sénégal*

Résumé

L'objectif visé par l'opération consiste en la multiplication des femelles laitières élites jerseyaises par le biais du transfert d'embryons.

16 vaches donneuses ont été sélectionnées selon leur niveau de production laitière. Elles ont été synchronisées grâce à des implants de «Crestar». Par la suite, elles ont été superovulées à J10 au moyen de :

- FSH-P (Stimufol ND) (40 mg) et OvasetVND (36 mg), à des doses décroissantes pendant 4 jours.*
- PMSG (Folligon ND), à la dose unique de 2500 UI.*

Les femelles en chaleurs ont reçu une double insémination à 12 heures d'intervalle, à partir du début des chaleurs. Elles ont été récoltées 7 jours après I.M. Les résultats suivants ont été enregistrés :

- 93, 75% des donneuses sont venues en chaleurs pour les chaleurs de référence (15/16) et 93,33% pour les chaleurs de superovulation (14/15) ;*
 - 10 vaches ont été récoltées avec une collecte moyenne de 5,8 embryons par vache. La moyenne d'embryons transférables est de 3,4 avec une supériorité de l'Ovaset(7,66).*
- Le transfert d'embryon à l'état frais chez les vaches receveuses jerseyaises a permis d'obtenir 85% de gestation.*

Mots clés : transfert - embryon - vache jerseyaise - SOCA - Sénégal

Introduction

Depuis 1992, des tentatives de vulgarisation du transfert d'embryons en milieu réel ont eu lieu. Des contraintes ont été identifiées en milieu villageois par Diop et Coll. (4) tandis que LY (8) relate la première expérience en milieu urbain en particulier à la société alimentaire du Sénégal : LA SOCA.

La définition d'une nouvelle politique de développement de ferme a amené les autorités de cette société à adopter l'outil biotechnologique qu'est le transfert d'embryons. Les objectifs de cette politique sectorielle sont :

- à court terme : mettre en place un schéma de sélection basé sur la multiplication du génome des femelles élites;
- à moyen terme : créer une banque d'embryons;
- à long terme : mener des actions de commercialisation des embryons.

La présente expérience présente les résultats de la première étape.

Matériel et méthodes

Lieu de l'expérience

La SOCA se situe dans la zone des Niayes à 35 km de Dakar. Il s'agit d'une zone qui subit l'influence du courant froid des Canaries. La température minimale est de 10°C et la maximale de 36°C.

Matériel

1. Animal

Les donneuses ont été sélectionnées sur la base de leur contrôle laitier : le minimum de production est de 15 litres, le nombre de lactation variant de 2 à 6 (tableau 1).

Par ailleurs, les femelles doivent présenter un appareil génital sain cliniquement avec un post-partum de plus de 45 jours.

Quant aux génisses, elles doivent atteindre 60 p. 100 du poids adulte et être âgées au moins de 16 mois.

2. Matériel technique

Le matériel utilisé est celui de la synchronisation des chaleurs avec implants et de récolte d'embryons avec des cathéters à 2 voies de Folley n° 15 et 18.

3. Médicaments

- *Crestar*^{ND1}

Il s'agit d'un implant dosé à 3 mg de Norgestomet associé à une solution huileuse composée de 3 mg de Norgestomet et de 3,8 mg de Valérate d'œstradiol.

- *Stimufol*^{ND2}

Le StimufolND est un lyophilisat de follitropine porcine (FSH-P) à 100 µg et 5 µg de lutropine. Il induit la polyovulation chez la femelle bovine cyclée.

1. Intervet Hollande

2. Rhône Mérieux Belgique

*Transfert d'embryons dans une unité laitière
au Sénégal : La SOCA*

- *Ovaset* ^{ND3}

Le flacon contient un lyophilisat de FSH hypophysaire équivalent à 35 mg NIH standard ou 400 mg NIH-FSH-P. Le produit reconstitué contient de la FSH-P équivalent à 1,09 mg NIH standard ou 1,25 NIH-FSH-P.

- *Folligon* ^{ND4}

Le Folligon est un lyophilisat de gonadotrope sérique (PMSG 1000 UI) et de méthyl à 0,5 mg.

- *Serum de veau foetal* ⁵

Il s'agit d'un lyophilisat de sérum contenant de la : - penicilline 10 µg/ml

- streptomycine 10 µg/ml

- fungizone 2 µg/ml

- *PBS* ⁶ : c'est un tampon phosphaté avec du glucose et du pyruvate de sodium

- *Prostaglandines* : Il s'agit d'analogues de synthèse de PGF2 α

- *Prosolvin* ^{ND 7} : avec comme principe actif le Luprostiol 7,5 mg/ml,

- *Prostavet* ⁸ : le principe actif est l'étiproston 5 mg.

Tableau 1. Liste des donneuses

Numéro vache	Classe	Niveau de production laitière	Origine	Nombre de lactations
255	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	2
455	Haut	18-20 litres par jour	Danoise	6
566	Excellente	> 20 litres par jour	Danoise	6
H 239	Haut/médium	15-18 litres par jour	Sénégalaise	2
245	Excellente	> 20 litres par jour	Sénégalaise	3
236	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	3
479	Excellente	> 20 litres par jour	Danoise	6
864	Haut/médium	15-18 litres par jour	Danoise	6
260	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	2
72	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	3
3	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	4
833	Haut	18-20 litres par jour	Danoise	6
182	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	3
29	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	4
78	Haut	18-20 litres par jour	Sénégalaise	4
446	Haut	18-20 litres par jour	Danoise	6

Excellente : P > 20

Haut : 18 l < P < 20

Haut : 15 l < P < 18

P : Production laitière journalière en litres.

3. Sanofi Canada

4. Intervet Hollande

5. Sigma Canada

6. Sigma Canada

7. Intervet Hollande

8. Virbac France

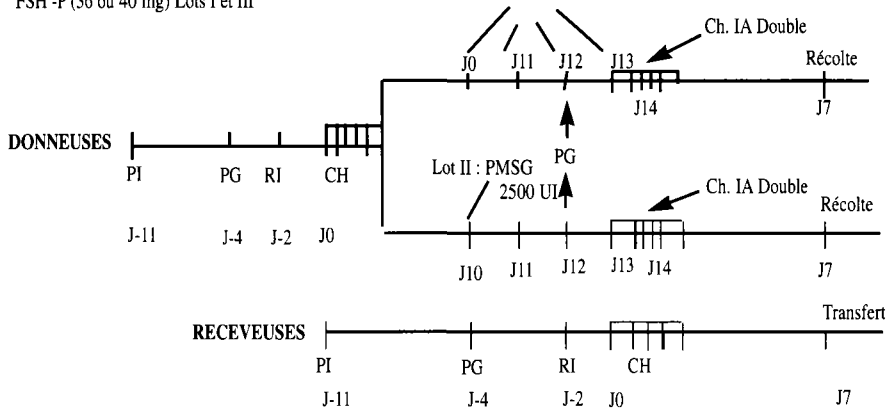
4. Protocole expérimental

Il est résumé par le schéma n°1.

L'expérience a démarré en mars 1995.

Schéma n° 1. Traitement général appliqué aux

FSH -P (36 ou 40 mg) Lots I et III



- La synchronisation des chaleurs

La synchronisation a été réalisée grâce à des implants de Norgestomet placés à la base de l'oreille des vaches.

- La superovulation

Dans le lot I, 5 vaches ont été superovulées avec le Stimufol tandis que dans le lot II, 6 vaches ont été superovulées avec le Folligon; enfin pour le lot III, 5 vaches ont été superovulées avec l'Ovaset.

La superovulation a démarré à J10, J0 étant le jour d'apparition des chaleurs de référence.

- La détection des chaleurs

Les chaleurs de référence et de superovulation sont surveillées en permanence dans les étables et l'acceptation du chevauchement est considérée comme signe majeur des chaleurs.

Résultats

Synchronisation des chaleurs

- Chaleurs de référence des donneuses

Sur un effectif de 6 femelles, 15 sont venues en chaleurs soit 93,75 p. 100. La 16ème ayant perdu son implant (tableau 2)

Tableau 2. Chaleurs de référence des donneuses par lot

LOT	Effectif	Venues en chaleurs	Pourcentage de venues en chaleurs
I	5	5	100 p. 100
II	6	5	83,33 p.100
III	5	5	100 p. 100
Total	16	15	93,75 p. 100

- Chaleurs de superovulation

14 des 15 vaches superovulées sont venues en chaleurs ; l'intensité très forte des chaleurs n'est pas significativement différente selon le type d'hormone. La seule non en chaleurs présentait une métrite (tableau 3).

Tableau 3. Chaleurs de superovulation des donneuses selon l'hormone de superovulation utilisée

Hormone	Effectif	Venues en chaleurs	Taux de venues en chaleurs
STIMUFOL [®] LOT I	5	5	100 p. 100
FOLIGON [®] LOT II	5	5	100 p. 100
OVASET [®] LOT III	5	4	80 p. 100

- Chaleurs de synchronisation des receveuses

Le taux moyen des chaleurs est de 89,65 p.100. La synchronie des chaleurs entre donneuse et receveuse a été parfaite pour le lot I ; mais elle n'a pas excédé 24 heures pour les 2 autres lots (tableau 4).

Tableau 4. Chaleurs de synchronisation des receveuses

LOT	Effectif	Venues en chaleurs	Taux de venues en chaleurs
I	9	8	88,88 p. 100
II	10	9	90 p.100
III	10	9	90 p. 100
Total	29	26	89,65 p. 100

Réponse ovarienne

Elle a été appréciée par palpation transrectale. L'augmentation du volume ovarien est plus nette avec le Folligon. Par contre, pour la moyenne des corps jaunes, celle de l'Ovaset est significativement supérieure (10) aux autres (tableau 5).

Tableau 5. Evaluation de la réponse ovarienne au traitement de superovulation par palpation transrectale

Hormones	Effectif	Corps jaunes				Follicules			
		Ovaire droit	Ovaire gauche	Total	Moyenne	Ovaire droit	Ovaire gauche	Total	Moyenne
OVASET [®]	4	19	21	40	10	16	13	29	7,05±2,60
FOLIGON [®]	5	14	16	30	6 ± 1,79	18	19	37	7,4 ± 2,08
STIMUFOL [®]	5	16	12	28	5,6 ± 2,60	23	23	46	9,2 ± 2,53

Collecte des embryons

Sur les 15 vaches superovulées, 10 ont été aptes à la récolte soit 66 p. 100. En effet 3 vaches ont présenté une métrite, une a présenté moins de 4 corps jaunes et la dernière a présenté une cervicité. 58 ovocytes et embryons ont été collectés avec une moyenne de 5,8 par vache, soit un taux de récupération de 59,18 p. 100.

Le nombre d'embryons transférables est de 34 avec 28 morula et 6 blastocystes, soit 58,62 p. 100.; 15,52 p. 100 (9) sont des ovocytes et 25,86 p.100 (15) sont dégénérées.

En fonction des hormones, l'Ovaset présente une moyenne significativement supérieure (13) à celle du Stimufol (4,25) et du Folligon (2). Et il en est de même pour la moyenne d'embryons transférables 7,66 contre 3,25 et 0,66 (voir tableau 6).

Tableau 6. Qualité des embryons récoltés selon 'es produits

	Tous produits			STIMUFOL [®]			OVASET [®]			FOLLIGON [®]		
	Nombre	Pourcentage récolté	Moyenne par récolte	Nombre	Pourcentage récolté	Moyenne par récolte	Nombre	Pourcentage récolté	Moyenne par récolte	Nombre	Pourcentage récolte	Moyenne par récolte
Vaches récoltées	10			4			3		3			
Total œufs/embryons	58		5,8	13		4,25	39		13	6		2
Transférables	34	58,62	3,4	9	69,23	3,25	23	38,97	7,66	2	33,33	0,66
Morula	28	82,35	2,8	5	55,55	2,25	22	95,65	7,33	1	50	0,33
Blastocytes	6	17,65	0,6	4	44,44	1	1	4,35	0,33	1	50	0,33
Ovocytes	9	15,52	0,9	3	23,08	0,75	5	12,82	1,66	1	16,66	0,33
Dégénérées	15	25,86	1,5	1	7,69	0,25	11	28,21	3,66	3	50	1

En fonction du rang de lactation, nous observons que 56,89 p. 100 des embryons sont produits par les vaches en 6ème lactation, suivies par celles en 2ème lactation 25,86 p.100 (tableau 7).

Tableau 7. Influence du rang de lactation sur la production d'embryons

RANG	II	III	IV	VI
Effectif	4	2	2	2
Total œufs/embryons	15	4	5	33
Moyenne	4	2	2,5	16,5
Pourcentage	25,86	6,90	8,62	56,89

Transfert d'embryons-diagnostic de gestion

Le transfert d'embryons frais a été opéré chez 20 vaches et génisses receveuses. Le diagnostic de gestation réalisé à 45 jours par palpation transrectale a révélé que 17 vaches sont gestantes, soit 85 p. 100 avec 6/7 pour le lot I, 2/4 pour le lot II et 9/9 pour le lot III (tableau 8).

Tableau 8. Résultats du diagnostic de gestation par palpation transrectale

LOT	Effectif	Total de gestantes	Pourcentage de gestations
I	7	6	85,71
II	4	2	50
III	9	9	100
Total	20	17	85

Discussion

Synchronisation des chaleurs

Sur un total de 45 femelles donneuses et receveuses ayant des implants, 5 femelles ont perdu leurs implants soit 11,11 p. 100. Les pertes qui intéressent 4 génisses et 1 vache s'expliquent par le caractère assez rétif des génisses. Dieng (2) a fait les mêmes observations.

En ce qui concerne les chaleurs de référence des donneuses et celles de synchronisation des receveuses, les taux obtenus sont comparables à ceux de Diop et Coll. (5) et Dieng (2).

Ces résultats démontrent ainsi de la bonne aptitude des femelles jerseyaises à être synchronisées par les implants de Crestar.

Les chaleurs de superovulation ne montrent aucune différence significative sur le plan intensité entre les hormones de superovulation et les taux obtenus. 93,33% sont tout à fait comparables à ceux de Ndiaye (10) et Ly (8) observés chez cette race.

Evaluation de la réponse ovarienne

Avec une moyenne de 7 corps jaunes par vache traitée, la jerseyaise se montre apte à subir un traitement de superovulation à l'instar des autres races exotiques (6,11). Par rapport aux races locales, cette moyenne est comparable à celle de Diop et Coll. (3) observée chez la femelle zébu Gobra. Elle est par contre supérieure à celle observée chez la Ndamia par Diop et Coll. (4) 5,06 et Awana (1) 5,4.

L'explication par rapport à ce dernier résultat peut être liée à un effet dose (32 mg FSH-P). Les groupes d'hormone comparés entre eux montrent une supériorité de la FSH sur la PMSG (15 VS 6), ce que beaucoup d'auteurs comme Monniaux et Coll. (9) et Elsdén et Coll. (6) ont confirmé.

Dans le groupe FSH, l'Ovaset s'est révélé supérieur à 5,6. Sans préjugé sur la dose de FSH, il faut reconnaître que la moyenne de l'Ovaset a été fortement rehaussée par une seule vache avec un ovaire présentant plus de 20 corps jaunes.

Collecte des embryons

Les résultats obtenus, à savoir une moyenne de collecte de 5,8 embryons par vache et une moyenne de 3,4 embryons transférables, confirment une bonne maîtrise de la physiologie de la reproduction de la jerseyaise depuis les travaux de Ly (8) et Dieng (2).

Ces données placées dans le contexte mondial sont conformes à ceux de Phillipou et Rowson (13) et Nibart et Coll. (11) qui sont de $5,65 \pm 4,95$ chez la vache laitière.

Par rapport aux races locales, ces résultats sont inférieurs à ceux de la femelle zébu Gobra (7,3) et par contre supérieur à ceux de la femelle Ndamia d'après les travaux de Fall (7) et Awana (1). La comparaison entre FSH-P et PMSG montre la supériorité du 1er groupe, surtout du point de vue qualité des embryons.

Influence du rang de lactation

Les vaches en 6ème lactation ont produit la majorité des embryons (56,88 p. 100); ceci rejoint les observations de Nibart (12) qui relate qu'une bonne donneuse doit être âgée d'au moins 9 ans chez les races laitières.

Par ailleurs, les faibles pourcentages observés chez les femelles en 3ème et 4ème lactations pourraient trouver leur explication dans la superovulation avec la PMSG.

Diagnostic de gestation

Le taux de gestation (85 p. 100) est relativement satisfaisant. Il est comparable à celui obtenu par Diop et Coll.(3) 83,33 p. 100 chez la femelle zébu Gobra et dépasse ceux observés par Wright (1985) 55 p. 100 et Wagner (14) 55 à 65 p. 100.

Conclusion

Les résultats au cours de cette présente expérience sont porteurs d'espoirs pour la Société Laitière La SOCA. Ils permettent d'aborder les prochaines étapes avec un certain optimisme. Les résultats obtenus avec 3 variétés d'hormones recommandent l'utilisation des hormones du groupe FSH.

Bibliographie

1. Awana A. (1994), Induction de la superovulation chez la femelle bovine Ndama pendant la saison des pluies au Sénégal. *Th. Méd. vét.* ; Dakar, n°11.
2. Dieng Ch. (1994), Maîtrise de la reproduction chez la Jersiaise. *Th. Méd. vét.* ; Dakar, n°31.
3. Diop P.E.H., Lamothe P., Allaire F., Bousquet D., Picard L., Deri M., Sawadogo G., Assane M., Sere A., Ouattara M. (1989), Le transfert d'embryons au Sénégal : résultats préliminaires. *Réseau Africain des Biosciences* ; Dakar : 371-375.
4. Diop P. E.H., Fall R., Mbaye M., Faye L. , Fall A., Faye A. (1994), Le transfert d'embryons en milieu villageois sénégalais. *Dakar Médical* 39 : 135-141.
5. Diop P.E.H, Faye L., Fall L R., Ly O.K., Mbaye M., Boye C. (1994), Maîtrise de la reproduction de la femelle bovine Ndama par le Norgestomet (CRESTARND). *Dakar Médical* 39 : 129-134.
6. Elsdon R.P., Nelson L.D., Seidel G.R.Jr. (1978), Superovulation of cows with follicle stimulating hormone and Pregnant mare's Serum gonadotrophin. *Theriogenology* 9 : 117-26.
7. Fall R. (1992), Contraintes du transfert d'embryons en milieu villageois. *Th. Méd. vét.* ; Dakar n° 41.
8. Ly O.K. (1992), Transfert d'embryons en milieu périurbain au Sénégal. *Th. Méd. vét.* ; Dakar n° 45.
9. Monniaux D., Cupin D., Saumande J. (1983), Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology* 19 : 55-82.
10. Ndiaye M. (1990), Progestéronémie et cycles sexuels chez les vaches Ndama et Gobra au Sénégal. *Th. Med. vét.* ; Dakar n°1.
11. Nibart N. (1981), Transplantation embryonnaire chez les bovins. *Elev. Inst.* ; 182 : 3-18.
12. Nibart N., Bouuyssou B., Schwart J.L. (1991), Le transfert embryonnaire et biotechnologies appliquées : bissection et sexage. *Rec. Méd. vét.* ; 167 : 261-290.
13. Philipppo M. and Rowson L.E.M. (1975), Prostaglandin and superovulation in the bovine. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 15 : 233-240.
14. Wagner H.G.R. (1987), Transfert d'embryons bovins. Etat actuel de la recherche. *Rev. Mond. Zoot.*, 64 : 2-11.
15. Wright J.R., Anderson R.W., Cupps P.G., Drost M. (1976), Succesful culture in vitro of bovine embryo to the blastocyste stage. *Biol. Reprod.*, 1/4.

Effet de différents traitements sur la réponse à la superovulation chez la race bovine «Oulmes Zaer»

L. ELAIDI*, F. ECTORS**, H. LAKHDISSI***

* Service santé animale, S.N.D.E. Rabat.

** Chaire d'obstétrique et trouble de la reproduction.
Fac.Med.Vét. Université de Liège. Belgique.

***Département de reproduction et Insémination artificielle.
IAV Hassan II, Rabat.

Résumé

Dans le cadre de l'amélioration génétique de la race bovine Oulmes-Zaer, un programme de transfert d'embryons a été mis en place pour la multiplication rapide du noyau de sélection préexistant. L'un des premiers objectifs a été de déterminer un traitement optimal adapté à la race. Ainsi, en dehors de toute considération génétique, 62 femelles réparties au hasard en quatre groupes, ont été soumises aux traitements de superovulation suivants:

- Groupe 1: PMSG (2500 UI).
- Groupe 2: PMSG (3000 UI).
- Groupe 3: FSHp (32 mg).
- Groupe 4: FSHp (40 mg).

Le traitement de superovulation a été initié entre J9 et J12 du cycle oestral. La lutéolyse a été induite par une injection de PgF2a. La récolte des embryons a été pratiquée à J7 après chaleurs. Les critères d'estimation de la réponse à la superovulation retenus étaient: le nombre de corps jaune, le nombre d'embryons récoltés, le nombre d'embryons utilisables et le nombre d'embryons dégénérés et non fécondés.

Le nombre moyen d'embryons récoltés a été respectivement de 4.5, 6.6, 4.8 et 6 pour les différents groupes de traitement. Le nombre d'embryons transférables a été de 1.8, 3, 2 et 3.2. ce qui correspond à des taux de viabilité respectifs de 40%, 45%, 42% et 53%.

L'analyse de la variance n'a pas montré de différence significative entre les différents groupes de traitement ($p > 0.05$).

Toutefois, en considérant le taux de viabilité des embryons, la FSHp à la dose de 40 mg semble être la mieux adaptée.

Introduction

L'un des problèmes majeurs de tout programme de transfert d'embryons est la variabilité de la réponse au traitement de superovulation (1,2). Celle-ci varie fortement d'un individu à un autre et chez le même animal d'un traitement de superovulation à un autre. Les facteurs intervenants dans cette grande variabilité sont multiples et variés. Ils sont liés à l'individu, au milieu, à l'alimentation et à l'extrait hormonal utilisé (3,4,5,6).

Des réponses faibles associées à de fortes variations individuelles ont été rapportées après utilisation de la PMSG comparée à la FSHp (3,4,5). Néanmoins, l'unanimité est loin d'être faite puisque d'autres auteurs n'ont pas trouvé de différences significatives entre les deux gonadotropines (6). L'objectif de ce travail est de tester la réponse de la race bovine Oulmes-Zaer au traitement de superovulation à base de PMSG et FSHp.

Matériel et méthodes

Le travail a porté sur 62 vaches de race Oulmes-Zaer (race rustique adaptée aux conditions locales) âgées de 3 à 5 ans. Les femelles avaient un cycle oestral tout à fait régulier et n'ont montré aucune affection du tractus génital. Les animaux ont été répartis au hasard en 4 groupes de traitement selon le protocole résumé dans le tableau 1.

Le traitement de superovulation a été initié entre le 9^{ème} et le 12^{ème} jour du cycle oestral. La lutéolyse a été induite par l'injection de 750 mcg d'un analogue de prostaglandines: CLOPROSTENOL (Estrumate ND). Deux inséminations ont été réalisées sur chaleurs observées 48h après l'injection de prostaglandines.

La collecte a été réalisée à J7, le PBS étant utilisé comme milieu de récolte. Le nombre de corps jaunes et de follicules présents sur les ovaires ont été estimés par palpation transrectale. Les embryons récoltés ont été classés selon les critères morphologiques classiques (3). L'analyse de la variance à un critère de variation (ANOVA1) a été utilisée pour mettre en évidence les différences entre les différents traitements.

Tableau 1. Protocole des traitements de superovulation.

Jour du cycle	PMSG (UI)		FSHp (mg UA)	
	G1(2500) n = 18	G2(3000) n = 16	G3(32) n = 13	G4(40) n = 15
J0 = Chaleurs				
J9 Matin	2500	3000	6 mg	8 mg
J9 Soir			6 mg	8 mg
J10 Matin	5 mg	6 mg		
J10 Soir			5 mg	6 mg
J11 Matin	PGF2a	PGF2a	3 mg+PGF2a	4 mg+PGF2a
J11 Soir			3 mg	4 mg
J12 Matin			2 mg	2 mg
J12 Soir			2 mg	2 mg
J13(J0)Matin	IA	IA	IA	IA
J13(J0)Soir	IA	IA	IA	IA
(J7)	Récolte des embryons			

PMSG (Folligon ND)

FSHp(LH/FSH=40%) (7)

PGF (Estrumate ND)

Résultats

Au total, 62 vaches ont été soumises au traitement de superovulation et 40 ont été récoltées, soit un taux de récolte global de 64.5%. Ce taux a varié de 54% à 80% suivant les groupes de traitements. Le meilleur taux de récolte a été enregistré chez le groupe de vaches superovulées à l'aide d'une dose totale de 40mg(UA) de FSHp (tableau 2). Le faible taux de récolte dans les trois premiers groupes de traitement étant dû à l'absence de la réponse ovarienne (nombre de corps jaunes inférieur à 3) dans 59% des cas) et à une réponse exagérée (larges ovaires avec des follicules non ovulés) dans 27%. Ce dernier cas a été observé uniquement chez les vaches traitées à la PMSG.

Tableau 2. Effet des différents traitements de superovulation sur le taux de récolte.

Traitements Dose	PMSG(UI)		FSHp mg UA	
	2500	3000	32	40
Nb. de vaches traitées	18	16	13	15
Nb. de vaches Récoltées	10	11	7	12
Taux de récolte (%)	55	69	54	80

L'effet des différents traitements sur la réponse à la superovulation est consigné dans le tableau 3. Le nombre de corps jaunes présents au moment de la récolte a varié de 7.2 à 10.4. Globalement, les traitements à base de 3000 UI de PMSG et de 40 mg UA d'FSH ont tendance à donner les meilleures réponses (10.4 et 9.5 vs 8 et 7.2) bien qu'aucune différence significative n'a été décelée entre les différents traitements.

Le nombre moyen d'embryons récoltés a varié selon les traitements. La moyenne la plus faible (4.5) a été notée chez les animaux traités à l'aide de 2500 UI de PMSG, alors que la moyenne la plus élevée (6.6) a été observée chez les animaux ayant reçu 3000 UI de PMSG. Il a été associé dans tout les cas à un écart-type élevé (Coefficient de variation > 48%). Celui-ci était plus important pour la PMSG.

Le nombre moyen d'embryons viables est compris entre 1.8 et 3.2, ce qui correspond à des taux de viabilité respectifs de 40 et 53%.

Bien que l'analyse de la variance n'a pas montré de différences significatives entre les différents groupes, le traitement FSHp (40mg) a donné les meilleurs résultats en terme de production et de viabilité des embryons.

Tableau 3. Effet des différents traitements de superovulation sur la réponse ovarienne (CJ) et sur le nombre et la qualité des embryons récoltés.

Traitements Dose	PMSG(UI)		FSHp mg UA	
	2500	3000	32	40
Nb.de récoltes	10	11	7	12
Nb moyen de CJ	8±245	10.4±3.8	7.2±2	9.5±2.6
Nb moyen d'E.T	4. 5±2.5	6.6±3.5	4.8±2.2	6±2
Nb moyen de B.E	.8±1.5	3±2.2	2±1.3	3.2±2
% de viabilité	40	45	42	53

CJ: Corps jaune.

ET: Embryons totaux.

BE: Bons embryons.

Par ailleurs, la détermination du nombre de follicules présents sur les ovaires le jour de la récolte, a montré qu'aucun follicule n'a été trouvé sur les ovaires après les traitements à la FSHp. En revanche, 3.3 follicules en moyenne étaient retrouvés après traitement à la PMSG.

Le pourcentage des embryons non fécondés a été de 30% chez les animaux traités à base de PMSG. Ce taux n'a atteint que 21% après traitement à 32 mg d'FSHp et 12% suite au traitement à 40mg d'FSHp (Tableau 4).

Tableau 4. Effet des différents traitements de superovulation sur le pourcentage des embryons non fécondés.

Traitements	PMSG(UI)		FSHp mg UA	
	2500	3000	32	40
Nb. moyen d'ENF	1.5±1.2	1.9±1.5	1±1	0.7±1.2
Pourcentage (%)	33	29	21	12

ENF : Embryons non fécondés.

Discussion

L'objectif de ce travail a été de déterminer un ou des traitements de superovulation adaptés à la race. L'étude a été réalisée pendant toute une année afin d'éviter l'effet saison signalé auparavant par de nombreux auteurs (5,6,8,9).

Les coefficients de variation élevés enregistrés dans cette étude soulignent l'importance de la variabilité individuelle qui est par ailleurs proportionnelle à l'amplitude de la réponse à la superovulation. Les valeurs trouvées sont voisines de celles rapportées par d'autres auteurs (10,11).

Le taux de récolte (vaches récoltées/vaches traitées) obtenu avec le traitement à base d'FSHp à la dose de 40mg UA est voisin de ceux obtenus dans d'autres essais (12). Les faibles taux enregistrés dans les autres groupes de traitements sont principalement dus aux réponses exagérées ou à l'absence de réponse ovarienne.

Concernant la production d'embryons, les résultats obtenus sont similaires à ceux rapportés dans d'autres travaux (3,4,13), ayant signalé qu'une meilleure superovulation est obtenue avec la FSHp comparée à la PMSG.

Le pourcentage des embryons non fécondés est important après traitement à la PMSG. Ce même résultat a été noté dans une autre étude (14) qui a rapporté un taux de 30% d'embryons non fécondés sur le lot traité à la PMSG.

La persistance des follicules sur les ovaires dans les groupes superovulés à l'aide de la PMSG serait liée à une croissance folliculaire due à la longue durée de vie de l'hormone (13,15,16). Cette croissance perturberait l'équilibre endocrinien en assurant le maintien d'un certain taux d'oestrogènes.

Par ailleurs, le pourcentage de fécondation ainsi que la qualité des embryons ont été affectés. Cet effet néfaste de la PMSG pourrait être réduit par l'utilisation d'anti-PMSG (17).

Conclusion

L'incertitude de prévision et la forte variabilité de la réponse ovarienne aux traitements de superovulation rendent difficile l'affirmation de la supériorité manifeste d'un tel ou tel traitement. Cependant, la prise en considération du nombre moyen d'embryons récoltés et du taux de viabilité, montre que la FSHp à la dose de 40mg semble donner de bons résultats, chez la race Oulmes-Zaer dans les conditions Marocaines, et mérite par conséquent d'être expérimentée à large échelle.

Références bibliographiques

1. Sreenan J.M. (1983), Embryo transfer procedure and it's use as a research technique. *Vet.Rec.* 112 : 494-500.
2. Reinders J.M.C., Vinke J., Markvoort G.W.F. and Oldeniel J.H.M. (1994), The efficiency of the MOET program on donor station, 10ème réunion, AETE, Lyon 9-10 Sept. p : 240.
3. Elsden R.P., Nelson L.D. and Seidel G.E., Jr. (1978), Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 9 : 17-26.
4. Monniaux D., Chupin D. and Saumande J. (1983), Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19 : 55-81.
5. Svitojus S., Vaskas H. and Uchouckiene D. (1992), Superovulation of cows using FSHp. Foliotropin, Follitropin and Foligon, 8th scientific meeting, AETE, Lyon 11-12 September.
6. Crister J.k., Rowe R.F., Del campo M.R. and Ginther O.J. (1980), Embryotransfert in cattle: factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment oestrus cycle. *Theriogenology*, 13 : 397-406.
7. Bekers J.F., Closset J., Maghuin-Rogister G. and Hennen G. (1977), Bovine follitropin, isolation and characterisation of the native hormone and it's and subunits. *Biochimie*, 59 s : 825-831.
8. Almeida A.P., Fo G. and Livestock G. (1987), Superovulatory responses in dairy cows treated repeatedly with PMSG. *Theriogenology*, 27 : 205.
9. Massey G.M. and Oden A.J. (1984), No seasonal effect embryo donor performance in the southwest region of USA. *Theriogenology*, 21 : 196-217.
10. Nibart M., Fache M., Pichavant P., Mehekour F., Humblot P. et Thibier M. (1988), Influence de l'injection d'un analogue de GnRH au cours de traitement de superovulation par FSHp chez les bovins. 4ème congrès scientifique de l'AETE. Lyon, 127.
11. Staigmiller R.B., Bellows R.A., Anderson G.B., Seidel Jr., G.E., Foote W.D., Menino Jr., A.R. and Wright Jr. R.W. (1992), Superovulation of cattle with equine Pituitary extract and Porcine FSH. *Theriogenology*, 37 : 1091-1099.
12. Données statistiques nationales d'activités de transfert d'embryons en Europe. (1994), 10ème Réunion A.E.T.E. Lyon 9 et 10 Septembre pp 37-79.
13. Almeida A.P. and Livestock G. (1987), Superovulation in cattle: a combined treatment using synchromate B with either PMSG or FSH. *Theriogenology*, 27 : 203.
14. Greve T., Bak A. and Schmidt M. (1988), Superovulatory of dairy cattle effet of PMSG-antiserum treatment. *Theriogenology*, 29 : 252.
15. Saumande J., Heyman Y., Renard J.P. and Chupin, D. (1980), New attempt for dereasing the variability of the ovarian responses to PMSG in cattle. II. Comparising of differents schemes of traetment. PROC. IX Intl. Cong. An.Reprod. and A.I., Madrid, 556-558.
16. Dieleman S.J. Bevers M.M. (1987), Developpment of preovulatory follicles in the cow from luteolysis until ovulation. In summer mastitis-follicular growth and ovulation rate in farm animals. Rochle J.F., CALLAGHAN, IA, Ed; 31-34.
17. Dhont D., Bouters R., Spincemaille J., Coryn M. (1978), and Vandeplassche M. The control of superovulation in bovine with a PMSG-antiserum. *Theriogenology*, 9 : 529-534.

Transplantation embryonnaire chez la race bovine «Oulmes-Zaer» : premiers résultats.

L. ELAIDI *, F. ECTORS **, H. LAKHDISSI ***

* Service Santé Animale, S.N.D.E. Rabat.

** Chaire d'Obstétrique et Trouble de la Reproduction.
Faculté de Médecine Vétérinaire .Université de Liège. Belgique.

*** Département de Reproduction et Insémination Artificielle.
IAV Hassan II, Rabat.

Résumé

Durant la campagne agricole 93/94, 12 vaches «mères à taureaux» issues du noyau de sélection de la race Oulmes-Zaer, conduites en station, ont été soumises à des cycles répétés de superovulation à 10 semaines d'intervalles.

Le traitement de superovulation a consisté en l'injection de 40 mg d'hormone gonadotrope FSHp (rapport LH/FSH = 40%) à dose décroissante. Une injection de PgF₂₀ (750 mcg de Cloprostenol) est réalisée au 3ème jour du traitement qui a commencé entre les jours J₉ et J₁₂ du cycle oestral. Les vaches ont été inséminées sur chaleurs observées deux fois à 12h d'intervalle et la récolte des embryons a été réalisée à J₇.

Sur 38 superovulations, 25 collectes ont été réalisées, soit un taux de récolte de 66%. Le nombre moyen d'embryons récoltés a été de 4.2 par vache traitée et de 6.4 par vache collectée. Le nombre moyen d'embryons utilisables a été de 3.2 par vache collectée, soit un taux de viabilité de 49%.

Au total, 20 embryons ont été transférés en frais sur des génisses receveuses. Le taux de gestation (en terme de naissance) a été de 40%. Le sexe ratio a été de 75% en femelles et 25% en mâles. Le taux d'avortement a été de 10%.

Introduction

Le cheptel bovin à l'échelle nationale est actuellement estimé à trois millions de têtes. 72% de cet effectif est représenté par les races locales à productivité faible. Parmi celles-ci, la race Oulmes-Zaer reste actuellement la seule entité génétique à l'état pur.

De par son caractère mixte et son adaptation aux conditions locales difficiles, elle présente des qualités bouchères appréciables. Ces éléments conduisent à accorder une attention particulière à cette race à travers sa conservation et l'amélioration de ses productivités.

Le processus classique de l'amélioration génétique mené jusqu'alors n'a pas abouti à la totalité des objectifs fixés ; d'où la nécessité de l'apport de nouvelles techniques visant à accélérer le progrès génétique. La transplantation embryonnaire s'inscrit parfaitement dans ce cadre.

Matériel et méthodes

Douze vaches mères à taureaux, issues du noyau de sélection de la race Oulmes-Zaer, conduites esen station, ont été soumises à des cycles de superovulation à dix semaines d'intervalle.

Le traitement de superovulation a été initié entre le 9ème et le 12ème jour du cycle oestral. Il a consisté en l'injection d'une dose totale de 40 mg unité Armour de (LH/FSH $\approx$ 40%) (1) à raison de 2 injections matin et soir à 12 h d'intervalle pendant 4 jours (8-8, 6-6, 4-4, 2-2). Au troisième jour du traitement, une injection de prostaglandine (750 mcg de Cloprostenol (EstrumatND) a été réalisée. La récolte a été effectuée au 7ème jour après les chaleurs de superovulation à l'aide d'une sonde à trois voies.

Les embryons récoltés ont été ensuite examinés et classés morphologiquement (2). Les embryons utilisables retenus (Classes I et II) ont été lavés dans du PBS additionné de 10% FCS (Foetal Calf Serum) puis conditionnés en paillettes de 250 μ l.

Les receveuses utilisées sont des génisses de race Oulmes-Zaer âgées de 18 à 24 mois, systématiquement synchronisées avec deux injections de prostaglandine (Estrumat ND) à 11 jours d'intervalle. Avant le transfert, les receveuses ont fait l'objet d'une palpation transrectale pour vérifier la présence de corps jaunes. Le transfert a été réalisé à J7 après les chaleurs.

Résultats et discussion

Sur les 38 superovulations, 25 femelles ont été récoltées, soit un taux de récolte de 66% (tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques de la réponse à la superovulation.

Nb vaches traitées	Nb vaches récoltées	Embryons récoltés			
		Total	BE	Deg	NF
38	25 (66%)	160	78	75	17

BE : Bons embryons.

Deg : Dégénérés.

NF : Embryons non fécondés.

*Transplantation embryonnaire chez la race
bovine «Oulmes-Zaer» : premiers résultats.*

Le nombre total de corps jaunes présents au moment de la récolte a été en moyenne de 6.9 ± 3.5 et 10.5 ± 3.2 respectivement pour les vaches traitées et pour les vaches collectées. Le nombre moyen d'embryons récoltés est de 4.2 ± 2.5 par vache traitée et de 6.4 ± 2.9 par vache récoltée. Le nombre moyen d'embryons transférables a été de 3.12 ± 2.1 , ce qui correspond à un taux de viabilité de 48.7%. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés chez les races autochtones espagnoles (3,4). Les superovulations répétées ont tendance à réduire la réponse à la superovulation (3). En effet, le taux de récolte a varié de 33.3% à 83.3% selon le rang de superovulation (tableau 2).

Tableau 2. Taux de réponses successives au traitement de superovulation.

Rang de superovulation	Nombre de vaches		Taux (%)
	Traitées	Récoltées	
1	12	10	83.3
2	12	8	66.7
3	6	2	33.3
4	8	5	62.5
Total	30	25	66

Par ailleurs, la répartition des donneuses selon le nombre d'embryons récoltés (tableau 3) reflète la variabilité de la réponse confirmant ainsi les résultats trouvés dans d'autres études (5).

Tableau 3. Répartition des vaches selon le nombre d'embryons récoltés

Nb d'embryons	Nb de vaches	Fréquence relative
0	5	20%
1-3	4	16%
4-6	6	24%
7-9	3	12%
> 10	7	28%

Min = 0

Max = 22

Moyenne = 6.4 ± 2.9

Le taux d'embryons dégénérés (40.6%) paraît élevé et serait lié surtout à l'état nutritionnel des donneuses.

Les résultats des transferts effectués en frais sont réunis dans le tableau 4. Le taux de réussite en terme de naissance est de 40%.

Il est satisfaisant dans un tel système d'élevage exploité d'une manière extensive où environ 70% des besoins alimentaires sont apportés par le pâturage.

Tableau 4. Taux de gestation après transfert en frais.

Nb de Transferts	DCG à 60 j	DCG à 90 j	Naissances
20	12 (60%)	8 (40%)	8 (40%)

Une bonne préparation des donneuses et des receveuses sur le plan nutritionnel et leur maintien en stabulation éviteraient certainement le stress et améliorerait la qualité des embryons et le taux de gestation après transfert. En effet, il a été montré qu'une complémentation minérale a amélioré d'une manière significative la production et la qualité des embryons chez la Limousine (6).

Conclusion

Les résultats de ce travail indiquent que le schéma classique de superovulation convient à la race Oulmes-Zaer et que la technique de transfert d'embryons pourrait être appliquée pour la conservation et la sélection de la race. Ceci par la constitution d'un stock d'embryons et par la multiplication rapide du noyau préexistant.

Références bibliographiques

1. Bekers J.F., Closset J., Maghuin-Rogister G. and Hennen G. (1977), Bovine folltropin, isolation and characterisation of the native hormone and its subunits. *Biochimie*, 59 : 825-831.
2. Elsdon R.P., Nelson L.D. and Seidel G.E. Jr. (1978), Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. *Theriogenology*, 9 : 17-26.
3. Fernandez M., Alvarez F., Vazquez C., Sanchez L. and Iglisias A. (1992), Conservation of endangered galician native cattle breeds by embryo transfer technology. 8ème réunion AETE, Lyon, 11-12 septembre.
4. Rueda L., Bartolome P. et de la Fuente J. (1992), Réponses à différents traitements de superovulation chez les bovins autochtones du sud-ouest espagnol. 8ème réunion AETE, Lyon, 11-12 septembre.
5. Reinders J.M.C., Vinke J., Markvoort G.W.F. and Oldeniel J.H.M. (1994), The efficiency of the MOET program on donor station, 10ème réunion, AETE, Lyon 9-10 sept. p. 240.
6. Atherthon D. (1994), The effect of mineral nutrition on bovin fertility with particular reference to embryo transfer. 10ème réunion AETE, Lyon, 9-10 septembre.

Définition d'un moment optimum pour l'Insémination Artificielle chez les femelles bovines Baoulé, Zébu et N'dama en zone subhumide.

OUEDRAOGO*, M. MATTONI* et M. ZECCHINI**.

* C.I.R.D.E.S, Unité d'Amélioration des Pratiques d'Elevage et du Matériel Animal.
01 B.P. 454 Bobo-Dioulasso 01 Burkina Faso.

** Université de Milan, Faculté de Médecine Vétérinaire, Institut de Zootechnie.
Via Celoria 10, Italie.

Résumé

Deux méthodes de synchronisation des cycles sexuels ont été utilisées sur des femelles à activité sexuelle cyclique. Quatorze vaches dont 4 Zébu, 5 Baoulé et 5 N'dama, ont été traitées avec des implants sous-cutanés de progestagènes (norgestomet). Pour les traitements à base d'agents lutéolytiques (cloprosténol), 133 femelles dont 50 Zébu et 83 Baoulé ont été utilisées. Les IA ont été réalisées à 12 et 24 heures de la venue en chaleurs suite au norgestomet. Après le cloprosténol, chaque génotype a été réparti en deux lots; le premier est inséminé une seule fois à 13 heures de la venue en chaleurs et le second à 18 heures.

Dans les différents génotypes, les taux de venue en chaleurs ont été satisfaisants (64 à 100 %) et comparables à l'intérieur du même groupe de synchronisation, sauf chez les N'dama (20 %) traités avec la norgestomet. Les délais de venue en chaleurs ont été différents entre Zébu (54 h et 51 h 40 respectivement après cloprosténol et norgestomet) et Baoulé (66 h 12 et 62 h 28 respectivement après cloprosténol et norgestomet). Avec la norgestomet, les taux de gestation ont été de 25 % chez les Zébu, 75 % chez les Baoulé et 100 % chez les N'dama. Suite au cloprosténol, chez les Zébu, avec une seule IA à 13 heures de la venue en chaleurs (lot 1) et à 18 heures (lot 2), des taux respectifs de 56 % et 57 % ont été enregistrés ($P > 0,05$). Chez les Baoulé par contre des taux de 33 % et 64 % ($P < 0,05$) ont été obtenus. Dans l'ensemble, ces résultats préliminaires indiquent que même si les délais d'ovulation sont les mêmes dans les génotypes étudiés (28 heures en moyenne après la venue en chaleurs), le succès de l'IA. reste en partie lié au choix d'un moment optimum. Ce choix peut être basé sur des critères tels que la venue en chaleur et le génotype. La confirmation de ces résultats pourrait contribuer à l'amélioration des performances reproductrices des génotypes locaux, notamment dans le cadre de la production laitière en milieu périurbain et dans la zone subhumide en particulier.

Introduction

La dégradation de l'environnement qui menace toute politique de développement durable en milieu tropical, oblige à la sédentarisation et à l'intensification conjointe de l'agriculture et de l'élevage en zone subhumide en particulier (Touré, 1992). A cette situation s'ajoute la difficulté ancienne de couverture des besoins en viande et lait des zones urbaines et périurbaines. Cette difficulté qui a été occasionnée par l'explosion démographique est aggravée de nos jours par le coût prohibitif de l'importation de ces produits. Dans le contexte des zones urbaines et périurbaines, un élevage de type sédentaire est mis en place. Face au besoin d'intensification des productions, du moins dans ce type d'élevage, des stratégies d'amélioration de la conduite du troupeau doivent être développées. Pour ce qui est de la production laitière sous les tropiques, la faible productivité du cheptel local s'explique entre autres par l'influence du climat, de l'alimentation et par le matériel animal lui-même (Vieira De Sa, 1992). Parmi ces facteurs, l'amélioration du matériel animal par la maîtrise de la reproduction a conduit à des résultats intéressants en milieu tempéré. La présente étude, qui porte sur la définition d'un moment optimum pour l'insémination artificielle (I.A.), a pour objectif de contribuer à l'amélioration des performances reproductrices des femelles bovines Baoulé, Zébu et N'dama.

Matériel et méthodes

Les animaux

Trois génotypes de bovins généralement rencontrés dans le milieu sont utilisés pour cette étude. Il s'agit de femelles Baoulé, N'dama et Zébu, hébergées à la station expérimentale du C.I.R.D.E.S, à Banankélédaya dans le sud ouest du Burkina Faso. Tous les animaux de la station sont vaccinés régulièrement contre la peste bovine, la péri pneumonie contagieuse des bovidés, la pasteurellose et le charbon symptomatique et bactérien. Ils sont conduits en saison de pluies sur pâturage amélioré. En saison sèche, ils sont en stabulation et reçoivent du foin, plus un complément à base sous produits agro-industriel. L'abreuvement est *ad libitum* en toute saison.

Deux groupes ont été constitués en fonction du type de traitement hormonal. Dans un premier temps, 14 femelles dont 4 Zébu, 5 Baoulé et 5 N'dama ont été traitées avec des implants sous cutanés de progestagènes. Le second groupe qui a été traité avec des agents lutéolytiques, était composé de 133 femelles dont 50 Zébu et 83 Baoulé.

Traitements hormonaux et schémas d'I.A.

Dans un premier temps, la synchronisation des chaleurs a été obtenue grâce à des implants sous cutanés de progestagènes (norgestomet). La durée du traitement a été de 9 jours. Au septième jour, un agent lutéolytique (cloprosténol) est administré par voie intramusculaire. Cette partie de l'étude avait pour but de déterminer d'une part les délais de venue en chaleurs, d'ovulation ainsi que les profils hormonaux (hormone lutéotrope LH et progestérone). D'autre part, elle devait permettre la vérification de la règle d'I.A. qui veut que la femelle bovine soit inséminée à 12 heures ou 12 et 24 heures après la venue en chaleurs.

Dans la deuxième partie de l'étude, l'utilisation d'agent lutéolytiques (cloprosténol) en une seule injection par voie intramusculaire a été préférée. Ceci tient compte du coût du

traitement et de l'effectif. Ainsi, chaque femelle a reçu 500 micro grammes de cloprosténol. Tout comme lors du traitement avec la norgestomet, les femelles avaient un corps jaune (CJ) mis en évidence par palpation transrectale le jour du traitement. Suite à la synchronisation avec le cloprosténol, les femelles sont inséminées sur chaleurs observées. Dans chaque génotype, deux lots ont été constitués. Le premier est inséminé une seule fois à 13 heures de la venue en chaleurs, le second à 18 heures.

Détection des chaleurs

La méthode utilisée est celle de l'observation continue. Le critère de venue en chaleurs est l'acceptation du chevauchement. La date et l'heure de la première manifestation du comportement d'oestrus sont notés.

Diagnostic de gestation

Un diagnostic précoce est effectué à 23 jours après l'I.A.. A cet effet, le plasma sanguin est récolté et le dosage de la progestérone est réalisé par la méthode ELISA.

Résultats

Traitement avec la norgestomet

Le tableau n° 1 présente les performances enregistrés au niveau de chaque paramètre de reproduction. Il ressort de ces résultats que l'intervalle entre la venue en chaleurs et l'ovulation est la même (28 heures en moyenne) dans les 3 génotypes. Par conséquence, l'I.A. peut être pratiquée selon la règle de 12 heures avant l'ovulation (Hafez, 1987 a), que quel soit le génotype. Cependant, en pratiquant notre première I.A à 12 heures après la venue en chaleurs, c'est à dire à 72 heures de la fin du traitement (cf. fig. n° 1), les taux de gestation ont été de 25 %, 75 % et 100 % respectivement chez les Zébu, Baoulé et N'dama. Ces taux dénotent les différences de comportement entre génotypes, notamment entre taurins (Baoulé et N'dama) et Zébu. Ce résultat est du reste conforme (entre autres) à la différence de délai de réponse entre Zébu (51 h 40) et taurins (62 h 28 chez les Baoulé et 67 h chez les N'dama).

Tableau 1. Réponse, délai, ovulation et taux de gestation après traitement avec la norgestomet.

Paramètres	Zébu (n=4)	Baoulé (n=5)	N'dama (n=5)
Taux de réponse	100%	80%	20%
Délai de réponse (a)	51 h 40	62 h 28	67 h 10
Délai d'ovulation (a)	80 h 17	89 h 05	95 h 43
Chal. - ovulation (a)	28 h 37	26 h 37	28 h 33
Taux de gestation	25%	75%	100%

(a) : valeurs médianes.

Figure 1. Le moment optimum pour l'IA ?

F Le schéma préconisé :



F Le schéma suggéré :



Traitement avec le cloprosténol

Le tableau n° 2 présente les taux et délais de réponse enregistrés suite au cloprosténol. Des taux de réponse de 64 % et 73 % ont été obtenus respectivement chez les Zébu et Baoulé. Les délais de réponse révèlent une fois de plus une différence ($P < 0,05$) entre Zébu (54 h) et taurins (66 h 12 chez les Baoulé).

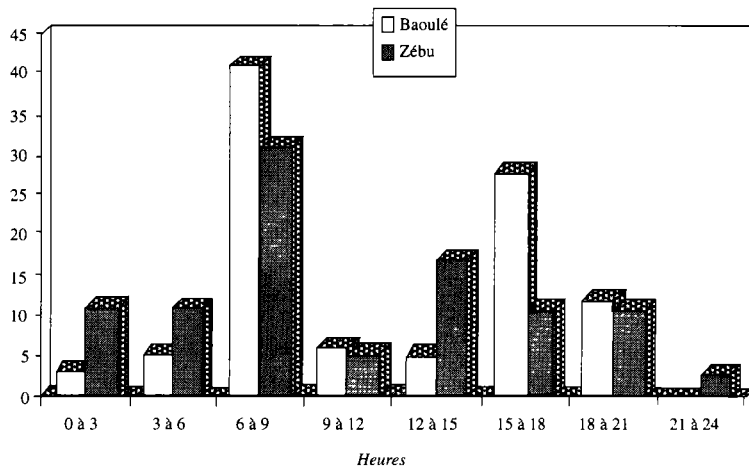
Tableau 2. Taux et délai de réponse après traitement au cloprosténol.

	Zébu (n=50)	Baoulé (n=83)	Sig.
Taux de réponse	(64%)	(73%)	N.S.
Délai de réponse (a)	54 h	66 h 12	($P < 0,05$)

(a) : valeurs médianes.

La répartition nyctémérale des venues en chaleurs (cf. fig. n° 2), fait ressortir deux périodes favorables à la manifestation du comportement d'oestrus. Il s'agit de 6 à 9 h et 15 à 18 h. Chez les Zébu, les manifestations dans la soirée sont moins groupées.

Figure 2. Répartition nyctémérale des venues en chaleurs après traitement au cloprosténol.



Pour ce qui est des taux de gestation, chez les Zébu, il n'y a pas eu de différence ($P > 0,05$) entre le lot inséminé à plus 13 heures (56 %) et lot à plus 18 heures (57 %). Par contre chez les Baoulé, une différence très nette ($P < 0,05$) est observée entre le lot à plus 13 heures (33 %) et le lot à plus 18 heures (64 %).

Tableau 3. Taux de gestation après IA sur chaleurs synchronisées avec le cloprosténol.

	Taux de gestation		Sig.
	IA à 13h	IA à 18h	
Zébu (n=32)	10/18 (56%)	8/14 (57%)	N.S.
Baoulé (n=61)	12/36 (33%)	16/25 (64%)	($P < 0,05$)

Discussion

Chez les taurins de race Baoulé et N'dama, des taux de réponse de 68 à 100 % avec des délais de réponse de 55 à 85 heures ont été décrits suite à des synchronisations avec des agents lutéolytiques (Sauveroche, 1993). Dans le même cadre, avec des progestagènes, des taux de réponse de 50 à 100 % avec des délais de 41 à 52 heures ont été rapportés.

Chez les femelles Zébu Gobra, Kamara (1985) a obtenu des taux de réponse de 100 % avec la moitié des femelles entrant en oestrus dans les 48 à 60 heures. Chez les Zébu Boran, des taux de synchronisation de 61 et 72 % avec des délais de réponse de $32 \text{ h} \pm 11$ ont été décrits par Tegegne (1989).

Bien que des variations individuelles aient été observées dans chaque génotype dans les travaux antérieurs et dans la présente étude, une réponse plus précoce est observée chez les Zébu.

Une influence du moment de l'I.A. sur les taux de gestation a été rapportée par Mukasa-Mugerwa (1989 a); chez des femelles Zébu Boran, avec des I.A. à 6, 12 et 18 heures sur chaleurs synchronisées, les taux respectifs de 56, 33 et 33 % ont été obtenus. Avec une I.A. à plus 12 heures sur chaleurs naturelles, le même auteur obtient 60 % de gestation. Selon ces résultats, une ovulation également précoce semble se produire chez les Zébu.

La précocité de la réponse des Zébu à la synchronisation peut s'expliquer par les mécanismes endocrinien et neurologique qui concourent à l'expression de l'oestrus. Ces mécanismes peuvent être eux-mêmes sous le déterminisme du génotype et de l'environnement (Hafez, 1987 b). Mukasa-Mugerwa (1989 b) rapporte que le pic d'oestrogène total dans le sérum intervient à 24, 8 et 16 heures avant l'oestrus respectivement chez les femelles Zébu Brahman, Herefords et Brahman x Hereford. Le même auteur mentionne que compte tenu de ce phénomène, les Brahman ont tendance à ovuler précocement par rapport aux taurins. Lors de notre étude, des délais d'ovulation comparables entre génotypes ont été enregistrés. Néanmoins, les nombres limités de femelles, ainsi que le manque de données sur la cinétique de l'oestrogène total sérique, font que des conclusions définitives ne peuvent être tirées.

Ces résultats préliminaires révèlent cependant la nécessité du choix d'un moment optimum pour l'I.A en fonction du génotype considéré.

Références

1. Hafez E.S.E. (1987 a), Artificial Insemination in «Reproduction in farm animals» Lea and Febiger Ed., Philadelphia 489-494.
2. Hafez E.S.E. (1987 b), Reproductive behavior in «Reproduction in farm animals» Lea and Febiger Ed., Philadelphia 271-278.
3. Kamara B. (1985), Etude comparative de trois méthodes de synchronisation des chaleurs chez la femelle Zébu Gobra, *Thèse de Doctorat de Med. Vét., EISMV Dakar Sénégal* N° 16 69-73.
4. Mukasa-Mugerwa E., Tegegne A. and Warnick A.C. (1989 a), Time of artificial insemination and pregnancy rates in Boran (*Bos indicus*) cattle, *Trop. Agric.* 66 (3) 230-232.
5. Mukasa-Mugerwa E. (1989 b), A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (Zébu) cattle, *ILCA Monograph* N° 6 10-13.
6. Sauveroche B. et Wagner H. (1993), Physiologie de la reproduction des bovins trypanotolérants, *FAO* N° 112 61-70.
7. Tegegne A., Warnick A.C., Mukasa-Mugerwa E. and Ketema H. (1989), Fertility of *Bos indicus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* crossbreed cattle after estrus synchronisation, *Theriogenology* 31 (2) 361-370.
8. Touré S.M. (1992), Préservation de l'environnement et intensification de l'élevage dans les zones humide et subhumide de l'Afrique occidentale. *Actes de la septième conférence de l'AIMVT*, Yamoussoukro, septembre 1992, CIRAD-EMVT Ed., Vol. II 707-715.
9. Vieira de Sa F. (1992), Dairy development in hot countries: Which kind of strategy? *Actes de la septième conférence de l'AIMVT*, Yamoussoukro, septembre 1992, CIRAD-EMVT Ed., Vol. I 335-342.

Nouvelles molécules pour la congélation du sperme. Modèle d'étude : le baudet du Poitou

A. TRIMECHE*, P. RENARD**, D. LE LANNOU***, P. BARRIÈRE**** et D. TAINTURIER*

* *Service de Pathologie de la Reproduction, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, CP 3013, 44087 Nantes cedex 03*

** *Groupe de Recherche Appliquée à la Fertilité, CHR Hôtel-Dieu, 35000 Rennes, France*

*** *CECOS de l'Ouest, Hôtel-Dieu, 35000 Rennes, France*

**** *Laboratoire de Biologie de la Reproduction, CHU Nantes, 44035 Nantes cedex 01*

Introduction

Le Baudet du Poitou est une population d'ânes en voie de disparition, en effet son effectif total actuel est de 180 individus mâles et femelles dans le monde (Philippe 1994, Trimeche et al. 1994). Une urgence s'est imposée, celle de congeler la semence pour conserver ce patrimoine génétique et constituer une banque de sperme fiable.

Cependant, la congélation-décongélation est un processus complexe qui provoque plusieurs types de lésions cellulaires, ce qui laisse penser que l'apport d'un seul cryoprotecteur «le glycérol» est insuffisant. Ainsi, nous nous sommes orientés à tester l'effet d'une nouvelle substance «la glutamine» qui a montré un effet cryoprotecteur lors de la congélation-décongélation d'autres types cellulaires (fibroblastes, hépatocytes ou des cellules végétales).

Objectif

L'objectif de cette étude est de tester de la glutamine dans le milieu de congélation INRA 82 modifié par 2 p. 100 de jaune d'œuf de caille et 4 p. 100 de glycérol (Trimeche et al. 1993) à la concentration de 0 mM, 80 mM, 160 mM et 240 mM au cours de refroidissement ou de congélation dans un premier temps. Dans un second temps, de comparer l'effet de la glutamine utilisée à la concentration retenue à celui du glycérol. Et dans un dernier temps, de réaliser une approche du mécanisme d'action de la glutamine.

Matériels et Méthodes

Le sperme de 4 baudets du Poitou (40 éjaculats pour l'expérience 1 et 48 éjaculats pour l'expérience 2) est filtré et dilué immédiatement après éjaculation à 34°C dans différents

types de dilueurs à base du milieu INRA 82 (Palmer 1984, Palmer 1991) modifié pour obtenir une concentration finale de 60 millions / ml.

Le dilueur INRA 82 à base de lait écrémé et d'une solution saline glucosée est modifié par 2% (v/v) de jaune d'œuf de caille et 4% (v/v) de glycérol (Trimeche et al. 1993) (témoin). La L-glutamine est testée comme cryoprotecteur à la concentration de 80 mM, 160 mM ou 240 mM dans le milieu témoin. Le sperme est refroidi à +4 °C selon une pente de 0,5 °C / min. Ensuite, la semence est conditionnée en paillettes de 0,5 ml qui sont congelées dans les vapeurs d'azote puis elles sont plongées dans l'azote liquide.

La décongélation des paillettes se fait par immersion dans un bain marie à 37°C pendant 30 secondes. Après équilibration à 37°C pendant 10 minutes, 5 µl de chaque échantillon est analysé à l'aide d'analyseur d'images ATS 40 (Le Lannou et al. 1992, Renard et al. 1994). 100 à 150 trajectoires par échantillon sont analysés pour déterminer la mobilité, VCL, VSL, LIN, ALH, VAP, BCF et la proportion des spermatozoïdes progressifs ondulants. Toutes ces caractéristiques sont mesurées dans chaque échantillon immédiatement après dilution, refroidissement à +4°C et après congélation-décongélation.

VCL : Vitesse curvilinéaire, VSL : Vitesse progressive, LIN : linéarité = $(VSL/VCL) \times 100$, ALH : Amplitude latérale du battement de la tête, VAP : vitesse moyenne. BCF = fréquence de battement.

Pour comprendre si la protection offerte par la glutamine au cours du processus de la congélation-décongélation des spermatozoïdes du boudet du Poitou s'exerce de façon extra ou intra cellulaire, nous avons utilisé la glutamine radioactive et étudié le degré de pénétration de cette molécule.

Analyse statistique

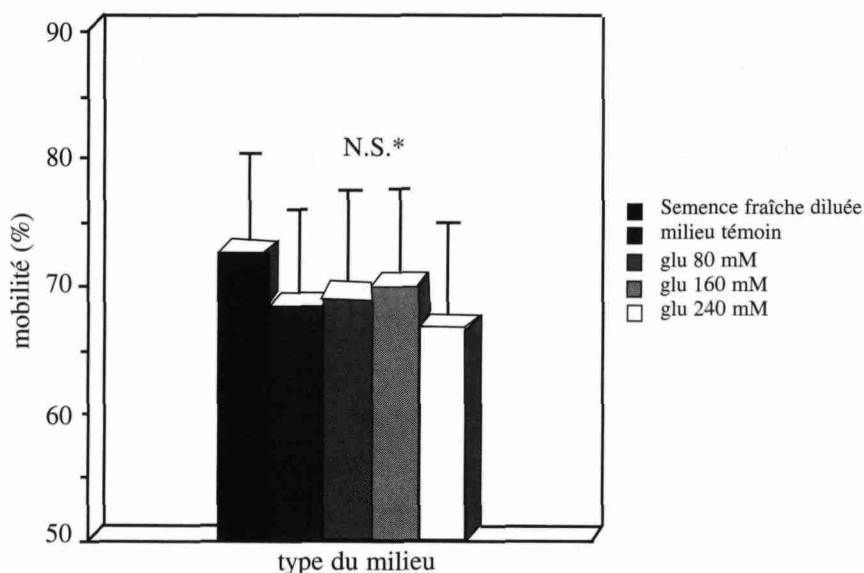
Les résultats sont exprimés comme des moyennes $\pm$ SEM. L'analyse statistique est réalisée à l'aide d'analyse des variances sur le logiciel statview IV (Abacus Concepts, Inc, Berkley, CA, USA). Les différences significatives sont estimées à l'aide du test de Dunnett. Les valeurs de $P < 0,05$ ou $< 0,01$ sont prises comme statistiquement significatives.

Résultats

Effet de la glutamine au cours du refroidissement du sperme

Comme le montre la figure 1 et le tableau 1, la mobilité, les caractéristiques de mouvement et les pourcentages des trajectoires progressifs ondulants ne diffèrent pas significativement entre le milieu témoin et celui supplémenté avec 80 mM, 120 mM ou 240 mM de glutamine ($p < 0,01$). Ceci suggère que la glutamine n'a pas d'influence au cours de 2 heures de refroidissement du sperme.

Fig 1. Effet de la glutamine au cours de 2 heures de refroidissement des spermatozoïdes du baudet du Poitou.



* N.S. différences non significatives de la mobilité par rapport au témoin n = 40 (10 éjaculats x 4 individus)

Tableau 1. Effet de la glutamine sur les caractéristiques de mouvement et le pourcentage des spermatozoïdes progressifs ondulants au cours de 2 heures de refroidissement.

	semence fraîche diluée	milieu témoin	glutamine 80 mm	glutamine 160 mm	glutamine 240 mm
VCL ($\mu\text{m/s}$)	63,3 $\pm$ 6,8 (49-79)	60,2 $\pm$ 7,7 (48-77)	61,3 $\pm$ 6,1* (49-78)	61,8 $\pm$ 6,3* (50-75)	59,9 $\pm$ 7,1* (47-77)
VSL ($\mu\text{m/s}$)	44,6 $\pm$ 4,8 (36-50)	40,5 $\pm$ 5,1 (30-46)	41,8 $\pm$ 3,9* (31-47)	41,2 $\pm$ 4,1* (34-47)	40,2 $\pm$ 4,9* (30-46)
LIN (%)	77,5 $\pm$ 7,0 (62-93)	(56-75)	67,6 $\pm$ 6,8* (60-81)	65,7 $\pm$ 7,1* (57-75)	65,1 $\pm$ 7,5* (54-83)
VAP ($\mu\text{m/s}$)	40,1 $\pm$ 3,3 (34-47)	37,9 $\pm$ 3,5 (31-45)	38,2 $\pm$ 3,2* (30-47)	38,0 $\pm$ 3,1* (32-50)	37,6 $\pm$ 3,7* (31-48)
ALH ($\mu\text{m/s}$)	3,9 $\pm$ 0,5 (2,6-4,3)	2,9 $\pm$ 0,6 (2,2-3,4)	3,1 $\pm$ 0,3* (2,4-3,7)	3,0 $\pm$ 0,4* (2,1-3,5)	2,8 $\pm$ 0,5* (1,9-3,5)
BCF (Hz)	14,8 $\pm$ 1,8 (11-17)	12,9 $\pm$ 1,5 (10-16)	13,4 $\pm$ 1,3* (10-16)	13,1 $\pm$ 1,4* (10-15)	12,8 $\pm$ 1,6* (10-15)
progressifs ondulants (%)	38,9 $\pm$ 5,2 (29-51)	36,9 $\pm$ 4,9 (30-45)	37,4 $\pm$ 4,8* (29-44)	37,1 $\pm$ 5,1* (29-41)	36,8 $\pm$ 5,1* (31-44)

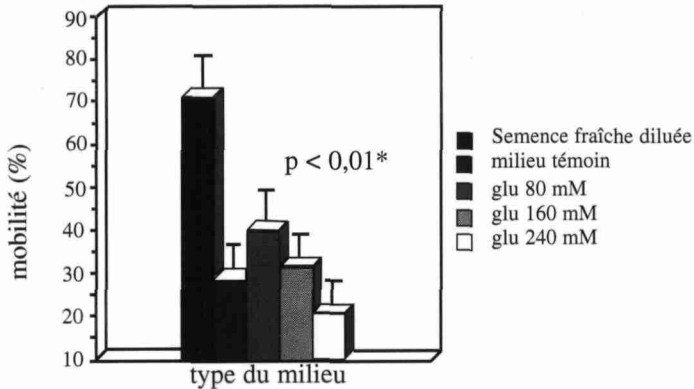
Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ SEM de 40 éjaculats (10 éjaculats x 4 individus)

* NS : les moyennes ne diffèrent pas significativement par rapport au témoin ($p > 0,05$)

Effet de la glutamine au cours de la congélation-décongélation du sperme

La mobilité, les caractéristiques de mouvement et le pourcentage des spermatozoïdes progressifs ondulants dans le milieu à 80 mM de glutamine ($40,2 \pm 8,2$) sont significativement plus élevés que le milieu témoin ($29,2 \pm 6,5$) ($p < 0,01$). Cependant, il n'y a pas de différences significatives de ces paramètres entre le milieu témoin et le milieu à 160 mM ou 240 mM de glutamine ($p < 0,01$) (figure 2 et tableau 2).

Figure 2. Effet de la glutamine sur la mobilité des spermatozoïdes du baidet du Poitou après décongélation.



* $p < 0,01$: différence significative de la mobilité par rapport au témoin $n = 40$ (10 éjaculats x 4 individus)

Tableau 2. Effet de la glutamine sur les caractéristiques de mouvement et le pourcentage des progressifs ondulants après congélation-décongélation.

	semence fraîche diluée	milieu témoin	glutamine 80 mM	glutamine 160 mM	glutamine 240 mM	Signification
VCL ($\mu\text{m/s}$)	60,6 $\pm$ 7,2 (47-77)	45 $\pm$ 8,5 (32-60)	48,6 $\pm$ 5,0a (39-60)	46,3 $\pm$ 5,2b (37-)	43,5 $\pm$ 5,4c (32-53)	a : 0,01 b,c : NS
VSL ($\mu\text{m/s}$)	42,0 $\pm$ 4,2 (34-49)	31,6 $\pm$ 6,0 (21-44)	36,0 $\pm$ 3,1a (30-42)	33,9 $\pm$ 3,8b (27-40)	30,9 $\pm$ 4,4c (21-38)	a,b : 0,01 c : NS
LIN (%)	74,0 $\pm$ 8,7 (56-93)	68,4 $\pm$ 7,7 (55-89)	72,0 $\pm$ 7,1a (58-90)	71,2 $\pm$ 6,8b (57-85)	68,9 $\pm$ 8,4c (50-87)	a : 0,05 b, c : NS
VAP ($\mu\text{m/s}$)	38,8 $\pm$ 3,1 (34-46)	32,0 $\pm$ 3,4 (26-40)	38,2 $\pm$ 6,3a (30-64)	32,2 $\pm$ 4,7b (26-50)	27,0 $\pm$ 2,6c (22-34)	a, c : 0,01 b : NS
ALH (μm)	3,2 $\pm$ 0,4 (2,6-4,3)	2,3 $\pm$ 0,5 (1,4-3,4)	2,7 $\pm$ 0,6a (1,4-4,2)	2,4 $\pm$ 0,3b (1,8-3,4)	2,0 $\pm$ 0,3c (1,5-2,8)	a, c : 0,01 b : NS
BCF (Hz)	13,9 $\pm$ 1,9 (10-17)	10,8 $\pm$ 1,3 (8-13)	12,6 $\pm$ 1,5a (9-16)	11,5 $\pm$ 1,2b (9-14)	10,2 $\pm$ 1,2c (8-13)	a : 0,01 b, c : NS
progressifs ondulants (%)	39,1 $\pm$ 5,1 (29-51)	30,9 $\pm$ 5,1 (20-39)	37,1 $\pm$ 3,3a (29-43)	31,0 $\pm$ 3,6b (25-38)	28,1 $\pm$ 4,1c (21-37)	a, c : 0,01 b : NS

Les valeurs sont des moyennes $\pm$ SEM des 40 éjaculats (10 éjaculats x 4 individus)

a : signification estimée entre le milieu témoin et le milieu glutamine 80 mM

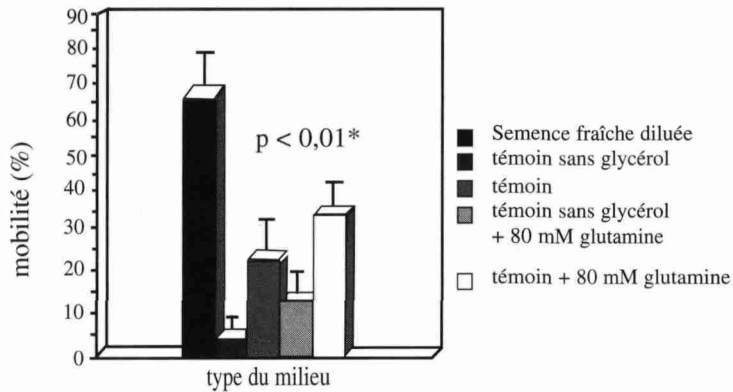
b : signification estimée entre le milieu témoin et le milieu glutamine 160 mM

c : signification estimée entre le milieu témoin et le milieu glutamine 240 mM

Effet comparé de la glutamine et du glycérol

Comme le montre la figure 3 et le tableau 3, la mobilité, les caractéristiques de mouvement et le pourcentage des spermatozoïdes progressifs ondulants dans le milieu contenant seulement de la glutamine, le milieu contenant seulement du glycérol ou le milieu contenant à la fois du glutamine et du glycérol sont significativement plus élevés que ceux dans le milieu ne contenant ni de la glutamine ni du glycérol. L'association de la glutamine et du glycérol améliore significativement la mobilité et les caractéristiques de mouvement des spermatozoïdes du baudet du Poitou après décongélation. Ces résultats suggèrent que la glutamine possède un mécanisme de protection différent de celui exercé par le glycérol.

Figure 3. Effet comparé de la glutamine à 80 mM et le glycérol à 4% (v/v) sur la mobilité des spermatozoïdes du baudet du Poitou après décongélation



* $p < 0,01$: différence significative de la mobilité par rapport au témoin sans glycérol
n = 48 (12 éjaculats x 4 individus)

Tableau 3. Effet comparé de la glutamine 80 mM et le glycérol à 4% (v/v) sur les caractéristiques des mouvements et le pourcentage des progressifs ondulants des spermatozoïdes du baudet du Poitou après congélation-décongélation.

	semence fraîche diluée	MT sans glutamine et sans glycérol	milieu témoin (MT)	MT sans glycérol-glutamine 80 mM	MT+ glutamine 80 mM	Signification
VCL ($\mu\text{m/s}$)	53,9 $\pm$ 7,6 (42-67)	42,5 $\pm$ 9,5 (29-62)	46,3 $\pm$ 6,1 (37-61)	40,6 $\pm$ 7,3 (31-56)	46,8 $\pm$ 8,0 (32-61)	a, c : 0,01 b : 0,05
VSL ($\mu\text{m/s}$)	41,6 $\pm$ 4,6 (33-58)	33,2 $\pm$ 6,4 (21-43)	36,0 $\pm$ 3,5 (30-43)	33,4 $\pm$ 3,9 (27-41)	36,4 $\pm$ 6,7 (28-52)	a, c : 0,01 b : NS
LIN (%)	77,1 $\pm$ 9,1 (60-94)	77,5 $\pm$ 9,6 (59-94)	76,5 $\pm$ 8,8 (58-96)	81,7 $\pm$ 9,3 (60-97)	76,4 $\pm$ 8,5 (59-96)	a, c : NS b : 0,01
VAP ($\mu\text{m/s}$)	48,6 $\pm$ 7,9 (34-65)	33,8 $\pm$ 8,4 (19-53)	38,0 $\pm$ 5,9 (27-52)	37,4 $\pm$ 5,4 (29-51)	41,0 $\pm$ 6,3 (30-60)	a, b, c : 0,01
ALH (μm)	3,1 $\pm$ 0,5 (2,3-4,3)	1,8 $\pm$ 0,4 (0,9-2,6)	2,2 $\pm$ 0,5 (1,1-3,1)	1,8 $\pm$ 0,4 (1-2,5)	2,4 $\pm$ 0,8 (1,2-4,1)	a, c : 0,01 b : NS
BCF (Hz)	16,5 $\pm$ 2,3 (13-21)	10,1 $\pm$ 1,5 (7-13)	12,4 $\pm$ 1,4 (10-16)	10,5 $\pm$ 1,6 (7-14)	13,5 $\pm$ 2,8 (8-19)	a, c : 0,01 b : NS
progressifs ondulants (%)	38,3 $\pm$ 5,3 (28-52)	22,7 $\pm$ 4,6 (14-35)	27,9 $\pm$ 3,9 (20-35)	27,6 $\pm$ 5,0 (19-39)	36,4 $\pm$ 3,8 (29-46)	a, b, c : 0,01

Les valeurs sont des moyennes $\pm$ SEM, n = 48 (12 éjaculats x 4 individus)

a, b, c : signification estimée par rapport au témoin, NS : moyennes non significatives

Mécanisme d'action de la glutamine

Les résultats de l'utilisation de la glutamine radioactive montre une pénétration non massive de cette molécule dans le membrane du spermatozoïde. Ceci suggère que le mécanisme d'action exercé par la glutamine est surtout extra-cellulaire. D'autres études sont indispensables pour mieux comprendre ce mécanisme.

Conclusion

Les résultats de 40 éjaculats provenant de 4 individus pour les 2 premiers essais (10 x 4) et de 48 éjaculats concernant les mêmes individus (12 x 4) montrent que :

- la glutamine utilisée à la concentration de 80 mM, 160 mM et 240 mM n'a pas d'effet sur les paramètres étudiés au cours de 2 heures de refroidissement.
- la glutamine utilisée à la concentration de 80 mM augmente le pourcentage de spermatozoïdes mobiles après décongélation de 11 p. 100 et améliore leurs paramètres de mouvements spermatiques.
- la glutamine possède un effet cryoprotecteur différent de celui exercé par le glycérol.
- l'utilisation de la glutamine radioactive montre que ce pouvoir cryoprotecteur est essentiellement extracellulaire.

Références bibliographiques

1. Le Lannou D., Le Pichon J.P., Quero J.C. and Delamarre D. (1992), Analyse des trajectoires des spermatozoïdes-autre aspect de l'hétérogénéité des populations spermatiques. *Contrac. Fertil. Sexual.*, 18, 530-531.
2. Palmer E. (1991), Analyse automatisée de la motilité du sperme d'étalon après décongélation. *Contracept. Fertil. Sex.*, 19, 10, 855-863.
3. Palmer E. (1984), L'insémination artificielle des juments : bilan de cinq années de recherches et d'utilisation pratique. In : le cheval, reproduction, sélection, alimentation, exploitation. Ed. INRA, Paris, 133-147.
4. M.A.(1994), Inventaire de la population de la race «Baudet du Poitou». Ed. Parc Naturel Régional du Marais Poitevin, la Ronde.
5. Renard P., Le Lannou D., Trimeche A., Griveau J.F. and Tainturier D. (1994), Mouvement spermatique et onde flagellaire chez plusieurs espèces de mammifères. 33ème réunion de la société française pour l'étude de la fertilité, Paris 29, 30 septembre et 1 octobre 1994.
6. Trimeche A, Philippe M.A., Martin F.X. et Tainturier D.(1994), Sauvegarde du Baudet du Poitou : Premiers pas vers la réussite. *La semaine Vétérinaire*, 758, 24 - 31 décembre 1994.
7. Trimeche A., Besse P., Berceagy S., Barrière P., Bruyas J.F., Fieni F. et Tainturier D. (1993), Etude de la mobilité et de la motilité des spermatozoïdes du Baudet du Poitou en vue d'améliorer leur congélation. 19ème journée d'étude, Cereopa, Paris, 3 mars 1993.

Achevé d'imprimer par la SOTÉPA

Dépôt légal : 3ème trimestre 1996

Composition et Réalisation

S E R V I C E D

12, Av. de la Liberté - El Menzah V - 2080 Ariana - Tunis Tunisie
Tél. 232.649 / 752.889 - Fax : 751.914

“Reproduction et Production laitière”, thème général des III^{èmes} Journées Scientifiques de Rabat, est la traduction de la volonté du réseau Biotechnologies Animales de l’AUPELF-UREF de privilégier les actions de recherche-développement. De part ses implications à la fois nutritionnelle, culturelle et économique, le lait apparaît comme une denrée hautement stratégique. Pour la majorité des pays en voie de développement, principalement les pays africains, la sécurité alimentaire est assurée grâce à une importation de 50% des besoins en produits laitiers, ce qui représente 700 000 000 \$ U.S. par an.

Les difficultés politiques et économiques font obligation aux différents pays de réduire le volume de leurs importations et ceci dans des délais assez brefs. La seule alternative est la mise en place assez rapidement d’une filière laitière locale mais surtout bien adaptée.

Les biotechnologies animales, dans leur ensemble, ont été ciblées comme élément d’avant-garde pour la réalisation de tels objectifs de développement.

Au total 33 communications ont été présentées au cours de 3 sessions :

- La première session a été consacrée à la problématique de la production laitière à travers les expériences africaines, des pays du Nord et du Maroc.
- La deuxième session fait le point sur les outils du diagnostic au service de la reproduction.
- Les nouvelles biotechnologies au service de la reproduction constituent la troisième session.

Ces actes contribuent au rayonnement de la science en français dans une discipline prioritaire de la Francophonie scientifique.

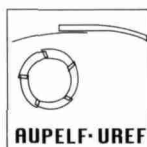
Professeur Papa El Hassane DIOP
Coordonnateur du réseau B.A.
Ecole Inter-Etats des Sciences
et Médecine Vétérinaires
DAKAR (Sénégal)

Dr. Abdellah MAZOUZ
Institut Agronomique et
Vétérinaire Hassan II
RABAT (Maroc)

120,000 FF

40,00 FF - Prix préférentiel : Afrique, Asie, Amérique du Sud, Haïti, Maghreb

5,000 D.T. - Prix préférentiel étudiants



S E R V I C E D