Institutional Repository - Research Portal
Dépôt Institutionnel - Portail de la Recherche
researchportal.unamur.be
University of Namur

THESIS / THÈSE

**MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES**

# Étude de l'immunisation active contre l'androsténédione chez la brebis texel

Duthoy, Marc

*Award date:*
1989

*Awarding institution:*
Universite de Namur

Link to publication

**General rights**
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

**Take down policy**
If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Download date: 03. Jul. 2025

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
Faculté des Sciencs
rue de Bruxelles 61,B-5000 NAMUR
Tél. 081-22.90.61 Télex 59222 facnam-b Téléfax 081-23.03.91

# Etude de l'immunisation active contre l'androstènedione chez la brebis Texel

**DUTHOY Marc**

**Résumé.**

L'utilisation d'un produit immunogène anti-androstènedione (Fecundin®) permet d'augmenter le taux d'ovulation chez les brebis.

Pour mieux cerner les effets d'une telle immunisation sur des brebis synchronisées par un traitement à base de progestagènes (éponges imbibées soit de FGA soit de MAP) et de PMSG pendant la période de lutte, nous avons inséminé artificiellement selon deux modes différants (IAu ou IAc) 46 brebis et agnelles préalablement immunisées et 45 femelles témoins.

L'immunisation contre l'androstènedione :

- a un effet nettement défavorable sur la fertilité à l'insémination;
- augmente le taux d'ovulation observé par laparoscopie (1.90 ± 0.72 contre 1.56 ± 0.51);
- mais n'a pas d'effet bénéfique sur la prolificité, vraissemblablement suite à des problèmes au moment de la nidation des embryons.

La synchronisation des ovulations par éponges imbibées de FGA entraîne des résultats nettement meilleurs que celle réalisée par dispositifs contenant du MAP.

L'insémination in utero est nettement plus efficace que l'insémination exocervicale.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Juin 1989

Laboratoire de Physiologie Animale

Promoteur : Prof. R. PAQUAY

# REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail, je tiens à présenter mes remerciements au professeur R. PAQUAY, mon promoteur qui m'a permis de travailler dans son laboratoire. Ses nombreux conseils judicieux lors de la rédaction me furent d'un grand secours.

Je voudrais également exprimer toute ma gratitude au Docteur J.L.BISTER, pour son aide, son efficacité et sa constante disponibilité au cours de cette année.

Que tous les membres du Département de physiologie animale et du centre de recherche ovine de Faulx-les-Tombes soient remerciés pour l'acceuil qu'ils m'ont reservé et leur sympathique assistance.

Je remercie Monsieur L. DUTHOY, mon frère, qui a apporté le plus grand soin à la dactylographie de ce travail.

Enfin, j'exprime toute ma reconnaissance à mes parents, ma soeur ainsi que mes amis et amies qui m'ont soutenu au cours de cette année.

# TABLE DES MATIERES

A. DESCRIPTION GENERALE DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS ... 1

B. LE CYCLE OESTRAL DE LA BREBIS ..... 1

1. Description globale ..... 1
2 Phase lutéale ..... 2
3. La phase folliculaire ..... 3

C. LA CROISSANCE FOLLICULAIRE (tableau 1) ..... 3

1. Données générales sur la gamétogenèse femelle ..... 3
2. La folliculogenèse ..... 4
3. La phase de la croissance terminale ..... 5
3.1. Différenciation fonctionnelle ..... 6
3.2. Etapes de la croissance folliculaire terminale ..... 6

D. LE RESULTAT DE LA CROISSANCE FOLLICULAIRE TERMINALE L'OVULATION ..... 9

1. L'ovulation (figure 8) ..... 9
2. Les variations naturelles de l'ovulation ..... 10
2.1. Variations entre races (figure 9) ..... 10
2.2. Variations dues au poids et à la nutrition des brebis ..... 11
2.3. Variations liées à l'âge ..... 11
2.4. Variations dans l'émission des hormones ... 12
3.1. Amélioration génétique ..... 17
3.2. Amélioration nutritive ..... 17
3.3. Amélioration par l'emploi de gonadotrophines exogènes ..... 18
3.4. Amélioration par le clomiphène ..... 19
3.5. Amélioration par l'immunisation contre les stéroïdes ..... 19

E. L'AMELIORATION DE LA PROLIFICITE ..... 19

1. Amélioration du taux de fécondation des ovules ... 20
1.1. Synchronisation des cycles et traitement superovulatoire (figure 10) ..... 20
1.2. Insémination artificielle ..... 21
2. Réduction de la mortalité embryonnaire ..... 22

F.L'IMMUNISATION CONTRE LES STEROIDES.....23

1. Historique ..... 23
2. Technique d'immunisation contre les stéroides .... 24
2.1. Préparation des conjugués stéroides-protéines ..... 24
2.2. Les différents types d'immunisation ..... 25
2.3. Procédure d'immunisation contre les stéroïdes ..... 28
3. Immunisation contre la progestérone ..... 28
4. Immunisation contre les oestrogènes ..... 29
5. Immunisation contre l'androstènedione ..... 30
5.1. Historique ..... 30

5.2. Le produit immunogène ..... 31
5.3. Les effets de l'immunisation active contre l'androstènedione. ..... 31
5.4. Les hypothèses de mécanismes d'action de l'immunisation contre l'androstènedione ..... 36

**********

A. OBJECTIFS POURSUIVIS ..... 41

B. ANIMAUX ET PLANS EXPERIMENTAUX ..... 43

C. TECHNIQUE ET TRAITEMENTS UTILISES ..... 45

1. Immunisation ..... 45
2. Synchronisation des cycles et superovulation ..... 45
3. Insémination artificielle ..... 46
3.1 La récolte de la semence ..... 47
3.2 L'insémination exocervicale ..... 47
3.3. L'insémination intra-utérine ..... 47
4. Détection de l'oestrus ..... 48
5. Endoscopie ..... 48
6. Echographie ..... 49
7. Prises de sang ..... 50
8. Mesure du titre d'anticorps ..... 50
8.1. Le principe ..... 50
8.2 La méthode ..... 51

D. RESULTATS ..... 52
PREMIERE EXPERIENCE ..... 52
1. Intensité de la réponse immunitaire ..... 52
1.1. Anticorps spécifiques contre l'androsténedione ..... 52
1.2. Anticorps non-spécifiques ..... 53
2. Evolution du poids vif ..... 54
3 le taux d'ovulation. ..... 55
4. Résultats obtenus aux agnelages ..... 56
4.1. Influence de l'immunisation ..... 56
4.2. Influence du progestagène utilisé pour la synchronisation des ovulations ..... 59
4.3. Influence du mode d'insémination artificielle ..... 60
5. Analyses complémentaires ..... 60
5.1. Influence du bélier ..... 60
5.2. La parité de l'éjaculat ..... 61
5.3. Le sex ratio ..... 61
5.5 La mortalité périnatale (annexe 3) ..... 62

E. DISCUSSION ..... 65
PREMIERE EXPERIENCE ..... 65
1. Intensité de la réponse immunitaire ..... 65
2 le taux d'ovulation. ..... 66
3. Résultats obtenus aux agnelages ..... 67
3.1 Influence de l'immunisation. ..... 67
3.2. Influence du progestagène utilisé pour la synchronisation des ovulations ..... 70
3.3 Mode d'insémination. ..... 71

DEUXIEME EXPERIENCE ..... 72

CONCLUSIONS ..... 73

# INTRODUCTION

Diverses techniques sont utilisées pour augmenter la productivité en élevage ovin. Il s'agit notamment de l'utilisation des agnelles dès la première année et du raccourcissement du délai entre les agnelages (trois agnelages en deux ans). Cette dernière technique n'est malheureusement pas efficace chez les races fortement saisonnées, comme l'est la Texel.

L'amélioration de la prolificité des troupeaux est une autre manière d'augmenter la productivité. Diverses techniques sont possibles : sélection au sein de la race, croisement avec des races prolifiques, préparation alimentaire adéquate (flushing) et traitements hormonaux. Ces derniers sont de différents types : injection de PMSG après traitement progestagène et immunisation contre les stéroides sexuels.

Une étude bibliographique, consacrée aux mécanismes impliqués dans la régulation et le déterminisme du taux d'ovulation chez la brebis et aux techniques d'amélioration de la prolificité, montre que l'immunisation contre l'androstènedione est certainement une technique prometteuse chez le mouton. Elle ferait augmenter la prolificité tout en évitant une trop grande incidence de portées multiples.

Nous avons dès lors donné pour but à notre travail d'étudier les effets de l'immunisation active contre l'androstènedione sur la fécondité des brebis Texel soumises à des traitements de synchronisation des cycles par éponges imprégnées de progestagènes suivis de l'injection d'une substance superovulatoire, la PMSG.

# PREMIERE PARTIE

# REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

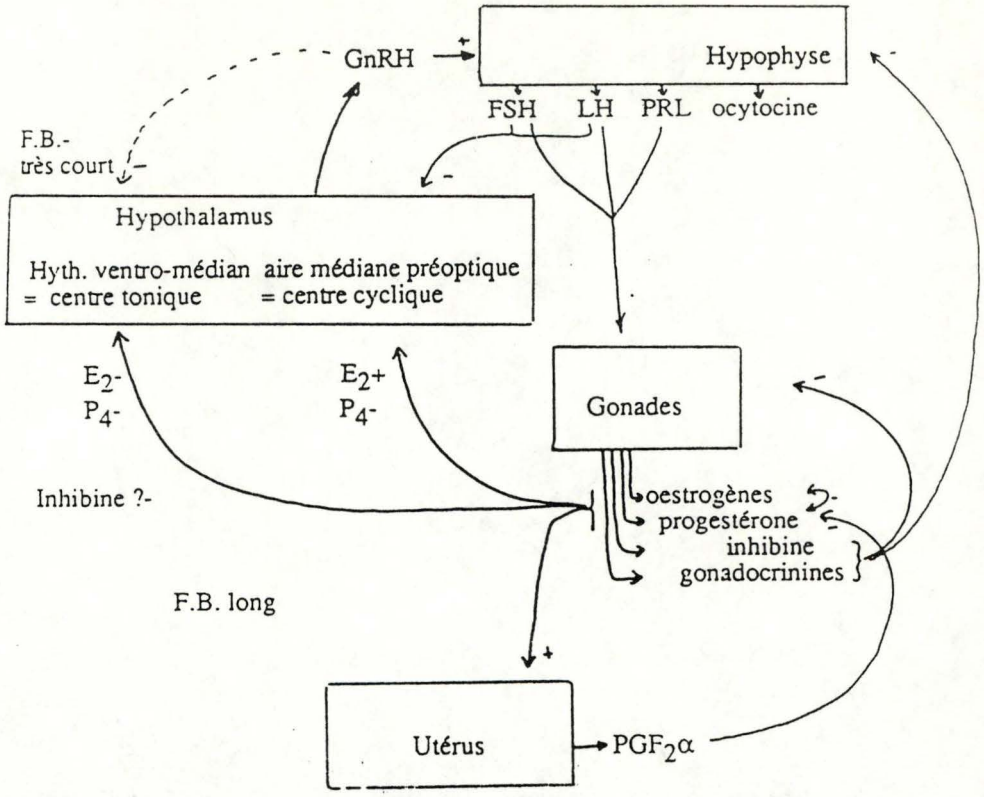



FIGURE 1 : Schéma du contrôle endocrinien du cycle sexuel (Bister, 1988).

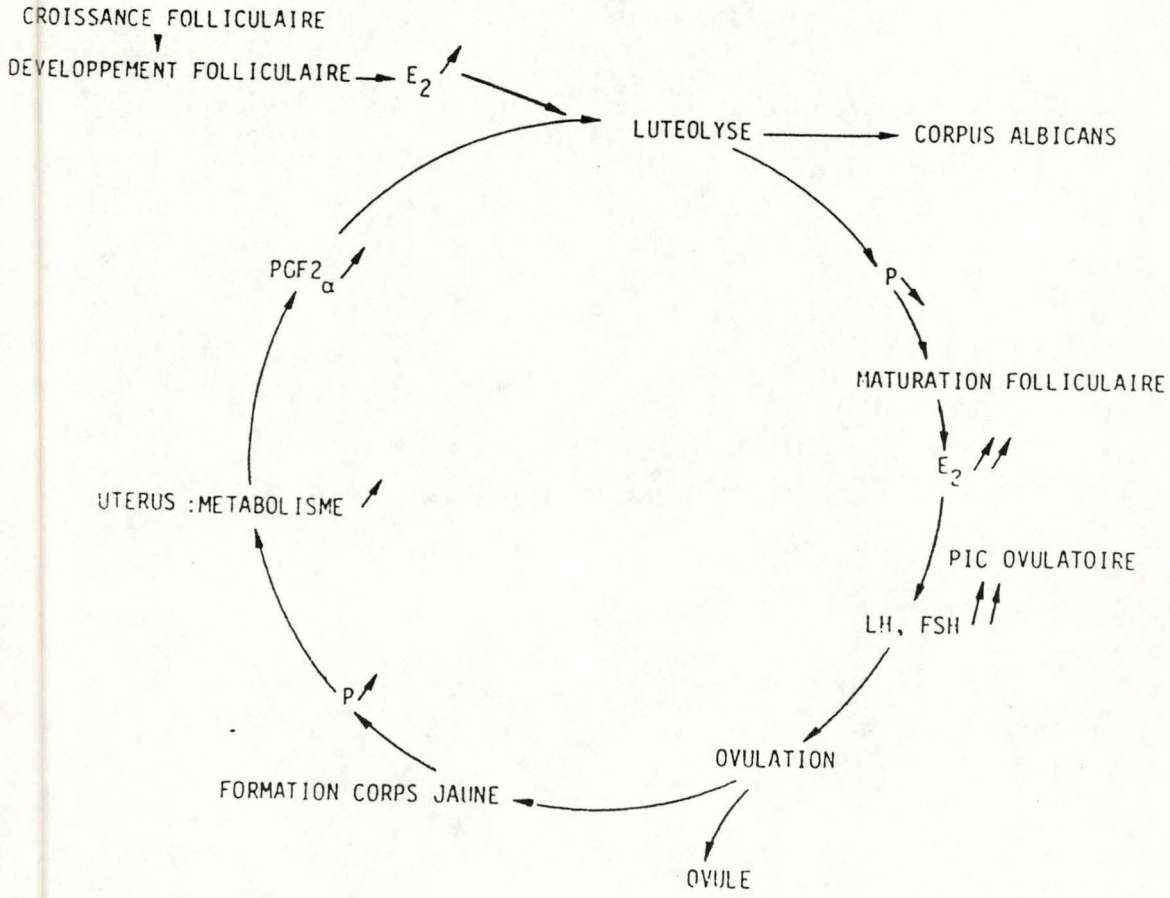



FIGURE 2 : Le cycle oestral de la brebis (Bister, 1988).

# A. DESCRIPTION GENERALE DE LA REPRODUCTION DE LA BREBIS

Le mouton domestique est une espèce qui présente une suite de cycles oestraux lors d'une saison déterminée. On appelle ce type d'activité sexuelle : polyoestrus saisonnier.

Les cycles sexuels de la brebis Texel débutent au moment de la photopériode décroissante (automne). Tous les dix-sept jours se succèdent alors de 7 à 13 cycles ovulatoires. L'arrêt des cycles est contrôlé par la photopériode croissante de fin décembre. La période de reproduction de la brebis Texel ne s'étale donc que sur trois à quatre mois pendant l'année. Tout autre état que celui qui correspond à la suite des cycles sexuels porte le nom d'anoestrus.

Dans le cadre de ce mémoire, nous nous limiterons à la période de reproduction.

# B. LE CYCLE OESTRAL DE LA BREBIS

## 1. Description globale

Le cycle oestral de la brebis a une durée moyenne de dix-sept jours. Il est constitué de deux périodes inégales : la phase lutéale qui s'étale du jour zéro (considéré par les physiologistes comme celui de l'ovulation) au jour treize et une phase folliculaire qui s'étend du jour quatorze au jour dix-sept (= zéro pour la période suivante).

Ces deux phases qui se traduisent par diverses modifications au niveau de l'ovaire sont influencées par des facteurs hormonaux secrétés par l'axe hypothalamus - hypophyse - ovaire - utérus et qui agissent les uns sur les autres par différents mécanismes rétroactifs (figure 1 et 2).

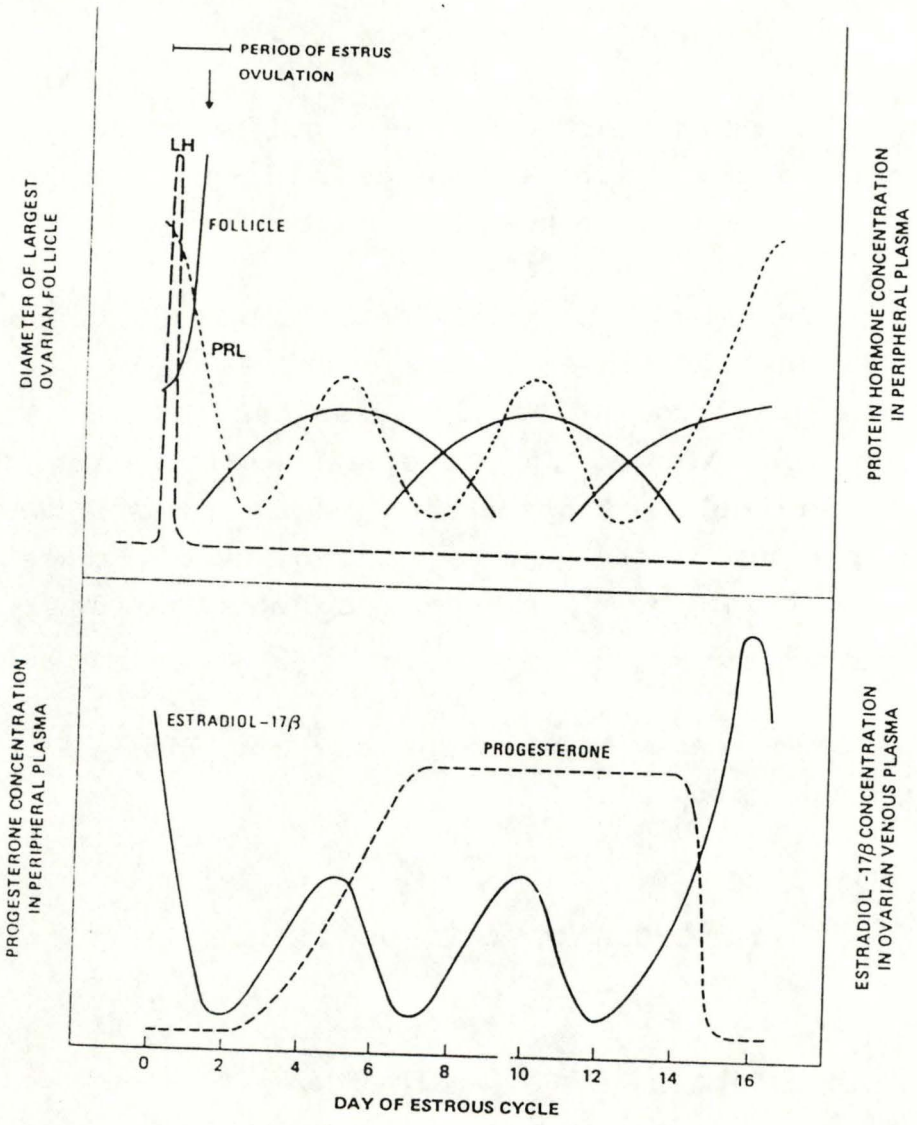



FIGURE 3 : Evolutions hormonales au cours du cycle oestral de la brebis (Robertson, 1977).

## 2 Phase lutéale

La phase lutéale du cycle oestral dure environ douze à treize jours. Suite à l'ovulation les cellules de la granulosa et de la thèque interne forment respectivement les cellules lutéales et paralutéales. Le résultat de cette évolution est le corps jaune (glande endocrine richement vascularisée).

Les cellules lutéales synthétisent la progestérone à partir du cholestérol. La sécrétion de la progestérone débute peu après l'ovulation et entraîne des niveaux sanguins élevés (supérieurs à 1 ng/ml) dès le deuxième ou troisième jour du cycle.

Les niveaux périphériques de FSH au cours de la phase lutéale fluctuent de façon apparemment périodique. Une périodicité régulière a été observée par Bister et Paquay (1983) avec des niveaux élevés aux jours 1,6 et 10 du cycle. Sous l'effet de cette émission périodique de FSH des follicules primordiaux entrent en maturation.

Les follicules ovariens entrant en croissance secrètent de l'oestradiol qui assure un feed-back négatif, en synergie avec la progestérone, sur l'hypothalamus ce qui entraîne une baisse du taux de FSH et de LH. L'oestradiol et la progestérone sont responsables du maintien des hormones hypophysaires (LH et FSH) à un niveau plasmatique moyen au cours de la phase lutéale.

La conséquence de la diminution du taux de FSH suite au développement des follicules est l'atrésie (dégénérescence) de ces follicules et donc une diminution de la sécrétion d'oestradiol. Il se produit une levée de l'inhibition du centre de secrétion tonique de GnRH (Gonadotrophine releasing hormone) et dès lors une nouvelle vague d'émission de FSH entraînant un nouveau recrutement de follicules antraux. A nouveau ceux-ci

TABLEAU 1: Les différentes étapes de la vie folliculaire. (Titeca, 1987)

| CELLULES REPRODUCTRICES | MODIFICATIONS INTERVENANT ENTRE LES DIVERS STADES | CELLULES DES COUCHES PROTECTRICES |
|---|---|---|
| | **FECONDATION** | |
| | **EMBRYOGENESE** | |
| Ovogonies | | Cellules diffuses du stroma ovarien |
| | **Phase de MULTIPLICATION** | |
| Ovocyte de Ier ordre | *Follicule primordial* | Une couche diffuse de cellules |
| | **Initiation de la croissance** | |
| | **FOLLICULOGENESE (croissance primaire)** | |
| Ovocyte de Ier ordre | *Follicule primaire* | 10 à 20 cellules cuboïdales sur 1 à 2 couches |
| Ovocyte de Ier ordre qui grossit | *Follicule secondaire* | Formation de la zone pellucide<br>Arrangement des cellules de la granulosa |
| Ovocyte de Ier ordre à sa taille maximum | *Follicule tertiaire ou préantral* | Développement des cellules thécales externes et internes |
| Ovocyte de Ier ordre | *Follicule antral* | Formation de la cavité antrale |
| | **MATURATION (croissance terminale)** | |
| | **1. recrutement** | |
| Ovocyte de Ier ordre isolé dans un cumulus oophorus | | Granulosa et thèques fonctionnelles<br>Formation du fluide folliculaire |
| | **2 sélection** | |
| **atrésie** | | **dominance** |
| *Follicule strétique*<br>Resorption par le stroma | | *Follicule préovulatoire* |
| | | **ovulation** |
| Ovocyte de Ier ordre expulsé | | |
| | | *Corps jaune* |
| **pénetration du spermatozoïde** | | **lutéolyse** |
| Formation de l'ovule | | |
| | | *Corpus albicans* |
| **fécondation** | | |

vont devenir atrétiques suite au feed-back négatif exercé par l'oestradiol sur la production de FSH.

La combinaison de l'action préparatrice de la progestérone et de la stimulation de l'oestradiol sur l'endomètre utérin entraîne une secrétion de prostaglandine (PGF2$\alpha$). La PGF2$\alpha$ et l'oestradiol agissent ensemble pour induire la lutéolyse. Celle-ci se produit généralement le treizième jour et correspond à la régression du corps jaune.

### 3. La phase folliculaire

La phase folliculaire est caractérisée par une faible émission de progestérone. A ce moment (fin d'atrésie de la second vague follicullaire), le taux d'oestradiol est plus faible. Une troisième vague de croissance folliculaire peut se produire suite à l'augmentation de l'émission de FSH. Dès lors, le taux d'oestradiol va augmenter et atteindre une valeur maximale la veille de l'oestrus. A ce moment, le feed-back exercé par l'oestradiol devient positif et stimule le centre cyclique d'émission de GnRH qui, en absence de progestèrone, entraîne une libération brutale de FSH et de LH (pics pré-ovulatoires) menant à l'ovulation.

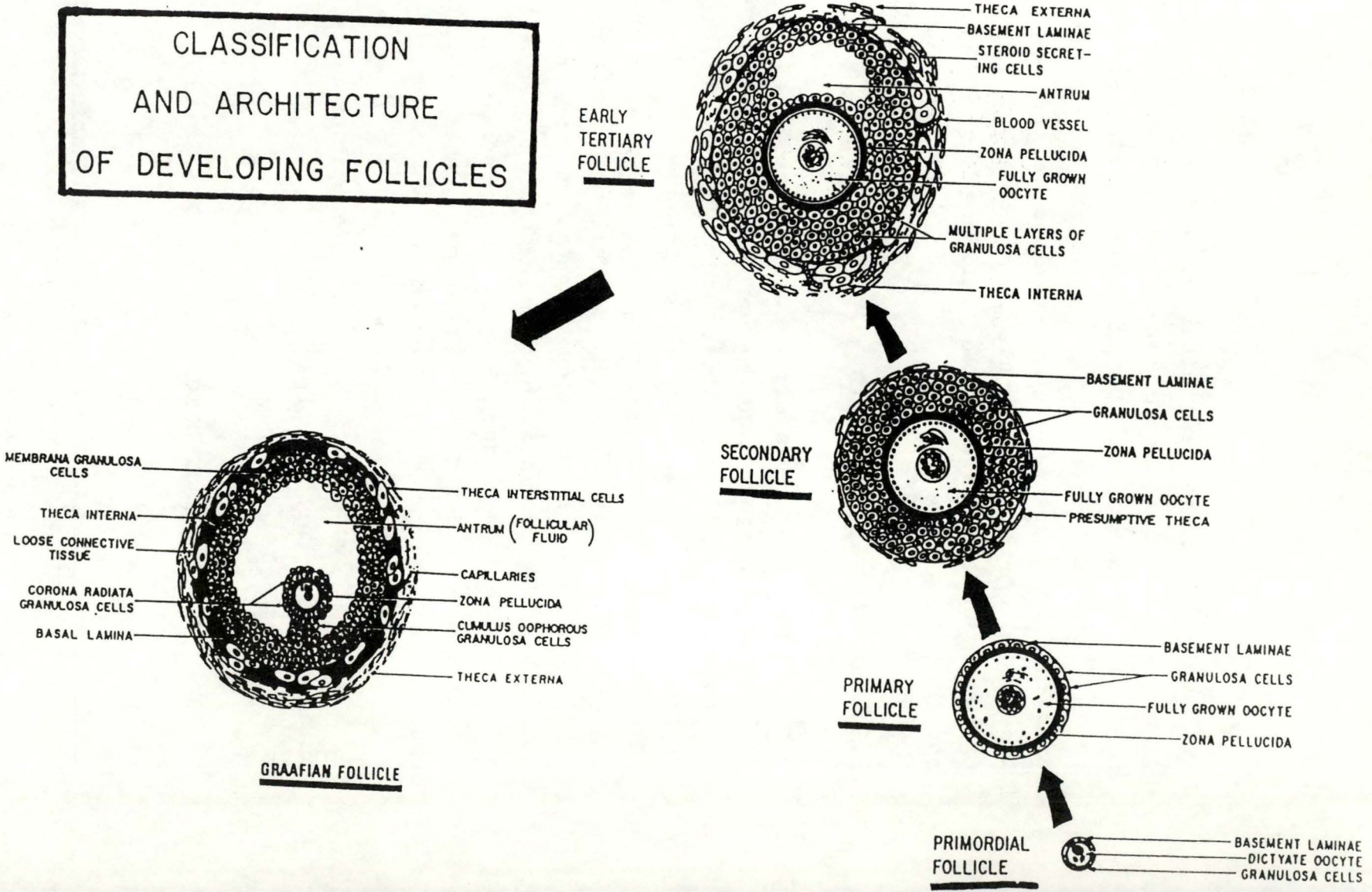
Après l'ovulation, la cavité s'emplit d'un caillot sanguin puis se restructure en corps jaune.

## C. LA CROISSANCE FOLLICULAIRE (tableau 1)

### 1. Données générales sur la gamétogenèse femelle

Chez les mammifères femelles, la gamétogenèse est un phénomène discontinu. Au cours du développement foetal il y a établissement d'un stock de follicules primordiaux ; ce processus est appelé ovogenèse. Ensuite débute la folliculogenèse qui amène certains de ces folliculles à leur

FIGURE 4 · Structure et classification des follicules en développement (Titeca,1987).



différenciation complète. Enfin, après une attente plus ou moins longue, le follicule peut être recruté pour entamer sa maturation. Pendant cette croissance terminale le follicule subit le jeu de la sélection avec comme alternatives : l'atrésie (dégénerescence) ou la dominance qui lui permettra d'ovuler.

## 2. La folliculogenèse

Tous les follicules primordiaux (caractérisés par une seule couche de cellules aplaties autour de l'ovocyte) sont en place bien avant la naissance. L'ovaire de la brebis adulte contient entre 12 000 et 86 000 follicules primordiaux, et entre 100 et 400 follicules en croissance parmi lesquels seulement 10 à 40 sont visibles sur la surface ovaire (Cahill et al, 1979).

Les follicules primordiaux entament le processus de croissance folliculaire. Celle-ci concerne principalement les cellules folliculaires, mais aussi l'ovocyte et le stroma entourant le follicule.

On distingue plusieurs stades dans la croissance folliculaire (figure 4) :

- follicule primaire : les cellules aplaties du follicule primordial se transforment en cellules cubiques qui forment la granulosa ;

- follicule secondaire : les cellules de la granulosa se multiplient et se disposent en plusieurs couches ;

- follicule tertiaire : les cellules du stroma se différencient et s'organisent pour former les thèques interne et externe. La thèque interne est responsable de la synthèse oestrogénique et la thèque externe assure une rôle de protection ;

- follicule cavitaire : il se caractèrise par l'apparition et la confluence de lacunes cellulaires en une cavité centrale

(antrum) dans laquelle fait intrusion le cumulus oophorus (excroissance de la granulosa) entourant l'ovocyte. Ce follicule, prêt à ovuler, migre à la périphérie de l'ovaire.

Le passage d'un follicule d'un stade primaire à un stade préovulatoire dure environ six mois chez la brebis (Cahill et Mauléon, 1980). Il est également important de souligner que presque tous les follicules disparaissent par atrèsie au cours de la croissance folliculaire. La proportion d'atrésies augmente avec la taille des follicules (Byskov, 1978).

## 3. La phase de la croissance terminale

La différenciation du follicule qui va ovuler se déroule en plusieurs étapes (Di Zerega et Hodgen, 1981) :

- le recrutement d'un groupe de follicules potentiellement capables d'ovuler ;

- la sélection progressive parmi eux d'un ou de quelques follicules qui entraîne l'atrésie de tous les autres tandis que lui continue de croître ;

- la dominance de ce ou de ces follicules qui leur permettra peut-être d'ovuler s'ils appartiennent à la vague de croissance folliculaire qui se déroule en phase folliculaire ;

- la maturation folliculaire qui précède de très peu l'ovulation.

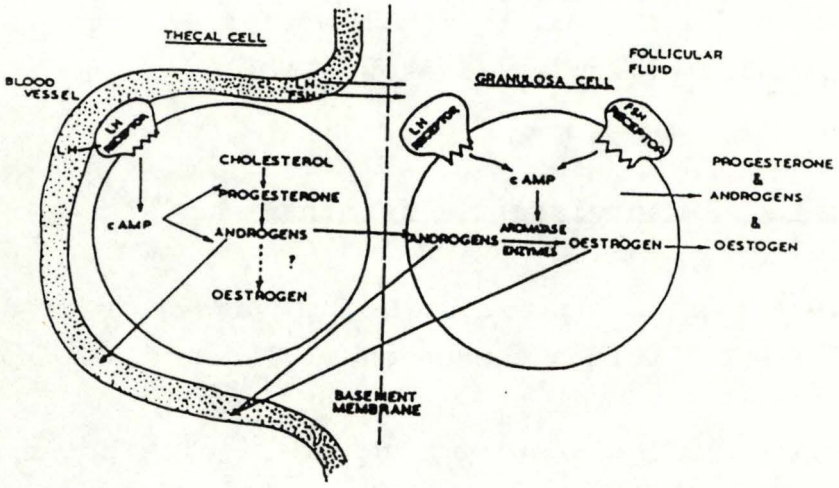



FIGURE 5 : Biosynthèse des stéroides chez un follicule ovulatoire (Webb et Gauld, 1984).

## 3.1. Différenciation fonctionnelle

Au cours de la croissance terminale, le follicule passe par deux stades déterminés par le principal stéroïde (Webb et Gauld, 1984) (figure 5) :

- le stade androgénique lors duquel le follicule possède des récepteurs à la LH (thèque) et à la FSH (granulosa). La production d'oestrogènes est restreinte ;

- le stade oestrogénique lors duquel le follicule a une taille supérieure à 3 mm et acquiert des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa.

## 3.2. Etapes de la croissance folliculaire terminale

### 3.2.1. Le recrutement

Tous les follicules sains excédant 2 mm de diamètre peuvent être recrutés. Le recrutement d'un groupe de follicules parmi lesquels se trouve celui qui ovulera se produit à un moment variable mais centré sur la lutéolyse (Driancourt et Cahill, 1984).

Le recrutement résulte de l'interaction des niveaux hormonaux et des caractéristiques des follicules.

Pour la FSH, il n'y a pas de modifications majeures du taux sanguins après la lutéolyse (Cahill et al, 1981) alors que les pulses de LH s'accélèrent, ce qui laisse penser que la LH est l'hormone du recrutement (Goodman et Karsch, 1981). Cependant, la LH n'est pas toujours suffisante : Oussaïd (1982) a trouvé que les follicules doivent d'abord être imprégnés par la FSH avant d'être capables de répondre à la LH.

Il existe également dans le fluide folliculaire des substances capables de modifier l'action des gonadotrophines. Le recrutement serait limité par une protéine du fluide folliculaire appelée FGI (Follicular Growth Inhibitor) qui réduirait la prolifération des cellules de la granulosa et limiterait de cette façon la réponse folliculaire aux gonadotrophines (Cahill et al, 1984).

### 3.2.2. La sélection

Les follicules recrutés secrètent de plus en plus d'oestrogènes et d'inhibine. Ces hormones exercent un feed-back négatif sur la sécrétion de FSH. Un milieu défavorable à la croissance folliculaire apparaît.

La sélection qui s'opère est l'ensemble des mécanismes détournant le follicule de l'atrésie et lui permettant de dominer les autres.

Deux hypothèses ont été formulées pour expliquer la sélection:

- l'hypothèse de la stabilité préconise que lorsqu'un follicule a atteint un stade suffisant de maturation, il reste à un stade d'équilibre et ne répond donc plus à la diminution du taux de FSH et d'oestradiol dans le fluide antral (Ireland, 1987) ;

- l'hypothèse de l'élimination suggère, quant à elle, qu'un follicule d'une taille donnée et d'un état de maturation avancé sécrète un facteur agissant directement au niveau ovarien en inhibant la réponse des autres follicules aux gonadotrophines. Cette hypothèse a été appuyée par les expériences de Di Zerega et Hodgen (1981) sur le singe.

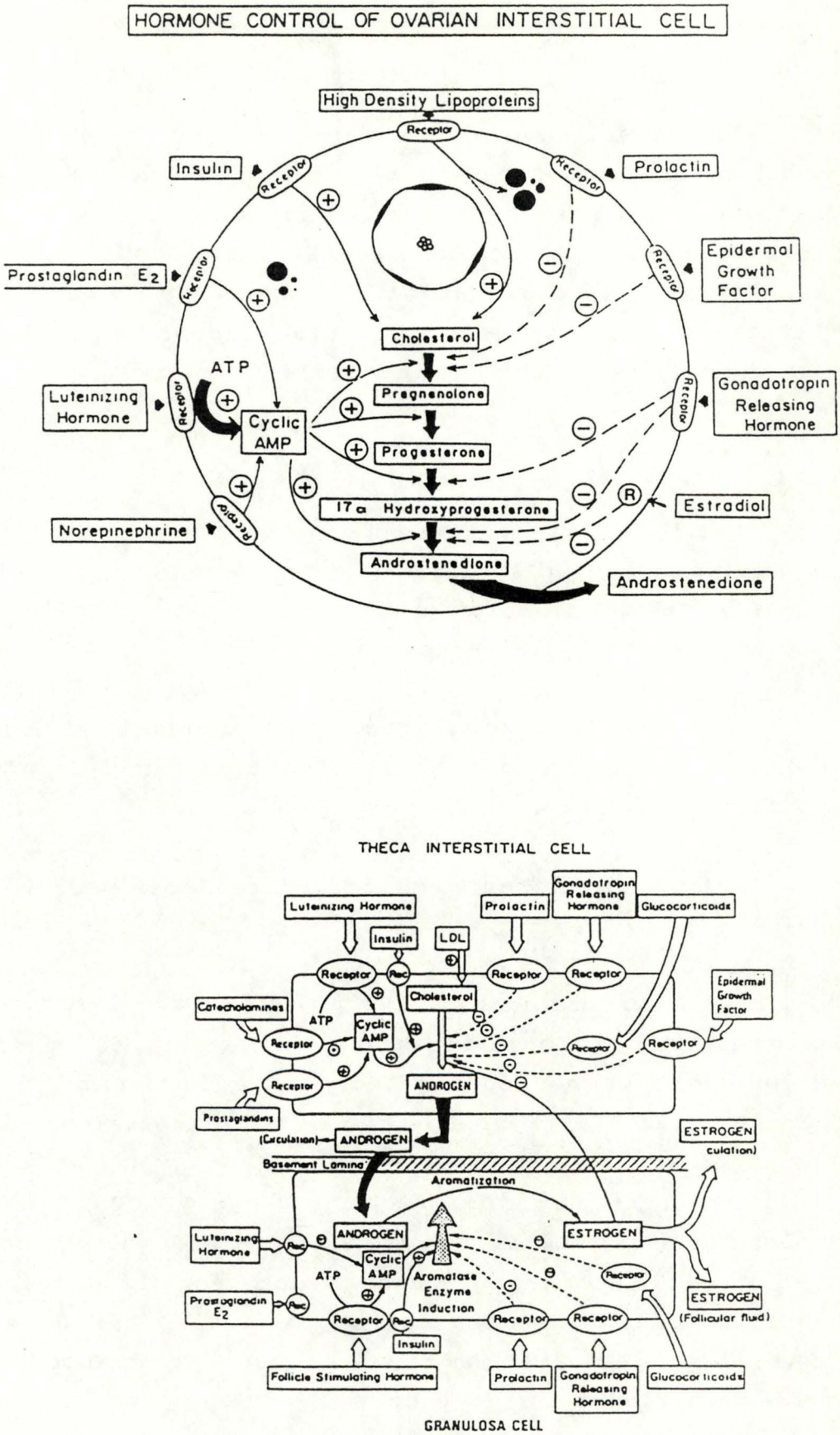



Diagram of our current concept of the underlying controlling potentials of follicle estrogen biosynthesis as it relates to the two cell two gonadotropin concept. [Revised from Erickson (9) by permission of Elsevier Scientific Publishers].

figure 6: les mécanismes d'aromatisation au sein des cellules thécales et granulosales.

### 3.2.3. L'atrésie

La majorité des follicules ovariens sont voués à l'atrésie. Ce processus est l'arrêt de croissance suivi de la dégénérescence cellulaire jusqu'à résorption du follicule par le stroma ovarien.

L'atrésie est un phénomène à la fois histologique, fonctionnel et biochimique. Histologique en ce sens qu'il y a perte de vascularisation de la thèque et apparition de corps picnotiques au niveau des noyaux des cellules de la granulosa. Fonctionnel et biochimique en ce sens que le pouvoir d'aromatisation est réduit, ce qui se traduit par une accumulation d'androgènes et une faible concentration d'oestrogènes.

La perte progressive de l'activité aromatase semble être un des premiers événements impliqués dans l'atrésie folliculaire (Tsonis et al, 1984).

### 3.2.4. L'aromatisation (figure 6)

L'aromatisation consiste en la transformation des androgènes de la thèque interne du stroma en oestrogènes par les aromatases de la granulosa (Franchimont et al, 1985; cités par Titeca, 1987). Toute inhibition de cette transformation enzymatique entraîne une évolution vers l'atrésie ou la formation d'un corps jaune hypofonctionnel.

La FSH est l'hormone stimulatrice de l'aromatisation nécessaire à la maturation folliculaire. La fixation de la FSH peut être empêchée par la FSH-RBI (FSH Receptor Binding Inhibitor) mise en évidence par Darga et Reichert (1979) (figure 7). Seuls les follicules à antrum sont capables de sécréter cette substance, limitant de ce fait l'aromatisation.

La FRP (Follicular Regulating Protein) est la protéine anti aromatisante découverte par Di Zerega et al (1985, cités par

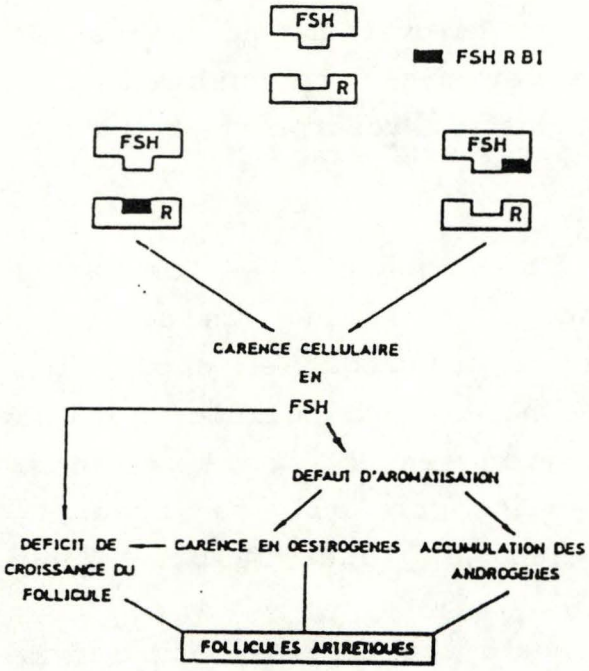



FIGURE 7 Action de la FSH-RBI (Darga et Reichert, 1979).

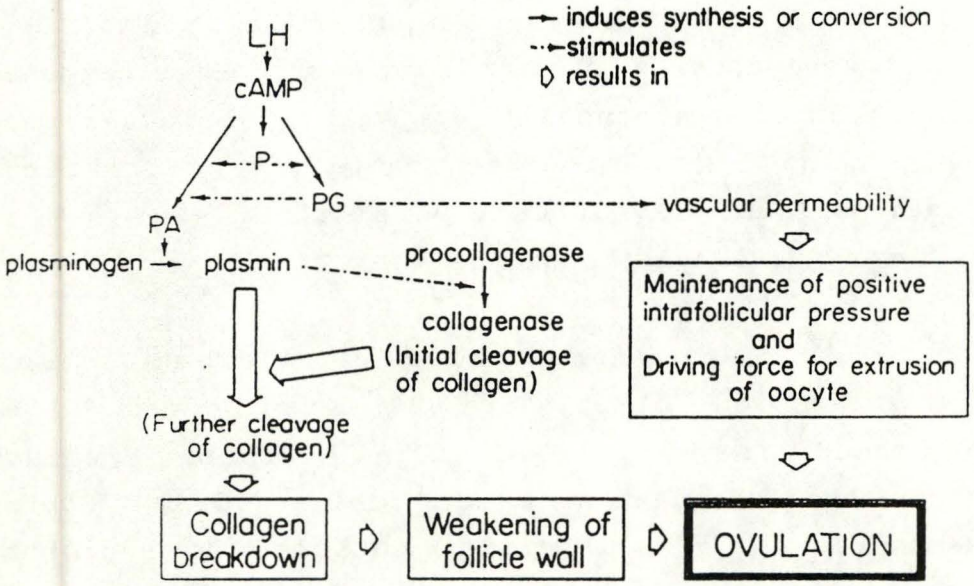



FIGURE 8 : Modèle simplifié du processus ovulatoire. (Bränströom, 1988).

Philipon, 1988) qui supprime la réponse folliculaire aux gonadotrophines circulantes. La FRP produite par le follicule dominant pourrait induire l'atrésie des autres follicules en y bloquant l'activité aromatasique.

L'inhibine possède la propriété de freiner la libération de FSH et par là de réduire l'aromatisation (Ying et al, 1986). Cette hormone produite par les gros follicules ovariens pourrait peut-être agir aussi dans le contrôle paracrine de l'activité des autres follicules.

La LH diminue la production d'androstérone par réduction de l'activité lyase 17-20 et 17-hydroxylase. Or, l'androstènedione est le précurseur indispensable de l'aromatisation (Franchimont et al, 1986).

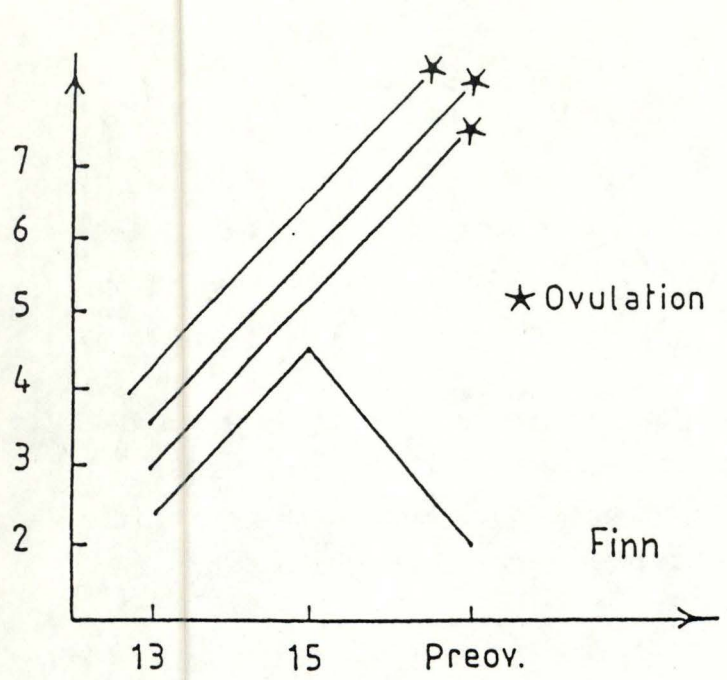
La progestérone exerce un puissant contrôle inhibiteur sur l'aromatisation (Fortune et Vincent, 1983).

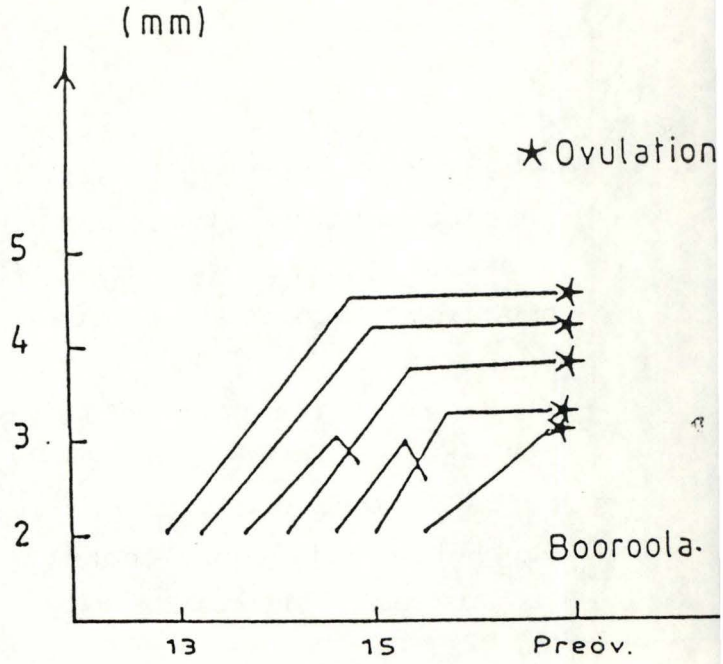
Les androgènes amènent le follicule à l'atrésie (Ross et al, 1979). Les cellules de la granulosa disposent, en plus de l'activité aromatase, d'un équipement enzymatique (5$\alpha$ réductase) capable de transformer les androgènes aromatiques en androgènes non aromatiques (Bogovich et Richards, 1984 ; cités par Titeca, 1987). L'activation de ce facteur peur conduire à l'atrésie (Hiller et al, 1980).

## D. LE RESULTAT DE LA CROISSANCE FOLLICULAIRE TERMINALE : L'OVULATION

### 1. L'ovulation (figure 8)

Comme nous venons de le voir, toute une série d'événements interviennent pour aboutir finalement à l'ovulation, c'est-à-dire à l'émission de l'ovocyte par le follicule mature.



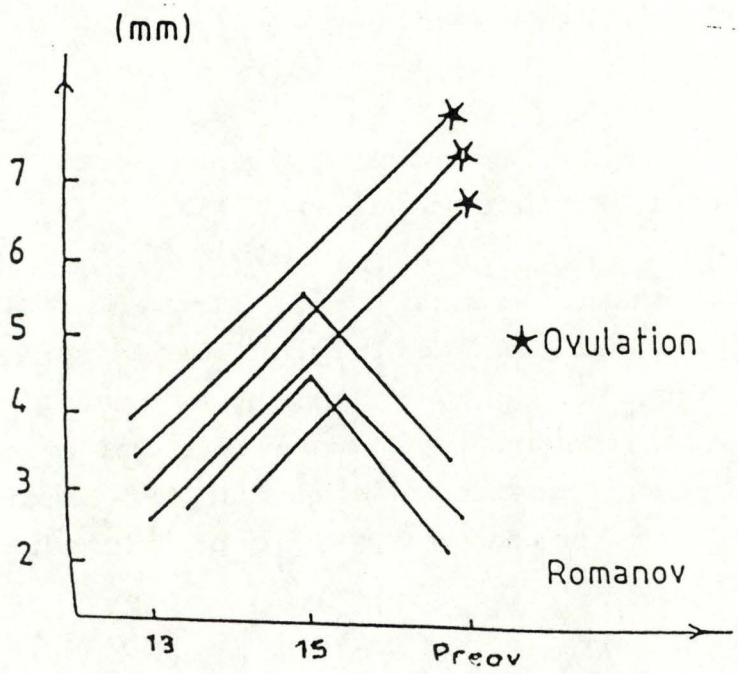




FIGURE 9 · La croissance folliculaire terminale de differents modèles de brebis prolifiques (Driancourt et al 1985 et 1986).

L'ovulation est déclenchée par le niveau élevé de LH observé au moment de l'oestrus. La FSH intervient indirectement pour permettre la différenciation du follicule pré-ovulatoire.

La décharge pré-ovulatoire des gonadotrophines provoque la dissociation des cellules du cumulus oophorus et de la granulosa. De même, elle stimule la production de deux enzymes protéolytiques, la plasmine et la collogénase. Ces enzymes attaquent les liens intercellulaires et permettent l'amincissement de la paroi folliculaire (Brandstrom et al, 1988).

La prostaglandine F2$\alpha$ a pour rôle principal d'augmenter la perméabilité vasculaire , ce qui est important pour maintenir la pression intrafolliculaire à un niveau suffisamment élevé pour permettre la rupture de la paroi folliculaire et l'expulsion de l'ovocyte (Brandstrom et Janson, 1986).

Le nombre d'ovocytes émis pendant un cycle représente le taux d'ovulation (Scaramuzzi et Radford, 1983).

Lorsqu'on observe différentes races de brebis, on peut constater qu'il existe de fortes variations entre leurs taux d'ovulation et que cela se répercute directement sur leur prolificité. Il semble donc intéressant de connaître les différents facteurs pouvant agir sur le taux d'ovulation en vue d'améliorer la prolificité du troupeau.

## 2. Les variations naturelles de l'ovulation

### 2.1. Variations entre races (figure 9)

Scaramuzzi et Radford (1983) ont observé que le taux d'ovulation est très variable entre les races. Ils ont constaté qu'il existe d'une part des races hautement prolifiques ayant des taux d'ovulation compris entre 2,5 et 3,4 et d'autres part,

des races faiblement prolifiques ayant un taux d'ovulation compris entre 1 et 2.

Ces variations peuvent être dues à des mécansimes physiologiques différents. Dans le cas des brebis Romanov, Driancourt et al (1985) ont constaté qu'il y avait un grand nombre de follicules recrutés suivi d'une sélection normale. Par contre, dans le cas des brebis Finnoise, Driancourt et al (1986) constate un recrutement comparable avec celui des races peu prolifiques, mais une sélection diminuée.

La différence entre les races pourrait également être due à la présence d'un gène : le gène de fécondité (gène F ; Bindon 1984). C'est le cas chez les brebis Booroola. Driancourt et al (1985) ont constaté que cette race se caractérise par un recrutement prolongé pendant toute la phase folliculaire et par une sélection inférieure, les follicules atteignant très tôt la taille folliculaire et pouvant se maintenir jusqu'au pic pré-ovulatoire de gonadotrophines. Le gène F s'exprimerait par une action au niveau de l'ovaire où un plus grand nombre de follicules subiraient la maturation et aboutiraient à l'ovulation.

### 2.2. Variations dues au poids et à la nutrition des brebis

Morley et al (1978, cités par Scaramuzzi et Radford, 1983) ont constaté une corrélation positive entre le poids des brebis et leur taux d'ovulation au sein d'une même race. De même, les brebis en excellent état corporel ont un taux d'ovulation supérieur au brebis en mauvais état corporel.

### 2.3. Variations liées à l'âge

Les jeunes brebis en première saison de reproduction ont un taux d'ovulation plus faible que celui des adultes (Mc Kenzie et Terril ; cités par Philipon, 1983).

Prud'hon (1971) associe ce fait au faible poids des jeunes agnelles ainsi qu'à leur type différent de nutrition. Le taux d'ovulation est maximum à un âge déterminé pour chaque race.

## 2.4. Variations dans l'émission des hormones

### 2.4.1. Les gonadotrophines hypophysaires

#### a) La LH

A la suite du pic pré-ovulatoire de LH se produit l'ovulation (Dufour et al, 1979, cités par Cahill et al, 1981).

Thimonier et Pelletier (1971, cités par Philipon 1983) et Land et al (1973) observent que l'intervalle entre le début de l'oestrus et la décharge de LH est correlé avec le taux d'ovulation. Mais, cet intervalle ne peut être déterminant du taux d'ovulation puisqu'au moment de l'oestrus, le nombre de follicules qui vont ovuler a déjà été déterminé (Cahill et al, 1979).

Land et al (1973) et Cahill et al (1981) observent que la LH montre une variation significative entre les races au jour 9 et au jour 11 après le pic de la LH. En effet, à ce moment, les niveaux de LH sont significativement plus élevés chez les races prolifiques que chez les races moins prolifiques.

Cependant, un certain nombre d'études tendent à écarter la LH dans le contrôle du taux d'ovulation (Mc Neilly et al, 1981 ; Bindon, 1984 ; Philipon, 1988).

Il semble généralement admis que la LH n'est pas déterminante du taux d'ovulation malgré des valeurs significativement plus élevées chez les races prolifiques. Cependant, ceci est généralement expliqué par l'hypothèse que les brebis hautement prolifiques sont moins sensibles au feed-

back négatif des oestrogènes que les races peu prolifiques (Land, 1976 ; Baird et Mc Neilly, 1981).

b) La FSH

La FSH induit, en synergie avec les oestrogènes (Hsuech et al, 1984), l'apparition de récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa, et stimule l'aromatisation (Moor, 1977), ainsi que la sécrétion d'inhibine (Henderson et al, 1984).

Le rôle de la FSH plasmatique dans le contrôle du nombre de follicules destinés à ovuler est plus controversé.

Plusieurs arguments plaident en faveur de l'hypothèse selon laquelle la FSH jouerait un rôle dans la détermination du taux d'ovulation.

Des injections exogènes de FSH à des brebis au moment de la lutéolyse ou durant la phase folliculaire résultent en une augmentation significative du taux d'ovulation (Wright et al, 1981 ; Baird et al, 1985).

De même, lors d'ovariectomies unilatérales, l'élévation de la teneur en FSH plasmatique chez ces animaux semble impliquée dans le maintien du taux d'ovulation (Findlay et al, 1981).

Cahill et al (1984) ont montré que le second pic de FSH apparaissant après le pic pré-ovulatoire est significativement plus élevé chez la Romanov, race prolifique, que chez l'Ile-de-France, race non prolifique.

Lalhou-Kassi et al (1984) observent que la brebis D'man, de race prolifique, a une concentration plasmatique en FSH plus élevée que la Thimadite, de race témoin non prolifique, en fin de phase folliculaire, pendant le pic pré-ovulatoire et le second pic de FSH.

Le problème réside dans le fait que toutes les races prolifiques ne sont pas caractérisées par un taux élevé de FSH en phase folliculaire. De même, aucune relation entre le taux de FSH plasmatique et le taux d'ovulation entre brebis de même race n'a été mis en évidence (Cahill et al, 1979 ; Findlay et Cumming, 1976).

Après immunisation contre les stéroïdes, les profils de FSH sont différents (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 ; Bister et al, 1988), bien que tous sont associés à une augmentation du taux d'ovulation.

### 2.4.2. Les stéroïdes ovariens

#### a) Oestrogènes

Les oestrogènes agissent en synergie avec la FSH pour favoriser le recrutement et protéger les follicules de l'atrésie.

Il est probable que les oestrogènes ont une influence sur le taux d'ovulation.

Il existe des récepteurs aux oestrogènes sur les cellules des follicules chez la brebis (Philipon, 1983).

Scaramuzzi et Land (1976) n'observent pas de différence de niveaux plasmatiques d'oestrogènes chez des brebis à taux d'ovulation différents.

Cependant, Cahill et al (1981) ont établi une corrélation positive entre le niveau plasmatique d'oestradiol, plus élevé chez la Romanov (race prolifique) que chez l'Ile-de-France (race peu prolifique), et le nombre élevé de follicules pré-ovulatoires.

Mais il semble que le taux élevé d'oestradiol 17ß soit la conséquence plus que la cause du nombre élevé de follicules pré-ovulatoires. En effet, ce sont les gros follicules qui secrètent cette hormone (Baird et Scaramuzzi, 1976).

b) Les androgènes

Les androgènes secrétés par la thèque interne servent de substrats aux cellules de la granulosa pour la synthèse de l'oestradiol. Ils ont également un rôle paracrine important dans la régulation du fonctionnement des cellules de la granulosa. La différenciation de ces cellules et la biosynthèse des oestrogènes et de l'inhibine sont augmentées par la présence d'androgènes (Henderson et Franchimont, 1983).

Les androgènes inhibent l'apparition des récepteurs à la LH sur les cellules de la granulosa (Farookhi, 1980).

D'autre part, Louvet et Vaitukaitis (1975) ont constaté que, chez la ratte, les androgènes renforcent l'atrésie.

L'androstènedione pourrait avoir une action positive directe sur la production de progestérone en entrant en compétition avec les enzymes concernés dans le catabolisme de la progestérone (Farookhi, 1980), mais ceci est mis en doute par Silavin et Greenwald (1984 ; cités par Philipon 1988).

Il semble donc que les androgènes ont une action inhibitrice directe sur la croissance folliculaire et sur le taux d'ovulation.

Terqui et al (1973) observent que la concentration en protéines plasmatiques liant les androgènes est plus élevée chez les brebis Romanov (race prolifique) que chez les Ile-de-France(race peu prolifique).

### 2.4.3. L'inhibine

L'inhibine est produite par les cellules de la granulosa et est présente en grande concentration dans le fluide folliculaire.

La secrétion d'inhibine est influencée par les androgènes. L'inhibine empêche la production de FSH par l'hypophyse (Franchimont et al, 1981 ; cités par Henderson et al, 1984). L'injection de fluide folliculaire contenant beaucoup d'inhibine entraîne une diminution du taux de FSH plasmatique et une diminution du taux d'ovulation (Cummins et al, 1980).

L'immunisation contre l'inhibine permet une augmentation significative du taux d'ovulation (Henderson et al, 1984).

Le problème est de savoir si l'action de l'inhibine est directe ou si elle passe par l'intermédiaire d'une diminution du taux de FSH plasmatique (Scaramuzzi et Radford, 1983).

### 2.4.4. Conclusion

Plusieurs facteurs semblent donc impliqués dans le contrôle de l'ovulation mais rien de bien précis n'est encore établi. En vue d'éclaircir le contrôle du taux d'ovulation, de nombreux chercheurs ont orienté leurs recherches vers l'étude des protéines du fluide folliculaire qui pourraient être les moteurs profonds de la régulation du taux d'ovulation et entraîneraient les hormones classiques dans leur sillage puis pourraient leur laisser le contrôle final de l'ovulation.

## 3. Amélioration du taux d'ovulation

### 3.1. Amélioration génétique

La méthode la plus simple d'amélioration génétique consiste à croiser des races prolifiques avec des races viandeuses (Quirke, 1978, 1979).

Hanrahan (1980) a localisé l'héritabilité du taux d'ovulation, chez les Booroola(race prolifique), sur la gène F. Ceci a permis la sélection intra-race sur ce caractère. Ainsi, des croisements ont été réalisés entre des Romanov (caractérisées par un plus grand nombre de follicules) et des Booroola (caractérisées par un recrutement prolongé). Ils ont donné naissance à une lignée possédant les caractères des deux parents (Scaramuzzi et Radford, 1983).

### 3.2. Amélioration nutritive

La méthode la plus traditionnelle d'augmentation du taux d'ovulation est sans aucun doute le flushing, c'est-à-dire l'augmentation du poids des brebis avant la lutte. Le flushing permet une faible augmentation de la prolificité (Scaramuzzi et Radford, 1983).

Mais, Scaramuzzi et Radford (1983) ont constaté que le flushing n'a pas d'effets sur les brebis en bon état corporel. En effet, ce n'est pas l'augmentation du poids, mais le poids absolu qui détermine le taux d'ovulation.

Radford et al (1980) ont réalisé des expériences de supplémentation protéique à poids constants. Ils ont observé des gains importants et rapides (dans les six jours) du taux d'ovulation. Cependant, les mécanismes de cette action à court terme sont mal connus.

Par contre, des modifications de régime alimentaire à long terme affecteraient la population de follicules primordiaux ou le début de la folliculogénèse (Cahill et al, 1981).

### 3.3. Amélioration par l'emploi de gonadotrophines exogènes

La PMSG (Pregnant mare's serum gonadotrophin) est une hormone extraite du placenta de jument gravide. Robinson et al (1950) ont découvert que l'injection de cette hormone en fin de cycle pourrait induire une superovulation (Robinson et al, 1950; cité par Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

L'effet de la PMSG se fait sentir sur la fin de la folliculogénèse, mais vu la longue demi-vie de cette hormone (Mc Intosh et al, 1975, cité par Philipon, 1983), il est difficile de savoir avec exactitude à quel moment elle agit.

Saumande et al (1978) ont pu observer que les résultats sont très variables selon les individus. Ils dépendent de l'état de l'ovaire au moment des injections.

Moor et al (1981) écrivent que la PMSG diminue l'atrésie et "sauve" les follicules en début d'atrésie. Elle permet donc une augmentation du nombre de follicules à antrum sains présents sur l'ovaire au moment de la maturation.

Par contre, Driancourt (1987) note une corrélation non significative entre la population de follicules antraux et le taux d'ovulation obtenu après traitement à la PMSG. Il relève cependant une corrélation très importante entre le nombre de follicules sains de 0,8 à 2 mm de diamètre présents sur l'ovaire au moment de l'injection et le taux d'ovulation. Ceci suggère que les follicules recrutés par la PMSG sont plus petits que ceux recrutés à la lutéolyse d'un cycle normal (diamétre supérieur à 2 mm, Driancourt et Cahill, 1984).

Le manque de précision de la réponse et la faible fertilité des troupeaux sont les principaux inconvénients de l'utilisation des gonadotrophines exogènes Les variations dans les réponses individuelles sont telles qu'il est impossible de prédire la moyenne d'ovulation d'un groupe (Land et al, 1982).

### 3.4. Amélioration par le clomiphène

Le clomiphène commercialisé sous le nom d'Estrumate, est une substance faiblement anti-oestrogénique. Snock et Hansel (1971, cités par Philipon, 1988) ont constaté, chez les brebis, que suite à un traitement avec cette substance, il y avait augmentation du taux d'ovulation. Scaramuzzi et al (1982) confirment ce résultat et précisent que le clomiphène peut jouer un rôle dans l'induction de l'ovulation.

### 3.5. Amélioration par l'immunisation contre les stéroïdes

L'immunisation active ou passive contre des stéroïdes sexuels permet une nette augmentation du taux d'ovulation, moins variable qu'avec la PMSG et plus importante que par le flushing. Nous allons revenir plus longuement sur cette méthode dans le point F ci-après.

## E. L'AMELIORATION DE LA PROLIFICITE

La prolificité, définie comme le rapport du nombre d'agneaux nés sur le nombre de brebis qui ont agnelé, est en relation directe avec les taux d'ovulation, de fécondation des ovules et de mortalité embryonnaire.

Nous venons de voir qu'il est possible d'améliorer le taux d'ovulation des races peu prolifiques de différentes manières et que cela peut se répercuter de manière favorable sur la prolificité.

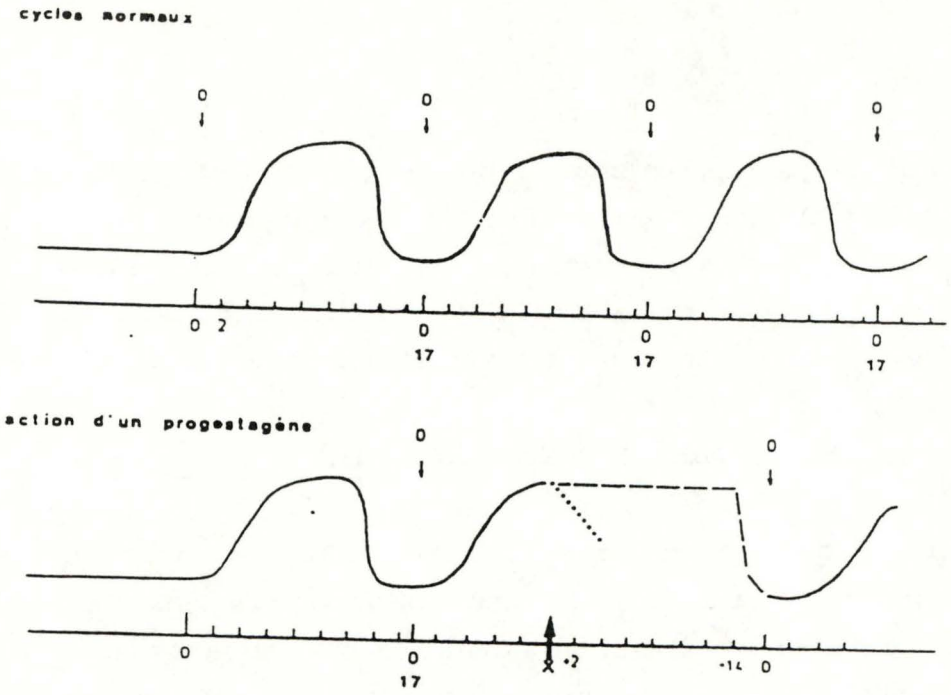



FIGURE 10: Shéma de l'action d'un progestagène sur le contrôle du cycle ovarien (représenté ici par la secrétion de progestérone).

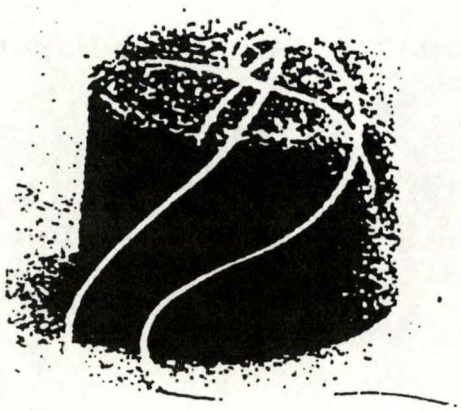


FIGURE 11 : Eponge vaginale.

Mais, il ne faut pas perdre de vue les deux autres facteurs qui ont une action directe sur la prolificité.

## 1. Amélioration du taux de fécondation des ovules

La synchronisation des cycles complétée d'un traitement superovulatoire est une technique fréquemment utilisée pour augmenter la probabilité de fécondation des ovules. Ces manipulations permettent aussi l'insémination artificielle.

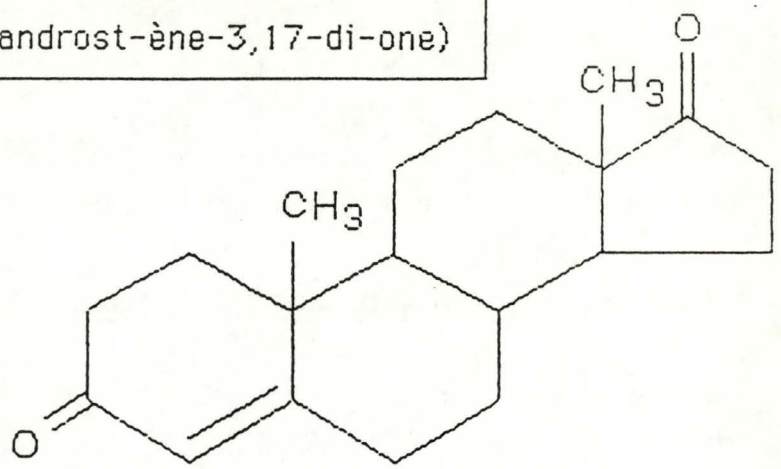
### 1.1. Synchronisation des cycles et traitement superovulatoire (figure 10)

Une association progestagène-PMSG est généralement utilisée pour la synchronisation des cycles et l'induction des chaleurs. Il est important de bien maîtriser le moment de l'ovulation, afin de réaliser l'insemination artificielle sans avoir à détecter les chaleurs. Pour cela, on utilise des substances de synthèses analogues à la progestérone mais dix fois plus actives. Les principales sont l'acétate de médroxyprogestérone (MAP) et l'acétate de fluorogestone (FGA) qui sont administrées le plus souvent à l'aide d'éponges vaginales (fig 11). Elles ont pour rôle de bloquer l'ovulation jusqu'à la fin du traitement.

Des différences ont été observées entre les traitements pour le moment d'apparition des chaleurs, la fertilité des brebis et leur prolificité. Le MAP administré sous forme d'implants sous cutanés est métabolisé plus rapidement que le FGA relargué par une éponge vaginale et l'heure moyenne d'ovulation observée après le traitement MAP est plus précoce qu'avec le FGA (55 vs 62 heures, $p<0,05$, Cognié et Mauléon, 1983 ; cités par Cognié 1988).

La synchronisation des chaleurs est plus précise après FGA qu'après MAP (Derycke et al, 1987). Ceci se traduit par un avantage significatif pour la fertilité qui apparaît en faveur

ANDROSTENEDIONE
(Δ4-androst-ène-3,17-di-one)




**$\Delta_4$-ANDROST-ENE-3,17,DI-ONE**

- .ANDROST : pour androgène
- .$\Delta_4$-ENE : pour la double liaison à partir du $4^{ième}$ carbone (cycle A)
- .3,17-DI-ONE : pour les deux cétones sur le carbone 3 et le carbone 17
- .Présence de deux méthyls en 10 et 13 comme la progestérone

TESTOSTERONE
(17β-hydroxyandrost-4-en-3-one)

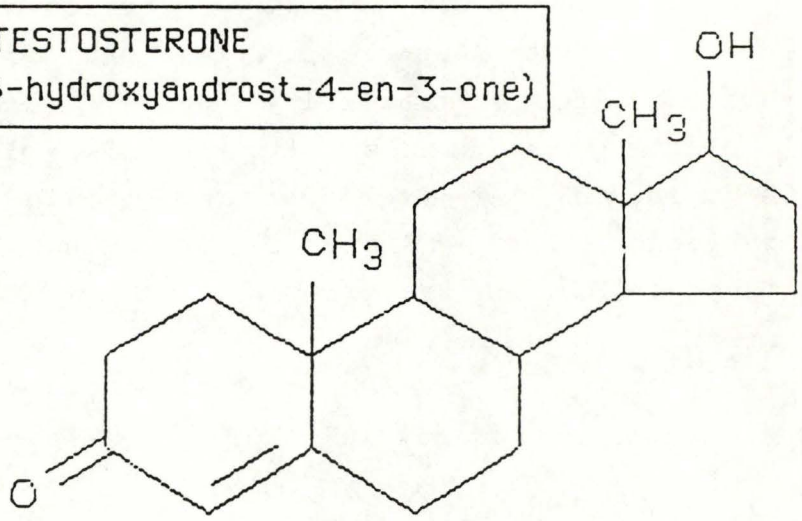



figure 12: structure des principaux androgènes.

des éponges FGA lorsque l'insémination artificielle est réalisée (Gordon, 1977 ; cités par Derycke et al, 1987).

L'injection de PMSG à la fin du traitement aux progestagènes stimule la croissance folliculaire, avance le début des chaleurs et augmente le taux d'ovulation (Cognié et al, 1970 ; cités par Cognié 1988).

1.2. Insémination artificielle

Il existe deux types principaux d'inséminations artificielles, l'insémination exocervicale et l'insémination intra-utérine.

En ovin, l'insémination exocervicale est fortement handicapée par l'impossibilité de franchir le col de l'utérus. Etant donné que la semence est déposée à l'entrée du col, la quantité de spermatozoïdes nécessaires à la fécondation de la brebis doit être élevée, ce qui limite la diffusion des géniteurs. D'autre part, la semence du bélier ne supporte pas bien la congélation. Il est rare que plus de 50 % de spermatozoïdes supportent le traitement, et ceux qui ont survécu ont perdu beaucoup de leur motilité nécessaire pour franchir le cervix. Par conséquent, on insémine le plus souvent les brebis avec du sperme frais qui ne peut être conservé que pendant un maximum de huit heures.

Cependant, l'insémination artificielle peut être performante car il est possible de réaliser une série d'analyses sur la semence fraichement récoltée en vue d'identifier et d'éliminer les éjaculats de mauvaise qualité et de ne garder que les éjaculats contenant des spermatozoïdes vivants, normaux et mobiles.

Récemment est apparue une nouvelle technique d'insémination artificielle : l'insémination intra-utérine qui est pratiquée par endoscopie et qui consiste à injecter une dose de

spermatozïdes directement dans chaque corne utérine. Cette technique qui apparaît au premier abord plus stressante pour l'animal présente de réels avantages par rapport à l'insémination exocervicale :

- elle courtcircuite le barrage que forme le cervix vis-à-vis des spermatozoïdes, barrage d'autant plus important que l'induction de l'ovulation par éponge à progestagène et PMSG semble induire un milieu défavorable au niveau du cervix ;

- elle permet l'insemination artificielle avec une dose beaucoup plus faible de spermatozoïdes (2 x 20 millions par corne utérine au lieu de 400 millions lors de l'insémination exo-cervicale) ;

- elle augmente ainsi le potentiel de diffusion des béliers hautement améliorateurs.

## 2. Réduction de la mortalité embryonnaire

La mortalité embryonnaire qui représente le pourcentage d'embryons qui n'arriveront pas à terme par rapport au nombre total d'embryons que portait la brebis au départ,est un déterminant de la prolificité et peut être due à un milieu utérin défavorable au développement de l'embryon.

Boland et al (1986, cités par Cognié, 1988) ont constaté que la mortalité embryonnaire est plus importante lors de l'immunisation contre l'androstènedione.

Il semble qu'en manipulant les niveaux plasmatiques de progestérone (par injection d'hCG) au moment où l'embryon se fixe sur la paroi utérine, on peut diminuer la mortalité embryonnaire précoce (Cognié, 1988).

## F. IMMUNISATION CONTRE LES STEROIDES : EFFETS SUR LA PHYSIOLOGIE DE LA REPRODUCTION FEMELLE

La prolificité des brebis peut être améliorée en manipulant le taux d'ovulation (Scaramuzzi et Radford, 1983). Dans les méthodes physiologiques modifiant ce taux, des progrès importants sont liés à la mise au point de techniques d'immunisation contre les stéroïdes.

### 1. Historique

Le concept d'autoimmunité consiste à immuniser une brebis contre l'un de ses propres constituants. Ce concept est apparu dans les années 1930 dans le cadre de l'étude de l'activité biologique d'hormones récemment découvertes, les gonadotrophines (Hill et al, 1934 ; Rowlands, 1937 ; Collip et al, 1940 ; tous cités par Titeca, 1987). En effet, Collip et al (1940, cités par Titeca, 1987) avaient constaté une inhibition de l'activité ovarienne suite à une stimulation par des gonadotrophines, chez des brebis traitées avec des gonadotrophines provenant d'espèces hétérologues.

Tout d'abord, il y eut quelques controverses quant à la nature exacte du facteur inhibiteur (Collip et al, 1940 cités par Titeca, 1987) mais l'idée d'une production d'anticorps suite à une stimulation antigénique par les gonadotrophines fut rapidement admise par l'ensemble des chercheurs (Suharti, 1974 ; Eskhol et Lunenfeld, 1975 ; Moudual, 1975 ; tous cités par Martensz et al, 1979).

Les premiers essais d'utilisation des stéroides purs dans les mécanismes d'immunisation ont échoué (D'Armour et al, 1934, cités par Martensz et al, 1979). En effet, ces substances ont un faible poids moléculaire (200 à 400 daltons) et ils ne sont donc pas immunogènes.

Ce problème a été résolu grâce à la découverte du concept d'haptène (Landsteiner, 1936 cité par Scaramuzzi et Hoskinson, 1984) qui a rendu possible la production d'anticorps contre des composés de faible poids moléculaire. Landsteiner a démontré que la conjugaison de substances de faible poids moléculaire, non immunogènes, avec des protéines étrangères de poids moléculaire élevé favorise la production d'anticorps contre ces substances (haptènes).

La première application de ce principe a été effectuée par Clutton et al (1938 ; cités par Martensz, 1980) qui ont produit des anticorps anti-thyroxine. Toutefois, les détails concernant la préparation des conjugués stéroide-protéine ainsi que la production d'anticorps anti-stéroïdes ne sont devenus disponibles que vers les années 1950 (Erlanger et al, 1957, 1959 ; Lieberman et al, 1959 ; cités Titeca, 1987).

La première production d'anticorps anti-stéroides a été réalisée par Sprunt et al (1951, cité par Martensz, 1980). Ceux-ci ont décrit la capacité qu'a un sérum de lapin immunisé contre des conjugués oestrogènes-protéines de lier l'haptène stéroidien.

## 2. Technique d'immunisation contre les stéroides

### 2.1. Préparation des conjugués stéroides-protéines

Pour être rendus antigéniques, les stéroides doivent être liés par une liaison covalente à un porteur immunogénique (généralement une protéine de haut poids moléculaire). En général, cette liaison covalente est réalisée entre un dérivé acide d'un groupe fonctionnel du stéroide (haptène) et un groupe aminé de la macromolécule porteuse (Erlanger et al, 1937, cités par Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

Le maximum de spécificité de l'antisérum apparaît quand la réponse se fait pour le conjugué stéroïde-protéine au site

distal de l'élément structurel visé. De cette façon, le stéroïde expose une surface de reconnaissance immunitaire avec le plus de dissimilitudes vis à vis d'autres stéroïdes (Grover et Odell, 1977 ; cités par Scaramuzzi et Hoskinson, 1984). Lorsque le stéroïde est directement relié à la molécule porteuse, l'antisérum produit en réponse à l'immunisation est incapable de discriminer des stéroïdes ayant des structures chimiques semblables. Par contre, si on insère une chaîne moléculaire entre le stéroïde et la molécule porteuse, l'antisérum produit sera bien plus spécifique (Lieberman et al, 1959, cité par Philipon, 1983).

Les plus communes des molécules porteuses utilisées sont les albumines sériques humaine (hSA) et bovine (bSA).

Les conjugués stéroïdes-protéines ont un faible pouvoir immunogène et dès lors il est nécessaire d'ajouter un immunoadjuvant qui a la capacité d'augmenter la production des anticorps antihaptène (Borrek et al, 1977 ; cités par Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

Les principaux immunoadjuvants sont l'adjuvant complet de Freund (ACF) qui est hautement effectif et capable d'induire une immunité chronique, le dextran sulfate et le DEAE Dextran (Cox et al, 1976). Collectivement, les polyélectrolytes ont l'avantage de la solubilité dans l'eau et une tendance à provoquer une réponse immune aïgue plutôt que chronique à l'antigène.

### 2.2. Les différents types d'immunisation

Il existe deux types d'immunisation : l'immunisation passive et l'immunisation active.

Chaque type présente des avantages et des inconvénients. C'est en fonction de ceux-ci et des buts à atteindre qu'il faut déterminer le type d'immunisation à utiliser.

### 2.2.1. Immunisation passive

L'immunisation passive consiste en l'administration d'anticorps d'origine exogène.

Ce type d'immunisation permet le contrôle du titre d'anticorps de l'animal receveur, évitant ainsi les problèmes d'anoestrus résultant d'une trop forte concentration en anticorps (Land et al, 1982).

L'effet de l'immunisation passive est immédiat et ne fait pas appel au système immunitaire de la brebis.

Un avantage supplémentaire de ce type d'immunisation est qu'il est possible de manipuler l'antisérum avant de l'injecter. On peut par exemple enrichir l'antisérum par un mélange d'anticorps contre différents stéroïdes, ce qui nécessite des doses moins fortes à l'injection.

Mais, il existe également des inconvénients à ce type d'immunisation. Le plus important est la relativement courte durée d'action liée à la demi-vie de l'immunoglobuline administrée.

De plus, l'animal immunisé servant à produire l'antisérum va réagir par une stéroïdogénèse accrue. L'augmentation de la concentration de stéroïdes dans le plasma qui s'ensuit peut, dans certain cas, aboutir à une saturation de l'antisérum limitant la dose d'anticorps à injecter (Scaramuzzi et al, 1977; Martensz, 1980).

En ce qui concerne l'amélioration du taux d'ovulation, l'immunisation passive est valable quel que soit le stéroïde visé.

### 2.2.2. Immunisation active

L'immunisation active, également appelée vaccination, se produit lorsque l'animal secrète lui-même l'anticorps contre l'immunogène injecté. Pour être efficace, il faut généralement faire deux injections (sensibilisation, puis rappel) à quatre semaines d'intervalle.

Les titres d'anticorps obtenus par cette méthode sont largement supérieurs à ceux obtenus par immunisation passive, mais plus variables (Caldwell et al, 1970 ; cités par Philipon, 1983 ; Martensz, 1980).

L'immunisation active contre les stéroïdes provoque toujours chez la brebis une stéroïdogénèse accrue (Scaramuzzi, 1979 ; Scaramuzzi et al, 1980), sous l'influence d'une sécrétion élevée de gonadotrophines (Martensz et al, 1980) et une augmentation du temps de demi-vie du stéroïde. L'augmentation de la concentration en stéroïdes dans le sang est reflétée au niveau de la morphologie de l'ovaire. Dans le cas de l'immunisation contre les androgènes, il se produit une hypertrophie des cellules thécales et une dégénérescence des cellules de la granulosa (Moor, 1977). Il peut en résulter une augmentation ou une diminution du taux d'ovulation (Martensz, 1980).

L'immunisation active produit des anticorps qui ne sont pas seulement dirigés contre les haptènes stéroïdes mais également contre les déterminants antigéniques de la protéine et de l'adjuvant (anticorps non spécifiques). Les anticorps se fixant sur les stéroïdes peuvent ne représenter que quelques pourcents de toute la réponse immunitaire. Il peut y avoir une interférence possible par les anticorps non spécifiques.

Actuellement, l'immunisation active est la méthode la plus simple à mettre en place dans la mesure où le niveau plasmatique d'anticorps est maîtrisé et reproductible (Cognié, 1988)

### 2.3. Procédure d'immunisation contre les stéroïdes

La méthode d'administration de l'immunogène et la fréquence d'administration chez la brebis varient beaucoup entre laboratoires. Les multiples techniques intradermiques (Nieschlag et al, 1971 ; cités par Philipon, 1983) ont l'avantage de ne requérir que quelques microgrammes d'antigène et produisent un taux élevé d'anticorps qui se maintient sur une longue période et évite ainsi la nécessité d'immunisation de rappel (Nieschlag et al, 1975 ; cités par Martensz, 1980).

L'administration sous-cutanée requiert de plus grandes quantités d'antigène et nécessite des injections de rappel ; cette méthode peut également donner des résultats satisfaisants (Abraham, 1974 et Scaramuzzi, 1975 ; cités par Martensz, 1980).

On retient en général les deux traitements mis au point par Cox et al (1982) : le traitement complet consiste en deux injections intramusculaires à deux semaines d'intervalle et le traitement simple est fait de deux injections sous cutanées simples (Philipon, 1983).

## 3. Immunisation contre la progestérone

L'immunisation anti-progestérone provoque l'augmentation du taux plasmatique total de cette hormone mais diminue le taux de progestérone libre (Fairclough et al, 1976 ; cités par Thomas et al, 1987).

Martensz (1980) n'observent pas d'effet du traitement sur l'ovulation, sur la régression lutéale ou sur l'oestrus.

Par contre, Thomas et al (1987) notent une diminution de l'incidence du comportement oestral, une réduction de la longueur des cycles, une absence de régression lutéale et l'apparition d'un nombre élevé de nouvelles ovulations.

En outre, l'immunisation contre la progestérone retarde l'implantation de l'embryon et provoque parfois des avortements (Nieschlag et Wicking, 1978 ; cités par Martensz, 1980).

## 4. Immunisation contre les oestrogènes

Les premières expériences d'immunisation contre les oestrogènes ont été réalisées en utilisant des doses massives d'antisérum provoquant des titres d'anticorps très élevés. Les effets obtenus étaient les suivants :

- augmentation du taux d'oestrogènes totaux, mais diminution du taux d'oestrogènes libres (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984) ;

- suppression de l'oestrus (Scaramuzzi et al, 1970 ; Cox et Wilson, 1976) ;

- suppression du pic pré-ovulatoire de LH (Scaramuzzi et al, 1970) empêche l'ovulation (Cox et Wilson, 1976) ;

- augmentation du niveau moyen de LH par augmentation de la fréquence et de l'amplitude des pulses (Martensz et Scaramuzzi, 1979).

Ces résultats confirment le rôle de l'oestradiol dans le déclenchement du comportement d'oestrus.

L'absence de stéroïde libre pouvant exercer un retrocontrôle négatif sur la sécrétion de LH explique le haut niveau de LH. L'absence de rétrocontrôle positif avant l'ovulation explique la suppression du pic de LH et donc de l'ovulation.

L'utilisation de méthodes d'immunisation n'entraînant pas un titre d'anticorps trop élevé permet de ne pas bloquer le cycle (Cox et Wilson, 1976 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984). On note alors une augmentation du taux d'ovulation (Scaramuzzi et

Radford, 1983 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984). Avec une réponse immunitaire modérée, on obtient une augmentation (20 %) du nombre d'agneaux nés, due principalement à un fort pourcentage de portées doubles (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

## 5. Immunisation contre l'androstènedione

Dans le cas de l'immunisation active, seule l'immunisation contre l'androstènedione reste d'un intérêt pratique chez les brebis,car elle n'entraîne aucune irrégularité dans l'apparition des cycles contrairement aux autres stéroïdes qui pourraient être utilisés (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

### 5.1. Historique

Scaramuzzi et al (1974), dans le cadre d'un programme de recherche sur la fonction des androgènes dans les phénomènes sexuels soumirent des groupes de brebis à une immunisation contre l'androstènedione (Martensz et Scaramuzzi, 1979). Durant une laparatomie de routine, ils constatérent chez ces brebis une proportion très élevée d'ovulations (Scaramuzzi et al, 1977). Cette nouvelle technique pourrait donc permettre d'augmenter les performances d'agnelage chez les brebis.

Après une phase de mise au point, pendant laquelle il fallut résoudre des probèmes d'infertilité (Cox et Wilson, 1976), d'ancestrus et même d'anovulation (Van Look et al, 1978) généralement dus à une trop forte réponse immunitaire (Cox et al, 1976 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984), Scaramuzzi et al (1983) ont montré qu'en contrôlant les conditions d'immunisation on pouvait obtenir un nombre plus élevé de naissances multiples et diminuer le nombre de brebis anovulantes. Mais, pour cela, il a fallu trouver un produit immunogène.

## 5.2. Le produit immunogène

C'est en 1981 qu'a été mis au point le FECUNDIN® : une solution aqueuse de Δ4-androstènedione-7-carboxythioéther-HSA (Human Serum Albumin) à laquelle est ajoutée un adjuvant (DEAE Dextran) destiné à produire une réponse immunitaire rapide. Ce produit est fabriqué par la firme GLAXO d'aprés une brevet CSIRO.

## 5.3. Les effets de l'immunisation active contre l'androstènedione.

### 5.3.1. Taux d'ovulation

Il est clairement admis que l'immunisation contre l'androstènedone provoque une augmentation du taux d'ovulation (Scaramuzzi et al, 1982 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 ; Cognié et al, 1984 ; Bister et al, 1988 ; Philipon, 1988). Chez la brebis Texel, le taux d'ovulation après immunisation active passe de 1,41 à 2,06 (Bister et al, 1988).

Il existe cependant divers facteurs qui peuvent moduler l'effet sur le taux d'ovulation.

a) Effet du poids de la brebis

Une corrélation positive entre le poids des brebis et leur taux d'ovulation a été observée (Merinos d'Arles ; Philipon, 1983). Mais, l'interaction poids/taux d'ovulation ne semble pas être affectée par l'immunisation. En effet, Philipon (1983) a constaté aussi bien chez les brebis immunisées que chez les brebis contrôlées, que chaque augmentation de cinq kilos du poids vif amène un gain de 0,16 ovulation.

D'après Smith et al (1985), la réponse à l'immunisation de brebis ne différant que par le poids se traduit par une tendance non significative à l'augmentation de la prolificité due à

l'immunisation, avec le poids des brebis. La diminution des pertes embryonnaires chez les brebis lourdes permet d'expliquer le fait que le gain de prolificité tend à augmenter avec le poids alors que l'augmentation du taux d'ovulation est constante (Smith et al, 1985).

Driancourt et al (1985) confirment ces résultats en observant un parallélisme dans les droites de régression entre le taux d'ovulation et le poids corporel des brebis Merinos d'Arles immunisées ou non. L'effet de l'immunisation contre les stéroïdes est additif à celui du poids. Les deux facteurs (immunisation et poids) agissent au même stade de la différenciation terminale des follicules (Driancourt et al, 1985).

b) Effet de l'intensité de la réponse immunitaire

La relation entre la réponse immunitaire (mesurée par le titre d'anticorps) et le taux d'ovulation est un sujet de controverse.

Van Look et al (1978), Quirke et al (1986) et Philipon (1988) notent une corrélation positive entre le taux d'anticorps et le taux d'ovulation. Par contre, Martin et al (1979) estiment qu'il n'y a aucune relation entre l'intensité de la réponse immunitaire et le taux d'ovulation.

La variabilité du nombre d'ovulations observée après immunisation passive (alors que les taux d'anticorps sont identiques chez toutes les brebis), (Land et al, 1982) étant la même qu'après immunisation active suggère que l'intensité de la réponse immunitaire a un rôle limité dans la détermination du nombre d'ovulations (Philipon, 1988).

c) Effet du traitement de synchronisation de l'oestrus

Les expériences menées par Philipon (1983) sur des brebis Merinos d'Arles ont montré que la synchronisation des oestrus avec des éponges imprégnées de progestagènes n'affecte pas la réponse à l'immunisation.

5.3.2. Oestrus

Philipon (1983) constate que l'immunisation contre l'androstènedione n'a pas d'influence sur le pourcentage de brebis en chaleur au premier oestrus, qu'elles soient synchronisées ou non.

Les problèmes d'anoestrus rencontrés par certains auteurs après immunisation contre un androgène étaient dus à une trop forte réponse immunitaire (Scaramuzzi et al, 1981 et 1982 ; Geldard et Scaramuzzi, 1983 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

La réponse immunitaire étant très intense pendant la semaine qui suit le rappel (Cox et al, 1982), un délai minimum de deux semaines entre le rappel et la lutte est nécessaire à cause d'un anoestrus temporaire qui peut se produire.

5.3.3. Fertilité et pertes embryonnaires

Scaramuzzi et Hoskinson (1984) observent que la fertilité globale des brebis n'est pas diminuée par l'immunisation.

La détermination du nombre d'ovulations par endoscopies permet de calculer le pourcentage de pertes embryonnaires. Smith et al (1981, cités par Philipon, 1988) estiment qu'il y a un plus grand nombre de pertes embryonnaires chez les brebis immunisées. Par contre, Cox et al (1982), Scaramuzzi et al (1982), Cognié et al (1984) et Philipon (1988) estiment que pour un nombre d'ovulations donné, l'immunisation n'augmente pas la mortalité embryonnaire.

Il est toutefois possible qu'une mortalité embryonnaire plus importante soit associée à des titres d'anticorps élevés (Boland et al, 1986 ; cités par Cognié, 1988).

### 5.3.4. Prolificité

L'élévation du taux d'ovulation suite à l'immunisation contre l'androstènedione se traduit en général par une augmentation de la prolificité. La plus forte augmentation du nombre d'agneaux nés est observée lorsque la lutte commence trois semaines après l'injection de rappel chez les brebis ayant une condition corporelle suffisante. Cette augmentation varie selon les génotypes étudiés (Geldard, 1984). Cela peut aller de 18 % chez les Merinos d'Arles à 40 % chez les Romney pures (Geldard, 1984).

Ces différences peuvent être dues à des réponses à l'immunisation variant avec le génotype (Cognié, 1988).

Driancourt (1987) a constaté que l'augmentation du nombre d'agneaux par brebis traitée à la Fecundin est plus importante lorsque le niveau naturel de prolificité est faible.

### 5.3.5. Répétition du traitement

L'augmentation de la prolificité des brebis est maintenue après l'utilisation répétée du traitement et ne se traduit pas par une augmentation significative des portées égales ou supérieures à trois (Cognié, 1988).

La répétition du traitement n'a donc aucun effet néfaste sur les brebis qui peuvent être immunisées plusieurs années de suite (Philipon, 1988).

### 5.3.6. Descendance

La mortalité post-natale n'est pas affectée par l'immunisation chez les brebis (Philipon, 1988). Scaramuzzi et al (1982) ont montré que l'immunisation n'a aucun effet sur le poids à la naissance et la croissance des agneaux issus de mères traitées. En outre, Smith et al (1985) ont prouvé que l'immunisation est dépourvue d'effet sur la puberté.

Les tailles testiculaires et la production spermatique des béliers issus de mère immunisées ne sont pas affectées (Smith et al, 1985) mais, l'effet de l'immunisation des brebis sur la libido de leurs descendants mâles est controversé. Smith (1983 ; cités par Philipon, 1988) n'a détecté aucun effet alors que Mattner et al (1984 ; cités par Philipon, 1988) observent une moindre activité sexuelle des béliers issus de mères traitées.

### 5.3.7. Sex ratio

Le sex ratio peut être défini par la proportion de naissances d'agneaux sur le nombre de naissances d'agnelles.

Les premières expériences d'immunisation contre l'androstènedione (Scaramuzzi et al, 1982, Scaramuzzi et Hoskinson, 1984) mentionnaient un sex ratio des agneaux complètement modifié en faveur des femelles. Cognié et al (1984) précise que cet effet de l'immunisation contre l'androstènedione serait dû au fait que ces auteurs utilisaient l'adjuvant complet de Freund ce qui induit des titres d'anticorps très élevés en entraîne une plus grande perturbation du système reproducteur. Les expériences plus récentes d'immunisation contre l'androstènedione (Cognié et al, 1984) ne permettent plus de constater cet effet de la vaccination sur le sex ratio.

### 5.3.8. Hormones circulantes

Lors de l'immunisation contre l'androstènedione, des changements marqués sont observés dans la concentration sanguine des hormones circulantes.

Au niveau de la LH (Lutéinizing Hormone) de nombreuses études (Scaramuzzi et Martensz, 1975 ; Martin et al, 1979 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 et Bister et al, 1988) ont montré que la secrétion de LH est activée chez les brebis immunisées; le niveau basal de LH est augmenté, de même que la fréquence de la décharge pulsatile. Par contre, l'amplitude des pics de LH ne change pas.

Au niveau de la FSH (Follicule Stimulating Hormone), on observera lors de l'immunisation contre l'androstènedione une réduction du taux sanguin (Welsh Mountain ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984). Par contre, Titeca (1987) a noté chez les brebis Texel immunisées, un accroissement de la sécrétion de FSH par l'hypophyse.

Au niveau du taux total d'androgènes, il a été observé une augmentation lors de l'immunisation. Par contre, le taux d'androgènes libres diminue dans le cas de l'immunisation contre l'androstènedione. C'est la forte augmentation du niveau basal de LH qui est la cause de la sécrétion accrue des androgènes (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

Au niveau du taux d'oestradiol, les expériences réalisées (Titeca, 1987) ont montré que les brebis immunisées ont des valeurs plus élevées que les brebis témoins.

### 5.4. Les hypothèses de mécanismes d'action de l'immunisation contre l'androstènedione

#### 5.4.1. Niveau d'émission des gonadotrophines

L'hypothèse classique permettant d'expliquer le mécanisme d'action de l'immunisation contre les stéroïdes est que cette immunisation agirait en diminuant le rétrocontrôle négatif exercé par l'ovaire sur la sécrétion des gonadotrophines.

En effet, il a été proposé que le taux élevé de LH dans les hormones aurait un effet antimitotique sur les cellules de la granulosa (Mc Natty et al, 1975 ; cités par Titeca, 1987) et pourrait ainsi permettre aux follicules capables d'ovuler de rester viables sur une période plus longue que normale (Turnbull et al, 1977).

Cette hypothèse a été remise en question par Philipon (1988) qui a montré qu'une augmentation de la pulsatilité de LH n'entraîne aucune augmentation du taux d'ovulation. Il a également constaté qu'il n'y avait aucun effet de la fréquence ou de l'amplitude des pics de LH sur le taux d'ovulation.

Les niveaux de LH doivent dépasser un seuil pour déclencher l'ovulation (Mc Natty et al, 1981) mais ils n'ont pas d'influence sur le taux d'ovulation.

Philipon (1988) a également montré que les niveaux de FSH plasmatiques ne devaient probablement pas être à l'origine de l'augmentation du taux d'ovulation lors de l'immunisation contre les stéroïdes.

Bien que les brebis immunisées contre différents stéroïdes montrent une tendance à l'augmentation du taux d'ovulation, leur profil de FSH est différent (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

Dans le cas de l'immunisation contre l'androstènedione, il semblerait qu'il y ait une diminution du taux de FSH (Martensz et Scaramuzzi, 1979).

Par contre, après immunisation contre la testostérone, le taux de FSH ne paraît pas modifié (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984).

Dans le cas de l'immunisation contre l'androstènedione il semblerait qu'il y ait une diminution du taux de FSH (Martensz et al, 1976 ; Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 ; Philipon, 1983,

1988) mais les résultats de Titeca (1987) tendent à montrer le contraire.

Si l'élévation du taux d'ovulation des brebis immunisées peut être difficilement explicable par les modifications quantitatives des gonadotrophines, il reste l'hypothèse d'une éventuelle différence qualitative. En effet, plusieurs types de FSH montrant différentes activités biologiques ont été caractérisés (Robertson et al, 1982 ; cités par Philipon, 1988).

### 5.4.2. Sensibilité des ovaires aux gonadotrophines

Les niveaux de gonadotrophines circulantes n'étant probablement pas responsables du taux d'ovulation élevé des brebis immunisées contre l'androstènedione, il reste la possibilité d'une plus grande sensibilité des ovaires aux gonadotrophines (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 ; Driancourt et al, 1985).

La sensibilité des ovaires aux gonadotrophines a été testée par injection de PMSG (Bindon et al, 1971). Les expériences ne permettent pas de prouver une influence de l'immunisation contre l'androstènedione sur la réponse ovarienne (Smith et al, 1983 ; Boland et al, 1985 ; Philipon, 1988).

Philipon (1988) observe que des injections de PMSG chez des brebis peu prolifiques immunisées ou non induisent une augmentation du taux d'ovulation mais qu'aucune différence significative n'est apparue entre les brebis immunisées et les témoins quelle que soit la dose de PMSG. De même, chez des brebis prolifiques, Philipon (1988) observe que l'injection de 500 UI de PMSG induit une augmentation du taux d'ovulation chez les brebis témoins mais pas chez les brebis immunisées. Cependant aucune différence significative n'apparaît pour le nombre d'ovulations entre les deux types de brebis.

Ces résultats ne sont pas étonnants puisque Driancourt et al (1985) n'ont relevé aucune différence de population folliculaire entre brebis immunisées et témoins. Or, la réponse au PMSG est très fortement liée au nombre de follicules présents sur l'ovaire au moment de l'injection (Driancourt, 1987).

### 5.4.3. L'importance des androgènes ovariens

Il a été suggéré que les androgènes ovariens augmentent l'atrésie folliculaire (Louvet et Vaitukaikis, 1975). Il est donc possible que la liaison des androgènes par des anticorps diminue la proportion des follicules de diamètre supérieur à 3 mm subissant l'atrésie et donc augmente le taux d'ovulation du fait de la plus grande disponibilité de ces follicules (Martensz et Scaramuzzi, 1979).

Il semble que l'androstènedione circulante limite le recrutement folliculaire, ne modifie pas l'action favorable des oestrogènes sur la croissance des follicules mais s'oppose à l'action protectrice des oestrogènes contre l'atrésie (Titeca, 1987).

### 5.4.4. L'importance de la progestérone

Philipon (1988) propose une nouvelle hypothèse des mécanismes d'action de l'immunisation basée sur le fait que les taux d'anticorps obtenus après immunisation active ou passive sont tels qu'on ne peut garantir la spécificité de la liaison in vivo (Webb communic pers ; cité par Philipon, 1988).

Dans ces conditions, l'immunisation contre quelque stéroïde que ce soit peut fort bien être équivalente à la liaison d'un stéroïde particulier intervenant dans la régulation de la croissance folliculaire terminale.

Le candidat le plus probable semble être la progestérone.En effet, cette hormone a une action inhibitrice directe sur la différenciation terminale du follicule.

Chez les brebis immunisées contre l'androstènedione, la progestérone est liée à raison de 86 % alors que cette liaison est nulle chez les témoins (Cambpell et al, 1987).

De plus, l'immunisation contre l'androstènedione est inefficace en phase lutéale (Philipon, 1988), c'est-à-dire au moment où la sécrétion de progestérone est très forte (Campbell et al, 1987), et donc, où la fraction libre est suffisante pour exercer une action inhibitrice sur la croissance folliculaire terminale.

En traitant des animaux avec de l'Epostase, Webb (1987) a induit une forte diminution du niveau sanguin de progestérone. La réponse ovarienne de ces animaux est identique à celle des animaux immunisés contre les stéroïdes.

L'abolition du rôle paracrine inhibiteur de la progestérone libre pourrait donc participer à l'effet de l'immunisation contre les stéroïdes sur le taux d'ovulation (Philipon, 1988).

# DEUXIEME PARTIE

# TRAVAIL PERSONNEL

## A. OBJECTIFS POURSUIVIS

La revue bibliographique rend compte que des progrès importants dans le domaine de l'amélioration de la prolificité des brebis peuvent être espérés en manipulant le taux d'ovulation par la mise au point des techniques d'immunisation contre les stéroïdes et en particulier contre l'androstènedione.

Des expériences antérieures réalisées par le laboratoire ont montré que :

- le taux d'ovulation des brebis Texel traitées avec le Fecundin® (produit immunogène) est passé de 1,41 à 2,06 en raison d'un recrutement folliculaire augmenté et d'une moindre atrésie ;

- l'insémination intra-utérine a donné une meilleure fertilité que l'insémination exocervicale ;

- les essais comparatifs de deux types d'éponges commercialisés en Belgique, Veramix de la firme Upjohn imbibées de 60 mg d'acétate de médroxyprogestérone (MAP) et Chronogest de la firme Searle imbibées de 40 mg d'acétate de fluorogéstone (FGA) n'a pas montré de différence de fécondité lors de saillies par monte en main ; il a pourtant été observé que les chaleurs étaient beaucoup plus longues et moins synchronisées avec le MAP.

Les mécanismes d'action de l'immunisation contre l'androstènedione sont encore mal cernés. On ne connaît pas encore le rôle exact de l'androstènedione ni l'importance de la progestérone dans ce type d'immunisation.

De même l'effet de l'immunisation contre l'androstènedione est encore à preciser lorsque cette immunisation est associée

certaines techniques jusqu'ici étudiées surtout au niveau fondamental (synchronisation des cycles, insémination artificielle).

Enfin, la spécificité des anticorps produits suite à la réponse immunitaire induite par l'injection de Fecundin n'est pas absolue. Il pourrait y avoir une influence relative des anticorps non spécifiques sur la réponse ovarienne (croissance folliculaire et sécrétion accrue d'oestrogènes) et la réponse utérine (forte mortalité embryonnaire ou mauvaise nidation lors de la fécondation dans les trois semaines après le rappel de Fecundin).

En vue de tenter de répondre à ces incertitudes, nous avons donné à notre travail les principaux objectifs suivants :

- tester les effets de l'immunisation contre l'androstènedione lors d'ovulations synchronisées avec éponges et PMSG chez des brebis Texel;

- comparer deux types d'éponges commercialisées en Belgique, Chronogest et Veramix, dans le cas de l'insémination artificielle ;

- comparer les effets de deux modes d'insémination artificielle (exocervicale et intra-utérine) sur la fertilité des brebis Texel ;

- apporter des éléments de réponse sur le rôle de la progestérone dans le mécanisme d'action de l'immunisation contre l'androstènedione, en stimulant des brebis immunisées par l'injection de 750 UI de hCG (Human Chorionic Gonadotrophin) soit en phase lutéale, soit en phase folliculaire ;

- mesurer les titres d'anticorps pour les androgènes, les oestrogènes et la progestérone produits suite à l'immunisation

contre l'androstènedione, en vue d'éclaircir l'importance de l'influence des anticorps non spécifiques.

## B. ANIMAUX ET PLANS EXPERIMENTAUX

Les expériences sur les brebis ont été réalisées au Centre de Recherches Ovines de Faulx-les-Tombes . Les dosages hormonaux ont été effectués au Laboratoire de Physiologie Animale des Facultés Notre-Dame de la Paix à Namur.

La première expérience, consistait à tester l'immunisation contre l'androstènedione chez des brebis ayant reçu un traitement progestagène associé à une dose de 500 UI de PMSG, et inséminées selon deux modes différents. Elle a été réalisée sur 73 brebis et 18 agnelles Texel. Ces animaux ont été répartis en deux groupes de 45 (groupe témoin) et 46 (groupe immunisé).

L'immunisation a eu lieu le 29 août et le rappel le 26 septembre soit 4 semaines plus tard. Le 4 octobre, la moitié des brebis de chaque groupe a reçu une éponge intravaginale imbibée de FGA. Le 5 octobre, l'autre moitié de chaque groupe a reçu une éponge imbibée de MAP pour synchroniser les chaleurs. Le retrait des éponges a été réalisé le 18 octobre pour les deux groupes. En même temps, une dose de 500 UI de PMSG leur a été injectée par voie intra-musculaire pour induire la superovulation. Le 3 et 4 novembre, 20 brebis de chaque groupe ont été prises au hasard et soumises à une endoscopie pour estimer le taux d'ovulation par observation du nombre de corps jaune à la surface des ovaires.

Vingt-deux inséminations in utero et soixante-neuf inséminations par voie exocervicales ont été réalisées le 20 octobre en veillant à une juste répartition entre les brebis

témoins et les brebis immunisées, de même que entre les brebis synchronisées avec les éponge de type Chronogest (FGA) et celles synchronisées avec les éponges de type Veramix (MAP)

Deux repasses ont été permises le 3 et le 20 novembre par introduction d'un bélier dans les différents lots de brebis.

Des échographies ont été réalisées à toutes les brebis après un mois, un mois et demi, deux mois et demi et trois mois et demi.

Des pesées ont été effectuées depuis le début du traitement jusqu'à la fin des agnelages.

Des prises de sang ont été faites le 12 septembre, le 26 septembre, le 10 octobre et le 18 novembre en vue d'établir l'évolution des titres d'anticorps.

Le 12 mars, le 29 mars et le 15 avril 12 mg de DEXAFORT ont été injectés respectivement au brebis gestantes de l'insémination artificielle, de la première repasse et de la seconde repasse.

La seconde expérience a été réalisée pour tester l'effet de l'immunisation contre l'androstènedione lorsque l'ovaire est soumis à un environnement endocrinien, local et particulier : la phase lutéale. Elle a nécessité l'utilisation de 12 brebis Texel immunisées contre l'androstènedione en même temps que les animaux de la première expérience.

Le 12 septembre les 12 brebis ont été synchronisées par pose d'éponges intravaginales de type FGA.

Le 5 octobre, la moitié du groupe de brebis a reçu une injection de 750 UI d'hCG au jour 6 (phase lutéale). La deuxième moitié du groupe de brebis a reçu une injection de 750 UI d'hCG au jour 16, soit le 14 octobre (stimulation en phase folliculaire).

Trois jours après l'injection d'hCG, le 8 octobre pour le premier groupe et le 17 octobre pour le deuxième groupe, les ovaires des brebis ont été examinées par endoscopies en vue d'établir le taux d'ovulation par observations des corps jaunes à la surface de l'ovaire.

## C. TECHNIQUE ET TRAITEMENTS UTILISES

### 1. Immunisation

Le produit immunogène injecté est le Fecundin® qui est préparé par la firme pharmaceutique Glaxo sous un brevet C.S.I.R.O. Le Fecundin® est un produit à base de Δ4 androstènedione - 7 - carboxyéthylthioéther - HSA en solution aqueuse, dans un adjuvant (DEAE dextran) destiné à produire une réponse immunitaire rapide.

Les brebis reçoivent deux injections (2 ml : sensibilisation ; 1 ml : rappel) sous-cutanées à quatre semaines d'intervalle.

### 2. Synchronisation des cycles et superovulation

Le principe consiste en l'association d'un blocage du développement folliculaire et de l'ovulation par la progestérone ou par des substances de synthèses analogues et en l'administration de gonadotrophines stimulant la croissance terminale des follicules à la fin de la période de blocage.

La technique que nous avons retenue est la pose intravaginale d'éponges de polyuréthane imbibées d'une substance de synthèse analogue à la progestérone. Deux types d'éponges ont

été retenues, contenant respectivement 60 mg de MAP (Veramix) et 40 mg de FGA (Chronogest).

L'éponge fixée au bout d'un tube de PVC est introduite jusqu'au fond du vagin et est laissée en place grâce à un mandrin situé dans le tube. Avant chaque pose d'éponge,le PVC est nettoyé dans une solution désinfectante et enduit d'une crème antiseptique facilitant la pose de l'éponge.

Le retrait de l'éponge se pratique en tirant vers le bas, la ficelle qui sort de la vulve de la brebis et qui est reliée à l'éponge.

Le retrait se fait le matin du 14ème jour après la pose d'une éponge de type Chronogest et le matin du 13ème jour après la pose d'une éponge du type Veramix.

En même temps que le retrait de l'éponge, on injecte par voie intramusculaire 500 UI de PMSG afin d'augmenter la qualité, la quantité et la synchronisation des ovulations. La PMSG utilisée est commercialisée sous le nom de Folligon par la firme Intervet. Le principe actif (la gonadotrophine extraite du sérum de jument en gestation) est lyophilisée et un second facon contient le solvant car le produit en solution ne se conserve que quelques semaines.

Une autre méthode de synchronisation de l'ovulation consiste à injecter 0,8 ml d'Estrumate (substance faiblement anti-oestrogénique) en intramusculaire.

### 3. Insémination artificielle

Pour pouvoir être inséminées, les brebis doivent être soumises à une synchronisation des ovulations (éponges vaginales ou estrumate). Ainsi, on insémine à heure fixe et précise.

### 3.1. La récolte de la semence

La récolte de la semence se fait à l'aide d'un vagin artificiel maintenu à chaud (42 ° C). Lorsque le bélier veut saillir la brebis mise artificiellement en chaleur, l'on détourne le pénis dans le vagin artificiel. Commencent alors divers examens (volume de l'éjaculat, mobilité massale, concentration, % de spermatozoïdes morts et anormaux) afin de ne retenir que les bons éjaculats. Ensuite, on dilue la semence avec du lait écrémé de façon à ce qu'une paillette (0,25 ml) contienne 450 ou 200 millions de spermatozoïdes fécondants pour réaliser respectivement l'insemination artificielle d'une brebis par voie exocervicale et de deux brebis par voie intra-utérine. Après dilution, la semence est lentement refroidie jusqu'à 14,5°C. A cette température, elle peut être conservée quelques heures.

### 3.2 L'insémination exocervicale

Pour réaliser l'insémination exocervicale, il faut immobiliser la brebis sur un chevalet à insémination ce qui la met en position idéale pour pratiquer l'insémination artificielle. Une fois la brebis immobilisée, l'inséminateur écarte les lèvres de la vulve grâce à un speculum, repère l'entrée du col de l'utérus et y injecte le contenu de la paillette de spermatozoïdes grâce à un pistolet d'insémination.

### 3.3. L'insémination intra-utérine

Le déroulement de l'insémination intra-utérine peut se résumer comme suit :

- la brebis est placée en décubitus dorsal sur une table d'endoscopie, tondue (éventuellement rasée) sur la face ventrale à proximité du pis et désinfectée à l'aide d'une teinture d'iode ;

- une anesthésie locale est effectuée de part et d'autre de la ligne médiane à environ 5 cm de distance avec 2 x 0,5 ml de Xylocaïne à 2 % + Adrénaline (il faut éviter soigneusement la vascularisation mammaire) ;

- l'endoscope et la seringue d'insémination sont introduits dans la cavité abdominale après perforation à l'aide de trocarts permettant l'insertion d'instruments de 5 mm de diamètre et munis de robinets à double voie autorisant l'insufflation d'air;

- à l'aide d'un compresseur de l'air est insufflé dans la cavité abdominale afin d'y soulever la paroi et permettre la visualisation des cornes utérines.

- l'extrémité effilée de la seringue d'insémination est introduite successivement dans chaque corne utérine et 50 millions de spermatozoïdes y sont injectés.

## 4. Détection de l'oestrus

Des béliers vasectomisés munis de harnais marqueurs détectent les brebis en chaleur. En cas de tests répétés, les couleurs des crayons sont changées avant chaque détection de manière à éviter toute confusion entre brebis anciennement et nouvellement marquées. Ceci est important pour différencier les brebis gestantes et les séparer.

## 5. Endoscopie

L'endoscopie est l'observation d'un organe interne à l'aide d'une sonde optique. Cette technique permet d'observer aisément les ovaires lorsqu'on y est familiarisé.

Le déroulement de l'opération peut se résumer comme suit. La brebis est maintenue immobile en décubitus dorsal sur une table de contention. Le corps est incliné légèrement, la tête vers le bas, pour faciliter l'observation des ovaires grâce au

tassement des vicères contre le diaphragme. La paroi abdominale est rasée et désinfectée avec une solution de teinture d'iode. Deux anesthésies locales avec de la Xylocaine sont pratiquées aux endroits prévus pour la pose de l'endoscope et du palpeur, c'est à dire à quelques cm de part et d'autre de la ligne médiane et à une dizaine de cm de la naissance du pis, en évitant soigneusement de sectionner la veine mammaire. Les instruments introduits dans la cavité abdominale après perforation du trocart sont un endoscope de 5 mm de diamètre, de la marque Pouret muni d'une fibre souple qui le relie à une source lumineuse de 150 W et d'un manipulateur de 5 mm de diamètre terminé par une petite pince pour la préhension et le maintien du pavillon du ligament ovarien. De l'air est insufflé au moyen d'un petit compresseur afin de soulever la paroi abdominale et le péritoine.

Le tractus génital est ainsi livré à l'oeil de l'observateur. Une observation rapide permet de distinguer l'ovaire droit de l'ovaire gauche et ses faces (externe ou interne). On reporte les observations (nombre de corps jaunes, nombre et taille des follicules) sur une carte ovarienne.

A la fin de l'observation des ovaires, les instruments sont retirés et désinfectés, on laisse la cavité abdominale se dégonfler, on désinfecte les incisions avec une poudre chirurgicale antiseptique (SPITALEN®) et la brebis reçoit une injection intramusculaire de penicilline.

## 6. Echographie

L'échographie, technique permettant un diagnostic de gestation, est réalisée grâce à un appareil composé d'une sonde émettrice-réceptrice, d'un ordinateur et d'un moniteur vidéo.

La sonde émet des ultrasons qui sont réfléchis différemment selon la densité des structures qu'elles rencontrent. Les ondes

réfléchies (échos) sont analysées en données numériques par l'ordinateur puis reproduites sur le moniteur vidéo.

Pour l'examen, la brebis est placée debout, côté queue vers l'opérateur qui place la sonde dans la région de l'aine et balaye la région de l'utérus en faisant pivoter la sonde au bout du poignet.

## 7.Prises de sang

Les prises de sang sont effectuées dans la veine jugulaire. La brebis est garrotée à la base du cou afin de rendre la veine visible et une aiguille stérile y est introduite. Le sang est récolté dans des tubes préalablement héparinés qui sont immédiatement centrifugés ; le plasma est recueilli puis congelé à - 20 ° C jusqu'au moment de l'analyse.

## 8. Mesure du titre d'anticorps

### 8.1. Le principe

Le dosage du titre d'anticorps est basé sur le principe suivant. Du plasma dilué de façon croissante est mis en présence d'une quantité fixe d'hormone marquée, de quantité connue. Cette hormone marquée se lie aux anticorps contenus dans le plasma. En ajoutant du Dextran-Charcoal, substance qui a pour propriété d'absorber l'hormone marquée libre, le complexe Ac-hormone marquée radioactive se retrouve dans le surnageant du plasma.

Une mesure au compteur à scintillations (radiation ß ) de ce surnageant permet de connaître la radioactivité qu'il contient. Celle-ci est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps contenue dans le plasma

8.2. La méthode

*Dilution* : l'hormone marquée est diluée, pour avoir une activité radioactive d'environ 6.000 dpm/100 µl. Les plasmas sont à leur tour dilués (10, 100, 1.000, 10.000, 100.000 fois) à l'aide d'un tampon egg-white (tampon Wide albuminé à 5 % à l'aide d'albumine d'oeuf).

*Fixation ag-ac* : 100 µl d'hormone marquée sont ajoutés à 100 µl de chaque dilution des plasmas, dans des tubes. On laisse incuber 2 heures au frigo (4° C).

*Séparation* : on ajoute 500 µl de DEXTRAN-CHARCOAL qui a pour propriété de précipiter l'hormone marquée libre. On laisse incuber 10' à 0° C. Une centrifugation à 0 ° C pendant 10' à ± 2.000 tours par minute permet d'isoler les deux phases. On prélève 350 µl du surnageant que l'on met dans 3,5 ml de Lumagel® contenus dans des fioles de polyéthylène.

*Comptage* : après mélange au Vortex des fioles, la lecture s'effectue au compteur à scintillations liquide de type BECKMAN LS 1801 pendant cinq minutes

Le titre d'anticorps considéré, comme la dilution à laquelle 50 % de l'hormone est fixée, est déterminé par la formule :

$$d50 = \frac{2 \cdot \Sigma (Yi-BG)}{Cm \quad \Sigma \left(\frac{1}{di}\right)}$$

où : Cm = nombre de coups maximum
BG = Back ground (nombre de coups minimum)
Yi = nombre de cpm des échantillons
di = dilution des plasmas

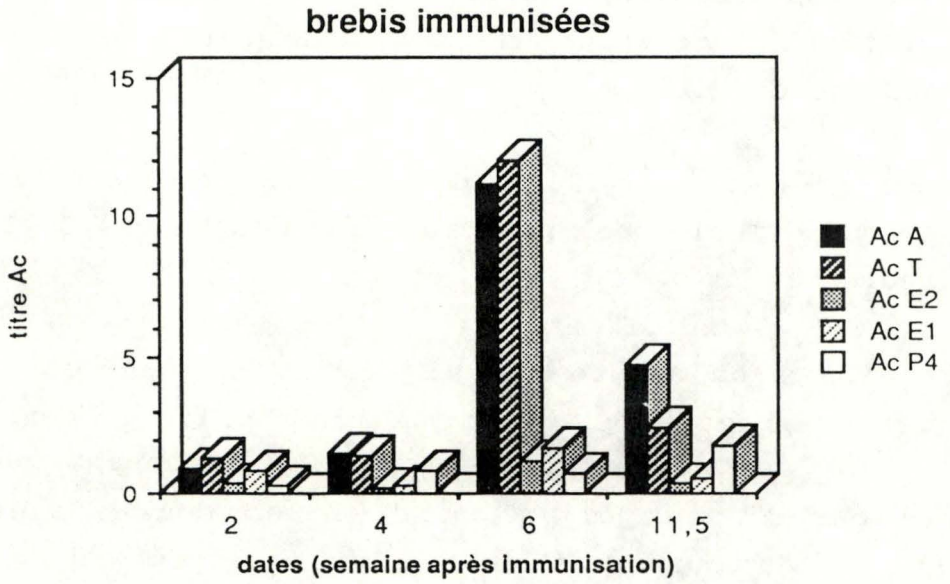



figure 1: évolution moyenne des titre d'anticorps anti stéroides sexuels des brebis immunisées.

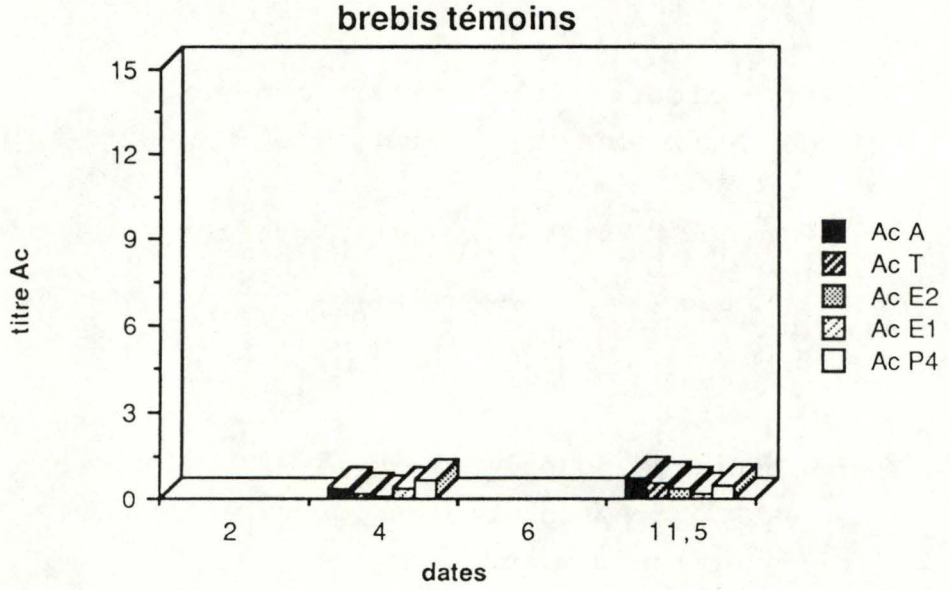



figure 2: évolution moyenne des titres d'anticorps anti stéroides sexuels des brebis témoins.

# D. RESULTATS

## PREMIERE EXPERIENCE

### 1. Intensité de la réponse immunitaire

La vaccination effectuée par les injections de Fecundin a pour but de faire apparaître des anticorps spécifiques contre le Δ4-androstènedione. Nous avons analysé l'intensité de cette réponse immunitaire en mesurant les titres d'anticorps spécifiques trouvés dans le plasma des animaux traités et des animaux témoins et en recherchant de la même manière des anticorps non-spécifiques.

Les valeurs individuelles des titres d'anticorps des brebis immunisées et des brebis témoins depuis le 12 septembre soit deux semaines après l'immunisation, jusqu'au 18 novembre soit deux semaines après les endoscopies sont reprises dans l'annexe n° 1.

Le tableau 1 donne les valeurs moyennes des titres d'anticorps observés depuis le 12/09 (15 jours après l'immunisation) jusqu'au 18/11 (un mois après l'insémination) et les figures 1 et 2 représentent les graphiques de l'évolution moyenne de ces titres d'anticorps anti-stéroides sexuels respectivement pour le groupe immunisé et pour le groupe témoins.

#### 1.1. Anticorps spécifiques contre l'androsténedione

Suite à la première injection de 2 ml de Fecundin, un taux d'anticorps anti-androstènedione apparaîtet se stabilise à un niveau variable selon les brebis, mais encore faible.

Après le rappel, le taux atteint un nouveau plateau d'une intensité beaucoup plus élevée.

**TABLEAU N° 1 evolution moyenne des titres d'anticorps anti-stéroides sexuels.**

| EVOLUTION MOYENNE DU TITRE D'ANTICORPS | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Evolution moyenne des titres d'anticorps anti-stéroïde des brebis immunisées | | | | |
| | 12/09 | 26/09 | 10/10 | 18/11 |
| Titre Ac anti-androstènedione | 0,95 | 1,53 | 11,19 | 4,70 |
| Titre Ac anti-testostérone | 1,35 | 1,36 | 12,04 | 2,47 |
| Titre Ac anti-progestérone | 0,27 | 0,82 | 0,79 | 1,81 |
| Titre Ac anti-oestradiol | 0,33 | 0,15 | 1,23 | 0,33 |
| Titre Ac anti-oestrone | 0,85 | 0,28 | 1,68 | 0,58 |
| Evolution moyenne des titres d'Ac anti-stéroïdes des brebis témoins | | | | |
| | 12/09 | 26/09 | 10/10 | 18/11 |
| Titre Ac anti-androstènedione | | 0,36 | | 0,77 |
| Titre Ac anti-testostérone | | 0,23 | | 0,54 |
| Titre Ac anti-progestérone | | 0,65 | | 0,51 |
| Titre Ac anti-oestradiol | | 0,14 | | 0,36 |
| Titre Ac anti-oestrone | | 0,42 | | 0,21 |

Chez les brebis témoins, le taux est toujours proche de zéro. Il est donc évident que l'immunisation provoque la formation d'anticorps spécifiques à l'androstènedione.

1.2. Anticorps non-spécifiques

L'immunisation anti-androstènedione provoque également la formation d'anticorps non spécifiques. En effet, les titres

TABLEAU 2 moyenne des pertes de poids des groupes témoin et immunisé.

| | brebis et agnelles témoins | brebis et agnelles immunisées | t stat | p |
|---|---|---|---|---|
| moyenne de pertes de poids | 3,2 ± 1,17<br>n = 43 | 4,4 ± 1,8<br>n = 44 | -3,69<br>85 dl | >99,95 % |
| | brebis témoins | brebis immunisées | | |
| moyenne de pertes de poids | 3,5 ± 1,0<br>n = 35 | 4,9 ± 1,6<br>n = 36 | -4,09<br>69 dl | >99,95 % |
| | agnelles témoins | agnelles immunisées | | |
| moyenne de pertes poids | 1,9 ± 0,83<br>n = 8 | 2,5 ± 1,1<br>n = 8 | -1,303<br>14 dl | > 90 % |

d'anticorps anti-testostérone, anti-progestérone, anti-oestrone, anti-oestradiol sont à l'époque de l'insémination artificielle respectivement de 12,04 ± 6,81 ; 0,79 ± 0,62 ; 1,68 ± 1,75 et 1,23 ± 1,43 chez les brebis immunisées. Pour les brebis témoins, ces taux d'anticorps restent proches de zéro (0,23 ± 0,14 ; 0,65 ± 0,19 ; 0,42 ± 0,21 et 0,14 ± 0,08 respectivement).

Les anticorps produits par les brebis immunisées reconnaissent de façon équivalente les deux androgènes que sont l'androstènedione et la testostérone.

En ce qui concerne l'oestrogène, l'apparition d'anticorps est variable, presque nulle pour certains animaux, relativement importante pour d'autres.

La liaison de la progestérone est faible sur le plasma des brebis immunisées.

Les tests de comparaison de moyennes entre les titres d'anticorps spécifiques (anti-androstènedione) et non spécifiques des brebis immunisées et témoins montrent qu'il y a apparition sigificative d'anticorps non spécifiques pour chaque hormone considéré ($P > 0.99$).

## 2. Evolution du poids vif

Au cours de l'expérience, les animaux ont été pesés régulièrement, et nous avons observé chez la plupart des individus une perte de poids plus ou moins importante (annexe n° 2).

Nous avons cherché à savoir si cette baisse de poids est en relation avec le traitement d'immunisation. Comme le montre le tableau 2 représentant les moyennes des pertes de poids des groupes témoin et immunisé. Il semble que cette perte de poids, bien qu'elle soit peu importante, est plus marquée chez les brebis et agnelles imunisées que chez les brebis et agnelles

TABLEAU 3 RESULTATS Taux d'ovulation.

| brebis immunisees | T.O. | brebis temoins | T.O. |
|---|---|---|---|
| 61 | 1 | 111 | 1 |
| 110 | 3 | 123 | 2 |
| 124 | 1 | 132 | 2 |
| 164 | 2 | 179 | 1 |
| 175 | 2 | 32 | 1 |
| 213 | 2 | 33 | 1 |
| 249 | 3 | 65 | 2 |
| 176 | 2 | 67 | 2 |
| 94 | 1 | 129 | 2 |
| 130 | 1 | 73 | 2 |
| 155 | 2 | 99 | 2 |
| 239 | 2 | 154 | 2 |
| 241 | 2 | 159 | 2 |
| 51 | 3 | 160 | 1 |
| agnelles imm. | | agnelles tém. | |
| 308 | 3 | 304 | 1 |
| 309 | 2 | 318 | 2 |
| 321 | 2 | 324 | 1 |
| 329 | 1 | 325 | 1 |
| 302 | 1 | | |
| 320 | 2 | | |

| | | |
|---|---|---|
| moyenne breb | 1,93 | 1,64 |
| moyenne agn | 1,83 | 1,25 |
| ecartype breb | 0,73 | 0,50 |
| ecartype agn | 0,71 | 0,48 |
| moyenne tot | 1,90 | 1,56 |
| ecartype tot | 0,72 | 0,51 |

témoins. Cette différence est peut-être due au stress des injections et des manipulations ou à la réaction des animaux vaccinés mais normalement pas à d'autres facteurs puisque les deux lots d'animaux étaient rassemblés dans la même prairie.

En ce qui concerne la corrélation entre le poids vif des brebis à l'époque des inséminations artificielles et le titre d'anticorps des brebis immunisées, le coefficient calculé est de 0,01. Il y a donc une probabilité très faible d'avoir une relation entre le poids de la brebis et le titre d'anticorps développé.

### 3 le taux d'ovulation.

Vingt brebis de chacun des lots immunisés et témoins ont été pris au hasard et soumises à une endoscopie 12 jours après l'insémination pour estimer le taux d'ovulation (T.O.) par obvservation des corps jaunes présents à la surface des ovaires.

Les nombres d' ovulations observées pendant les endoscopies dans les lots immunisés et témoins sont repris dans le tableau 3 pour les brebis et les agnelles.

On observe 30, 50 et 20 % de brebis et agnelles immunisées présentant respectivement 1, 2 et 3 ovulations simultanées alors que pour le lot Contrôle on constate 44 % et 54 % de brebis et agnelles présentant respectivement 1 et 2 ovulations. Aucune brebis non immunisée n'a présenté de triple ovulation.

Le taux d'ovulation moyen passe de 1,56 ± 0,51 dans le groupe contrôle à 1,90 ± 0,72 dans le groupe des brebis immunisées. La différence est significative ($P>0,95$) lorsque l'ensemble des brebis et agnelles est pris comme base d'analyse, alors que le nombre trop faible d'animaux dans chaque classe ne permet pas d'accepter une différence entre brebis immunisées et non ou entre agnelles immunisées et témoins qu'avec une $P>0,85$ (tableau 4).

TABLEAU 4 comparaison des taux d'ovulation des groupes témoin et immunisé

| | T.O. brebis et agnelles témoins | T.O. brebis et agnelles immunisées | t stat | p |
|---|---|---|---|---|
| moyenne | 1,56 ± 0,51<br>N = 18 | 1,90 ± 0,72<br>N = 20 | 1,70<br>36 dl | >95 % |
| | T.O. brebis témoins | T.O brebis immunisées | | |
| moyenne | 1,64 ± 0,44<br>N = 14 | 1,86 ± 077<br>N = 14 | 0,87<br>26 dl | >85 % |
| | T.O. agnelles témoins | T.O agnelles immunisées | | |
| moyenne | 1,25 ± 0,50<br>N = 4 | 1,83 ± 0,75<br>N = 6 | 1,35<br>8 dl | >85 % |

En ce qui concerne la corrélation entre le nombre d'ovulations et le titre d'anticorps peu avant les endoscopies, le coefficient de corrélation est de 0,49 pour un nombre de 20 observations. L'analyse de la signification de ce coefficient nous donne une probabilité comprise entre 0,97 et 0,99 ce qui est significatif.

Par contre, l'analyse de la corrélation pouvant exister entre le nombre d'ovulations et le poids des brebis immunisées et témoins ne laisse apparaître aucune différence significative, bien que le poids moyen des brebis tend à augmenter avec le nombre d'ovulations.

## 4. Résultats obtenus aux agnelages

Après toutes ces analyses fondamentales, il est utile de voir les résultats pratiques en termes de mises-bas obtenues suite aux traitements. Ainsi, nous verrons en premier lieu l'influence de l'immunisation, puis les effets du progestagène utilisé pour la synchronisation des cycles et enfin l'influence du mode d'insémination artificielle.

### 4.1. Influence de l'immunisation

Les résultats de reproduction des brebis et agnelles suite à l'insémination artificielle et suite à la saillie aux retours des chaleurs sont repris respectivement dans le tableau 5 et dans le tableau 6.

a) Sur la fertilité

La fertilité (f) est rappelons-le, le pourcentage de femelles parturiantes sur les femelles mises à la reproduction.

L'immunisation a eu un effet nettement défavorable sur la fertilité à l'insémination artificielle (f. fecundin=17, f.

Tableau 5 : Résultats de la reproduction suite à l'insémination

| | | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| Total | brebis | 73 | 30 | 1.59 | 48 |
| | agnelles | 18 | 33 | 1.50 | 50 |
| | total | 91 | 32 | 1.55 | 50 |
| Fecundin | brebis | 37 | 19 | 1.57 | 30 |
| | agnelles | 9 | 11 | 2.00 | 22 |
| | total | 46 | 17 | 1.63 | 28 |
| Témoin | brebis | 36 | 44 | 1.56 | 69 |
| | agnelles | 9 | 56 | 1.40 | 78 |
| | total | 45 | 47 | 1.52 | 71 |

Tableau 6 : Résultats des 2 saillies au retour des chaleurs

| | | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| Fecundin | brebis | 30 | 73 | 1.59 | 117 |
| | agnelles | 8 | 50 | 1.00 | 50 |
| | total | 38 | 68 | 1.50 | 103 |
| Témoin | brebis | 20 | 80 | 1.44 | 115 |
| | agnelles | 4 | 25 | 2.00 | 50 |
| | total | 24 | 71 | 1.47 | 104 |

témoins=47). On peut également constater que la fertilité des témoins n'est pas très élevée.

Après deux repasses le taux d'anticorps a déjà diminué, ce qui rend intéressante l'analyse des résultats obtenus. Nous pouvons observer que la fertilité du groupe immunisé est sensiblement égale à celle du groupe témoin (68 et 71 % respectivement).

On remarquera dans les paragraphes suivants, que les faibles valeurs de fertilité obtenues sont surtout dues au fait que la fertilité induite par les éponges MAP est très faible et que l'insémination artificielle exocervicale donne des résultats médiocres. Il est toutefois indéniable que le traitement à la fecundin accentue encore cette diminution de fertilité par rapport aux brebis témoins.

b) Sur la prolificité

La prolificité (P) correspond au nombre d'agneaux nés par brebis parturiante. Elle est directement liée au taux d'ovulation. Or, contrairement à ce à quoi on pouvait s'attendre au vu des résultats du taux d'ovulation, le traitement à la fécundin, n'a pas eu d'effet bénéfique sur la prolificité (P fecundin=1,63 n=46 ; P témoins=1,57 n=45) à l'insémination.

Si on ne tient compte que des brebis, le traitement à la fecundin n'a pas eu d'effet sur la prolificité (P fecundin=1,57 ; P témoins=1,56) mais nous étions en droit de nous attendre à ce résultat vu que l'analyse statistique nous avait révélé que le taux d'ovulation des brebis immunisées n'était pas significativement différent de celui des brebis témoins.

Dans le cas des agnelles, bien que le taux d'ovulation des lots témoins n'était pas significativement différent de celui du lot immunisé, nous observons un effet bénéfique sur la prolificité (P fecundin=2,0 ; P témoins=1,4) mais ceci est à

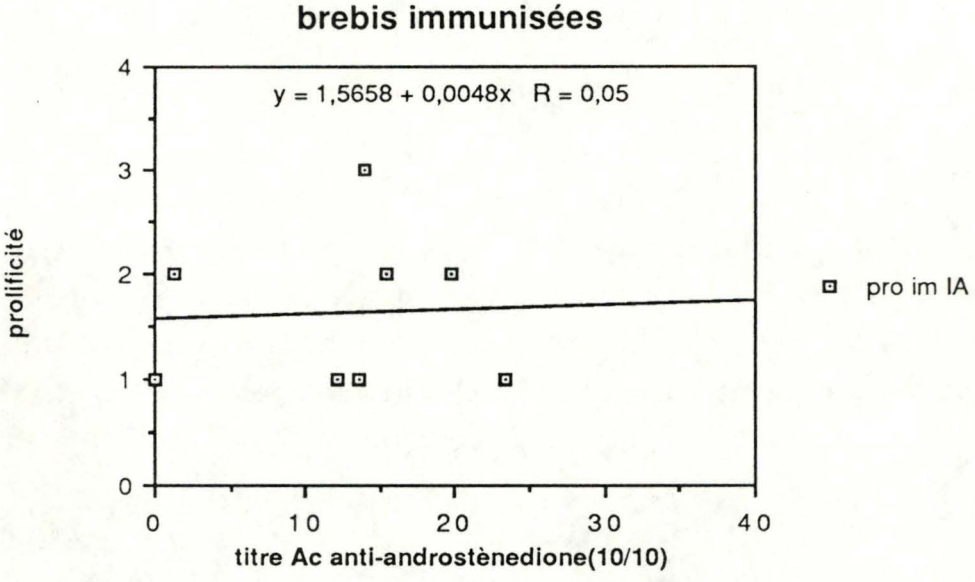



figure 3: relation entre le titre d'anticorps avant l'IA et la prolificité.

prendre avec réserve vu le nombre réduit de cette catégorie d'animaux.

La figure 3 montre qu'aucune relation entre le titre d'anticorps juste avant l'insémination artificielle et la prolificité à l'insémination artificielle n'a pu être mise en évidence . En effet, la recherche du coefficient de corrélation a donné un résultat (r= 0,05) non significatif, ce qui apparaît au premier coup d'oeil d'après la dispersion des points sur le graphique.

Lors des saillies réalisées au retour des chaleurs chez les brebis non fécondées à l'insémination artificielle (tableau 6), la prolificité n'a pas été significativement meilleure non plus chez les femelles traitées par la Fecundin (1,50 contre 1,47 chez les témoins).

c) Sur la fécondité

La fécondité (F) résulte du produit de la fertilité et de la prolificité ; c'est le nombre d'agneaux nés pour cent femelles mises à la lutte.

Etant donné que le traitement Fecundin a un effet défavorable sur la fertilité et n'a pas d'effet bénéfique sur la prolificité à l'insémination, il n'est pas étonnant d'enregistrer un effet défavorable de l'immunisation sur la fécondité. En effet on peut observer que la fécondité des brebis Fecundin (28 %) est de loin inférieure à celle des brebis Contrôle (71 %) lors de l'insémination.

Au retour des chaleurs, la fécondité des deux lots s'équilibre. Elle est de 103 % et de 104 % respectivement pour le lot des femelles immunisées et le lot contrôle.

Tableau 7: Résultats globaux de la reproduction

| | | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| Total | brebis | 73 | 84 | 1.54 | 129 |
| | agnelles | 18 | 61 | 1.36 | 83 |
| | total | 91 | 79 | 1.51 | 120 |
| Fecundin | brebis | 37 | 78 | 1.59 | 124 |
| | agnelles | 9 | 56 | 1.20 | 67 |
| | total | 46 | 74 | 1.53 | 113 |
| Témoin | brebis | 36 | 89 | 150 | 133 |
| | agnelles | 9 | 67 | 150 | 100 |
| | total | 45 | 84 | 150 | 127 |

Tableau 8 : Résultats de la comparaison du type d'éponge

| | | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| MAP | brebis | 39 | 21 | 1.50 | 31 |
| | agnelles | 9 | 22 | 1.50 | 33 |
| | total | 48 | 21 | 150 | 31 |
| FGA | brebis | 34 | 44 | 1.60 | 71 |
| | agnelles | 9 | 44 | 1.50 | 67 |
| | total | 43 | 44 | 1.58 | 70 |

d) Sur les résultats finaux de la reproduction

Les résultats finaux de la reproduction sont repris dans le tableau 7.

La fertilité globale ainsi que la fécondité des brebis immunisées est légèrement inférieure à celle des brebis témoins.

De même les résultats nous montrent que le traitement n'a eu aucun effet bénéfique sur la prolificité.

.

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre le titre d'anticorps et la prolificité.

La figure 4 nous montre que la régression du nombre d'agneaux nés sur le poids corporel nous donne un coefficient de corrélation r=0,28 pour les brebis témoins. L'analyse statistique de ce r (test t) nous donne une probabilité P>0,93. Aucune relation de ce genre n'a pu être mise en évidence pour les brebis immunisées.

4.2. Influence du progestagène utilisé pour la synchronisation des ovulations

Avant d'inséminer nos brebis, nous avons synchronisé les ovulations à l'aide de deux types d'éponges vaginales imbibées de progestagènes commercialisées en Belgique, Chronogest et Veramix, contenant respectivement 60 mg de FGA et 40 mg de MAP. Ceci avait pour but de comparer la précision de la synchronisation et les répercussions sur la fertilité lors de l'insémination artificielle unique.

Cet essai comparatif (tableau 8) montre que le MAP induit une fertilité et une fécondité de moins de la moitié de celles obtenues avec FGA. Ceci tend à corroborer les résultats de la littérature selon lesquelles, les chaleurs et les ovulations induites avec des éponges au MAP sont plus étalées et moins

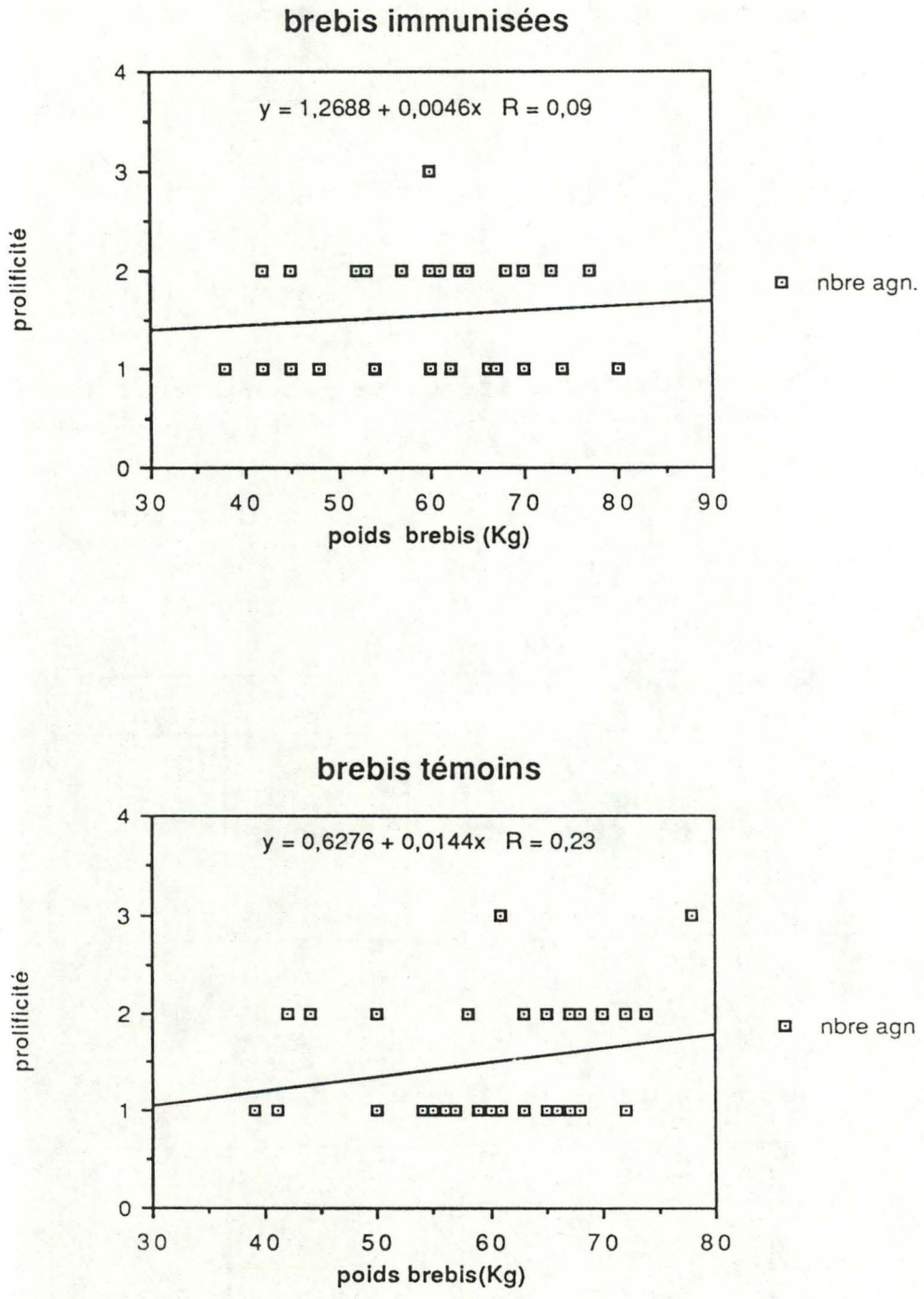



figure 4: regression du nombre d'agneaux nés sur le poids corporel.

Tableau 9 : Résultats de la comparaison du mode d'insémination

| | | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| IAc | brebis | 55 | 27 | 1.53 | 42 |
| | agnelles | 14 | 21 | 1.67 | 36 |
| | total | 69 | 26 | 1.56 | 41 |
| IAu | brebis | 18 | 44 | 1.63 | 72 |
| | agnelles | 4 | 75 | 1.33 | 100 |
| | total | 22 | 50 | 1.55 | 77 |

TABLEAU 10 résultats de fertilité et de fécondité en fonction du mode d'insémination et du type de traitement progestagène.

FERTILITE

| | MAP | FGA | IAU | IAC | TOTAL |
|---|---|---|---|---|---|
| FECUNDIN | 8 | 27 | 25 | 15 | 17 |
| TEMOINS | 33 | 62 | 80 | 37 | 47 |
| TOTAL | 21 | 44 | 50 | 26 | 32 |

FECONDITE

| | MAP | FGA | IAU | IAC | TOTAL |
|---|---|---|---|---|---|
| FECUNDIN | 12.5 | 45 | 33 | 26 | 28 |
| TEMOINS | 50 | 95 | 130 | 54 | 71 |
| TOTAL | 31 | 70 | 77 | 41 | 50 |

synchronisées, ce qui se révèle défavorable à la fertilité lors d'une insémination artificielle unique.

### 4.3. Influence du mode d'insémination artificielle

L'analyse des résultats de fertilité et de fécondité en fonction du mode d'insémination (tableau 9) montre le net avantage de l'insémination artificielle utérine sur l'insémination artificielle cervicale (F IAu 77 % contre F IAc 41%, f IAu 50 % contre f IAc 26 %).

On peut constater une très nette différence chez les brebis témoins en ce qui concerne la comparaison des deux modes d'insémination induisant la fécondité. Cette différence existe mais est beaucoup moins nette chez les brebis immunisées (tableau 10).

## 5. Analyses complémentaires

En fonction des données en notre possession,nous avons pu réaliser quelques analyses complémentaires destinées à étudier l'influence du mâle utilisé pour l'insémination artificielle et la parité de l'éjaculat récolté sur les paramètres de la reproduction. Nous avons aussi calculé le sex ratio des agneaux issus des lots de brebis et estimé la mortalité embryonnaire.

### 5.1. Influence du bélier

L'analyse des paramètres de la reproduction en fonction du bélier (tableau 11) montre qu'il existe d'importantes variations. Certains béliers s'avérent nettement moins fertiles que d'autres. Il est intéressant de noter que la prolificité en fonction du mâle varie dans le même sens que la fertilité. Ainsi, la fertilité et la prolificité relevées après insémination artificielle cervicale passent de 12 % et 1,0 chez le bélier 8 à 43 % et 2,0 chez le bélier 7. Il est cependant étonnant de noter que cette fertilité ne correspond pas à la

Tableau 11 : Résultats de reproduction en fonction du bélier prélevé pour l'IA

| Bélier | mode d'insémination | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|---|
| Kees | IAc | 16 | 38 | 1.83 | 69 |
| | IAu | 12 | 42 | 1.60 | 67 |
| | Total | 28 | 41 | 1.73 | 68 |
| 2 | IAc | 17 | 24 | 1.25 | 29 |
| 6 | IAc | 20 | 20 | 1.25 | 25 |
| | IAu | 10 | 60 | 1.50 | 90 |
| | Total | 30 | 33 | 1.40 | 47 |
| 7 | IAc | 7 | 43 | 2.00 | 86 |
| 8 | IAc | 8 | 12 | 1.00 | 12 |

Tableau 12 : Résultats en fonction de la parité de l'éjaculat utilisé pour l'IAc

| | n | fertilité | prolificité | fécondité |
|---|---|---|---|---|
| 1er éjaculat | 25 | 32 | 1.75 | 56 |
| 2è éjaculat | 31 | 23 | 1.43 | 32 |
| 3è éjaculat | 12 | 25 | 1.33 | 33 |

Tableau 13 : Sex ratio des agneaux issus de la reproduction

| | n mâle | n femelle | mâle/femelle |
|---|---|---|---|
| Fecundin | 24 | 28 | .86 |
| Témoin | 28 | 29 | .97 |

qualité de la semence que nous analysons, puisque les inséminations ne sont réalisées que si les semences sont "valables" et après dilution adéquate. Des facteurs génétiques de viabilité des oeufs et des embryons pourraient être suspectés.

### 5.2. La parité de l'éjaculat

La parité de l'éjaculat a également été analysée et semble influencer la fécondité (tableau 12). Au cours de notre expérience, c'est la première récolte qui est la meilleure en termes de fertilité comme de prolificité observées à l'agnelage. Ainsi, la fertilité et la prolificité après insémination artificielle exocervicale sont de 32 % et 1,75 pour le premier éjaculat contre 23 % et 1,43 pour le second. Le deuxième et troisième éjaculat ont une fertilité et une prolificité pratiquement identiques.

La littérature mentionne fréquemment que la qualité fécondante du deuxième éjaculat receuilli d'un bélier est meilleure que celle du premier éjaculat. Il faut noter cependant que la semence utilisée provenait de béliers fréquemment prélevés à cette époque pour des inséminations artificielles chez des éleveurs.

### 5.3. Le sex ratio

Le sex ratio peut être défini par la proportion de naissances d'agneaux sur le nombre de naissances d'agnelles. L'analyse du sex ratio (tableau 13) des agneaux et agnelles issus de la reproduction Texel révèle que celui-ci est comparable, dans le lot immunisé et dans le lot témoin (0,86 pour les fécundin contre 0,97 pour les témoins). On peut observer un léger avantage en faveur des femelles.

Tableau 14 : Estimation de la mortalité embryonnaire

| | pertes embryonnaires | |
|---|---|---|
| | n | % |
| Fecundin | 5/57 | 8.8 |
| Témoin | 7/64 | 10.9 |

TABLEAU 15 : ESTIMATION DE LA MORTALITE PERINATALE

| | MORTALITE PERINATALE | |
|---|---|---|
| | n | % |
| FECUNDIN | 8/52 | 15.4 |
| TEMOINS | 6/57 | 10.5 |

5.4. La mortalité embryonnaire

La mortalité embryonnaire représente le pourcentage d'embryons qui n'arriveront pas à terme par rapport au nombre total d'embryons que portait la brebis au départ.

En réalisant successivement des échographies à toutes les brebis pleines durant la période de gestation et en relevant le nombre d'embryons on pourra en déduire la mortalité embryonnaire. La fiabilité des résultats obtenus par cette méthode est très bonne (Calus et Bister, 1987).

L'analyse de nos résultats (tableau 14) montre que la mortalité embryonnaire après 30 jours de gestation est relativement faible pour les brebis témoins (10,9 %) et n'est pas plus élevée chez les brebis immunisées (8,8 %).

5.5 La mortalité périnatale (annexe 3)

La mortalité périnatale représente le nombre d'agneaux morts endéans les 10 jours après la naissance.

Les pertes d'agneaux peuvent avoir pour causes des déséquilibres hormonaux et des maladies entraînant l'avortement. De même, une mauvaise présentation (dystocie) du jeune à la naissance peut être une cause de pertes importantes si une surveillance continuelle n'est pas assurée.

L'analyse des résultats (tableau 15) montre que la mortalité périnatale ne semble pas significativement différente en fonction de l'immunisation.

Une analyse un peu plus poussée (tableau 16) nous permet de constater que chez les brebis inséminées artificiellement, la mortalité périnatale se produit surtout lorsqu'il s'agit de portées triples. Par contre, chez les agnelles inséminées artificiellement, la mortalité périnatale est fréquente lorsque

TABLEAU 16 mortalité périnatale à l'IA et aux repasses chez les brebis et agnelles témoins et immunisées

| | FECUNDIN (N=46) | | | | TEMOINS (N=45) | | | | TOTAL (N=91) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | brebis N=37 | | agnelles N=9 | | brebis N=36 | | agnelles N=9 | | brebis N=73 | | agnelles N=18 | |
| | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % | N | % |
| mortalité périnatale à IA | 2/11 | 18 | 1/2 | 50 | 3/25 | 12 | 2/7 | 29 | 5/36 | 14 | 3/9 | 33 |
| mortalité périnatale aux repasses | 3/35 | 9 | 2/4 | 50 | 1/23 | 4 | 0/2 | 0 | 4/58 | 7 | 2/6 | 33 |

les portées sont doubles. On peut également observer que la fréquence de mortalité périnatale est plus élevée chez les agnelles inséminées que chez les brebis inséminées (33 % contre 14 %).

Lorsqu'on examine la mortalité périnatale chez les brebis qui ont été saillies lors des repasses, on peut observer qu'elle est encore plus faible que celle chez les brebis inséminées artificiellement (7 % contre 14 %). Par contre, chez les agnelles, la mortalité périnatale est la même dans les deux cas.

TABLEAU 17 : Expérience de stimulation de l'ovulation par injection de 750 de UI de hCg

stimulation au jours 6(phase luteale)

| N° des brebis | ovulation |
|---|---|
| 62 | 2 |
| 108 | 2 |
| 134 | 2 |
| 200 | - |
| 240 | 1 |
| 279 | 1 |

T.O.=1,6±0,55

stimulation au jours 16(phase folliculaire)

| N° des brebis | ovulation |
|---|---|
| 71 | 2 |
| 88 | 1 |
| 136 | - |
| 201 | - |
| 241 | - |
| 281 | - |

T.O.=1,5±0,71

**DEUXIEME EXPERIENCE** (Tableau 17)

Nous avons voulu tester l'effet de l'immunisation contre l'androstènedione dans une situation où l'ovaire est soumis à un environnement endocrinien et local particulier : la phase lutéale.

En phase lutéale, l'environnement gonadotrophe et local est différent de celui en phase folliculaire, mais l'induction d'ovulation par hCG produit un taux d'ovulation identique (brebis Romanov à J 6 : Driancourt et al, 1987, cités par Philipon, 1988). Au cours de la seconde expérience nous avons testé en phase lutéale la réponse ovarienne à l'immunisation contre les stéroides. Pour ce faire, nous avons injecté 750 UI d'hCG à 6 brebis immunisées et synchronisées, au jour 6 du cycle (soit pendant la phase lutéale). De même, nous avons injecté 750 UI d'hCG aux 6 brebis immunisées contre l'androsténedione , mais ceci, au jour 16 (durant la phase folliculaire). Trois jours après l'injection d'hCG, nous avons examiné les ovaires des brebis en vue de déterminer le taux d'ovulation par observation des corps jaunes à la surface de l'ovaire. Les résultats des endoscopies sont exposés dans le tableau 13. Les taux d'ovulation induits en phase lutéale est de 1,6 $\pm$ 0,55 alors que pendant la phase folliculaire il est de 1,5 $\pm$ 0,71; ceci est non significatif.

La stimulation d'hCG n'a pas été très efficace vu que sur un total de 12 brebis, 5 n'ont pas ovulés. Ceci est peut être dû au fait que la stimulation en phase lutéale a été réalisée une semaine après l'injection de rappel. A ce moment, les titres d'anticorps étaient assez élevés ce qui expliquerait la possibilité d'un état d'anoestrus temporaire.

# E. DISCUSSION

## PREMIERE EXPERIENCE

### 1. Intensité de la réponse immunitaire

Un traitement standard est généralement retenu lors des expériences d'immunisation contre l'androstènedione : deux injections sous-cutanées d'une solution d'androstènedione-7-HSA, avec du DEAE comme adjuvant,à quatre semaines d'intervalle (Cox et al, 1982).

Cette méthode a été testée sur le terrain en Australie, Nouvelle-Zélande, Irlande et France (Scaramuzzi et Hoskinson, 1984 ; Geldard, 1984 ; Smith et al, 1985 ; Philipon, 1988) et est testée actuellement en Belgique.

D'après nos résultats, l'immunisation contre l'androstènedione a provoqué l'apparition d'un taux d'anticorps anti-androstènedione suffisant. L'emploi de DEAE-Dextran et la légère modification du traitement immunogène (injection d'un ml de Fecundin au lieu de deux au rappel) a permis d'éviter les effets néfastes d'un titre d'anticorps trop élévé tels que l'anoestrus ou l'anovulation observés par Smith et al (1981) et Geldard et Scaramuzzi (1983) .

Une expérience similaire à la nôtre a été réalisée par Bister et al (1988) mais elle avait été faite selon le modèle standard (deux fois deux ml à quatre semaine d'intervalle). Les titre d'anticorps anti-androstènedione qu'ils avaient relevés avaient une moyenne de 23,67±10,11 deux semaines après le rappel. En injectant seulement un ml de Fecundin au lieu de deux nous avons réduit ce titre d'anticorps à une moyenne de 11,90±6,98 pour la même période.

Deux brebis ayant participé à une expérience d'immunisation contre l'androstènedione auparavant ont été reprise dans notre expérience. Nous avons constaté qu'après avoir reçu 2 ml de Fecundin, elles développaient directement un titre d'anticorps anti-androsténedione élevé. Ceci confirme que, pour répéter le traitement Fecundin, sur des brebis, il suffit d'une injection de rappel pour induire une augmentation sensible du titre d'anticorps.

La relation entre le titre d'anticorps et le taux d'ovulation est un sujet de controverse. Dans cette étude nous avons trouvé une relation significative entre le titre d'anticorps anti-androstènedione et le taux d'ovulation. Ceci est en accord avec Quirke et al (1986) et Philipon (1988) qui ont également constaté une corrélation significative chez les brebis. Cependant Martin et al (1979) ne trouvent aucun lien entre l'intensité de la réponse immunitaire et le taux d'ovulation.

Le fait que la variabilité du nombre d'ovulations observée après une immunisation passive qui entraîne un taux d'anticorps identique chez toutes les brebis (Land et al, 1982) soit la même qu'après immunisation active suggère que l'intensité de la réponse a un rôle limité dans la détermination du nombre d'ovulations.

## 2 le taux d'ovulation.

D'après nos résultats, l'immunisation active contre l'androstènedione augmente le taux d'ovulation des brebis; il passe en effet de 1,56 à 1,90.

Les résultats obtenus lors d'une expérience précédente montraient un passage du taux d'ovulation de 1,41 à 2,06 pour des brebis de race TEXEL (Bister et al, 1988).

Cette augmentation du taux d'ovulation confirme les résultats obtenus dans d'autres pays (Scaramuzzi et al, 1977.; Van look et al, 1978 ; Martin et al, 1979 ; Smith et al, 1981 ; Philipon et al, 1988)

## 3. Résultats obtenus aux agnelages

### 3.1 Influence de l'immunisation.

a) Sur la fertilité

L'immunisation a un effet nettement défavorable sur la fertilité à l'insémination, compensée en partie par la fertilité des retours en chaleur.

Ceci est en concordance avec la littérature qui montre qu' il y aurait un effet défavorable du traitement sur la nidation si l'insémination artificielle est réalisée peu de temps après le rappel de Fecundin. L'intervalle de temps entre le rappel et l'insémination était de trois semaines dans notre expérience. Actuellement, il semble que le délai idéal soit de six à sept semaines (Cognié, 1989, communication personnelle).

Ceci est confirmé lorsqu'on observe la fertilité au retour des chaleurs, c'est à dire de seize à quarante jours après l'insémination artificielle. A ce moment le titre d'anticorps est beaucoup plus faible, et la fertilité est récupérée.

L'effet de l'immunisation sur la fertilité peut être accentué à cause du fait que nous avons utilisé un traitement progestagène et PMSG en plus du traitement Fecundin

Le contrôle hormonal de l'ovulation pendant la période de lutte est toujours controversé. D'un côté se pose le problème que les traitements aux progestagènes ont une influence négative sur la durée de vie des spermatozoïdes dans le tractus femelle, sur la traversée du cervix et syr leur répartition dans l'utérus

et les oviducte (Hawket et al, 1987). D'un autre côté, la PMSG stimule la croissance folliculaire, améliore l'ovulation mais peut provoquer des superovulations.

Il a été constaté que pour les brebis de race TEXEL une dose de 500 à 700 UI de PMSG était favorable pour induire une bonne fertilité (Derycke et al, 1987). Cependant dans le cas des brebis immunisées, on ne connaît pas les résultats de l'interaction entre les deux substances favorisant le taux d'ovulation, la Fecundin et le PMSG.

L'âge des brebis peut également intervenir. En effet, la fertilité des brebis est supérieure à celle des agnelles (Paquay et Bister, 1987). Lors de l'insémination artificielle cela se verra peu car la fertilité des brebis a tendance à diminuer alors que celle des agnelles augmente, ce qui entraîne un équilibre. Par contre lors des saillies aux retours des chaleurs, la différence entre la fertilité des brebis et des agnelles est très nette, que ce soit dans l'un ou dans l'autre groupe.

b) Sur la prolificité

Bien que le traitement à la Fecundin ait montré un effet favorable sur le taux d'ovulation, il n'y a pas eu de répercussion de cette augmentation sur la prolificité. Notre étude ne confirme donc pas l'augmentation de prolificité obtenue après immunisation contre l'androstènedione par Scaramuzzi et Hoskinson (1984), Geldard (1984), Smith (1985), Calus et al (1987) et Philipon (1988).

L'absence de résultat bénéfique sur la prolificité peut être dûe en partie au fait que les brebis était en excellent état corporel. Philipon (1988) relève une corrélation négative entre la prolificité naturelle et le gain dû à l'immunisation. Ceci suggère l'existence d'une limite supérieur à la prolificité

qui peut être atteinte par différents moyens (plans d'alimentation, PMSG, immunisation).

On observe que la prolificité chez les brebis témoins est plus élevée après l'insémination artificielle que lors des retours en chaleurs. Deux explications peuvent être retenues. D'une part, les brebis les plus fertiles ont été fécondées dès la première insémination, et il y a toujours corrélation entre fertilité et prolificité. D'autre part, la prolificité supérieure après l'insémination artificielle est peut-être le reflet de l'action du PMSG. Il est important de noter que la prolificité enregistrée à l'agnelage est proche du taux d'ovulation mesuré par endoscopie.

Chez les brebis immunisées, la prolificité est semblable quel que soit le moment de l'ovulation. Elle est nettement inférieure au taux d'ovulation. Comme l'echographie réalisée de 30 à 90 jours après l'insémination artificielle n'a pas montré de différences dans la mortalité embryonnaire entre les brebis témoins et traitées, il faut penser que les problèmes se sont posés tout au début de la gestation. Il faut donc suspecter soit un problème à la fécondation (qualité des ovules), soit à la nidation (environnement endocrinien défavorable), soit en début de gestation (mortalité embryonnaire précoce).

Pour analyser ces alternatives, nous avons étudié les enregistrements des saillies lors du premier retour des chaleurs. Les brebis fécondées ne reviennent pas en chaleur du fait du maintien d'une progestéronémie élevée. Or 45% des animaux n'avaient pas été marqués par le bélier (équipé d'un crayon marqueur ventral) aussi bien dans le lot témoin que dans le lot Fecondin ; pourtant si 45% des femelles témoins ont effectivement mis bas à la date présumée, seulement 18% des femelles Fecondin ont agnelé au terme prévu.

La différence entre les valeurs des "non retour en chaleurs" et les agnelages ne peut s'expliquer que par la

présence d'un embryon 12 à 13 jours après l'insémination artificielle, qui a été responsable du maintien des corps jaunes.

Par après, ces femelles sont revenues en chaleurs. Il nous est donc permis de suspecter surtout des problèmes à la nidation. Celle-ci nécessite un environnement hormonal particulier, tout particulièrement en stéroides sexuels. L'immunisation par la Fecondin entraîne de profondes modifications dans cet environnement stéroidien par la présence de taux d'anticorps élevés contre les androgènes et une certaine quantité d'anticorps non spécifiques dirigés surtout contre les oestrogènes. D'autre part, le taux d'oestradiol plasmatique est augmenté par le traitement (Derycke et al, 1988).

Il est donc probable que chez un nombre assez important de femelles la production importante d'anticorps ait perturbé momentanément l'équilibre endocrinien nécessaire à la nidation.

### 3.2. Influence du progestagène utilisé pour la synchronisation des ovulations

L'analyse des résultats obtenus indique que le type d'éponge est à la base des fortes différence qu'on peut observer dans la fertilité des brebis. En effet les éponges imbibées de MAP induise une fécondité de moins de la moitié de celle obtenue avec le FGA. Derycke et al (1987) avaient déjà observé l'imprécision de la synchronisation des chaleurs obtenues suite à l'utilisation du MAP. Ceci se révèle sans conséquence lorsque la mise à la reproduction est effectuée par saillies, ce qui laisse supposer que la qualité de l'ovulation est bonne.

Mais dans le cas où l'insémination est artificielle, la synchronisation de l'ovulation est importante car les spermatozoïdes sont présents en beaucoup plus petit nombre et les chances que quelques- uns se maitiennent en vie suffisament longtemps pour féconder des ovules émis tardivement sont beaucoup plus faibles. Nous n'avons pas réalisé une étude comparative des moments d'ovulation, mais la fertilité obtenue est en accord avec cette hypoyhèse.

3.3 Mode d'insémination.

L'insémination artificielle classique par voie exocervicale doit se réaliser 52 à 57 heures après le retrait de l'éponge et l'injection de PMSG.

Bister et al (1987) montrent que 60 à 70% des brebis mettent bas après insémination artificielle en saison de reproduction. Nos résultats indiquent que le pourcentage de brebis témoins mettant bas suite à insémination artificielle classique est de 37% (n=35).Ceci est faible et dû principalement aux mauvais résultats engendrés par l'utilisation d'éponges imbibées de MAP. L'effet négatif de la Fecundin au moment de l'ovulation induite se superpose encore à ces déficiences ; la fertilité des femelles immunisées est seulement de 15% avec une insémination exocervicale pourtant réalisée au moment optimum.

L'insémination artificielle "in utero", par contre, peut être réalisée entre 48 et 60 heures après le retrait de l'éponge sans modification de fécondité (Haresign, 1987). Certains auteurs vont même jusqu'à proposer des inséminations 60 à 66 heures (Evans et Maxwell, 1987) ou 60 à 72 heures (Maxwell, 1984) après le retrait pour que l'endoscopie n'interfère pas avec le processus d'ovulation.

Ne devant pas franchir le cervix dont les secrétions muqueuses s'avèrent hostiles après un traitement hormonal, les spermatozoïdes peuvent être injecter en nombre beaucoup plus faible et survivre nettement plus longtemps.

Malgré le stress engendré par cette technique chirurgicale, la fertilité s'est trouvée largement améliorée. Elle est de 25% (contre 15% en IAc) chez les brebis immunisées et de 80% (contre 36% en IAc) chez les brebis témoins.

**DEUXIEME EXPERIENCE**

Nos résultats ne nous permettent pas de tirer de conclusion quant à cette expérience. Cependant Philipon (1988) observe que les brebis immunisées contre l'androstènedione n'ovulent pas plus que les témoins après une stimulation par hCG en phase lutéale. Bister et Jacques (1988) observent l'évolution de la population folliculaire de brebis TEXEL immunisées ou non par endoscopies répétées tous les deux jours pendant le cycle. Les brebis immunisées n'ont pas plus de follicules matures que les témoins en phase lutéale mais retrouvent leur avantage en phase folliculaire. Webb et Gauld (1985 ; cités par Philipon, 1988)ont émis l'hypothèse que le nombre de follicules matures présents sur l'ovaire est à tout moment représentatif du taux d'ovulation.

les brebis immunisées contre les stéroides ont un taux d'ovulation induit en contre-saison identique à leur taux d'ovulation spontané en saison (Land et al,1983), alors qu'en anoestrus l'environnement gonadotrope est proche de celui de la phase lutéale. L'absence d'effet de l'immunisation en phase lutéale est donc probablement due à l'environnement ovarien : la présence du corps jaune ou une éventuelle altération des interactions inter et/ou intra folliculaire (Philipon, 1988).

# CONCLUSION

## CONCLUSIONS

L'immunisation active contre l'androstènedione est un technique d'amélioration des performances de reproduction des brebis largement expérimentée en Australie, en France, en Irlande et en Nouvelle-Zélande. Notre travail présente un essai de cette technique associée à un traitement progestagène-PMSG en période de lutte dans les conditions de l'élevage ovin.

Chez la brebis Texel, l'immunisation par la Fecundin® selon un modèle bien particulier, a les conséquences suivantes :

-elle entraine une faible perte de poids, vraisemblablement due au caractère stressant des opérations.

-elle augmente le taux d'ovulation de 1,56 à 1,90 par brebis. Cette élevation est principalement due à une proportion accrue de doubles et triples ovulations. L'immunisation active contre l'androstènedione constitue donc bien une méthode de *superovulation.*

-l'immunisation a un effet nettement défavorable sur la fertilité à l'insémination. Ceci est probablement dû à un taux d'anticorps anti-androstènedione trop important à ce moment car la perte de fertilité est partiellement compensée aux cycles suivants.

-le traitement progestagène a un effet variable sur la fertilité à l'insémination chez les brebis immunisées et témoins. Le FGA entraine des résultats nettement meilleurs que le MAP.

-il n'y a pas de répercussion de l'augmentation du taux d'ovulation sur la prolificité des brebis immunisées. Ceci semble dû à des problèmes au moment de la nidation des embryons.

-l'insémination artificielle "in utero" permet d'améliore la fertilité, elle est nettement plus avantageuse que l'insémination exocervicale.

# BIBLIOGRAPHIE

BAIRD D.T. et SCARAMUZZI R.J. 1976. Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the pre-ovulatory period in the ewe: the effect of progesterone. J. Endocrinol. 70, 237-245.

BAIRD D.T. et Mc NEILLY A.S. 1981. Gonadotrophin control of follicular development and secretion in the sheep oestrus cycle. J. Reprod. Fert. Suppl 30, 119-133.

BAIRD D.T., McNEILLY A.S.,WALLACE J.M.,WEBB R., 1985. Infusion of FSH increases ovulation rate in Welsh Mountain crues. Proc. 5th Reiner of Graaf Symposium, Nijncgen (Abst. 13).

BINDON B.M. 1984. Reproductive biology of the Booroola Merino sheep. Austr. J. Biol. Sci. 37, 163-189.

BISTER J.L., PAQUAY R.,1983. Fluctuations in the plasma levels of the follicule-stimulating hormone during oestrus cycle, anoestrus, gestation and lactation in the ewe : evidence for and endogenous rythm of FSH release. Theriogenelogy. 25, 53-

BISTER J.L., DERYCKE G., JACQUES E., PAQUAY R., 1988. Effects of immunization against 4-androstènedione on the ovarian follicular dynamics and ovulation rate in ewes. Proc. Réunion Extraord. Ass. Française des Pharmacologistes, Soc. Belge de Physiol. et Pharmacol. Soc Suisse de Pharmacol. et

BOLAND M.P., MURRAY J.D., HOSKINSON R.M., HAZELTON I.G., SUTTON R., NANCARROW C.D., 1985. Ovarian response to PMSG treatment in ewes immuzed against oestradiol 17 . Austr. J. Biol. Sci., 38, 339-345

BRANNSTROM M. et JANSON P.O.,1986 Progesterone is a mediator in the ovulatory process of the in vitro perfused rat ovary.

BRANNSTROM M., WOESSNER J.F., KOOS R.D., SEARC.H.J. et LEMAIRE W.J. 1988. Inhibitors of mammalian tissue collagenase and metalloproteinases suppress ovulation in the perfused rat ovary. Endocrinology, 122, 1715-1721.

BYSKOV A.G.X., 1978, Follicular Atresia. Dans : The vertebrate ovary. Ed Jones R.C., 553-562, Plenum Press, New York

CAHILL L.P., MARIANA J.C. et MAULEON P. 1979. Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol, 14, 76, Abst.

CAHILL L.P. et MAULEON P. 1980. Influence of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. J. Reprod. Fert.

CAHILL L.P., SAUMADE J., RAVAULT J.P., BLANC M., THIMONIER J., MARIANA J.C. et MAULEON P. 1981. Hormonal and follicular relationship in ewes of high and low ovulation rates. J. Reprod. Fert. 62, 141-150.

CAHILL L.P., CLARKE I.J., CUMMINS J.T., DRIANCOURT M.A., CARSON R.S. et FINDLAY J.K. 1984. An inhibitor action at the ovarian level of ovine follicular fluid on PMSG induced folliculogenesis in hypophysectomized ewes. In. Proc. 5 th ovarian Workshop, pp 35-39. Eds. D.O. toft et R;J;Ryan

CALUS A.C., BISTER J.L., 1987. Diagnostique de gestation et induction de la parturition. Revue de l'Agriculture, 3 (40),

CALUS A.C., CALLENS L., CARTON B. et BISTER J.L., 1987, Contrôle du cylce. Revue de l'agriculture, 40.

CAMPBELL C.S., SCARAMUZZI R.J. et DOWNING J.A., 1987, Steroid secretion rates in androstenedione immunized ewes with autotransplanted ovary. Proc. Austr. Soc. Reprod. Biol. 19, 148 (abst).

COGNIE Y., 1988. Nouvelles méthodes utilisées pour améliorer les performances de reproduction chez les ovins. Produc. Anim 1(2), 83-92

COGNIE Y., TERQUI M., PHILIPON et DRIANCOURT, 1984, Modification de la prolificité par immunisation active contre l'androstènedione chez la brebis 9ème J recherche ovine et

COX R.I., WILSON P.A., 1976, Effects of immunizing sheep to steroid oestrogens and phyto-oestrogens J. Reprod. Fertil.

COX R.I., WILSON P.A, MATTNER P.E., 1976. Immunization of ewes to oestrogens : effects on the oestrus cycle and parturition. Therigenology 6, 607 (abst).

COX R.I., WILSON P.A, SCARAMUZZI R.J., HOSKINSON R.M., GEORGE J.M. et BINDON B.M., 1982. The active immunization of sheep against oestrone, androstenedione or testosterone to increase twinning. Proc Austr. Soc. Anim. Prod. 14, 511-514.

CUMMINS L.J., BINDON B.M.., O'SHEA T. et PIPER L.R., 1980. Effects of ovine follicular fluid gives during induced luteolosys in control and Booroola Merinos. Proc. Aust. Soc.

DARGA N.C. et REICHERT L.F. JR.,1979. Evidence of a low Molecular weight follitropin binding inhibitor in bovine follicular fluid. Adv.Exp. Med. Biol. 112, 283-388.

DERYCKE G., BISTER J.L., PAQUAY R., 1987.Comparison between FGA and MAP impregnated sponges on the fertility and fecundity of the Texel ewe in the breeding season. Soc. Belge de Phyqiologie et de Pharmacologie, Liège 95 (3), 62.

DI ZEREGA G.S. et HODGEN G.D., 1981. Folliculogenesis in the primate ovarian cycle. Endocr. Rev. 2, 27-49.

DRIANCOURT M.A., GIBSON W.R. et CAHILL L.P., 1984. Follicular dynamics throughout the oestrus cycle in sheep. A Review. Reprod. Nutr. Develop., 25 (IA), 1-15.

DRIANCOURT M.A. et CAHILL L.P., 1984. Preovulatory follicular events in sheep. J. Reprod. Fert. 71, 205-211.

DRIANCOURT M.A., CAHILL L.P. et BINDON B.M., 1985. Ovarian follicular populations and preovulatory enlargement in Booroola and control Merino ewes J. Reprod. Fert. 73, 93-

DRIANCOURT M.A. , GAULD I.K., TERQUI M. et WEBB R., 1986. Variations in patterns of follicle development in prolific breeds of sheep. J. Reprod. Fert., 78, 565-575.

DRIANCOURT M.A., 1987. Ovarian features contributing to the variability of PMSG induced ovulation rate in sheep. J. Reprod. Fert., 80, 207-212.

EVANS G. ET MAXWELL W.M.C.,1987. In Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats, 152.

FAROOKHI R., 1980. Effects of androgen on induction of gonadotropin recetpors and gonadotrophin-stimulated adenosine 3', 5'-monophosphate production in rat ovarian granulosa cells. Endocrinology, 106 (4), 1216-1223.

FINDLAY J.K. et CUMMING I.A., 1976. FSH in the ewe : effects of season, live, weight and plane of nutrition on plasma FSH and ovulation rate. Biol. Reprod., 15, 335-342.

FINDLAY J.K., CUMMINS L., O'SHEAT T. et BINDON B., 1981. Suppression of plasma FSH in ovariectomized ewes given follicular fluid. Proc. Austr. Soc. Reprod. Biol., 13, 34

FORTUNE J.E. et VINCENT S.E., 1983. Progesterone inhibits the induction of aromatase activity in rat granulosa cells in vitro. Biol. Reprod., 28, 1078-1089.

FRANCHIMONT P., DEMOULIN A. et VALCKE J.C., 1986. Mécanismes endocrines, autocrines et paracrines du développement folliculaire (Communication personnelles).

GELDARD H., 1984. Field evaluation of Fecundin an immunogen against androstenedione. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 15,

GELDARD H., SCARAMUZZI J.R., 1983. Immunizing ewes to increase lambing percentage - Further developpements. Sheep Wheat Review.

GELDARD H., DOW G.J., SCARAMUZZI R.J., HOSKINSON R.M., COX R.I. et BEELS C.M.,1984. Immunization of ewes with polyandroalbumin to improve fecundity. Austr. veter. J. 61,

GOODMAN R.L. et KARSH F.J., 1981. A critique of the evidence on the importance of steroid feedback to seasonal changes in gonadotrophin secretion. J. Reprod. Fert., Suppl. 30, 1-13.

HANRAHAN J.P., 1980. Ovulation rate as the selection criterion for litter size in sheep. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 13, 405-408.

HARESIGN W. The use of laparoscopy as an aid to artificial insemination and embryo transfer in sheep. Annual Proc. Sheep. Vet. Soc. (1987) 13, 96-102.

HENDERSON K.M., FRANCHIMONT P., 1983. Inhibin production by ovine ovarian tissues in vitro and its regulation by androgens. J. Reprod. Fert., 67, 291-298.

HENDERSON K.M., FRANCHIMONT P., LECOMTE-YERNA M.J., HUDSON N. et BALL K., 1984. Increase in ovulation rate after active immunization of sheep with inhibin partially purified from bovin follicular fluid. J. Endocr., 102, 305-309.

HENDERSON K.M., KIEBOOM L.E., McNATTY k.P., LIEN S. et HEATH D.A., 1985.. Gonadotrophin stimulated cyclique AMP production by granulosa cells without a fecundity gene. J. Reprod. Fert., 75, 111-120.

HILLIER S.G., BOOGAARD A.M.J., REICHERT L.E. et VAN HALL E.V., 1980. Intra-ovarian sex hormone interactions and the regulation of follicular maturation : aromatisation of androgens by human granulosa cells in vitro. J. Clin. Endocrinol. Metab., 50, 640-647.

HSUEH A.J.W., ADASHI E.Y., JONES P.B.C. et WELSH T.H., 1984. Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. Endocr. rev. 1, 76-127.

IRELAND J.J., 1987. Control of follicular growth and development. J. Reprod. Fert. suppl., 34, 39-54.

LALHOU-KASSI A., SCHAMS D. et GLATZEL P., 1984. Plasma gonadotrophin concentrations during the oestrus cycle and after ovariectomy in two breeds of sheep with low and high fecundity. J. Reprod. Fert., 70, 165-173.

LAND R.B., 1979. Improvement in gonadal function through modification of negative feed-back. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 19 (5), 1569-1574.

LAND R.B., PELLETIER J., THIMONIER J. et MAULEON P., 1973. A quantitative study of genetic differences in the incidence of oestrus, ovulation and plasma luteinizing hormone concentration in the sheep, J. Endocr., 58, 305-315.

LAND R.B., 1976. The sensitivity of the ovulation rate of Finnish Landrace and Blackpace ewes to exogenous oestrogen. J. Reprod. Fert., 48, 217-218.

LAND R.B., MORRIS B.A., BAXTER G.,FORDYLE M., FORSTER J., 1982. Improvment of sheep fecundity by treatment with antisera to gonadral steroids. J. Reprod. Fert., 66, 625-634.

LOUVET J.P. et VAITUKAITIS J.L., 1976. Induction of follice-stimulating hormone (FSH) receptors in rat ovaries by estrogen priming. Endocrinology, 99, 758-764.

MAXWELL W.M.C. Current problems and future potential of artificial insemination programmes. Reproduction in sheep. Lindsay D.R. Pearce D.T. ed. Cambridge University Press 291-298.

McNATTY K.P., GIBB M., DOBSON C., et THURLEY D.C., 1981. Evidence that changes in luteinizing hormone secretion regulate the growth of the preovulatory follicule in the ewe. J. Endocr., 90, 375-389.

McNEILLY A.S., HUNTER M., LAND R.B., et FRAZER H.M., 1981. Inadequate corpus luteum function after the induction of ovulation in anoestrus awes by LH-RH or an LH-RH agonist. J. Reprod. Fert., 63, 137-144.

MARTENSZ N.D., BAIRD D.T., SCARAMUZZI R.J. et VAN LOOK P.F.A., 1976. Androstenedione and the control of luteinizing hormone in the ewe during anoestrus. J. Endoc., 69, 227-237.

MARTENSZ N.D. et SCARAMUZZI R.J., 1979. Plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle stimulating hormone and progesterone during the breeding season in ewes immunized against androstenedione or testosterone. J. Endoc., 81, 249-

MARTENSZ N.D., 1980. The biological effects of immunization against steroids in female mammals. Oxford Rev. reproductive Biol., 2, 232-262.

MARTIN G.B., SCARAMUZZI R.J., COX R.I. et GHERARDI P.B., 1979. Effects of active immunization against androstenedione or oestrone on oestrus, ovulation and lambing in Merino ewes. Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb., 19, 673-678.

MOOR R.M., 1977. Sites of steroid production in ovine graafian follicles in culture. J. Endoc., 73, 143-150.

MOOR R.M., CAHILL L.P., STEWART F., 1981. Ovarian stimulation on egg production as a limiting factor of egg transfer. 9th Int. Cong. on Anim. Reprod. and A.I., Madrid, 1, 43-58.

OUSSAID B., 1982. Etude de l'activité ovarienne et de la stimulation pendant l'anoestrus chez la brebis Ile-de-France. Doctorat, 3ème cycle, Paris VI.

PAQUAY R. et BISTER J.L. 1987. Reproduction, croissance et qualité des carcasses. Rev. Agricult.,40 (3), 573-586.

PHILIPON P., 1983. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences agronomiques : vaccination contre l'androstènedione de brebis Merinos d'Arles : Effet sur le taux d'ovulation dans différents systèmes de conduite. Académie de Montpellier, France.

PHILIPON P., 1988. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences : Immunisation active contre l'androstènedione et le taux d'ovulation chez la brebis? Analyse physiologique et zootechnique : Université François-

PRUD'HON M., 1971. Etude des paramètres influençant la fécondité des brebis et la mortalité des agneaux d'un troupeau de race Merinos d'Arles. Thèse.

QUIRKE J.F., 1978. Reproductive performance of Galway, Finnish Landrace ans Finncross ewe lambs. Irish J. Agric. Res., 17, 25-37.

QUIRKE J.F., 1979. Effect of body weight on the attainment of puberty and reproductive performance of Galway and Fingalway female lambs. Anim. Prod., 28, 297-307.

QUIRKE J.F., HANRAHAN J.P., TAIT A.J. et KILPATRICK M.J., 1986. Effects of active immunization against androstenedione on ovulation rate and fecundity in Galway and Finnish Landrace sheep. Livest. Prod. Sci., 15, 27-37.

RADFORD H.M., DONEGAN S. et SCARAMUZZI R.J., 1980. The effects of supplementation with lupin grain on ovulation rate and plasma gonadotrophin levels in adult merino ewes. Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 13, 457 (abst).

ROSS G.T., HILLIER S.G., ZELEZNIK A.J. et KNAZK R.A., 1979. Gonadotrophin and steroid hormone interactions in ovarian follicle growth, atresia and steroid hormone synthesis. research on steroids, 8, 185-192.

SAUMANDE J., CHUPIN D., MARIANA J.C., ORTAVANT R. et MAULEON P., 1978. Factors affecting the variability of ovulation rate after PMSG stimulation. Dans Control of Reproduction in the Cow. Ed. : J.M. Sreenan, 195-225. Martinus Nijhoff. La

SCARAMUZZI R.J., 1979. Antibodies to androgens, and ovulation in the ewe. J. Steroid Biochem., 11, 957-961.

SCARAMUZZI R.J., CALDWELL B.V. et MOOR R.M., 1970. Radioimmunoassay of LH and estrogen during the oestrus cycle of the ewe. Biol. Reprod., 3, 110-119.

SCARAMUZZI R.J. et MARTENSZ N.D., 1975. The effects of active immunization against andostenedione on luteinizing hormone levels in the ewe. Dans : Immunization with Hormones in Reproduction Research. Ed. : Nieschlag E., 141-152, North Holland Publishing Company.

SCARAMUZZI R.J. et LAND R.B., 1976. Oestradiol levels during the oestrus cycle : a comparaison of 3 breeds of different fecundity. Theriogenology, 6, 606 (abst).

SCARAMUZZI R.J., DAVIDSONW.G. et VAN LOOK P.F.A., 1977. Increasing ovulaiton rate in sheep by active immunization against on ovarian steroid : androstenedione. Nature, 269,

SCARAMUZZI R.J., BAIRD D.T., CKARKE I.J., MARTENSZ N.D.et VAN LOOK P.F.A., 1980. Ovarian morphology and the concentration of steroids during the oestrus cycle of sheep actively immunized against androstenedione. J. Reprod. Fert., 58, 27-35.

SCARAMUZZI R.J., TURNBULL K.E., DOWNING J.A. et BINDON B.M., 1981. Luteal siez and function in the Booroola Merino. Proc Aust. Soc. Reprod. Biol., 13, 77 (abst).

SCARAMUZZI R.J., MARTIN G.B., HOSKINSON R.M., DOWNING G.A., GOW C.B., TURNBULL K.E. et HINKS N.T., 1982. Studies of the preovulatory period in Merino ewes immunized against androstenedione or oestrone. Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol., 14, 94 (abst).

SCARAMUZZI R.J.et RADFORD M.M., 1983. Factors regulating ovulation rate in the ewe. J. Reprod. Fert., 69, 353-367.

SCARAMUZZI R.J. et HOSKINSON R.M., 1984. Immunoneutralization of steroid hormones for increasing fecundity. Dans : Immunological Aspects of Reproduction. ED : Crighton D.B., 501-523. Butterworths. London.

SMITH J.F., McLEAN K.S., McGOWAN L.T. et POOTS I.R., 1985. Effect of live weight on the level of response to steroid immunization. Proc. N-Z Soc. Anim. Prod., 45, 184-187.

TERQUI M., DRAY F., GOTTA J., 1973. Variations de la concentration de l'oestradiol-17 dans le sang périphérique de la brebis au cours du cycle oestral. C.R. Acad. Sci.,

THOMAS G.B., OLDHAM C.M., HOSKINSON R.M., SCARAMUZZI R.J. et MARTIN G.B. Effects of immunization against progesterone on oestrus, cycle lenght, ovulations rate, luteal regression and LH secretion in the ewe. Aust. J. Biol. Sci., 1987, 40,

THIMONIER J. et MAULEON P., 1969. Variations saisonnières du comportement d'oestrus et des activités ovarienne et hypophysaire chez les ovins. Ann Biol. Anim. Bioch. Biophy.,

TITECA E.,1987. Mémoire pour l'obtention du grade de licencié en sciences biologiques : Etude des effets de l'immunisation active contre l'androsténedione sur l'activité ovarienne de la brebis texel. FNDP, Namur.

TSONIS C.G., CARSON R.S. et FINDLAY J.K., 1984. The relationschips between aromatase activity, follicular fluidoestradiol-17 and testosterone concentrations and diameter and atresia of individual ovine follicles. J.

TURNBULL K.E., BRADEN A.W.H. et MATTNER P.E., 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. Aust.J. Biol. Sci, 30, 229-241.

VAN LOOK P.F.A., CLARKE I.J., DAVIDSON W.G. et SCARAMUZZI R.J., 1978. Ovulation and lambing rates in ewes actively immunized against androstenedione. J.. Reprod. Fert., 53, 129-130.

WEBB R. et GAULD I.K., 1984. Final Maturation of the preovulatory follicle in the ewe. Dans : Période péri-ovulatoire. Ed. Sarat-Baroux J. et Thibault Ch, 21-31, Masson.

WEBB R., 1987. Increasing ovulation rate and lambing rate on sheep by treatment with a steroid enzyme inhibitor. J. Reprod. Fert. 79, 231-240.

WRIGHT R.W. Jr, BONDIOLI K., GRAMMER J.,KUZAN F.et MENINO A. Jr,1981. FSH or FSH plus LH superovulation in ewes following oestrus synchronization with medroxyprogesterone acetate pressaries. J.Anim. Sci. 52, 115-118

YING S.H., BECKER A., LING N., UENO N. et GUILLEMIN R., 1986. Inhibin and bet type transforming growth factor (TGF ) have opposite modulating effects on the follicle stimulating hormone (FSH) induced aromatase activity of cultured granulosa cells. Bioch., Biophys, Res. Commun., 136, 969-975.

# ANNEXES

Annexe 1

titre ac anti-androstènedione

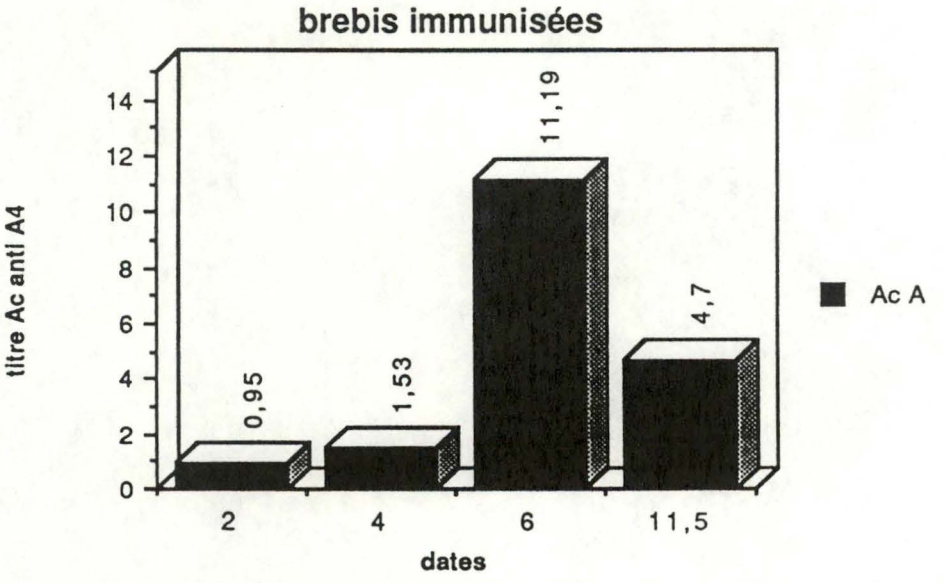
RESULTATS ANDROSTENEDIONE

lot immunisé

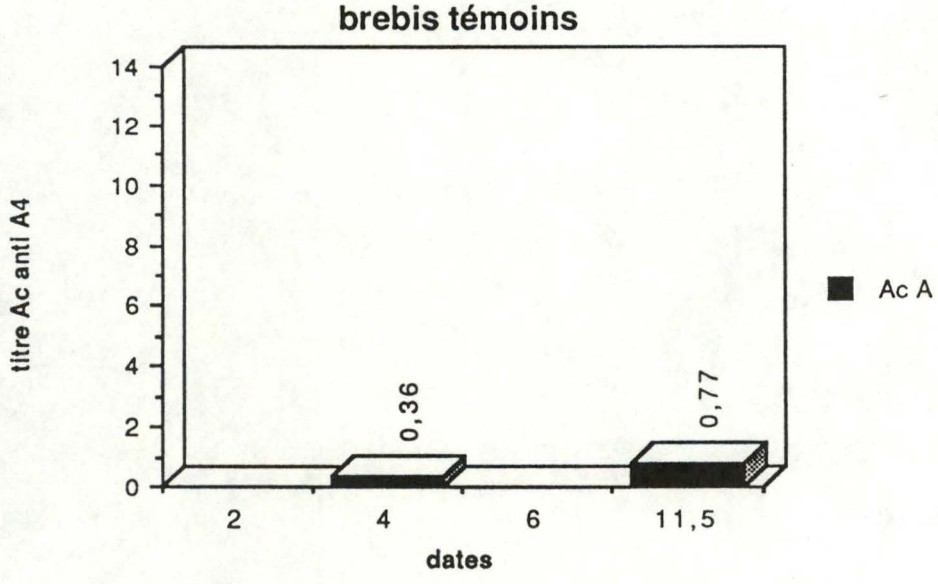
| | 12/9/88 | 26/9/88 | 10/10/88 | 18/11/88 |
|---|---|---|---|---|
| 51 | 0,03 | 7,03 | 15,36 | 3,20 |
| 53 | 0,07 | 0,06 | 3,39 | 1,37 |
| 61 | 0,03 | 0,72 | 15,92 | |
| 98 | 0,11 | 0,06 | 13,99 | 5,28 |
| 116 | 0,05 | 0,01 | 0,30 | 0,57 |
| 118 | 0,18 | 0,74 | 14,61 | 4,79 |
| 120 | 0,27 | 3,61 | 12,24 | 1,38 |
| 124 | 0,21 | 1,01 | 9,73 | 3,46 |
| 130 | 0,03 | 0,13 | 0,70 | 0,76 |
| 143 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,40 |
| 155 | 0,03 | 0,28 | 4,76 | 0,74 |
| 156 | 0,14 | 0,91 | 12,06 | 4,36 |
| 164 | 13,80 | 10,86 | 21,81 | 9,73 |
| 167 | 0,06 | 0,57 | 3,46 | 0,94 |
| 175 | 0,10 | 0,19 | 8,38 | 2,46 |
| 176 | 0,16 | 0,37 | 11,27 | 7,33 |
| 177 | 0,23 | 0,30 | 21,97 | 11,40 |
| 182 | 0,29 | 0,46 | 6,95 | |
| 184 | 0,27 | 0,66 | 23,39 | 10,34 |
| 188 | 0,40 | | 8,61 | 6,86 |
| 199 | 1,30 | 1,47 | 0,01 | 12,08 |
| 202 | 0,02 | 0,16 | 1,25 | 0,56 |
| 208 | 0,39 | 0,69 | 13,61 | 5,21 |
| 213 | 2,35 | 1,31 | 16,53 | 5,36 |
| 215 | 0,17 | 0,21 | 5,83 | 1,81 |
| 232 | 0,24 | 0,37 | 12,80 | 3,67 |
| 239 | 0,16 | 0,29 | 21,25 | 8,64 |
| 243 | 1,33 | 0,69 | 17,04 | 4,97 |
| 245 | 0,51 | 1,37 | 16,11 | 4,48 |
| 249 | 2,32 | 1,02 | 18,64 | 8,47 |
| 252 | 0,39 | 0,30 | 4,89 | 1,44 |
| 284 | 0,39 | 0,74 | 14,92 | 4,13 |
| 285 | 6,94 | 3,53 | 13,08 | |
| 287 | 0,22 | 0,37 | 15,22 | 5,85 |
| 288 | 0,02 | 0,07 | 8,56 | 3,60 |
| 301 | | 8,13 | 4,51 | 3,71 |
| 302 | | 2,69 | 14,20 | 3,59 |
| 308 | | 7,49 | 19,80 | 7,60 |
| 309 | | 0,93 | 25,97 | 18,89 |
| 315 | | 0,01 | 13,20 | 3,98 |
| 316 | | 2,56 | 7,79 | 2,34 |
| 320 | | 0,49 | 0,15 | 0,73 |
| 321 | | 2,10 | 9,67 | 3,40 |
| 329 | | 0,76 | 8,44 | 2,87 |

titre ac anti-androstenedione

| lot témoin | 26/09 | 18/11 |
|---|---|---|
| 32 | 0,16 | 0,37 |
| 33 | 0,12 | 0,68 |
| 55 | 0,23 | 0,81 |
| 64 | 0,21 | 0,37 |
| 65 | 0,09 | 0,46 |
| 67 | 0,31 | 0,47 |
| 99 | 3,76 | 0,47 |
| 111 | 0,96 | 0,59 |
| 123 | 0,23 | 0,29 |
| 126 | 0,18 | 0,61 |
| 129 | 2,38 | 0,40 |
| 132 | 0,40 | 1,39 |
| 151 | 1,17 | 1,37 |
| 154 | 0,09 | 0,61 |
| 159 | 0,21 | 0,54 |
| 160 | 0,15 | 0,61 |
| 161 | 0,10 | 0,76 |
| 174 | 0,14 | 5,29 |
| 178 | 0,09 | 0,59 |
| 179 | 0,09 | 1,28 |
| 189 | 0,08 | 0,77 |
| 192 | 0,23 | 0,93 |
| 195 | 0,50 | 1,35 |
| 209 | 0,12 | 0,30 |
| 227 | 0,21 | 0,75 |
| 235 | 0,22 | 0,01 |
| 238 | 0,17 | 0,35 |
| 244 | 0,27 | 0,99 |
| 246 | 0,44 | 0,46 |
| 247 | 0,01 | 0,38 |
| 250 | 0,10 | 0,48 |
| 255 | 0,22 | 0,40 |
| 280 | 0,06 | 1,72 |
| 282 | 0,16 | 2,68 |
| 291 | 0,25 | 0,44 |
| 293 | 0,14 | 0,35 |
| 303 | 0,18 | 0,40 |
| 304 | | 0,47 |
| 311 | | 0,64 |
| 314 | 0,12 | 0,37 |
| 318 | 0,16 | |
| 324 | 0,06 | 0,46 |
| 325 | 0,12 | 0,39 |
| 331 | 0,23 | 0,44 |
| 332 | 0,33 | 0,39 |




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-androstènedione des brebis immunisées.




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-androstènedione des brebis témoins.

titre ac anti-testosterone

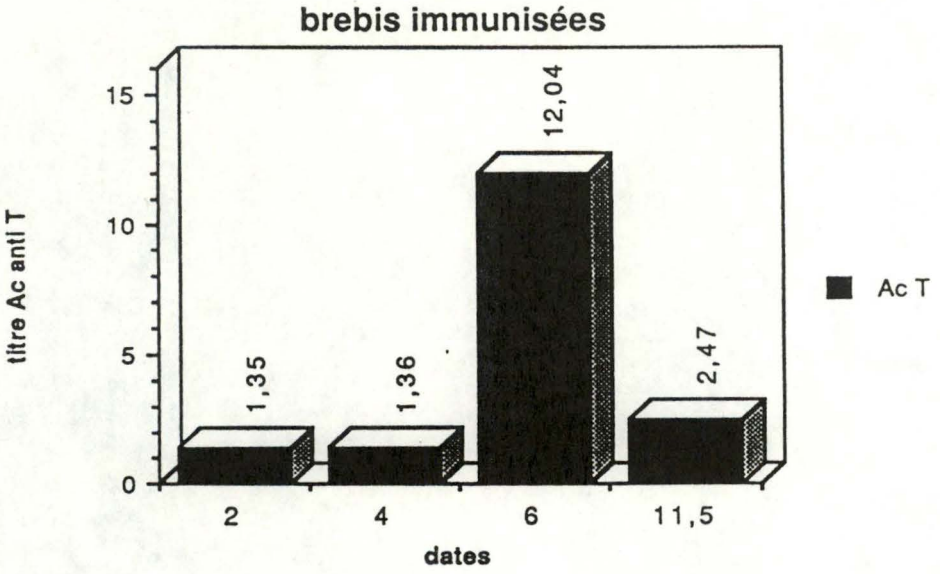
## RESULTATS TESTOSTERONE

lot immunisé

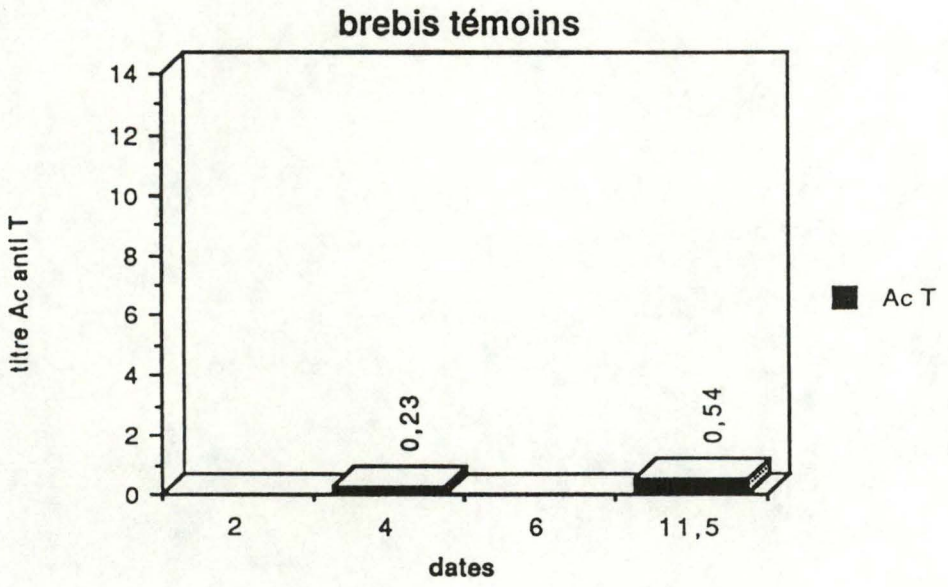
| | 12-Sep-88 | 29-Sep-88 | 10-Oct-88 | 18-Nov-88 |
|---|---|---|---|---|
| 51 | 0,05 | 0,48 | 13,87 | 1,64 |
| 53 | 0,14 | 0,29 | 5,06 | 0,64 |
| 61 | 0,02 | 0,39 | 17,94 | |
| 98 | 0,20 | 0,24 | 16,39 | 3,72 |
| 116 | 0,31 | 0,37 | 1,33 | 0,03 |
| 118 | 0,53 | 0,90 | 14,69 | 3,57 |
| 120 | 0,71 | 0,45 | 12,79 | 0,39 |
| 124 | 0,44 | 1,04 | 11,16 | 1,31 |
| 130 | 0,36 | -0,10 | 1,80 | -0,07 |
| 143 | 0,66 | 0,36 | 0,72 | -0,11 |
| 155 | 1,00 | 0,45 | 6,56 | 0,37 |
| 156 | 1,09 | 0,87 | 15,18 | 1,91 |
| 164 | 14,49 | 19,59 | 22,23 | 6,24 |
| 167 | 1,11 | 0,52 | 6,44 | 0,10 |
| 175 | 1,08 | 0,46 | 10,07 | 0,67 |
| 176 | 0,77 | 0,46 | 13,15 | 2,30 |
| 177 | 0,78 | 0,25 | 21,16 | 5,44 |
| 182 | 0,75 | 0,72 | 9,85 | |
| 184 | 0,90 | 0,27 | 24,09 | 5,29 |
| 188 | 0,83 | | 9,50 | 1,91 |
| 199 | 0,84 | 0,91 | 0,42 | 6,27 |
| 202 | 0,98 | 0,28 | 1,88 | 0,13 |
| 208 | 0,90 | 1,63 | 12,61 | 2,55 |
| 213 | 1,22 | 0,91 | 14,22 | 3,71 |
| 215 | 0,98 | 0,38 | 6,54 | 1,10 |
| 232 | 1,11 | 0,19 | 16,75 | 2,36 |
| 239 | 0,81 | 0,33 | 22,19 | 4,77 |
| 243 | 0,78 | 0,41 | 16,18 | 1,73 |
| 245 | 0,46 | 0,66 | 15,37 | 2,76 |
| 249 | 1,27 | 0,74 | 19,36 | 4,96 |
| 252 | 0,95 | 0,30 | 6,18 | 0,63 |
| 284 | 0,18 | 0,64 | 15,01 | 2,16 |
| 285 | 9,23 | 3,82 | 16,21 | |
| 287 | 0,78 | 0,54 | 16,13 | 3,17 |
| 288 | 0,60 | 0,62 | 6,92 | 1,63 |
| 301 | | 3,89 | 5,58 | 2,32 |
| 302 | | 1,86 | 15,91 | 2,04 |
| 308 | | 3,81 | 21,29 | 5,15 |
| 309 | | 2,49 | 26,07 | 11,04 |
| 315 | | 0,93 | 14,09 | 1,20 |
| 316 | | 2,03 | 11,10 | 1,20 |
| 320 | | 0,80 | 0,47 | 0,06 |
| 321 | | 1,81 | 9,66 | 3,36 |
| 329 | | 0,66 | 5,49 | 1,42 |

titre ac anti-testosterone

| lot témoin | 26/09 | 18/11 |
|---|---|---|
| 32 | 0,06 | 0,13 |
| 33 | 0,16 | 0,11 |
| 55 | 0,10 | -0,31 |
| 64 | 0,11 | 0,04 |
| 65 | 0,25 | 0,05 |
| 67 | 0,16 | 0,15 |
| 99 | 0,21 | 0,06 |
| 111 | 0,22 | 0,17 |
| 123 | 0,45 | 0,34 |
| 126 | 0,38 | 0,13 |
| 129 | 0,45 | 0,07 |
| 132 | 0,52 | 1,06 |
| 151 | 0,10 | 0,59 |
| 154 | 0,47 | 0,48 |
| 159 | 0,48 | 0,75 |
| 160 | 0,80 | 0,62 |
| 161 | 0,39 | 0,65 |
| 174 | 0,47 | 0,71 |
| 178 | 0,29 | 0,87 |
| 179 | 0,36 | 0,55 |
| 189 | 0,33 | 0,63 |
| 192 | 0,48 | 0,52 |
| 195 | 0,49 | 0,81 |
| 209 | 0,40 | 0,35 |
| 227 | 0,41 | 0,63 |
| 235 | 0,02 | 0,63 |
| 238 | 0,12 | 0,74 |
| 244 | 0,12 | 1,37 |
| 246 | -0,01 | 0,43 |
| 247 | 0,16 | 0,64 |
| 250 | 0,08 | 0,83 |
| 255 | 0,14 | 0,81 |
| 280 | 0,19 | 0,74 |
| 282 | 0,08 | 2,04 |
| 291 | 0,19 | 0,34 |
| 293 | 0,15 | 0,47 |
| 303 | 0,11 | 0,55 |
| 304 | | 0,53 |
| 311 | | 0,64 |
| 314 | 0,06 | 0,73 |
| 318 | -0,04 | |
| 324 | -0,06 | 0,32 |
| 325 | 0,05 | 0,51 |
| 331 | -0,09 | 0,59 |
| 332 | -0,05 | 0,72 |




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-testostérone des brebis immunisées.




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-testostérone des brebis témoins.

titre ac anti-E17B

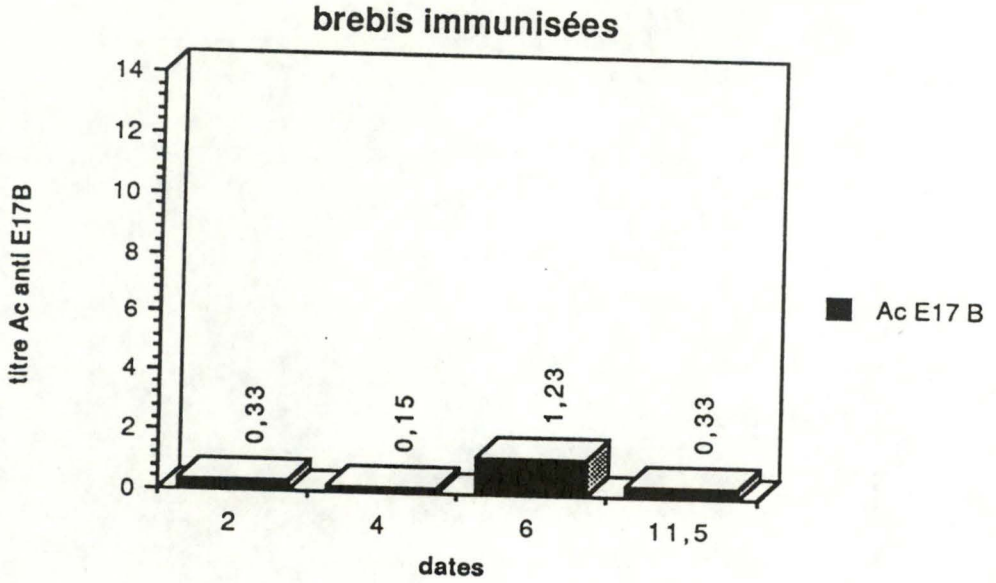
RESULTATS OESTRADIOL

lot immunisé

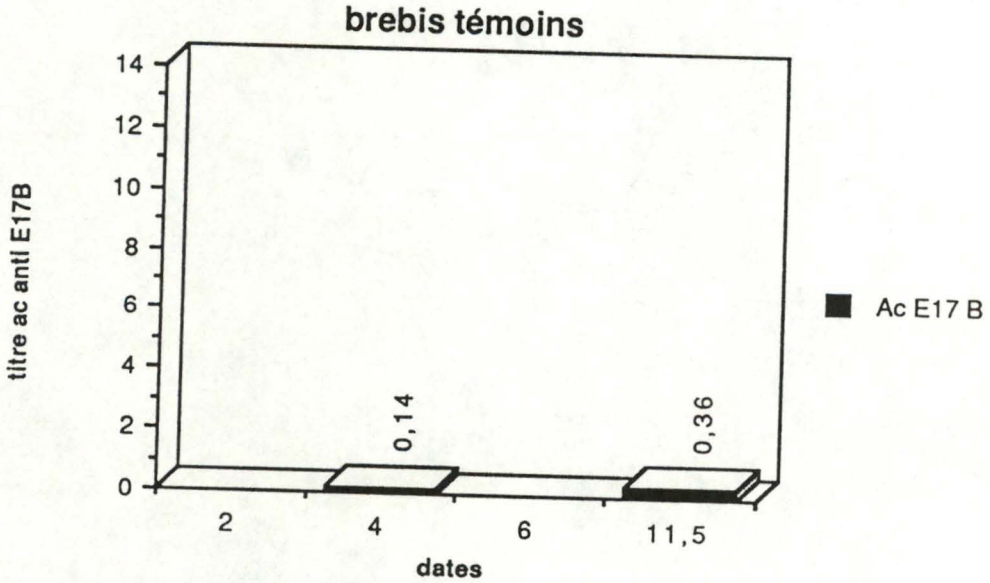
| | 12-Sep-88 | 29-Sep-88 | 10-Oct-88 | 18-Nov-88 |
|---|---|---|---|---|
| 51 | 0,20 | 0,16 | 0,17 | 0,08 |
| 53 | 0,19 | 0,10 | 0,62 | 0,22 |
| 61 | -0,01 | 0,07 | 2,89 | |
| 98 | 0,04 | 0,21 | 1,66 | 0,30 |
| 116 | 0,04 | 0,07 | 0,05 | 0,04 |
| 118 | 0,05 | 0,12 | 0,31 | 0,17 |
| 120 | 0,03 | 0,05 | 0,00 | 0,17 |
| 124 | 0,10 | 0,14 | 0,68 | 0,34 |
| 130 | 0,14 | 0,02 | 0,16 | 0,16 |
| 143 | 0,19 | 0,15 | 0,04 | 0,24 |
| 155 | 0,15 | 0,18 | 0,22 | 0,38 |
| 156 | 0,27 | 0,18 | 2,79 | 0,55 |
| 164 | 0,15 | 0,15 | 7,60 | 0,21 |
| 167 | 0,30 | 0,11 | 0,86 | 0,17 |
| 175 | 0,13 | 0,06 | 0,20 | 0,10 |
| 176 | 0,00 | 0,25 | 0,88 | 0,07 |
| 177 | 0,32 | 0,23 | 0,27 | 0,23 |
| 182 | 0,67 | 0,19 | 0,35 | |
| 184 | 0,58 | 0,15 | 1,65 | 0,25 |
| 188 | 0,69 | | 2,90 | 0,35 |
| 199 | 0,56 | 0,10 | 0,23 | 1,49 |
| 202 | 0,60 | 0,19 | 0,33 | 0,27 |
| 208 | 0,67 | 0,30 | 3,04 | 0,40 |
| 213 | 0,57 | 0,20 | 0,56 | 0,25 |
| 215 | 0,55 | 0,19 | 1,84 | 0,27 |
| 232 | 0,56 | 0,09 | 0,54 | 0,15 |
| 239 | 0,58 | 0,04 | 0,93 | 0,22 |
| 243 | 0,43 | 0,09 | 1,96 | 0,17 |
| 245 | 0,33 | 0,15 | 0,82 | 0,36 |
| 249 | 0,33 | 0,24 | 2,55 | 0,42 |
| 252 | 0,31 | 0,24 | 0,30 | 0,36 |
| 284 | 0,49 | 0,14 | 0,92 | 0,29 |
| 285 | 0,52 | 0,07 | 2,69 | |
| 287 | 0,36 | 0,22 | 1,66 | 0,41 |
| 288 | 0,37 | 0,15 | 0,47 | 0,21 |
| 301 | | 0,27 | 0,33 | 0,26 |
| 302 | | 0,14 | 1,25 | 0,24 |
| 308 | | 0,17 | 4,06 | 0,78 |
| 309 | | 0,26 | 1,19 | 0,41 |
| 315 | | 0,17 | 2,56 | 0,20 |
| 316 | | 0,12 | 0,25 | 0,12 |
| 320 | | 0,21 | 0,15 | -0,06 |
| 321 | | 0,14 | 0,90 | 2,22 |
| 329 | | 0,09 | 0,36 | 0,12 |

titre ac anti-E17B

| lot témoin | 26/09 | 18/11 |
|---|---|---|
| 32 | 0,17 | 0,07 |
| 33 | 0,05 | -0,04 |
| 55 | 0,21 | 0,07 |
| 64 | 0,14 | 0,25 |
| 65 | 0,15 | 0,15 |
| 67 | 0,22 | 0,15 |
| 99 | 0,23 | 0,01 |
| 111 | 0,25 | 0,09 |
| 123 | 0,12 | -0,03 |
| 126 | -0,04 | -0,01 |
| 129 | 0,06 | 0,07 |
| 132 | 0,03 | 0,13 |
| 151 | 0,23 | 0,19 |
| 154 | 0,04 | 0,19 |
| 159 | 0,09 | 0,12 |
| 160 | 0,10 | 0,12 |
| 161 | 0,05 | 0,20 |
| 174 | 0,11 | 0,18 |
| 178 | 0,19 | 0,14 |
| 179 | 0,09 | 0,21 |
| 189 | 0,21 | 0,19 |
| 192 | 0,25 | 0,20 |
| 195 | 0,00 | 0,21 |
| 209 | 0,07 | 0,13 |
| 227 | 0,17 | 0,23 |
| 235 | 0,17 | 0,39 |
| 238 | 0,20 | 0,23 |
| 244 | 0,15 | 0,35 |
| 246 | 0,29 | 0,60 |
| 247 | 0,09 | 0,34 |
| 250 | 0,24 | 0,74 |
| 255 | 0,12 | 0,65 |
| 280 | 0,13 | 0,74 |
| 282 | 0,15 | 0,62 |
| 291 | 0,19 | 0,65 |
| 293 | 0,19 | 0,69 |
| 303 | 0,21 | 1,67 |
| 304 | | 0,74 |
| 311 | | 0,73 |
| 314 | 0,07 | |
| 318 | 0,17 | 0,79 |
| 324 | 0,12 | 0,76 |
| 325 | 0,17 | 0,61 |
| 331 | 0,04 | 0,66 |
| 332 | 0,10 | 0,54 |




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-oestradiol des brebis immunisées.




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-oestradiol des brebis témoins.

titre ac anti-oestrone

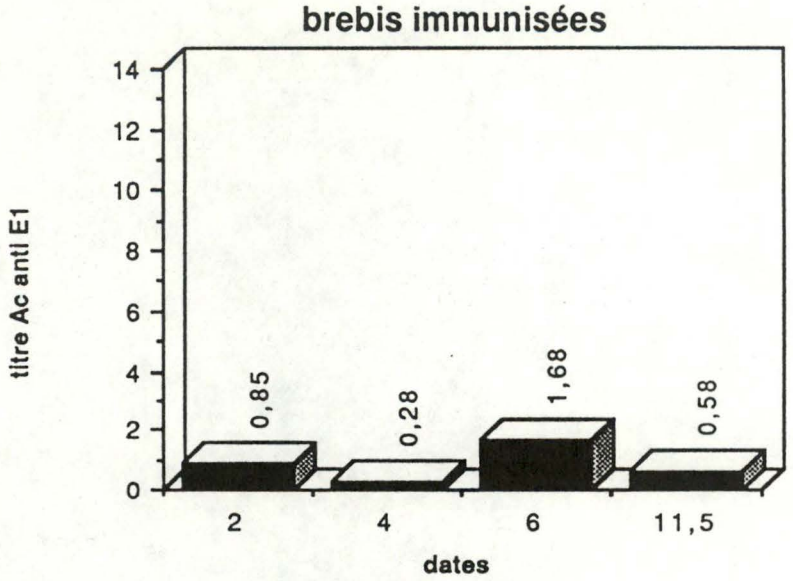
RESULTATS OESTRONE

lot immunisé

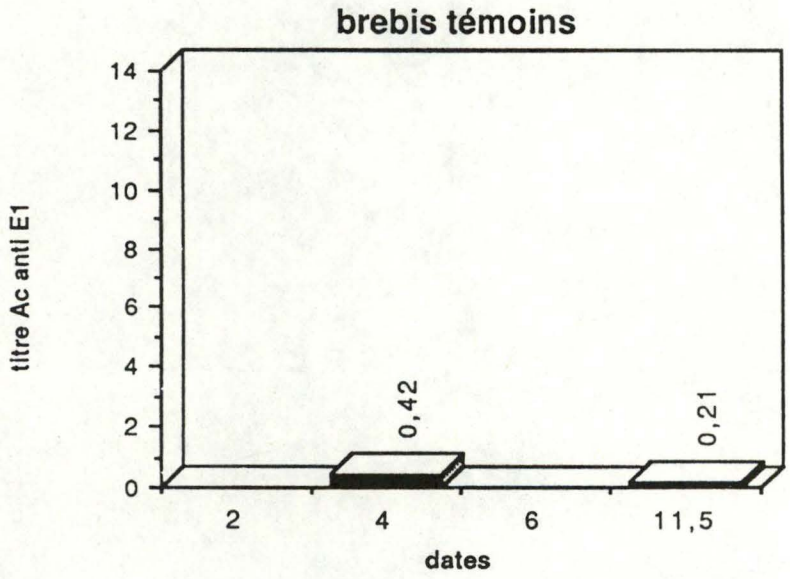
| | 12-Sep-88 | 26-Sep-88 | 10-Oct-88 | 18-Nov-88 |
|---|---|---|---|---|
| 51 | 0,71 | 0,79 | 0,37 | 0,56 |
| 53 | 0,83 | 0,28 | 1,27 | 0,26 |
| 61 | 0,89 | 0,98 | 2,63 | |
| 98 | 1,17 | 0,85 | 1,79 | 0,66 |
| 116 | 0,73 | 0,83 | 0,02 | 0,40 |
| 118 | 0,74 | 0,22 | 0,94 | 0,45 |
| 120 | 0,88 | 0,78 | 0,05 | 0,31 |
| 124 | 0,62 | -0,04 | 2,02 | 0,42 |
| 130 | 0,92 | 0,60 | 0,09 | 0,41 |
| 143 | 0,80 | 0,31 | 0,43 | 0,39 |
| 155 | 0,72 | 0,06 | 0,32 | 0,17 |
| 156 | 1,06 | 0,78 | 2,78 | 0,55 |
| 164 | 1,00 | 0,31 | 9,98 | 3,47 |
| 167 | 0,66 | 0,87 | 0,74 | 0,24 |
| 175 | 0,73 | 0,21 | 0,55 | 0,35 |
| 176 | 0,79 | 0,27 | 1,00 | 0,30 |
| 177 | 0,82 | 0,18 | 0,96 | 0,39 |
| 182 | 0,23 | 0,21 | 1,09 | |
| 184 | 0,73 | | 3,04 | 0,46 |
| 188 | 0,87 | 0,23 | 3,78 | 0,72 |
| 199 | 0,95 | 0,16 | 0,58 | 2,24 |
| 202 | 0,84 | 0,17 | 0,42 | 0,31 |
| 208 | 0,77 | 0,16 | 4,33 | 0,51 |
| 213 | 0,93 | 0,15 | 0,76 | 0,46 |
| 215 | 0,63 | 0,08 | 1,62 | 0,53 |
| 232 | 0,82 | 0,13 | 1,59 | 0,32 |
| 239 | 0,84 | 0,15 | 1,11 | 0,50 |
| 243 | 0,92 | 0,06 | 2,38 | 0,64 |
| 245 | 0,88 | 0,19 | 1,31 | 0,40 |
| 249 | 1,20 | 0,23 | 2,80 | 0,93 |
| 252 | 1,00 | 0,19 | 0,67 | 0,44 |
| 284 | 0,84 | 0,10 | 1,12 | 0,38 |
| 285 | 1,14 | 0,22 | 3,06 | |
| 287 | 1,11 | 0,19 | 1,95 | 0,50 |
| 288 | 1,01 | 0,18 | 0,55 | 0,45 |
| 301 | | 0,18 | 0,47 | 0,43 |
| 302 | | 0,24 | 4,02 | 0,45 |
| 308 | | 0,23 | 1,18 | 0,87 |
| 309 | | 0,08 | 0,75 | 0,59 |
| 315 | | 0,07 | 3,19 | 0,64 |
| 316 | | 0,07 | 0,86 | 0,46 |
| 320 | | 0,16 | 4,20 | 0,48 |
| 321 | | 0,16 | 1,00 | 0,43 |
| 329 | | -0,06 | 0,19 | 0,42 |

titre ac anti-oestrone

| lot témoins | 26/09 | 18/11 |
|---|---|---|
| 32 | 0,05 | 0,53 |
| 33 | 0,01 | 0,51 |
| 55 | 0,08 | 0,30 |
| 64 | 0,00 | 0,28 |
| 65 | 0,07 | 0,32 |
| 67 | -0,03 | 0,38 |
| 99 | 0,10 | 0,05 |
| 111 | 0,08 | 0,23 |
| 123 | 0,49 | 0,11 |
| 126 | 0,49 | 0,06 |
| 129 | 0,43 | 0,19 |
| 132 | 0,44 | 0,12 |
| 151 | 0,39 | 0,17 |
| 154 | 0,44 | 0,20 |
| 159 | 0,47 | 0,15 |
| 160 | 0,43 | 0,14 |
| 161 | 0,44 | 0,15 |
| 174 | 0,39 | 0,24 |
| 178 | 0,60 | 0,31 |
| 179 | 0,57 | 1,95 |
| 189 | 0,65 | 0,26 |
| 192 | 0,49 | -0,09 |
| 195 | 0,42 | -0,15 |
| 209 | 0,36 | 0,12 |
| 227 | 0,38 | 0,08 |
| 235 | 0,91 | 0,27 |
| 238 | 0,64 | 0,06 |
| 244 | 0,59 | 0,15 |
| 246 | 0,61 | 0,06 |
| 247 | 0,58 | 0,09 |
| 250 | 0,55 | 0,17 |
| 255 | 0,46 | 0,11 |
| 280 | 0,57 | 0,24 |
| 282 | 0,56 | 0,10 |
| 291 | 0,45 | 0,13 |
| 293 | 0,51 | 0,09 |
| 303 | 0,44 | 0,00 |
| 304 | | 0,30 |
| 311 | | 0,23 |
| 314 | 0,73 | 0,05 |
| 318 | 0,46 | |
| 324 | 0,47 | 0,06 |
| 325 | 0,44 | 0,18 |
| 331 | 0,33 | 0,01 |
| 332 | 0,61 | 0,16 |




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-oestrone des brebis immunisées.




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-oestrone des brebis témoins.

titre ac anti-progesterone

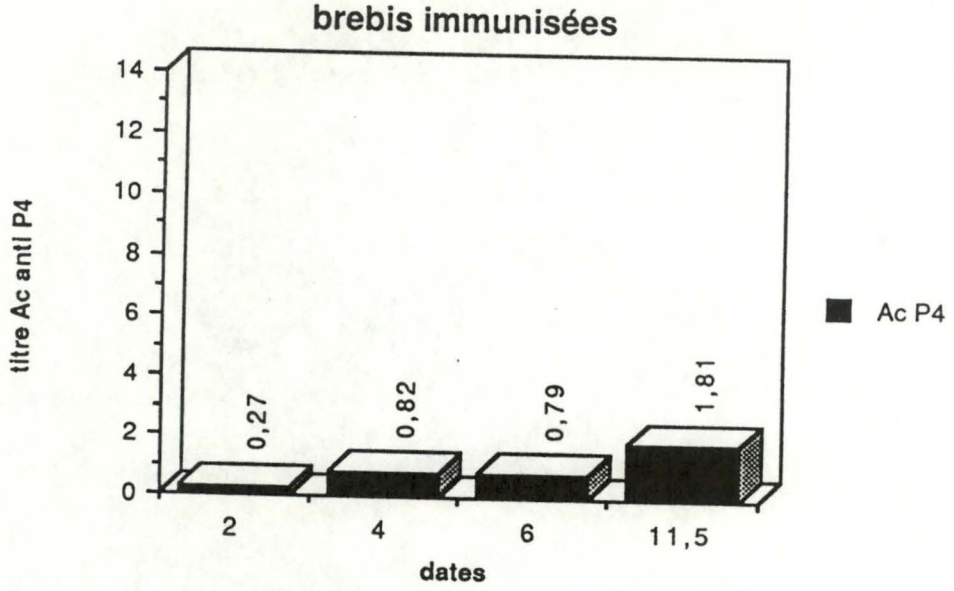
## RESULTATS PROGESTERONE

lot immunisé

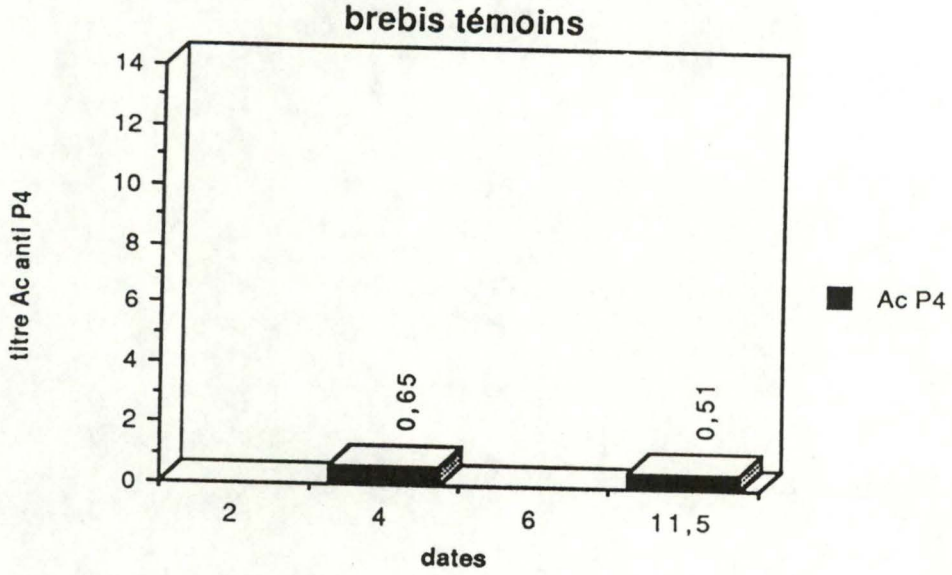
| | 12-Sep-88 | 26-Sep-88 | 10-Oct-88 | 18-Nov-88 |
|---|---|---|---|---|
| 51 | 0,04 | 0,28 | 0,63 | 2,40 |
| 53 | 0,01 | 0,50 | 0,07 | 1,62 |
| 61 | 0,01 | 0,48 | 0,23 | |
| 98 | 0,15 | 0,58 | 0,49 | 1,10 |
| 116 | 0,20 | 0,51 | 0,24 | 2,01 |
| 118 | 0,15 | 0,77 | 0,46 | 2,08 |
| 120 | 0,15 | 0,58 | 0,44 | 2,28 |
| 124 | 0,13 | 0,59 | 0,24 | 2,88 |
| 130 | 0,19 | 0,92 | 0,27 | 2,26 |
| 143 | 0,16 | 0,65 | 0,08 | 2,36 |
| 155 | 0,19 | 0,72 | 0,49 | 2,01 |
| 156 | 0,13 | 0,48 | 0,82 | 4,02 |
| 164 | 0,15 | 0,68 | 1,48 | 2,56 |
| 167 | 0,33 | 0,80 | 0,68 | 1,95 |
| 175 | 0,11 | 0,82 | 0,57 | 2,48 |
| 176 | 0,16 | 0,79 | 1,40 | 1,78 |
| 177 | 0,23 | 0,95 | 2,24 | 2,00 |
| 182 | 0,23 | 1,03 | 0,93 | |
| 184 | 0,17 | 0,98 | 1,48 | 1,34 |
| 188 | 0,18 | | 0,79 | 1,90 |
| 199 | 0,38 | 1,12 | 0,52 | 0,98 |
| 202 | 0,51 | 0,74 | 0,44 | 2,05 |
| 208 | 0,28 | 0,77 | 0,48 | 1,60 |
| 213 | 0,47 | 1,04 | 1,09 | 1,20 |
| 215 | 0,18 | 0,69 | 0,22 | 1,26 |
| 232 | 0,46 | 0,91 | 2,16 | 1,94 |
| 239 | 0,54 | 0,94 | 0,65 | 1,96 |
| 243 | 0,30 | 0,78 | 0,35 | 1,19 |
| 245 | 0,48 | 1,03 | 0,99 | 1,50 |
| 249 | 0,52 | 0,88 | 2,47 | 2,12 |
| 252 | 0,46 | 0,84 | 0,53 | 1,53 |
| 284 | 0,38 | 0,74 | 0,65 | 1,11 |
| 285 | 0,49 | 0,73 | 0,46 | |
| 287 | 0,43 | 0,66 | 1,44 | 1,90 |
| 288 | 0,50 | 0,88 | 0,70 | 2,00 |
| 301 | | 1,17 | 0,56 | 1,64 |
| 302 | | 0,88 | 1,01 | 1,52 |
| 308 | | 1,08 | 1,22 | 1,27 |
| 309 | | 0,98 | 0,81 | 1,14 |
| 315 | | 0,82 | 0,45 | 1,72 |
| 316 | | 1,64 | 0,44 | 0,60 |
| 320 | | 0,99 | -0,09 | 1,79 |
| 321 | | 0,80 | 0,58 | 1,66 |
| 329 | | 0,91 | 2,44 | 1,36 |

titre ac anti-progesterone

| lot témoin | 26/09 | 18/11 |
|---|---|---|
| 32 | 1,46 | 0,86 |
| 33 | 0,83 | 0,45 |
| 55 | 0,61 | 0,41 |
| 64 | 0,89 | 0,21 |
| 65 | 0,85 | 1,97 |
| 67 | 0,71 | 0,52 |
| 99 | 0,77 | 0,30 |
| 111 | 0,79 | 0,05 |
| 123 | 0,56 | 0,36 |
| 126 | 0,50 | 1,33 |
| 129 | 0,59 | 0,00 |
| 132 | 0,49 | 0,22 |
| 151 | 0,54 | 0,04 |
| 154 | 0,63 | 1,05 |
| 159 | 0,61 | 0,04 |
| 160 | 0,75 | 0,75 |
| 161 | 0,65 | 0,72 |
| 174 | 0,72 | 0,71 |
| 178 | 0,63 | 0,24 |
| 179 | 0,61 | 0,41 |
| 189 | 0,60 | 0,28 |
| 192 | 0,75 | 0,84 |
| 195 | 0,68 | 0,08 |
| 209 | 0,80 | 0,77 |
| 227 | 0,71 | 0,44 |
| 235 | 0,67 | 0,39 |
| 238 | 0,76 | 0,94 |
| 244 | 0,58 | 0,22 |
| 246 | 0,74 | 0,51 |
| 247 | 0,49 | 0,88 |
| 250 | 0,27 | 0,01 |
| 255 | 0,71 | 0,91 |
| 280 | 0,76 | 0,06 |
| 282 | 0,59 | 1,37 |
| 291 | 0,66 | -0,07 |
| 293 | 0,69 | 0,87 |
| 303 | 0,59 | -0,01 |
| 304 | | 0,95 |
| 311 | | 0,25 |
| 314 | 0,38 | 0,82 |
| 318 | 0,51 | |
| 324 | 0,38 | 0,05 |
| 325 | 0,45 | 0,38 |
| 331 | 0,41 | 0,07 |
| 332 | 0,52 | 0,89 |




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-progestérone des brebis immunisées.




Evolution des moyennes des titres d'anticorps anti-progestérone des brebis témoins.

ANNEXE 2

# Résultats des pertes de poids

| brebis témoins | perte poids | brebis immun. | perte poids |
|---|---|---|---|
| 32 | 2 | 51 | 7 |
| 55 | 5 | 53 | 6 |
| 64 | 2 | 61 | 6 |
| 65 | 4 | 94 | 5 |
| 67 | 5 | 98 | 4 |
| 99 | 4 | 110 | 7 |
| 111 | 3 | 116 | 4 |
| 123 | 5 | 118 | 5 |
| 126 | 4 | 120 | 6 |
| 129 | 3 | 124 | 4 |
| 132 | 5 | 130 | 6 |
| 151 | 2 | 143 | 6 |
| 154 | 4 | 155 | 4 |
| 159 | 4 | 156 | 5 |
| 160 | 3 | 164 | 4 |
| 161 | 3 | 167 | 3 |
| 174 | 4 | 176 | 8 |
| 178 | 4 | 177 | 9 |
| 179 | 4 | 182 | 6 |
| 189 | 1 | 184 | 3 |
| 192 | 3 | 188 | 4 |
| 195 | 3 | 199 | 6 |
| 209 | 3 | 202 | 3 |
| 227 | 4 | 208 | 4 |
| 235 | 4 | 213 | 4 |
| 238 | 5 | 215 | 4 |
| 244 | 3 | 232 | 7 |
| 246 | 4 | 239 | 5 |
| 247 | 5 | 243 | 3 |
| 250 | 3 | 245 | 3 |
| 255 | 5 | 249 | 7 |
| 280 | 4 | 252 | 3 |
| 282 | 3 | 284 | 3 |
| 291 | 2 | 285 | 5 |
| 293 | 3 | 287 | 3 |
| | | 288 | 3 |

| agnelles témoin | perte poids | agnelles immun | perte poids |
|---|---|---|---|
| 303 | 2 | 302 | 1 |
| 311 | 1 | 308 | 3 |
| 314 | 1 | 309 | 2 |
| 318 | 3 | 315 | 2 |
| 324 | 2 | 316 | 4 |
| 325 | 3 | 320 | 4 |
| 331 | 2 | 321 | 2 |
| 332 | 1 | 329 | 2 |
| moy.brebis | 3,57 | | 4,86 |
| moy.agn. | 1,88 | | 2,50 |
| ecartype breb | 1,04 | | 1,62 |
| ecartype agn. | 0,83 | | 1,07 |
| moy tot | 3,26 | | 4,43 |
| ecartype tot | 1,20 | | 1,78 |

ANNEXE 3

I.A.

| Fecundin | | | Témoins | | |
|---|---|---|---|---|---|
| brebis | nbre naiss. | nbre morts | brebis | nbre naiss. | nbre morts |
| 98 | 3 | 1 | 55 | 3 | 2 |
| 145 | 1 | | 65 | 2 | |
| 156 | 1 | | 99 | 2 | |
| 202 | 2 | | 126 | 1 | |
| 208 | 1 | | 134 | 1 | |
| 51 | 2 | 1 | 161 | 1 | |
| 184 | 1 | | 178 | 2 | |
| | | | 235 | 2 | |
| | | | 247 | 1 | |
| | | | 291 | 1 | |
| | | | 32 | 1 | |
| | | | 111 | 1 | |
| | | | 151 | 3 | 2 |
| | | | 159 | 1 | |
| | | | 192 | 2 | |
| | | | 179 | 1 | |
| Agnelles | | | Agnelles | | |
| 308 | 2 | 1 | 314 | 1 | 1 |
| | | | 324 | 1 | |
| | | | 331 | 2 | |
| | | | 303 | 2 | |
| | | | 311 | 1 | 1 |

REPASSES

| Fecundin | | | Témoins | | |
|---|---|---|---|---|---|
| brebis | nbre naiss. | nbre morts | brebis | nbre naiss. | nbre morts |
| 215 | 2 | | 123 | 2 | 1 |
| 116 | 2 | | 195 | 1 | |
| 167 | 1 | | 244 | 2 | |
| 176 | 2 | | 282 | 1 | |
| 177 | 1 | | 67 | 1 | |
| 199 | 2 | | 129 | 1 | |
| 252 | 2 | | 132 | 2 | |
| 285 | 2 | 1 | 160 | 1 | |
| 245 | 1 | | 174 | 1 | |
| 94 | 1 | | 227 | 2 | |
| 243 | 1 | | 250 | 2 | |
| 110 | 1 | | 246 | 2 | |
| 124 | 2 | 1 | 293 | 1 | |
| 164 | 2 | | 280 | 2 | |
| 182 | 1 | | 64 | 1 | |
| 188 | 1 | | 209 | 1 | |
| 213 | 2 | | | | |
| 232 | 2 | | | | |
| 249 | 1 | | | | |
| 284 | 2 | | | | |
| 155 | 2 | | | | |
| 239 | 2 | 1 | | | |
| Agnelles | | | Agnelles | | |
| 315 | 1 | | 325 | 2 | |
| 320 | 1 | | | | |
| 329 | 1 | 1 | | | |
| 316 | 1 | 1 | | | |