



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2023 - Thèse n° 012

**L'UTILISATION DE LA GONADOTROPINE
CHORIONIQUE EQUINE CHEZ LES RUMINANTS (eCG),
SES PROBLÉMATIQUES ET SA SUBSTITUTION DANS
LA MAÎTRISE DE LA REPRODUCTION**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 9 juin 2023
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

COUDURIER Alexia

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2023 - Thèse n° 012

**L'UTILISATION DE LA GONADOTROPINE
CHORIONIQUE EQUINE CHEZ LES RUMINANTS (eCG),
SES PROBLÉMATIQUES ET SA SUBSTITUTION DANS
LA MAÎTRISE DE LA REPRODUCTION**

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 9 juin 2023
Pour obtenir le titre de Docteur Vétérinaire

Par

COUDURIER Alexia

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (20-03-2023)

Pr	ABITBOL	Marie	Professeur
Dr	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Maître de conférences
Pr	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Professeur
Dr	AYRAL	Florence	Maître de conférences
Pr	BECKER	Claire	Professeur
Dr	BELLUCO	Sara	Maître de conférences
Dr	BENAMOU-SMITH	Agnès	Maître de conférences
Pr	BENOIT	Etienne	Professeur
Pr	BERNY	Philippe	Professeur
Pr	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Professeur
Dr	BOURGOIN	Gilles	Maître de conférences
Dr	BRUTO	Maxime	Maître de conférences
Dr	BRUYERE	Pierre	Maître de conférences
Pr	BUFF	Samuel	Professeur
Pr	BURONFOSSE	Thierry	Professeur
Dr	CACHON	Thibaut	Maître de conférences
Pr	CADORÉ	Jean-Luc	Professeur
Pr	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Professeur
Pr	CHABANNE	Luc	Professeur
Pr	CHALVET-MONFRAY	Karine	Professeur
Dr	CHANOIT	Gullaume	Professeur
Dr	CHETOT	Thomas	Maître de conférences
Pr	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Professeur
Pr	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Professeur
Pr	DJELOUADJI	Zorée	Professeur
Dr	ESCRIOU	Catherine	Maître de conférences
Dr	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Maître de conférences
Dr	GALIA	Wessam	Maître de conférences
Pr	GILOT-FROMONT	Emmanuelle	Professeur
Dr	GONTHIER	Alain	Maître de conférences
Dr	GREZEL	Delphine	Maître de conférences
Dr	HUGONNARD	Marine	Maître de conférences
Dr	JOSSON-SCHRAMME	Anne	Chargé d'enseignement contractuel
Pr	JUNOT	Stéphane	Professeur
Pr	KODJO	Angeli	Professeur
Dr	KRAFFT	Emilie	Maître de conférences
Dr	LAABERKI	Maria-Halima	Maître de conférences
Dr	LAMBERT	Véronique	Maître de conférences
Pr	LE GRAND	Dominique	Professeur
Pr	LEBLOND	Agnès	Professeur
Dr	LEDOUX	Dorothee	Maître de conférences
Dr	LEFEBVRE	Sébastien	Maître de conférences
Dr	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Maître de conférences
Dr	LEGROS	Vincent	Maître de conférences
Pr	LEPAGE	Olivier	Professeur
Pr	LOUZIER	Vanessa	Professeur
Dr	LURIER	Thibaut	Maître de conférences
Dr	MAGNIN	Mathieu	Maître de conférences
Pr	MARCHAL	Thierry	Professeur
Dr	MOSCA	Marion	Maître de conférences
Pr	MOUNIER	Luc	Professeur
Dr	PEROZ	Carole	Maître de conférences
Pr	PIN	Didier	Professeur

Pr PONCE	Frédérique	Professeur
Pr PORTIER	Karine	Professeur
Pr POUZOT-NEVORET	Céline	Professeur
Pr PROUILLAC	Caroline	Professeur
Pr REMY	Denise	Professeur
Dr RENE MARTELLET	Magalie	Maître de conférences
Pr ROGER	Thierry	Professeur
Dr SAWAYA	Serge	Maître de conférences
Pr SCHRAMME	Michael	Professeur
Pr SERGENTET	Delphine	Professeur
Dr TORTEREAU	Antonin	Maître de conférences
Dr VICTONI	Tatiana	Maître de conférences
Dr VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	Chargé d'enseignement contractuel
Pr ZENNER	Lionel	Professeur

Remerciements

A Monsieur le Professeur Pascal GAUCHERAND

De l'Université Claude Bernard – Lyon I, Faculté de médecine de Lyon
Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,
Mes hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur Pierre BRUYERE

De VetAgro-Sup, Campus vétérinaire de Lyon
Pour avoir accepté la direction de cette thèse,
Pour vos conseils et votre aide,
Mes plus sincères remerciements.

A Madame la Professeure Claire BECKER

De VetAgro -Sup, Campus vétérinaire de Lyon
Pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse,
Mes sincères remerciements.

Table des matières

Table des matières	7
Tables des Figures	11
Tables des tableaux	15
Liste des abréviations	17
Introduction.....	19
I. L'histoire de l'eCG et son usage de nos jours.....	21
A. L'eCG : un lien étroit avec l'évolution des modes de production animale au cours du temps.	21
1. L'insémination animale, évolution au cours du temps	21
2. Bref descriptif de l'eCG (<i>equine Chorionic Gonadotropin</i>)	22
B. L'importance et la distribution de l'eCG dans le contexte actuel	23
1. Le rôle central de la synchronisation des ovulations par voie hormonale de nos jours	23
2. Commercialisation et place de l'eCG.....	25
a. L'eCG sur le marché français et dans le monde	25
b. Mode de production à des fins d'usage vétérinaire.....	27
II. La reproduction des ruminants	29
A. Physiologie de la reproduction basée sur le modèle bovin	29
1. Description du cycle ovarien des ruminants	29
a. Les différentes hormones régulant le cycle	30
b. Vagues folliculaires.....	32
c. Ovulation	36
d. Corps jaune.....	38
e. Evènements liés à la gestation et au <i>post-partum</i>	39
B. Spécificité des petits ruminants	40
1. Déroulement des cycles sexuels.....	41
2. Effet de la saison	41
3. Effet de l'environnement social	42
C. Phénomènes indésirables de la reproduction fréquemment rencontrés en élevage	42
1. Les principaux troubles de la reproduction chez la vache : les anœstrus et le <i>repeat breeding</i>	43
a. Anœstrus anovulatoire (PETER <i>et al.</i> , 2009)	43
b. Anœstrus de type 3	44
c. Anœstrus de type 4	44
d. Le <i>repeat breeding</i> ou syndrome des vaches infécondes	45

2.	Une maladie spécifique de la chèvre : l'hydromètre ou pseudo-gestation caprine	45
III.	Etude structurale de l'eCG et son intégration dans des protocoles de maîtrise de la reproduction.....	48
A.	Approche polypeptidique.....	48
1.	Généralités et études	48
2.	Organisation hétérodimérique.....	49
3.	Une forte glycosylation	51
B.	Relation entre sa structure et ses propriétés particulières.....	52
1.	Haut poids moléculaire	53
2.	Forte teneur en sucres	53
3.	Conformation dans l'espace.....	53
C.	Bilan sur les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamie	54
D.	L'eCG : une hormone à double activité LH et FSH utilisée chez les ruminants	54
1.	Origine de la double activité de l'eCG	55
2.	Des effets sur la reproduction parfois contestés	55
a.	Effet sur la croissance folliculaire	55
b.	Effets sur l'ovulation.....	56
c.	Effet sur la phase lutéale et la gestation	56
d.	Discussion sur l'efficacité	56
3.	Mise en application au sein de protocoles de synchronisation des chaleurs.....	58
a.	Principe général des associations d'hormones	60
b.	Chez les bovins	61
c.	Chez les ovins et les caprins	62
IV.	Les limites de l'utilisation de l'eCG.....	64
A.	Les inconvénients de son intégration aux protocoles de synchronisation des chaleurs	64
1.	Une efficacité discutée	64
2.	Une réaction immunitaire aux traitements répétés avec de l'eCG.....	64
3.	Les questions éthiques soulevées par sa production dans les « fermes à sang ».....	67
B.	La pertinence de se passer d'hormones dans la maîtrise de la reproduction	70
1.	Discussion autour des effets indésirables des hormones sur la santé et l'environnement..	70
2.	Les contraintes liées aux cahiers des charges plus strictes	72
3.	De nouveaux enjeux : vers une interdiction des hormones en reproduction des animaux de rente	72
V.	Alternatives à l'eCG et ouverture vers une maîtrise de la reproduction des ruminants sans hormone.....	75

A.	Autres protocoles hormonaux	75
1.	Chez les bovins	75
a.	Protocole PGF2 α -PGF2 α	76
b.	Protocole GnRH-PGF2 α -GnRH ou GPG.....	77
c.	Protocole GnRH-P4-PGF2 α -GnRH	79
2.	Chez les petits ruminants	80
a.	Traitements photopériodiques avec mélatonine.....	80
i.	Principe général.....	80
ii.	Utilisation en saison de reproduction	81
iii.	Utilisation hors saison de reproduction	82
b.	Protocole PGF2 α -PGF2 α	83
c.	Autres traitements hormonaux.....	84
B.	Recherches et perspectives pour l'utilisation d'autres molécules artificielles	85
1.	Problématiques concernant la synthèse d'eCG artificielle	85
2.	Nouvelles molécules à l'étude.....	85
a.	La kisspeptine, une solution de substitution potentielle	85
b.	Autres molécules à l'essai pour pallier les problématiques liées aux gonadotropines	87
C.	Méthodes de substitution sans hormone	88
1.	Effet mâle	88
a.	Principe général.....	88
b.	Mise en application	89
2.	Effet luminosité	91
	Conclusion	93
	Bibliographie.....	95

Tables des Figures

Figure 1: Schéma du développement de l'embryon équin au jour 35 de gestation (Source : D'après ALLEN et al., 1993). La ceinture chorionique sécrétrice d'eCG est notée « G », l'allantoïde est noté A.I. et le sac vitellin Y.S.	22
Figure 2 : Évolution entre les années 1996 et 2006 du taux de réussite à l'IA en première lactation (%) et de la moyenne d'index de valeur génétique pour la fertilité des vaches de race Prim'Holstein en écart à la moyenne de 1996 en France (Source : INRA/Institut de l'Élevage, consulté en 2020).	25
Figure 3 : Dose d'eCG (en UI) recommandée en fonction de la saison, la race et le stade physiologique de la vache (d'après MSD).....	27
Figure 4 : Evènements successifs du cycle reproductif de la vache (reprodAction, consulté en 2023)	30
Figure 5 : Schéma du mécanisme hormonal en phase de recrutement folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante	33
Figure 6 : Schéma du mécanisme hormonal de l'arrêt de la croissance folliculaire par manque de FSH en phase de sélection folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante.....	34
Figure 7 : Schéma du mécanisme hormonal de l'atrésie des follicules ne possédant pas de récepteurs à LH et croissance du follicule dominant équipé de récepteurs à LH en phase de sélection folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante.....	35
Figure 8 : Schéma du mécanisme hormonal de l'atrésie du follicule dominant sans ovulation en présence d'un corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante	37
Figure 9 : Schéma du mécanisme hormonal de l'ovulation à la suite de la lyse du corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante	38
Figure 10 : Schéma du mécanisme de lyse physiologique du corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante, PGF2α = prostaglandine 2α	39
Figure 11 : Cinétique de la mélatonine dans le LCR (liquide céphalo-rachidien) du troisième ventricule (carrés) et dans le plasma jugulaire (points) en fonction de l'heure de la journée chez la brebis (Source : d'après SKINNER, 1999).	42

Figure 12 : Images échographiques d'un utérus de chèvre atteinte d'hydromètre (à gauche) et d'une chèvre gestante (à droite) (Source : BRICE et al., 2003)	47
Figure 13 : Structure d'un récepteur aux gonadotropines (D'après COMBARNOUS, 2001). N représente l'extrémité N-terminale, C représente l'extrémité C-terminale.....	49
Figure 14 : Structure tridimensionnelle de l'hCG comprenant les sous-unités α en rouge et β en bleu. Vue de face au milieu et profils gauches et droits respectivement (D'après COMBARNOUS, 2001)...	50
Figure 15 : Nœuds de cystéines avec les ponts disulfures sur la sous-unité α (a) et β (b) (D'après COMBARNOUS et al., 1997).	51
Figure 16 : Dispositifs intravaginaux à libération prolongée de progestérone avec AMM bovins en France commercialisés par ZOETIS à gauche et CEVA au milieu et avec AMM ovins et caprins de CEVA à droite (Source : MED'VET).....	61
Figure 17 : Protocole de synchronisation des chaleurs avec eCG principalement utilisé chez les bovins (Source : COUDURIER A. d'après CHASTANT-MAILLARD, 2005). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , eCG : equine Chorionic Gonadotropin, j : jour, h : heure	61
Figure 18 : Protocole classique de synchronisation des chaleurs chez la brebis (Source : COUDURIER A. d'après LURETTE et al., 2016 ; FATET et al., 2011). eCG : equine Chorionic Gonadotropin, IA : Insémination Artificielle, j : jour, h : heure.....	63
Figure 19 : Protocole classique de synchronisation des chaleurs chez la chèvre (Source : COUDURIER A. d'après FATET et al., 2011). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , eCG : equine Chorionic Gonadotropin, j : jour, h : heure	63
<i>Figure 20</i> : Cinétique de la concentration en anticorps anti-eCG en fonction du nombre de traitements à l'eCG au cours du temps (Source : ROY et al., 1999). Les flèches indiquent les injections d'eCG, l'axe des abscisses le nombre de traitement et l'axe des ordonnées la concentration en anticorps anti-eCG en $\mu\text{g/ml}$	65
Figure 21 : Répartition des fréquences alléliques en fonction des phénotypes anti-eCG élevés (en noir) et faibles (en blanc) pour le microsatellite OLADR. L'axe des abscisses représente les fragments de la région OLADR et en ordonnées la fréquence de ces réponses immunitaires fortes ou faibles (Source : ROY et al., 1999).....	66
Figure 22 : Affiche de la campagne contre les « fermes à sang » menée par Welfarm (Source : Welfarm, consulté en 2022)	69
Figure 23 : Schéma d'induction des chaleurs chez la vache avec deux injections de PGF2 α (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure.....	76
Figure 24 : Schéma du protocole GPG « OvSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure , GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone	77

Figure 25 : Schéma du protocole GPG « CoSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour	78
Figure 26 : Schéma du protocole GPG « SelectSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour	79
Figure 27 : Schéma du protocole de synchronisation des chaleurs par association de GnRH-P4-PGF2 α - GnRH (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure	79
Figure 28 : Protocoles des traitements lumineux pour une reproduction en saison sexuelle normale des petits ruminants (Source : PELLICER-RUBIO et al., 2019). JL : Jours Longs ; JN : Jours Naturels	82
Figure 29 : Protocoles des traitements lumineux pour une reproduction hors saison sexuelle chez les petits ruminants (Source : PELLICER-RUBIO et al., 2019). JL : Jours Longs ; JN : Jours Naturels.....	83
Figure 30 : Schéma de synchronisation des chaleurs chez la chèvre et la brebis utilisant deux injections de prostaglandine (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure.....	84
Figure 31 : Représentation chronologique de la reprise des chaleurs après effet mâle à J0 chez la brebis avec possibilité d'un cycle normal ou d'un cycle court avec des chaleurs exprimées à la 3eme ovulation (Source : COUDURIER A.). J : jour	90
Figure 32 : Protocoles d'un traitement photopériodique sans mélatonine associé à un effet mâle (flèche rouge) chez les petits ruminants (D'après PELLICER-RUBIO et al., 2009).	92

Tables des tableaux

Tableau I : Spécialités pharmaceutiques contenant de l'eCG sur le marché français avec AMM bovins, ovins, caprins (Source : COUDURIER A., d'après MED'VET, 2021)	26
Tableau II : Caractéristiques physiologiques de la reproduction des espèces bovine, ovine et caprine (d'après DRIANCOURT et al., 2014.).....	29
Tableau III : Bilan des hormones du cycle reproductif des ruminants (Source : COUDURIER A.)	31
Tableau IV : Comparaison des différentes gonadotropines ; aa = acides aminés (Source : SABY C., d'après COMBARNOUS et al., 1984, 2001 ; DRION et al., 1998 ; SAINT-DIZIER, 2004).....	52
Tableau V : Bilan de la littérature sur les effets de l'eCG sur la reproduction chez les ruminants (Source : A. COUDURIER). E : oestradiol, UI : Unité Internationale, VL : vache laitière, VA : vache allaitante, mm : millimètre, j : jour.....	57
Tableau VI : Indications de l'eCG au sein de différentes espèces (Source : d'après DRION, 2005).	59
Tableau VII : Effets des hormones utilisées en association avec l'eCG et spécialités commercialisées (Source : COUDURIER A. d'après MED'VET)	60

Liste des abréviations

AMM = Autorisation de Mise sur le Marché

AOP = Agriculture d'Origine Protégée

ARNm = Acide Ribonucléique messenger

CMH = Complexe Majeur d'Histocompatibilité

DGAL = Direction Générale de l'Alimentation

Dio = Déiodinase

E = Oestradiol

eCG = equine Chorionic Gonadotropin = gonadotropine chorionique équine

EFSA = European Food Safety Authority

eLH = equine Luteizing Hormone = hormone lutéinisante équine

ELISA = Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay = dosage immunoenzymatique sur support solide

FSH = Follicle Stimulating Hormone = hormone folliculo-stimulante

GnRH = Gonadotropin-Releasing Hormone = Gonadolibérine

hCG = human Chorionic Gonadotropin = Gonadotropine chorionique humaine

hMG = human menopausal gonadotropin = gonadotropine ménopausique humaine

IA = Insémination Animale

IgG = Immunoglobuline G

INRA = Institut National de Recherche Agronomique

ITOVIC = Institut de l'élevage ovin et caprin français

JL = Jour Long

JN = Jour Naturel

LCRe = Laboratoire Communautaire de Référence

LCR = Liquide Céphalo-Rachidien

LH = Luteizing Hormone = hormone lutéinisante

LMR = Limite Maximale de Résidus

LNR = Laboratoire National de Référence

LPS = LipoPolySaccharide

P4 = Progestérone

PGF2 α = prostaglandine 2 α

pH = potentiel hydrogène

PMSG = Pregnant Mare Serum Gonadotropin = gonadotropine issue de sérum de jument gestante = eCG

RB = Repeat Breeding = syndrome des vaches infécondes

RCP = Résumé des Caractéristiques du Produit

RHGP = Récepteurs des Hormones GlycoProtéiques

SCVPH = Former Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health = Comité scientifique vétérinaire en santé publique

SIMV = Syndicat de l'Industrie du Médicament et réactif Vétérinaires

T = thyroxine

TSH = Thyroid Stimulating Hormone = hormone stimulatrice thyroïdienne

UE = Union Européenne

UI = Unité Internationale

Introduction

La rentabilité économique d'un élevage de ruminants est conditionnée par la production de nouveau-nés. En effet, la production laitière est déclenchée par la mise-bas d'un veau, chevreau ou agneau, tandis qu'en élevage allaitant, la production est assurée par la naissance de petits qui pourront être engraisés et vendus comme veaux de boucherie, et dans une moindre mesure pour la production de viande de chevreaux et agneaux. Cela permet aussi, si ces jeunes sont gardés, d'avoir des adultes pour le renouvellement du cheptel.

Cette production est influencée directement par l'efficacité de la reproduction, ce qui permettra d'atteindre les objectifs zootechniques fixés par l'éleveur et diminuer la période improductive des femelles. A ceci se rajoute également un enjeu de gestion des naissances au cours du temps, en particulier chez les espèces saisonnées, c'est-à-dire les petits ruminants. En effet, la demande est constante sur l'année en termes de lait et de viande, il y a donc un intérêt supplémentaire de maîtriser le moment des chaleurs et donc des naissances par désaisonnement.

Cet objectif de déclenchement au moment souhaité de l'ovulation est atteint en partie grâce à la mise en place de protocoles de synchronisation des chaleurs utilisant notamment des hormones. Parmi elles, l'eCG (*equine chorionic gonadotrophin* ou gonadotropine chorionique équine) s'est révélée largement utilisée en association avec d'autres hormones, chez les animaux cyclés ou non, pour les trois espèces de ruminants prédominantes en France.

Cet usage se heurte désormais à des problèmes éthiques soulevés par le scandale des « fermes à sang » notamment, où les conditions de production de l'hormone sont discutées. L'eCG est produite par des juments à un stade de gestation donné et se retrouve dans leur sang. Les associations dénoncent les méthodes de détention, de manipulation des juments et de prélèvement de sang, dans des pays où ces pratiques ne sont parfois que partiellement encadrées.

L'objectif de cette thèse est donc de présenter l'utilisation de l'eCG dans le paysage agricole français au sein des élevages de bovins, ovins et caprins, d'en comprendre les limites et de décrire les moyens de substituer cette hormone. La problématique sera également élargie à l'usage des hormones de manière générale dans un fond de nouveaux enjeux dans l'élevage en France.

Dans une première partie, l'eCG sera replacée dans un contexte historique au fil de l'évolution de l'agriculture pour en expliquer son importance. La deuxième partie fournira des rappels sur la physiologie et la pathologie de la reproduction des bovins, ovins et caprins. La troisième partie fera le lien entre les deux précédentes en mettant en évidence l'action de l'eCG dans un programme de reproduction maîtrisée. La quatrième partie mettra en

perspective les limites de l'usage de l'eCG et des hormones en reproduction des ruminants et la cinquième partie donnera des éléments pour pallier un arrêt de l'utilisation de l'eCG ainsi que des hormones de manière générale.

I. L'histoire de l'eCG et son usage de nos jours

A. L'eCG : un lien étroit avec l'évolution des modes de production animale au cours du temps

1. L'insémination animale, évolution au cours du temps

Les débuts de l'IA (insémination animale) remontent au XIV^{ème} siècle au sein du peuple arabe, mais cette technique n'a été réellement étudiée et appliquée qu'à partir de 1779, avec les travaux du physiologiste SPALLANZANI sur des chiens, travaux repris par le français REPIQUET (HANZEN, 2015). L'IA n'a ensuite vraiment pris de l'ampleur qu'avec la congélation du sperme, méthode que l'on doit à POLDGE et ROWSON (1952). L'œstrus était alors induit par énucléation manuelle du corps jaune par voie transrectale, méthode dont l'efficacité n'est pas optimale et nécessitant une manipulation traumatisante de l'ovaire (DUPLAN *et al.*, 1987). Des protocoles hormonaux ont donc été élaborés à partir des années 50 pour les bovins, ce qui a permis un grand essor de l'IA : environ 7 millions d'IA ont été recensées chez des bovins synchronisés en 1970 en France (PONSART *et al.*, 2004). C'est également à cette période qu'une intensification de la production, en particulier au sein des cheptels laitiers, a permis le développement de schémas de sélection dans une optique de diffuser le progrès génétique. De grands centres d'insémination apparaissent alors afin d'approvisionner tout le territoire, s'accompagnant d'un nombre d'animaux toujours plus important dans les élevages malgré un recul du nombre de fermes (BOUE *et al.*, 2012). On compte ainsi actuellement 6,5 millions d'IA sur 17,8 millions de têtes (37%) dont 89% sur vache laitière (BUFF, 2020).

Chez les petits ruminants, la donne a été un peu différente. Les premiers protocoles hormonaux ont en effet été créés vers 1965 mais étaient dirigés initialement vers la possibilité de réaliser des IA et non vers la possibilité de désaisonner. A l'inverse des bovins, l'utilisation d'hormones de synchronisation des chaleurs ne s'est donc pas immédiatement démocratisée chez les ovins et les caprins (BOUE *et al.*, 2012). Et ce n'est que dans les années 80 que l'IA désaisonnée, permise par traitement hormonal, explose. Mais cette technique se heurte alors à des limites technico-économiques : si chez les bovins ces traitements ont déjà démontré leur efficacité, ils restent coûteux pour les éleveurs de caprins et d'ovins pour un succès à l'insémination en dessous de leurs attentes. Et ce n'est qu'après cette période que la dynamique bascule en faveur de l'IA et du désaisonnement, avec une demande des consommateurs pour étaler la production des produits d'origine animale. La création de groupes de soutien pour les filières va permettre de donner un meilleur accès aux techniques d'IA avec un traitement hormonal optimisé. Selon l'étude de l'INRA (Institut National de la

Recherche Agronomique) et de l'ITOVIC (Institut de l'élevage ovin et caprin français) en 1984, les traitements hormonaux dans la maîtrise de la reproduction chez les petits ruminants ont eu un fort impact positif sur le nombre de mises-bas chez ces deux espèces (BOUE *et al.*, 2012). Actuellement, l'utilisation de l'IA est assez différente chez les ovins et les caprins. On recense ainsi 65 500 IA en 2020 en élevage caprin sur 1,4 million de têtes (4%) d'après les recensements d'Idèle, et 1,17 million d'IA sur 7,3 millions de têtes en élevage ovin soit 16% (BUFF, 2020). Les chaleurs étant relativement frustes chez les petits ruminants, la synchronisation des chaleurs trouve alors toute sa place avec environ 40% des élevages de petits ruminants ayant utilisé un protocole hormonal pour synchroniser les chaleurs en 2016, dont la majorité en filière laitière (LURETTE *et al.*, 2016).

2. Bref descriptif de l'eCG (*equine Chorionic Gonadotropin*)

L'eCG ou *equine chorionic gonadotropin*, autrefois appelée *Pregnant Mare Serum Gonadotropin* (PMSG ou gonadotropine issue du sérum de jument gestante) est une hormone gonadotrope sérique équine de type glycoprotéique. Elle est sécrétée par les tissus fœtaux, en particulier les cupules endométriales au niveau des points d'attache du fœtus qui constituent la « ceinture chorionique » (ALLEN *et al.*, 1975) (figure 1).

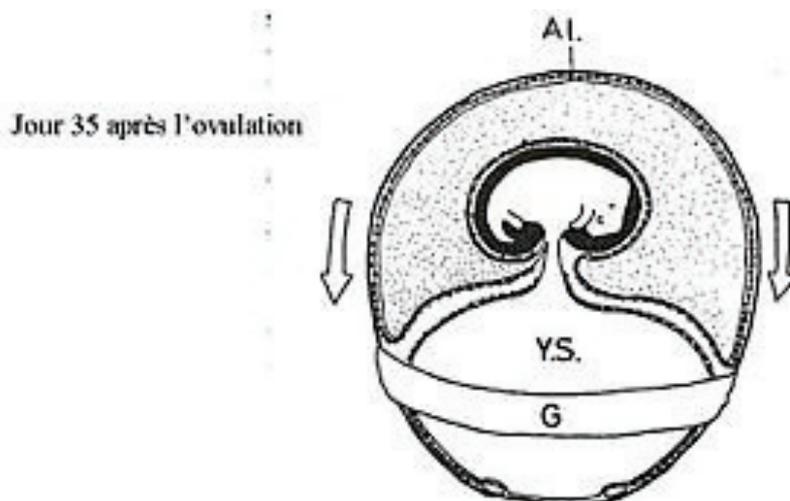


Figure 1: Schéma du développement de l'embryon équin au jour 35 de gestation (Source : D'après ALLEN *et al.*, 1993). La ceinture chorionique sécrétrice d'eCG est notée « G », l'allantoïde est noté A.I. et le sac vitellin Y.S.

Ces structures sécrètent un gel contenant notamment de l'eCG à partir de 37-42 jours de gestation (entre 20 et 30 UI/mL) avec un pic de concentration entre les 55 et 65èmes jours

de gestation atteignant 100 UI/mL dans le sérum. La quantité d'eCG décroît ensuite jusqu'à disparaître totalement vers le 130ème jour de gestation avec la destruction des cupules endométriales par réaction immunitaire contre les antigènes d'origine paternelle qu'elles contiennent. Des travaux ultérieurs (ALLEN *et al.*, 1993) ont montré son origine fœtale : les trophoblastes sont les cellules sécrétrices d'eCG et non le tissu maternel.

L'utilisation de l'eCG a quasiment 100 ans. Les travaux de recherche concernant son utilisation ont en effet été initiés dès les années 1930 avec COLE *et al.* (1933) qui ont noté une stimulation de la croissance ovarienne chez des souris et des rattes à la suite de l'injection de sérum prélevé chez des juments entre le 37ème et le 130ème jour de gestation. Sa commercialisation pour la santé humaine a débuté en 1938 et a finalement été arrêtée en 1998 à la suite d'effets indésirables causés par l'apparition d'anticorps anti-eCG (LUNENFELD, 2004).

Chez l'animal, la perspective d'une application en reproduction n'a été envisagée qu'en 1989 en France avec la commercialisation du Chronogest® par MSD Santé Animale. L'eCG permet en effet de faciliter les polyovulations et donc d'accélérer certaines productions. Mais, dans les années 2000, les attentes de la société évoluent et passent d'une vision plutôt productiviste à une vision plus respectueuse des aspects environnementaux et éthiques. Cette nouvelle vision, accompagnée de contraintes technico-socio-économiques, s'accompagne de changements sur les protocoles de synchronisation des chaleurs et les fait évoluer vers ceux que nous connaissons actuellement (BOUE *et al.*, 2012). Par exemple, le comité scientifique des mesures vétérinaires en rapport avec la santé publique considère en 1999 l'usage de l'œstradiol 17 β , alors très utilisé en reproduction des ruminants, dangereux pour la santé humaine car ayant des effets cancérigènes. C'est en 2003 que le cadre réglementaire européen prévoit l'interdiction de cette substance pour le 14 octobre 2006, ce qui met un terme aux protocoles associant œstrogènes et progestérone et qui étaient alors utilisés. Les industriels se sont alors penchés sur des solutions alternatives, réflexion qui ont abouti aux protocoles actuels combinant eCG et progestérone.

B. L'importance et la distribution de l'eCG dans le contexte actuel

1. Le rôle central de la synchronisation des ovulations par voie hormonale de nos jours

Du fait de l'utilisation très importante de l'IA, la maîtrise des cycles a désormais une place bien établie au sein des élevages et est motivée par plusieurs critères selon les élevages. On compte notamment la demande de production constante durant l'année, mais aussi la

disponibilité fourragère, ou encore les systèmes d'élevages comme la transhumance où les femelles doivent partir gravides au pâturage. Regrouper les mises-bas évite aussi les périodes à forte charge de travail lors d'une baisse de main-d'œuvre ou permet de mieux répartir le travail sur l'année (période de récoltes, ensilages...). L'impact social est alors non négligeable pour l'éleveur (CHEMINEAU *et al.*, 1996). Outre cette problématique d'organisation dans le temps, les performances de l'élevage se trouvent améliorées. La période improductive est diminuée par l'avancement des premières chaleurs des génisses et du retour en chaleurs après le vêlage des vaches, lesquelles peuvent être synchronisées. Cela peut également solutionner certaines affections de la reproduction telles que les anœstrus ou le *repeat breeding*. D'une manière plus globale, les traitements hormonaux aident également à la diffusion du progrès génétique mâle en facilitant les IA, mais aussi femelle grâce aux protocoles de superovulation permettant le transfert embryonnaire.

La place des hormones dans la maîtrise des cycles a également été motivée par une baisse globale des performances de reproduction chez les ruminants : en effet, depuis les années 2000, les grosses exploitations ont remplacé les petites fermes et les animaux ont été sélectionnés intensément pour optimiser la production. L'intensification de la production de lait ou de viande est à l'origine d'une redirection de l'énergie et des nutriments de l'animal pour ces fonctions au détriment de la fonction de reproduction. Les animaux ont alors moins de ressources à consacrer à la production d'hormones et à l'expression des chaleurs, d'où une baisse du succès à la reproduction (PETER *et al.*, 2009). Les indicateurs de cette baisse sont une augmentation de l'intervalle vêlage-vêlage, une augmentation du nombre moyen d'IA par vache ainsi qu'une baisse des taux de fécondation à la 1^{ère} IA, en particulier chez les hautes productrices de lait comme la race Prim'Holstein (Reproscope, campagne 2018-2019) (figure 2). L'augmentation de la taille des exploitations à main d'œuvre fixe s'accompagne également d'une médiocre détection des chaleurs, d'où l'intérêt d'une synchronisation des ovulations avec insémination sans détection des chaleurs (Le point vétérinaire, 2005). L'utilisation d'hormones pour la maîtrise de la reproduction s'est donc fortement développée.

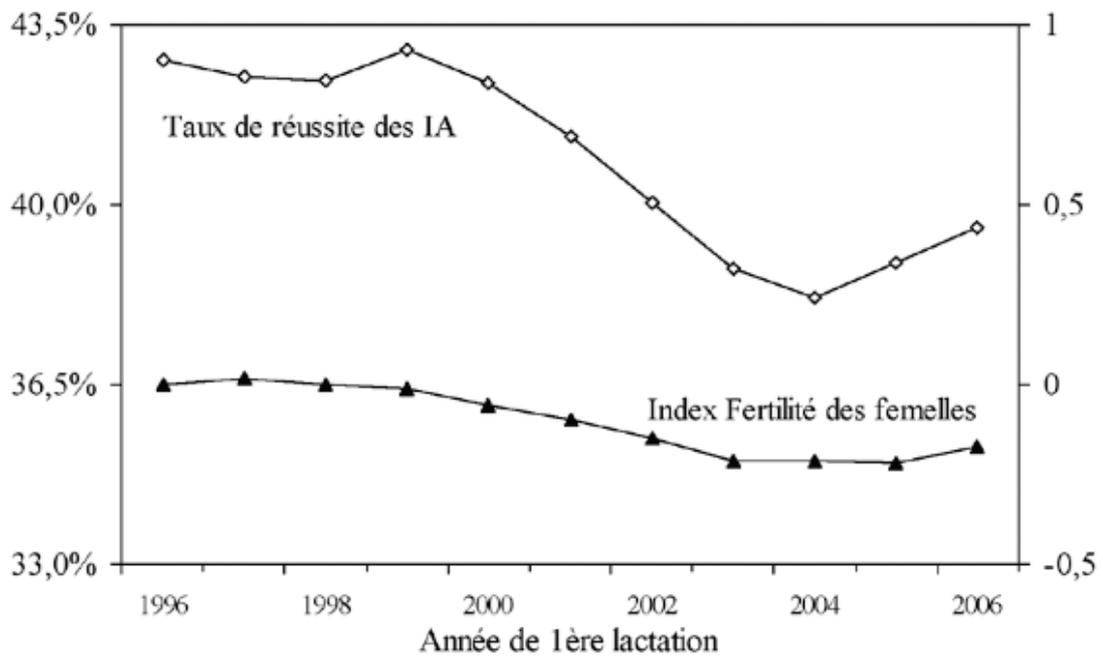


Figure 2 : Évolution entre les années 1996 et 2006 du taux de réussite à l'IA en première lactation (en %) et de la moyenne d'index de valeur génétique pour la fertilité des vaches de race Prim'Holstein en écart à la moyenne de 1996 en France (Source : INRA/Institut de l'Élevage, consulté en 2020).

2. Commercialisation et place de l'eCG

a. L'eCG sur le marché français et dans le monde

L'eCG est largement utilisée et commercialisée en Europe et dans le monde. Les sites de production majeurs sont situés en Amérique latine, dont la société SYNTEX SA basée en Argentine et en Uruguay, qui exporte dans plus de 25 pays et possède la plus grande ferme de production d'eCG. Selon un rapport de l'association Welfarm en 2021, les douanes auraient enregistré des exportations d'un total de 1,3kg d'eCG vers L'UE sur la période de janvier à mai 2017, transactions représentant 10 millions de dollars américains. Plusieurs laboratoires tels que ZOETIS et IDT Biologika GmbH commercialisent des produits à base d'eCG mais tous ne possèdent pas d'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) en France.

Actuellement, deux sociétés pharmaceutiques proposent des médicaments à base de PMSG/eCG destinés aux ruminants sur le marché Français : l'américain MSD et le français CEVA (tableau I). L'espagnol HIPRA commercialise une spécialité pharmaceutique avec une AMM pour l'espèce porcine uniquement. L'eCG ne s'utilise pas seule mais au sein d'un protocole impliquant d'autres hormones. Les spécialités sont sous forme de lyophilisat et

solvant pour solution injectable administrée par voie intramusculaire pour les bovins, ovins et caprins (MedVet, 2021).

Tableau 1 : Spécialités pharmaceutiques contenant de l'eCG sur le marché français avec AMM bovins, ovins, caprins (Source : COUDURIER A., d'après MED'VET, 2021). UI : Unité Internationale

Société pharmaceutique	CEVA	MSD
Nom déposé	<u>SYNCRO-PART® PMSG</u>	<u>CHRONO GEST® PMSG</u>
Principe actif	Gonadotropine sérique équine	Gonadotropine sérique équine
Concentrations	400 UI, 500 UI, 600 UI, 6000 UI	600 UI, 6000 UI
Espèces cibles	Bovins, Ovins, Caprins	Bovins, Ovins, Caprins
Groupe pharmacothérapeutique	Gonadotropine et autres stimulants de l'ovulation	Gonadotropine et autres stimulants de l'ovulation
Contre-indication	Gestation	Aucune

Leurs indications principales sont la synchronisation des chaleurs et le traitement des femelles qui ne reviennent pas correctement en chaleurs. Plus précisément, le RCP (Résumé des Caractéristiques du Produit) de la spécialité de CEVA (Synchropart®) se focalise sur l'induction des ovulations en vue d'une synchronisation des IA. La spécialité commercialisée par MSD (Chrono Gest®) propose en plus un traitement des insuffisances ovariennes dues à un défaut de sécrétion de FSH mais aussi l'induction d'une superovulation (MED'VET, 2021). Dans ce dernier cas particulier, la principale différence avec les autres protocoles est la dose d'eCG qui est 3 à 5 fois plus élevée. En dehors de cette exception, la dose d'eCG applicable lors d'un protocole de synchronisation des chaleurs est donnée en fonction de la race, de l'âge et de la saison (figure 3).



Figure 3 : Dose d'eCG (en UI) recommandée en fonction de la saison, la race et le stade physiologique de la vache (d'après MSD).

Les tarifs pour ces deux spécialités sont plutôt équivalents : le Synchronpart® 600 UI est vendu à 106€ les 24 flacons de lyophilisat (10mL) contre 207€ les 50 flacons de ChronoGest® tandis que les doses à 6000 UI sont vendues respectivement 725€ les 20 flacons et 35€ le flacon (Catalogue Centravet 2020/2021).

Depuis 2019 et d'avantage en 2022, le marché du médicament vétérinaire fait cependant face à des ruptures de certaines spécialités, dont l'eCG fait partie. Ceci est à replacer dans un contexte de difficultés d'approvisionnement du fait du Covid-19, puis d'une perturbation de certaines usines dans des régions soumises à des tensions. Finalement, la production d'eCG et donc sa mise en circulation s'en sont trouvées fortement affectées, avec des ruptures quasi-permanentes en 2022.

b. Mode de production à des fins d'usage vétérinaire

Etant donné qu'il n'y a pas de production d'eCG en France, les laboratoires s'approvisionnent auprès des sites d'Amérique latine en majeure partie, parfois désignés comme « fermes à sang » dans les médias. Des infrastructures de ce type existent cependant

aussi aux Etats-Unis ou encore en Islande qui représente le seul pays Européen producteur (Francetvinfo, 2019).

Lors de l'examen de certains sites de production aux Etats-Unis par l'association Animals' Angels en 2015, une bonne traçabilité des sérums a été remarquée, avec un environnement contrôlé des prélèvements et des mesures d'hygiène convenables. Les cheptels sont constitués d'environ 200 juments (3 et 7 ans d'âge) regroupées en lots par âge, globalement en bon état général et sans trouble majeur du comportement d'après l'enquête. Un potentiel défaut d'habitation a cependant été noté car les juments étaient plutôt craintives. L'inspection par la même association de fermes d'Amérique latine a révélé un défaut d'uniformité au niveau mondial vis-à-vis de la production d'eCG car les critères de bâtiment, de bien-être et de production de sérum n'étaient pas constants entre les élevages. En effet, il n'y a pas vraiment de normes mais plutôt des recommandations, avec des lois variables entre les pays et les sociétés qui ne garantissent pas de bonnes pratiques.

La production d'eCG consiste à inséminer les juments, puis leur concentration en eCG est évaluée par des tests ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay : dosage immunoenzymatique sur support solide) réalisés sur prises de sang au 40^{ème} jour de gestation (BEAVER *et al.*, 2019). A partir d'un certain seuil, les juments sont prélevées à la jugulaire (démarrage entre le 50^{ème} et le 70^{ème} jour de gestation) pour un volume maximal de 10L de sang deux fois par semaine, sans excéder 15% du volume circulant sur quatre semaines. Après la récolte, l'eCG est extraite du sérum par précipitation et filtration afin d'éliminer les autres protéines telles que l'albumine, puis par chromatographie (SHARIF *et al.*, 2014). Les juments sont ensuite fréquemment avortées manuellement à 90 jours de gestation en perçant les sacs entourant le fœtus, ce qui est discutable d'un point de vue éthique car particulièrement douloureux pour les juments alors que d'autres méthodes existent. Certaines fermes choisissent d'ailleurs de mener la gestation à son terme pour vendre les poulains à 30-45 jours (Welfarm, 2021 ; BEAVER *et al.*, 2019). Enfin, on peut noter qu'il existe une sélection des juments pour l'aptitude à la production d'eCG sur leur grande taille, leur faible parité (inférieure à 3), certains facteurs génétiques et un faible exercice physique (ALLEN *et al.*, 2011).

II. La reproduction des ruminants

A. Physiologie de la reproduction basée sur le modèle bovin

Les bovins sont une espèce polyœstrienne à cycles continus, c'est-à-dire que les cycles sexuels s'enchaînent au cours de l'ensemble de l'année (bien que la saison puisse influencer la date des premières chaleurs (BALL *et al.*, 2008)). Les cycles des petits ruminants sont en revanche totalement dépendants de la saison (LEBORGNE *et al.*, 2014). L'œstrus correspond à la période durant laquelle il n'y a pas de corps jaune, le diœstrus est au contraire le temps de forte activité du corps jaune. Le corps jaune se forme pendant le métoœstrus et régresse durant le proœstrus.

1. Description du cycle ovarien des ruminants

Le cycle se décompose en différentes phases (figure 4) qui conduisent à l'ovulation et une éventuelle gestation : la phase lutéale durant laquelle un corps jaune est présent sur un ovaire et la phase folliculaire qui est la phase de croissance des follicules jusqu'à l'ovulation de l'un d'entre eux. Les différentes phases ont des durées bien définies qui sont résumées dans le tableau II. L'ensemble des événements menant à l'ovulation est sous contrôle hormonal, ce qui implique principalement 2 structures : l'hypothalamus, contenant les neurones à GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone : Gonadolibérine), et l'hypophyse, dont les cellules gonadotropes détectent les pulses de GnRH (Hormone libératrice de gonadotropines) pour moduler la sécrétion de LH (hormone lutéinisante) et FSH (hormone folliculostimulante). Ces dernières agissent directement sur les gonades qui sont le lieu de production des gamètes et des hormones d'origine gonadique telles que la progestérone ou les œstrogènes (KELLER *et al.*, 2017).

Tableau II : Caractéristiques physiologiques de la reproduction des espèces bovine, ovine et caprine (d'après DRIANCOURT *et al.*, 2014.)

Espèce	Gestation	Puberté	Cycle	Phase lutéale	Phase folliculaire	Œstrus	Ovulation
Vache	9 mois	7-18 mois	21 (18-25) jours	17 (15-19) jours	4 (2-5) jours	20h	10-12h après fin des chaleurs

Chèvre	5 mois	6-8 mois	20-21 jours	16-17 jours	3-4 jours	24h	12-36h après début des chaleurs
Brebis	5 mois	6-15 mois	17 (15-19) jours	15 (14-16) jours	2-3 jours	24h	18-36h après début des chaleurs

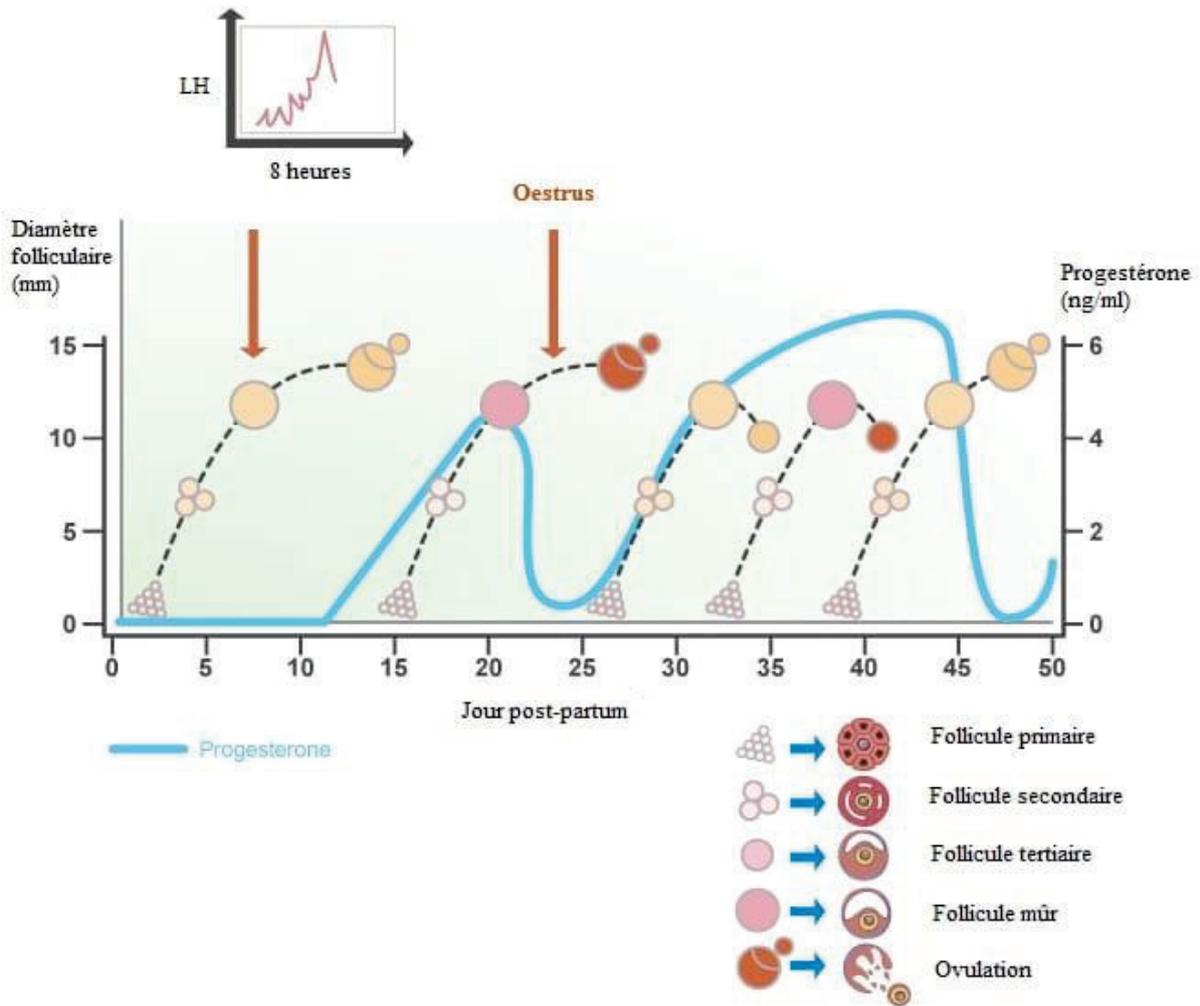


Figure 4 : Evènements successifs du cycle reproductif de la vache (reprodAction, consulté en 2023)

a. Les différentes hormones régulant le cycle

La reproduction est finement régulée par des hormones intervenant à différents stades de la cascade hypothalamo-hypophysio-gonadique (FORDE et al., 2011). Ces mêmes hormones ont par ailleurs été étudiées et produites de manière synthétique pour être intégrées à des protocoles hormonaux pour maîtriser les cycles des animaux domestiques. De la même manière, une anomalie dans cette cascade peut conduire à des troubles de la fertilité : cette connaissance des hormones résumées dans le tableau III est donc capitale pour améliorer les performances de reproduction en élevage.

Tableau III : Bilan des hormones du cycle reproductif des ruminants (Source : COUDURIER A.)

Hormone	GnRH = gonadolibérine	FSH = hormone folliculostimulante	LH = hormone lutéinisante	E = œstradiol	P4 = progestérone	PGF2α = prostaglandines
Site de production	Hypothalamus	Hypophyse antérieure	Hypophyse antérieure	Follicule tertiaire	Corps jaune	Endomètre
Stimulé par	Forte concentration d'œstrogènes	GnRH	GnRH	FSH et LH	LH	Œstradiol et prostaglandines par l'intermédiaire de l'ocytocine
Inhibé par	Progestérone	Œstrogènes et inhibine	Progestérone			Progestérone
Action	Augmentation des pulses de LH et FSH	Croissance folliculaire et production d'œstrogènes	Maturation et ovulation du follicule, installation du corps jaune, production de progestérone	A faible dose inhibe la FSH, à forte dose stimule la GnRH	Inhibe la GnRH et la LH	Lutéolyse

Dans la cascade menant à l'ovulation, on compte tout d'abord la FSH qui joue un rôle dans la croissance des petits follicules. La LH permet quant à elle la maturation du follicule dominant tandis que le pic de LH induit l'ovulation. Cette dernière est également importante dans la mise en place d'un corps jaune producteur de progestérone après l'ovulation. Ces deux hormones sont produites par l'hypophyse sous l'influence de la production de GnRH. Celle-ci est produite par l'hypothalamus et stimule la fréquence des pulses de sécrétion de LH et FSH.

Cette chaîne hormonale est tout d'abord régulée par la concentration d'œstradiol produite par les follicules, hormone qui a un rôle d'inhibition de la fréquence des pulses de FSH à faible dose, soit quand les follicules sont encore petits. En revanche à partir d'un certain stade de croissance, le follicule dominant produit davantage d'œstradiol ce qui va au contraire

augmenter la fréquence des pulses de GnRH et donc aboutir au pic de LH permettant l'ovulation. L'œstradiol a également un pouvoir stimulant de la production de prostaglandines F2 α par l'endomètre qui permet la lyse du corps jaune en place.

La deuxième hormone régulatrice est la progestérone, produite par le corps jaune. Tant que le corps jaune est capable de produire une quantité de progestérone suffisante, celle-ci inhibe la synthèse de GnRH ce qui exerce une action négative sur les pulses de LH et donc bloque l'ovulation.

b. Vagues folliculaires

Les vagues folliculaires représentent l'entrée en croissance d'une cohorte de 5-20 petits follicules (phase de recrutement, voir figure 5). Un de ces follicules est ensuite sélectionné puis domine les autres (phases de sélection puis de dominance, voir figures 6 et 7). Il devient alors un follicule pré-ovulatoire dit de De Graff (HOPPER, 2021) qui ovulera ou non en fonction de la présence de progestérone.

La phase de recrutement est sous le contrôle de la FSH, qui présente une augmentation brève de sa concentration, permettant la croissance des follicules jusqu'à 5-6mm (Le point vétérinaire, 2005). Comme vu juste avant, durant cette phase, un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est effectué d'une part par l'œstradiol et l'inhibine produites par les follicules en croissance et d'autre part par la progestérone produite par le corps jaune issu de la précédente ovulation. Ce rétrocontrôle a pour conséquence une baisse continue de la concentration en FSH qui permet malgré tout d'assurer la croissance des follicules recruter.

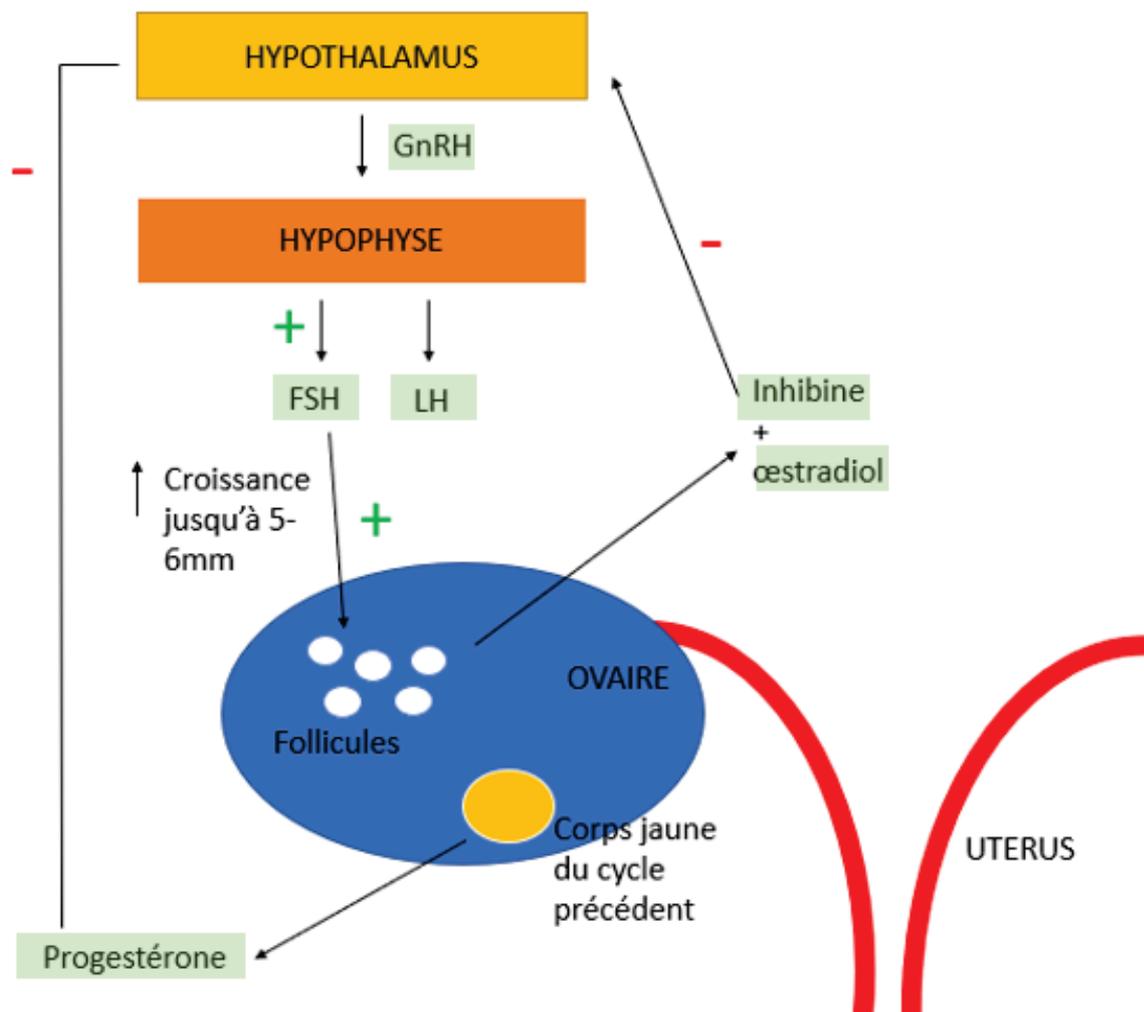


Figure 5 : Schéma du mécanisme hormonal en phase de recrutement folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante

Durant la phase de sélection, la LH et la FSH subissent toujours le rétrocontrôle négatif de la progestérone, de l'œstradiol et de l'inhibine (HOPPER, 2021) et le développement des petits follicules sécrétant de plus en plus d'inhibine et d'œstradiol va accentuer ce rétrocontrôle. Il en découle une diminution de la FSH qui ne va plus permettre la croissance folliculaire et provoquer leur atrophie (figure 7). L'exception est faite pour un follicule qui possède des récepteurs à LH et qui va donc pouvoir continuer de se développer malgré l'absence de FSH. Ce follicule sera qualifié de dominant et mesure 8-10mm (Figure 5).

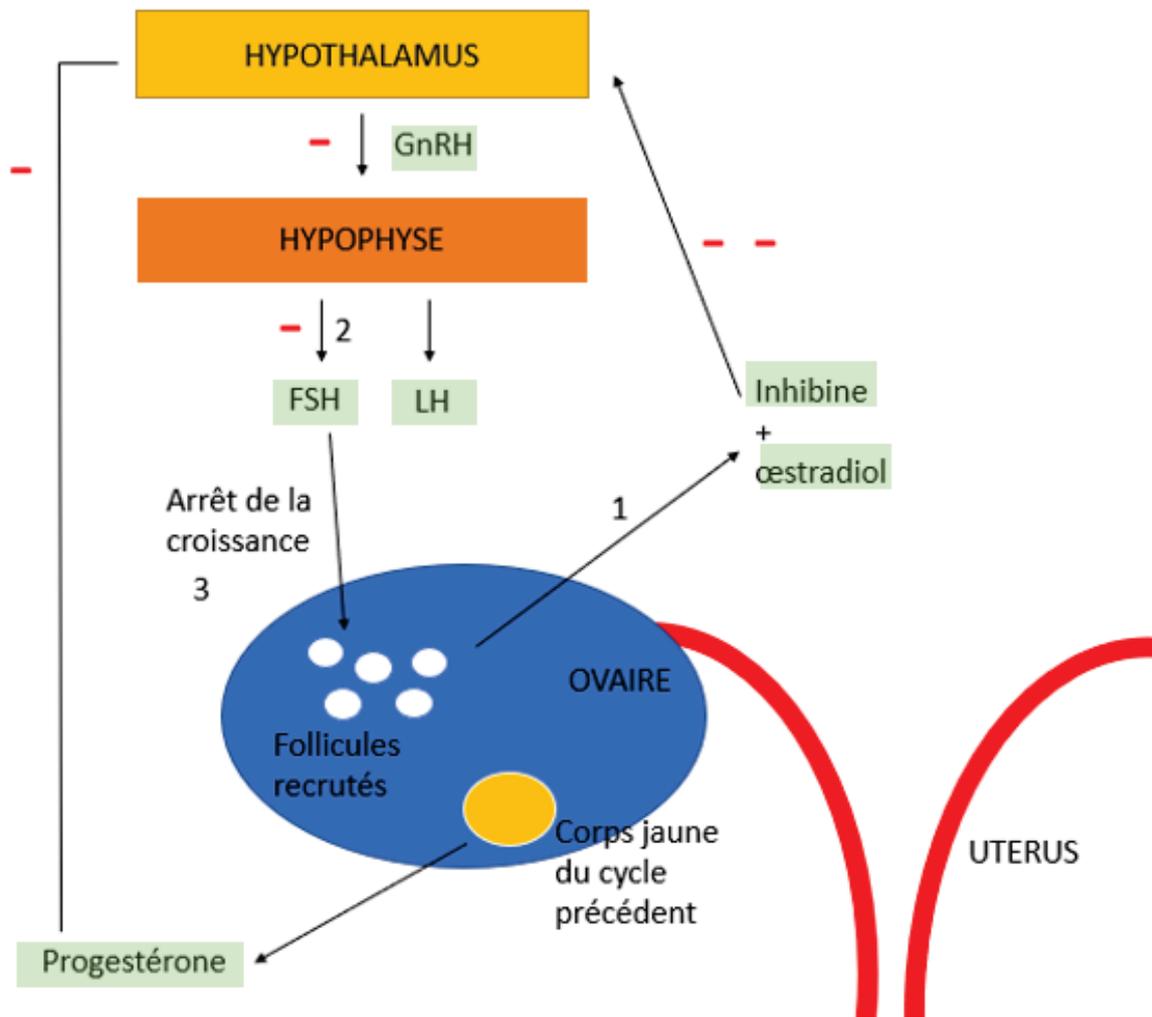


Figure 6 : Schéma du mécanisme hormonal de l'arrêt de la croissance folliculaire par manque de FSH en phase de sélection folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante

L'entrée en phase de dominance se produit alors et dure le temps de la croissance de l'unique follicule dominant jusqu'au stade pré-ovulatoire (15-20mm de diamètre). Malgré la très faible concentration en FSH, la présence de récepteurs à la LH permet la croissance de ce follicule. Son avenir dépend alors de la présence ou non de progestérone (voir partie ci-après).

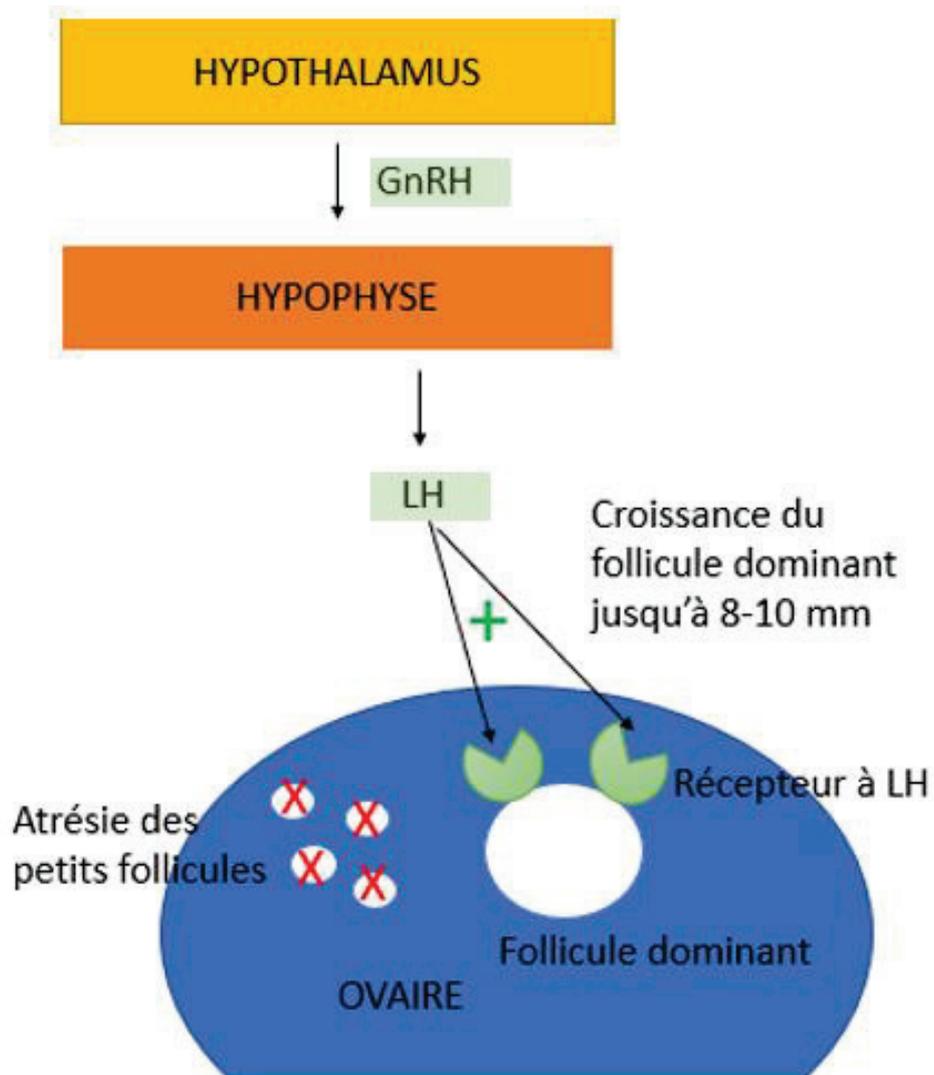


Figure 7 : Schéma du mécanisme hormonal de l'atrésie des follicules ne possédant pas de récepteurs à LH et croissance du follicule dominant équipé de récepteurs à LH en phase de sélection folliculaire chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante

Il y a généralement chez la vache 2 ou 3 vagues par cycle, d'une durée d'environ 7 à 9 jours. Ces vagues démarrent à J0 et J9-10 pour un cycle à deux vagues (20 jours au total), ou à J0, J8-9 et J15-16 pour un cycle à trois vagues (21 jours). Les cycles à deux vagues au lieu de trois présentent généralement des follicules à croissance plus lentes mais des follicules 2 mm plus gros environ (BLEACH et al., 2004). La vague folliculaire sera plus longue si la sécrétion de LH est faible, comme c'est le cas quand il y a un déficit énergétique, donnant plutôt des cycles à deux vagues. La corrélation entre nombre de vagues et fertilité est controversée. L'existence de ces vagues avec présence régulière de follicules dominants explique les comportements de chaleurs pouvant parfois être observés entre deux ovulations.

c. Ovulation

A la fin de sa croissance, le devenir du follicule dominant dépend alors de la présence d'un corps jaune ou non. En effet, la vague ne donnera lieu à une ovulation que si le corps jaune en place a subi une lyse car il produit de la progestérone qui inhibe la sécrétion de GnRH et donc de LH et FSH. Lors de la lyse du corps jaune (figure 9), les pulses de ces hormones vont pouvoir augmenter. En parallèle, le follicule dominant produit toujours de l'œstradiol qui s'accumule jusqu'à dépasser un certain seuil. En l'absence de progestérone, cela a pour effet d'exercer un fort rétrocontrôle positif sur les pulses de GnRH. Il y a alors un pic de LH pré-ovulatoire environ 24h avant l'ovulation. Ce pic est requis pour permettre l'ovulation du follicule pré-ovulatoire. En revanche, si le corps jaune de la dernière ovulation est toujours présent (figure 8), qu'il y ait gestation ou non, il y aura un rétrocontrôle négatif de la progestérone sécrétée par celui-ci sur les pulses de GnRH et donc la concentration de LH ne pourra pas augmenter jusqu'à son pic de LH et il n'y aura pas d'ovulation. Au bout de quelques jours, il y aura atresie du follicule dominant qui laissera place à une nouvelle vague (HOPPER, 2021).

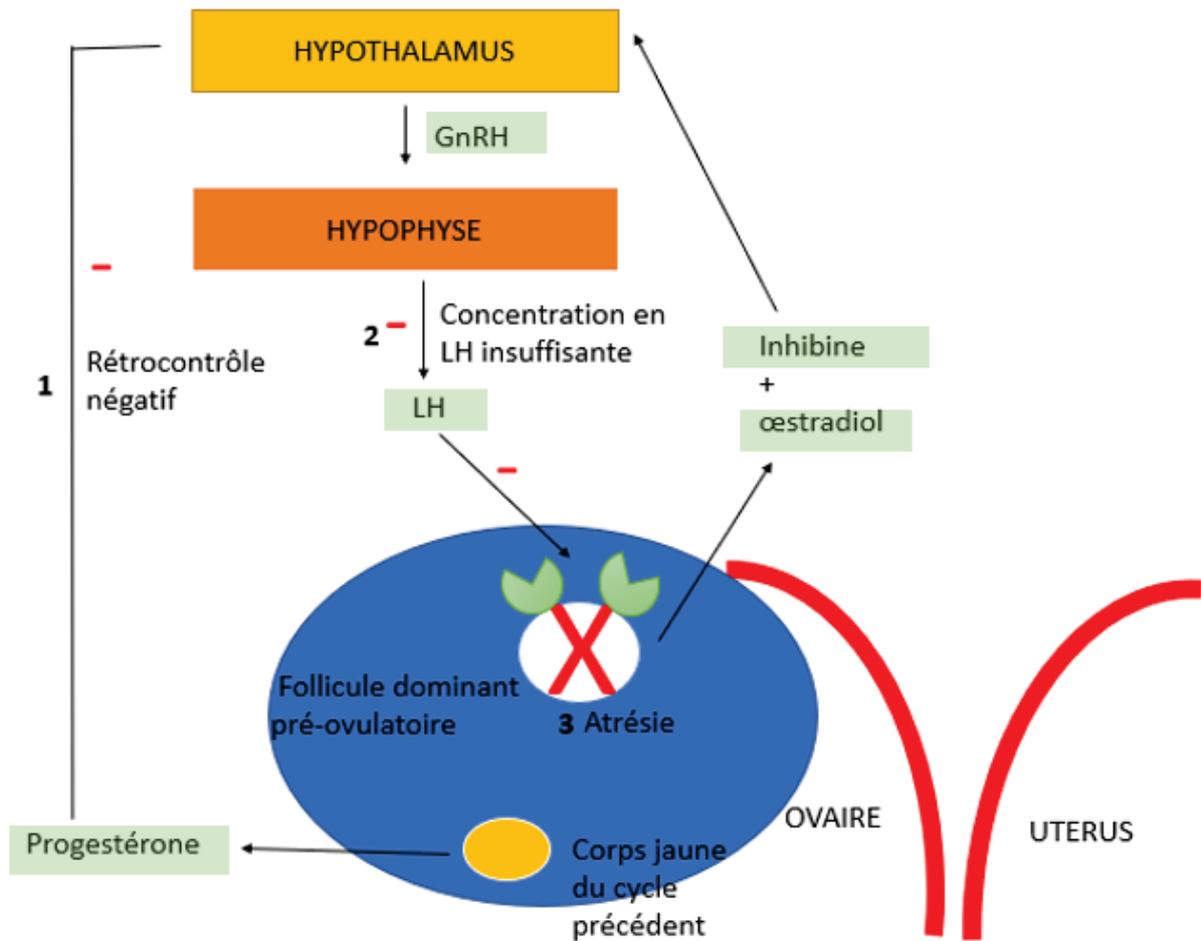


Figure 8 : Schéma du mécanisme hormonal de l'atrésie du follicule dominant sans ovulation en présence d'un corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante

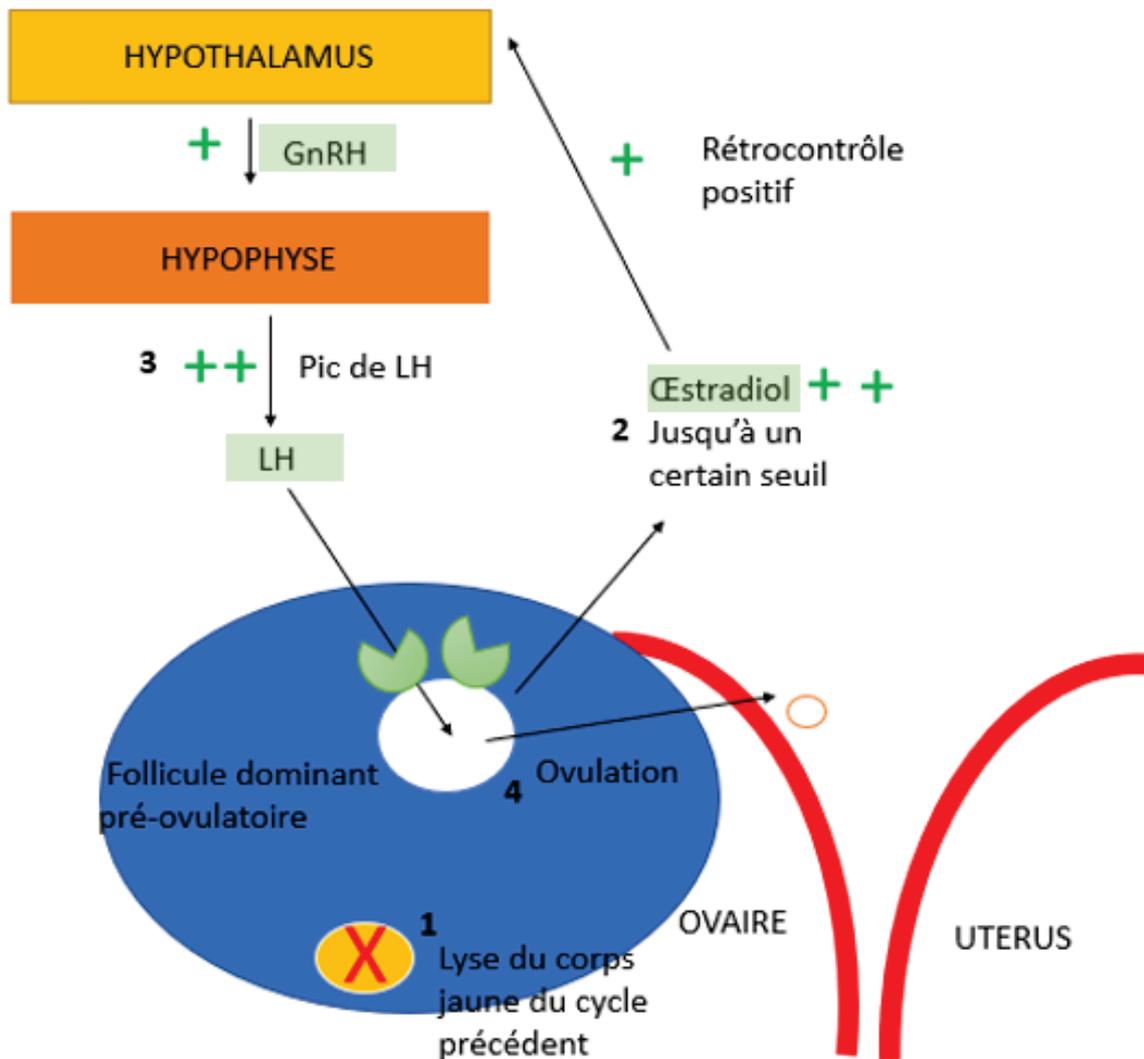


Figure 9 : Schéma du mécanisme hormonal de l'ovulation à la suite de la lyse du corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante

d. Corps jaune

Le corps jaune se forme à la suite de l'ovulation *via* la lutéinisation des cellules folliculaires sous action de la LH. Sa taille va augmenter par multiplication de ses cellules lutéales et de leurs dimensions. Le corps jaune est l'élément sécréteur de progestérone qui bloque l'axe hypothalamo-hypophysaire et donc de nouvelles ovulations (RIGIOLIO *et al.*, 2013). Il possède une période réfractaire de 5 jours durant laquelle il n'est pas sensible à la prostaglandine F2 α (PGF2 α) et ne peut donc pas être lysé (FORDE *et al.*, 2011).

La lyse du corps jaune a lieu en l'absence ou en fin de gestation, par une perte de sa capacité à limiter la production d'œstrogènes par les follicules des vagues folliculaires. Les œstrogènes sont alors à l'origine d'une augmentation de la production d'ocytocine par le corps jaune, laquelle a une action positive sur la sécrétion de $\text{PGF2}\alpha$. A partir d'un certain seuil de prostaglandine, il y a lyse du corps jaune (Figure 10).

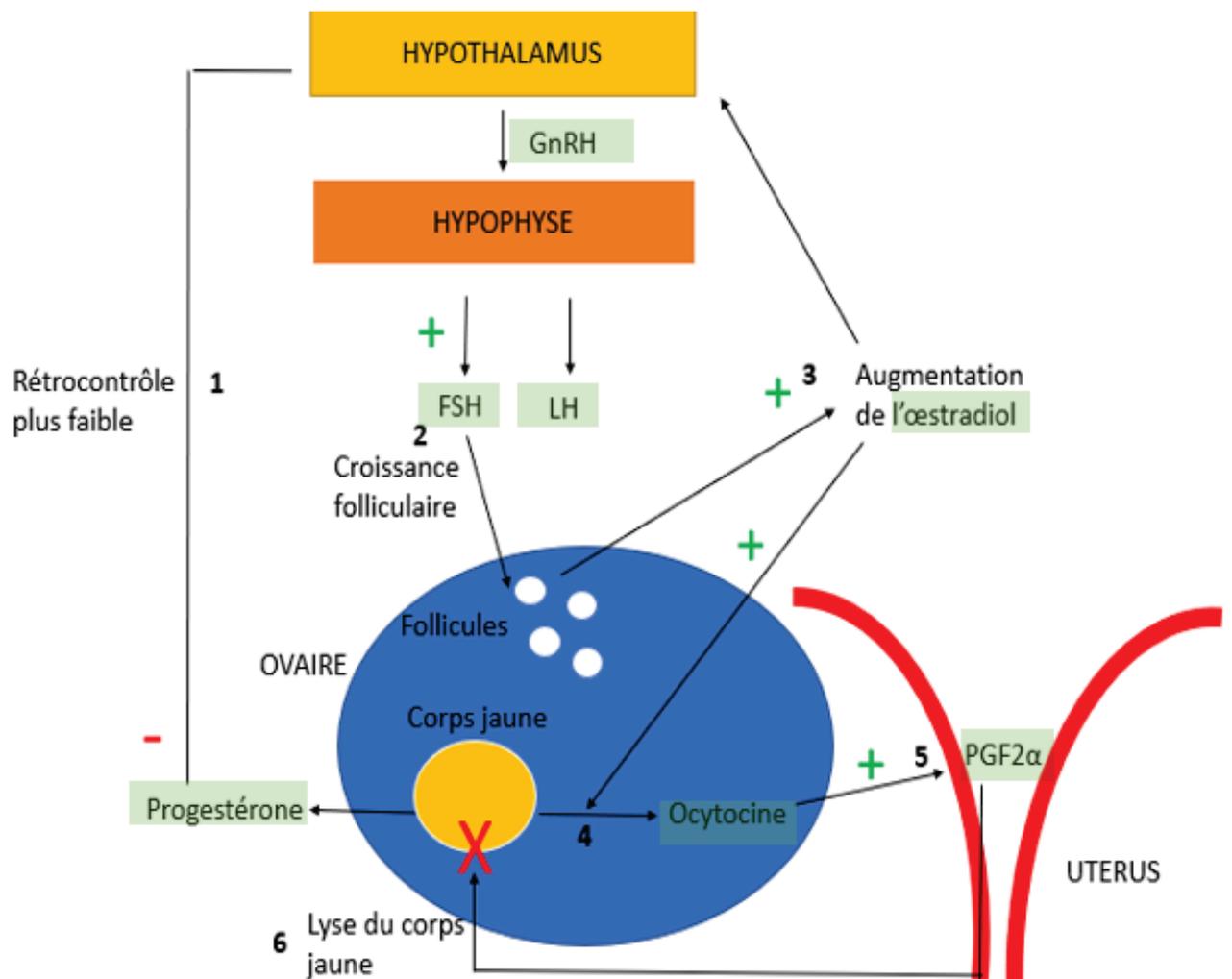


Figure 10 : Schéma du mécanisme de lyse physiologique du corps jaune chez la vache (Source : COUDURIER A.). GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante, $\text{PGF2}\alpha$: prostaglandine 2α

e. Evènements liés à la gestation et au *post-partum*

Contrairement à ce que l'on pourrait penser, les vagues folliculaires se poursuivent également durant la gestation. Le corps jaune persistant maintient une certaine quantité de P4 qui bloque l'ovulation et permet le maintien du fœtus, mais ne bloque pas la croissance folliculaire. Le corps jaune de gestation est lui-même maintenu grâce aux signaux de reconnaissance de la gestation, dont l'Interféron- τ , qui exerce un rétrocontrôle négatif sur la production de prostaglandine F2 α par l'utérus (HOPPER, 2021). Le corps jaune est finalement lysé à l'occasion du vêlage ce qui entraîne une chute de progestérone.

En post-partum, les deux objectifs pour la reprise de la cyclicité sont l'obtention d'un utérus involué donc revenu dans sa conformation d'avant gestation et la reprise de l'activité ovarienne (OPSOMER *et al.*, 1996). Ces deux étapes sont dépendantes l'une de l'autre et sous contrôle des œstrogènes et de la prostaglandine F2 α .

Les stocks de GnRH, FSH et LH étant trop bas en *post-partum* immédiat, les premières vagues ne donnent pas lieu à un follicule dominant capable d'ovuler. La première ovulation *post-partum* n'intervient donc généralement que 10 à 45j après le vêlage et ne peut avoir lieu que lorsque les stocks de FSH et LH sont suffisamment restaurés. Classiquement, ces stocks sont restaurés environ deux à trois semaines après le part (Le point vétérinaire, 2015).

Néanmoins, en *post-partum*, de nombreux facteurs peuvent avoir un impact sur le retour en cyclicité des animaux. Les dystocies, un déficit énergétique ou la tétée du veau peuvent par exemple limiter l'expression des chaleurs et retarder la première insémination fécondante par non-détection des chaleurs par l'éleveur. Du fait de ces facteurs, la reprise de cyclicité en *post-partum* est plutôt variable : le premier follicule est classiquement détecté dans les 10 premiers jours *post-partum* mais donne lieu à une ovulation dans seulement 11% des cas (MURPHY *et al.*, 1990). A 36 jours en moyenne, la première ovulation a été observée au bout de trois vagues en général, mais une expression anormale des chaleurs est constatée dans 89% des cas avec des cycles plutôt courts. Les événements suivant la gestation peuvent donc se retrouver fortement perturbés ce qui en fait une période clé de la maîtrise de la reproduction comme nous le verrons plus tard.

B. Spécificité des petits ruminants

Les caprins sont considérées comme une espèce polyovulante, c'est-à-dire que chaque ovulation concerne plusieurs follicules. Les choses sont un peu différentes pour les ovins chez lesquels certaines races sont monoovulantes, comme la race Mérinos, tandis que d'autres comme la race Romanov, sont polyovulantes, du fait de mutations des gènes de proliféricité (MONNIAUX *et al.*, 2009).

1. Déroulement des cycles sexuels

Il y a généralement deux à cinq vagues folliculaires par cycle, qui aboutissent à des follicules dominants plus petits que chez les bovins (DRIANCOURT *et al.*, 2014). Contrairement aux bovins, il n'est pas rare que la phase de sélection donne plusieurs follicules pré-ovulatoires, et donc des ovulations multiples. Dans ce cas, la gémellité peut être un élément recherché pour l'éleveur de petits ruminants en opposition aux bovins chez qui la présence de jumeaux peut être considérée comme négative car source de dystocies et de free-martinisme.

Les variations raciales sont très importantes et il est primordial de bien connaître les caractéristiques de la race pour une mise à la reproduction réussie. Les races plus prolifiques auront par exemple tendance à avoir des cycles à quatre vagues avec trois ou quatre follicules dominants, tandis que les moins prolifiques auront trois vagues et un seul follicule dominant.

Chez la brebis, la progestérone est majoritairement sécrétée par le placenta, tandis que chez la chèvre (comme chez la vache), la progestérone est majoritairement sécrétée par le corps jaune qui doit donc rester en place durant l'ensemble de la gestation (FATET *et al.*, 2011).

2. Effet de la saison

Chez les petits ruminants, la saison d'activité sexuelle a lieu entre août et janvier, avec une mise-bas au printemps (LURETTE *et al.*, 2016). Le raccourcissement des jours stimule donc la fonction de reproduction tandis que l'allongement des jours l'inhibe.

Cet effet est médié par la mélatonine, hormone produite par l'épiphyse. Ce composé naturel est présent chez tous les mammifères, en faible quantité le jour, et en taux plus élevés la nuit (figure 11) dans le sang mais surtout dans le LCR (liquide céphalo-rachidien) ventriculaire en quantité 10 à 100 fois plus importante (SKINNER *et al.*, 1999). Le début de la sécrétion a lieu en quelques minutes après la fin de l'exposition à la lumière. Cette production de mélatonine a pour origine l'activation de la N-acétyl-transférase en l'absence de lumière, responsable de la formation de N-acétyl-sérotinine à partir de sérotinine et du tryptophane (TRICOIRE *et al.*, 2003). Chez les petits ruminants, la mélatonine possède un effet positif sur l'axe gonadotrope via une cascade neuronale (BALASSE *et al.*, 2017) et donc sur les sécrétions pulsatiles de GnRH et de LH.

Les mécanismes d'impact de la mélatonine sur la reproduction sont encore en étude mais il semble y avoir un lien avec les hormones thyroïdiennes. Elle aurait un effet sur la régulation de l'activité des enzymes de conversion des hormones thyroïdiennes, lesquels moduleraient la stéroïdogénèse (DARDENTE *et al.*, 2014).

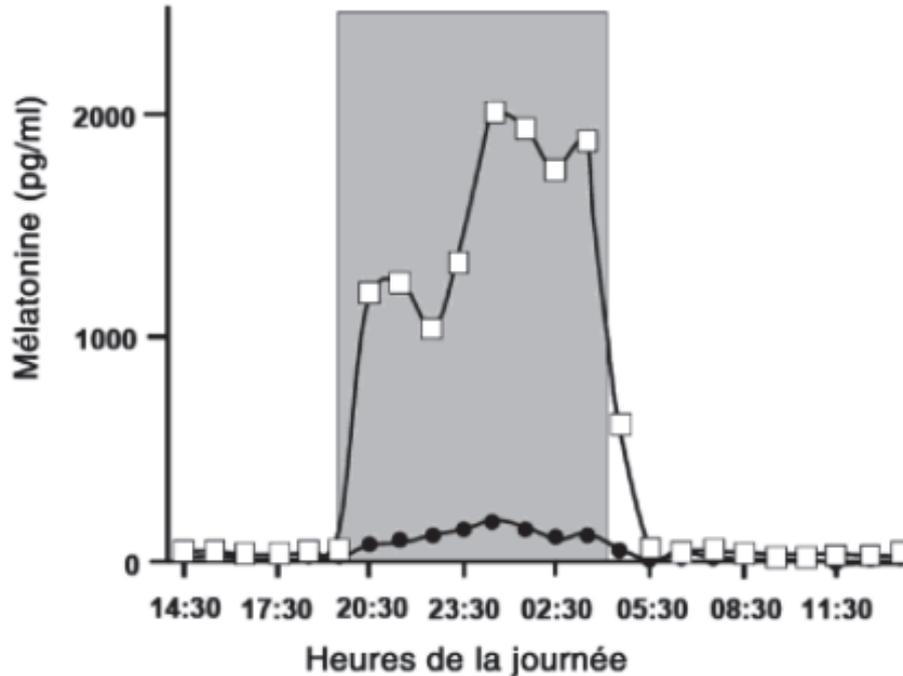


Figure 11 : Cinétique de la mélatonine dans le LCR (liquide céphalo-rachidien) du troisième ventricule (carrés) et dans le plasma jugulaire (points) en fonction de l'heure de la journée chez la brebis (Source : d'après SKINNER, 1999).

3. Effet de l'environnement social

Chez les petits ruminants, l'environnement social est important pour la mise à la reproduction. Chez les caprins, ce facteur peut avoir un impact sur l'expression des chaleurs et sur l'ovulation (FABRE-NYS, 2000). La présence de mâles ainsi que l'intensité de ces interactions peuvent ainsi provoquer l'induction de l'ovulation. C'est notamment grâce à cette caractéristique que l'introduction d'un bélier ou d'un bouc dans l'élevage va être un atout pour l'éleveur (LURETTE et al., 2016).

C. Phénomènes indésirables de la reproduction fréquemment rencontrés en élevage

Les troubles de la fécondité font partie des principaux motifs d'appel en pratique rurale. Les conséquences économiques peuvent en effet être importantes du fait des traitements, de l'allongement des périodes improductives ou de la réforme potentielle de

l'animal. L'absence de reprise des cycles est ainsi considérée comme pathologique au-delà de 45 jours après le part chez les vaches laitières, 60 jours chez les allaitantes. L'objectif est une mise à la reproduction 50 jours après la mise-bas.

Selon les travaux de DISENHAUS *et al.* (2000), environ 40% des vaches laitières présenteraient des anomalies de reprise du cycle après le vêlage. Elles sont de différentes natures : reprise différée de l'activité (10%), absence d'activité après une première ovulation, une phase lutéale trop courte ou trop longue (15%) notamment. A cela se rajoutent de possibles retours en chaleurs malgré une mise à la reproduction qui témoigne d'un échec à la fécondation.

Ces retards de reprise des cycles sont déterminés par la croissance et le devenir du follicule dominant plutôt que par l'existence de vagues (PETER *et al.*, 2009). L'anomalie peut donc provenir de l'émergence, de la sélection ou de l'ovulation du follicule dominant. C'est sur ce constat que PETER a classé les anœstrus en quatre catégories : les anœstrus anovulatoires de type 1 et 2, l'anœstrus de type 3 et la phase lutéale prolongée qui correspond au type 4. Ils sont décrits ci-dessous.

1. Les principaux troubles de la reproduction chez la vache : les anœstrus et le *repeat breeding*

a. Anœstrus anovulatoire (PETER *et al.*, 2009)

L'anœstrus anovulatoire post-partum est la cause la plus fréquente d'infertilité et correspond à une absence d'activité ovarienne juste après le vêlage. Il est à différencier de l'anœstrus physiologique *post-partum*.

Le déficit énergétique est généralement à la base du problème, causant une insuffisance en œstradiol. En effet, nous avons vu que c'est l'augmentation forte en œstradiol qui inverse le rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et permet le pic de LH. En cas de déficit énergétique, l'absence d'augmentation en œstradiol est à l'origine d'une augmentation insuffisante de la concentration en LH, ce qui ne permet pas le déclenchement de l'ovulation. Des glycémies basses sont alors souvent associées (VILLA-GODOY *et al.*, 1988) et une mesure de ce paramètre ainsi qu'une analyse de la ration peuvent donc être des éléments à inspecter. Les primipares sont plus à risque car elles sont encore en croissance ce qui augmente leur déficit en énergie après le part. Les vaches hautes productrices de lait sont également les plus touchées.

Deux anœstrus anovulatoires peuvent être différenciés. L'anœstrus de type 1 se traduit par une absence totale de phase de dominance. Il peut même ne pas y avoir de phase de sélection. Sans phase de dominance, tous les follicules s'atrophient sans que l'un d'entre eux

ne puisse devenir dominant et donc l'ovulation est impossible. L'anoestrus de type 2 se traduit quant à lui par une phase de dominance inachevée, causant l'atrésie du follicule dominant qui n'est pas arrivé au stade pré-ovulatoire.

b. Anœstrus de type 3

Il s'agit d'un anœstrus causé par la présence d'un kyste lutéal ou folliculaire sur l'ovaire. Un kyste ovarien est une structure liquidienne dont la cavité mesure au moins 25 mm de diamètre sur l'ovaire (CHASTANT-MAILLARD, 2010). Il peut y avoir un kyste unique persistant au moins 10 jours ou une succession de kystes.

Les kystes pourraient avoir deux causes : un pic de LH insuffisant lié à un déficit en énergie ou un déstockage précoce de progestérone (avec une forte prévalence dans les trois premiers mois *post-partum*).

Dans le premier cas (vaches hautes productrices par exemple), le déficit énergétique entraîne des taux faibles en œstrogènes et donc de LH. Cela permet la poursuite de la croissance du follicule dominant mais l'absence de pic de LH empêche qu'elle aboutisse à une ovulation. Le follicule dominant ne peut pas s'atrésier car les concentrations en LH ne sont pas assez faibles mais ne peut pas non plus ovuler, il devient alors un kyste folliculaire.

Dans le deuxième cas, la perte d'état en *post-partum* pourrait causer un relargage de la progestérone présente dans les tissus adipeux entraînant des taux trop faibles en circulation par la suite (WILTBANK *et al.*, 2011). Cela aurait pour effet d'augmenter les concentrations en LH et en œstradiol par déficit du rétrocontrôle négatif de la progestérone, de stimuler ainsi la croissance folliculaire, et donc de donner un trop grand diamètre folliculaire à l'origine de la formation d'un kyste.

Enfin, concernant les kystes lutéaux, les mécanismes de formations restent incertains.

Les kystes ovariens sont diagnostiqués par échographie transrectale, ce qui permet également de détecter la présence d'un corps jaune et ainsi constater si la vache est toujours cyclée malgré le kyste. Le traitement du kyste folliculaire se fait via une injection de GnRH pour provoquer sa lutéinisation. En cas de persistance, un protocole à base de progestérone peut être utilisé. En cas de nouvel échec, une ponction du kyste par voie vaginale peut être effectuée. Le traitement des kystes lutéaux fait appel à la prostaglandine F2 α avec un bon taux d'efficacité.

c. Anœstrus de type 4

Il s'agit d'une phase lutéale prolongée aussi appelée corps jaune persistant. La phase lutéale est dite anormalement longue lorsqu'elle dépasse 19 jours (DISENHAUS *et al.*, 2005).

Le corps jaune sécrèteur de progestérone reste donc en place, ce qui bloque une nouvelle ovulation (PETER *et al.*, 2009).

Dans le cas d'un déficit énergétique, les taux d'œstradiol insuffisants, quoique plus hauts que pour les autres types d'œstrus, pourraient être à l'origine de ce phénomène car nous avons vu que cette hormone est impliquée dans la sécrétion d'ocytocine par le corps jaune causant la sécrétion de prostaglandine par l'endomètre entraînant la lyse du corps jaune. Une autre cause pourrait être les infections utérines lors desquelles la sécrétion de prostaglandine PGF2 α censée lyser le corps jaune est mauvaise car la cascade de production est détournée pour la synthèse de prostaglandine inflammatoire PGFE2, ce qui retarde la destruction du corps jaune.

d. *Le repeat breeding* ou syndrome des vaches infécondes

Il s'agit d'une infécondité persistante au bout de 3 IA, malgré la présence de chaleurs régulières (BRUYAS *et al.*, 1998). Il peut y avoir un défaut de fécondation ou une mort embryonnaire avant 16 jours. Le *repeat breeding* est un syndrome difficile à diagnostiquer et traiter car les causes sont multiples et souvent multifactorielles.

Tout d'abord, du point de vue strictement reproducteur, les causes confirmées et identifiables sont surtout les infections utérines dans plus de 40% des cas et les défauts de détection des chaleurs. Les anomalies et lésions de l'appareil reproducteur peuvent également être mises en cause. De manière plus générale, toute affection occasionnant de l'inflammation et du stress (telles que les boiteries) va provoquer une mise en circulation de cytokines inflammatoires et éventuellement mettre en jeu le LPS (lipopolysaccharide) de certains agents pathogènes. Ces éléments peuvent perturber la sécrétion de LH, de GnRH et d'hormones stéroïdes, les sécrétions de l'utérus et les dynamiques folliculaires et lutéales. Cela peut avoir pour conséquence la mort de l'embryon (PUROHIT *et al.*, 2008). Des causes alimentaires peuvent également être à l'origine de *repeat breeding*, en particulier un déficit énergétique et un excès d'azote fermentescible. Enfin, d'autres facteurs, pas toujours cliniquement identifiés tels que la génétique, la qualité de la semence et la technique d'IA peuvent être également incriminés.

2. Une maladie spécifique de la chèvre : l'hydromètre ou pseudo-gestation caprine

Bien que les anomalies décrites précédemment puissent potentiellement être retrouvées chez les petits ruminants, leur étude est mineure par rapport aux bovins, chez qui il y a derrière un enjeu de traitement de ces anomalies. Chez les petits ruminants, ces

phénomènes sont moins étudiés et l'enjeu premier se porte davantage sur le désaisonnement. C'est pourquoi nous traiterons dans cette partie surtout une maladie spécifique de la chèvre : l'hydromètre.

L'hydromètre ou pseudo-gestation caprine est définie comme une accumulation de liquide aseptique d'aspect clair dans l'utérus associée à la persistance d'un ou plusieurs corps jaunes sécrétant de fortes quantités de progestérone (DUQUESNEL *et al.*, 1992). La collection peut atteindre les 17 litres, provoquant une forte pression abdominale, et lui donnant un profil distendu, avec ou sans écoulement à la vulve. D'un point de vue reproducteur, le retour en chaleurs est bloqué par la progestérone durant une période pouvant atteindre plusieurs mois.

Les causes et la pathogénie n'ont pas été clairement définies mais cette maladie survient surtout pendant le premier mois *post-partum* lors de persistance d'un corps jaune ou le mois suivant la mise à la reproduction chez les primipares, lié à un avortement précoce. Elle semble survenir particulièrement lors du désaisonnement, probablement du fait d'un mésusage des protocoles de synchronisation des chaleurs et de mortalités embryonnaires précoces plus fréquentes. La prévalence est très variable d'un élevage à un autre (BRICE *et al.*, 2003). Des facteurs raciaux, génétiques et l'âge seraient également mis en cause (ZARROUK *et al.*, 2000).

Le diagnostic différentiel se fait avec une gestation vraie par examen échographique à partir de 35 jours de gestation présumée. Un contenu liquidien sans cotylédon ni fœtus est constaté (DUQUESNEL *et al.*, 1992). La paroi utérine reste fine et semble former des cloisons car repliée sur elle-même. Les commémoratifs peuvent également permettre d'orienter le diagnostic comme une baisse de lactation et les résultats de fécondité. Lors d'écoulements, le diagnostic différentiel se fait avec un avortement, lequel permet normalement d'observer un avorton et du placenta (figure 12).

Enfin, la lactation se poursuit durant la pseudo-gestation, même si la quantité de lait produite peut se trouver affectée. L'animal n'est donc pas totalement une non-valeur économique (DUQUESNEL *et al.*, 1992).

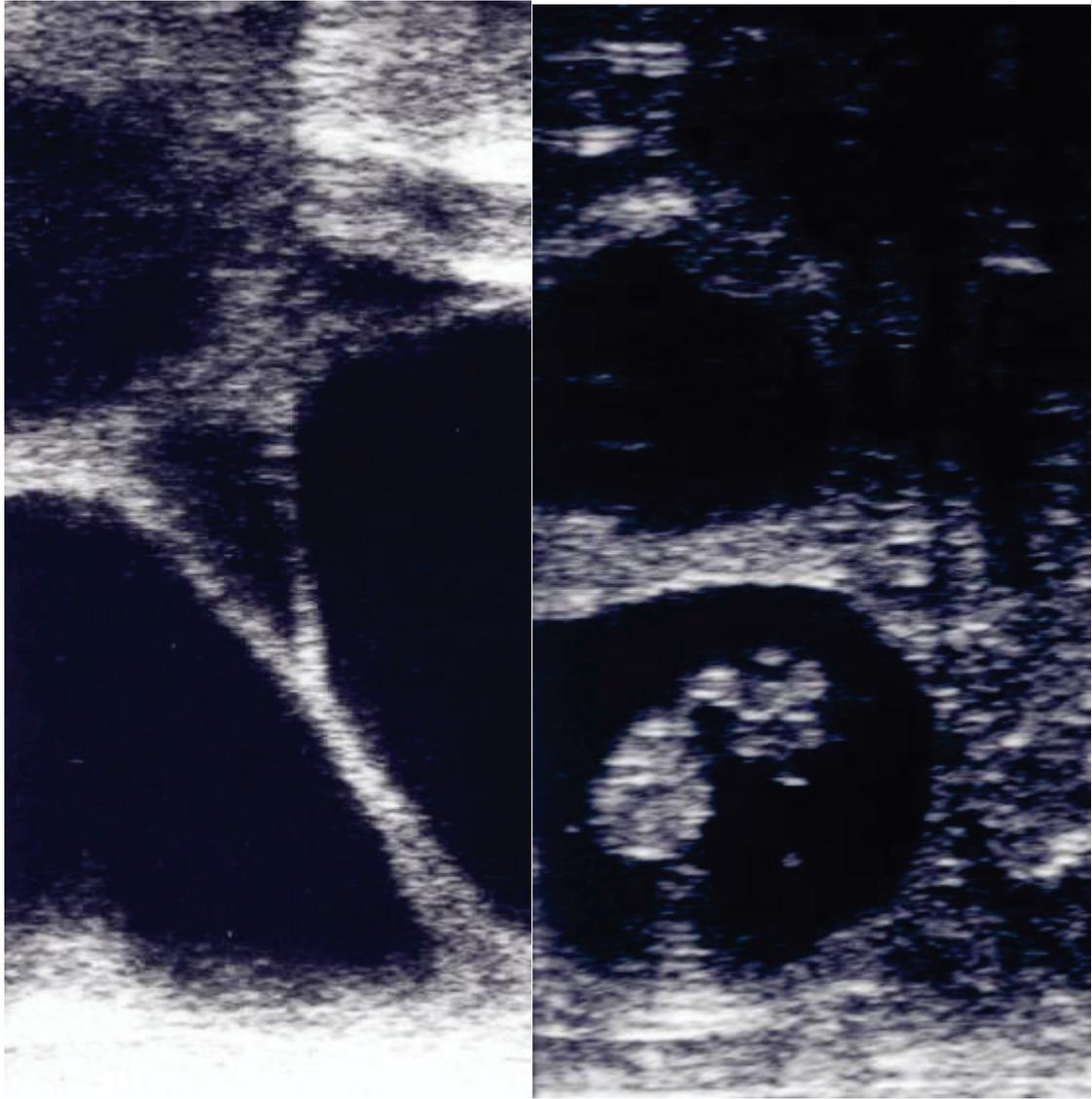


Figure 12 : Images échographiques d'un utérus de chèvre atteinte d'hydromètre (à gauche) et d'une chèvre gestante (à droite) (Source : BRICE et al., 2003)

Cette affection peut se résoudre d'elle-même mais il y a des risques de métrite et de pyomètre, ainsi que de récurrences d'une année sur l'autre. Il existe donc un vrai intérêt à envisager un traitement hormonal pour ces animaux (CHEMINEAU *et al.*, 1999). Le traitement consiste classiquement en une ou plusieurs injections de PGF2 α . On peut d'ailleurs remarquer que l'administration de deux injections de PGF2 α à 12 jours d'intervalle est préférable à l'administration d'une dose unique (ZARROUK *et al.*, 2000).

III. Etude structurale de l'eCG et son intégration dans des protocoles de maîtrise de la reproduction

A. Approche polypeptidique

1. Généralités et études

Deux grandes hormones chorioniques existent chez les animaux : l'eCG chez les équidés et l'hCG chez les primates (*human Chorionic Gonadotropin*). L'hCG serait apparue chez les primates à la suite d'une duplication et d'une succession de mutations/délétions de la sous-unité β de la LH qui a eu pour conséquence un allongement de la séquence d'une trentaine d'acides aminés en terminaison COOH (COMBARNOUS *et al.*, 1997). Chez les équidés, le mécanisme d'apparition de l'eCG n'a pas été défini mais un décalage similaire du cadre de lecture dans la partie 3' de la partie codante est également présent.

Les hormones gonadotropes se lient à des Récepteurs des Hormones GlycoProtéiques (RHGP) pour exercer leur fonction. Ces récepteurs présentent une homologie, c'est-à-dire une similitude globale inférieure à 55% d'une espèce à l'autre. Plus particulièrement, elle avoisine les 70% de similitude en région C-terminale tandis qu'elle est très variable en région N-terminale. La zone C-terminale est enchâssée dans la membrane et est responsable du lien avec une protéine G qui transmet les signaux. La partie N-terminale comporte une répétition de motifs riches en leucine et interagit avec l'hormone ligand (figure 13). La partie C-terminale est donc le point d'ancrage du récepteur dans la membrane cellulaire et la partie N-terminale est la partie variable qui interagit avec l'hormone ligand. Cette partie est plutôt spécifique d'une espèce et d'une hormone donnée et va avoir le rôle principal d'interaction avec le ligand.

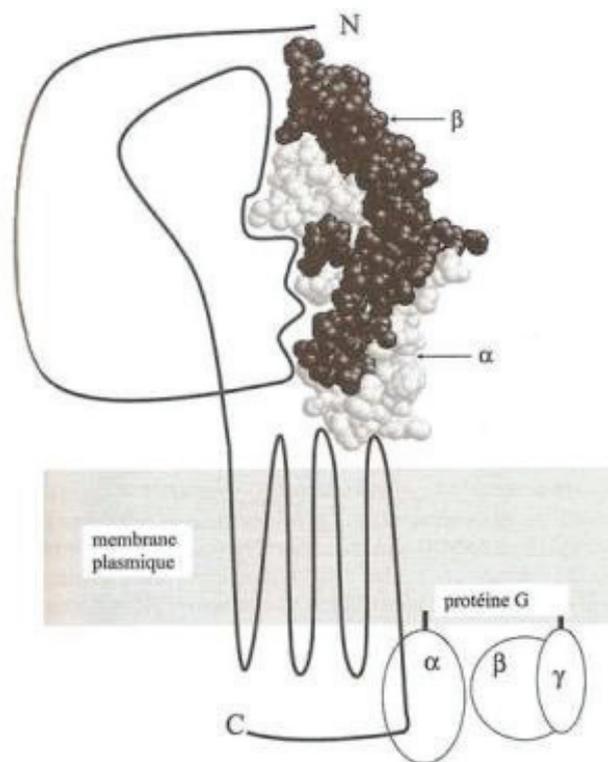


Figure 13 : Structure d'un récepteur aux gonadotropines (D'après COMBARNOUS, 2001). N représente l'extrémité N-terminale, C représente l'extrémité C-terminale.

2. Organisation hétérodimérique

L'eCG, comme toute hormone gonadotrope, est codée par deux grandes catégories de gènes : des gènes α communs à toute hormone glycoprotéique et exprimés dans les cellules thyrotropes, gonadotropes hypophysaires et trophoblastiques placentaires, et des gènes β bien spécifiques (SUGINO *et al.*, 1987). Ces derniers sont d'origine placentaires, contrairement à d'autres gonadotropines comme la LH, qui est codée par des gènes β d'origine hypophysaire. L'eCG constitue donc une version placentaire de la LH, avec des séquences d'acides aminés identiques mais des chaînes d'oligosaccharides différentes. Cela a un impact sur la fixation aux récepteurs des gonadotropines (figure 13), et il y aura des effets similaires mais non-identiques entre la eLH (LH d'origine équine) et l'eCG au sein d'espèces différentes du cheval.

Ces deux groupes de gènes donnent donc deux sous-unités aux gonadotropines : la sous-unité commune α et la sous-unité β qui est variable bien que certaines zones soient conservées entre les différentes gonadotropines (figure 14). Ainsi, bien que trois lignées de sous-unité β aient été définies, la lignée donnant la LH, celle de la FSH et celle de la TSH ont toutes en commun le même squelette de cystéines comme base (COMBARNOUS *et al.*, 1997).

Les travaux de P APKOFF ont mis en évidence les structures des sous-unités α et β , en se basant initialement sur la LH et la FSH (P APKOFF, 1974). Elles sont associées par des liaisons non-covalentes et stabilisées par des glycanes (COMBARNOUS *et al.*, 1997).

Les études de WARD (1982) ont montré que les similitudes entre l'hCG et l'eCG font de la première un bon modèle d'étude pour la seconde. C'est ainsi que des progrès ont été réalisés sur la connaissance de l'eCG. La similitude entre les sous-unités α de ces deux hormones serait proche des 80% (BROWN *et al.*, 1979). Avec l'apparition du séquençage, la sous-unité β a également pu être investiguée et l'homologie entre l'eCG et l'hCG est de 66% pour les 110 premiers acides aminés (MURPHY *et al.*, 1991).

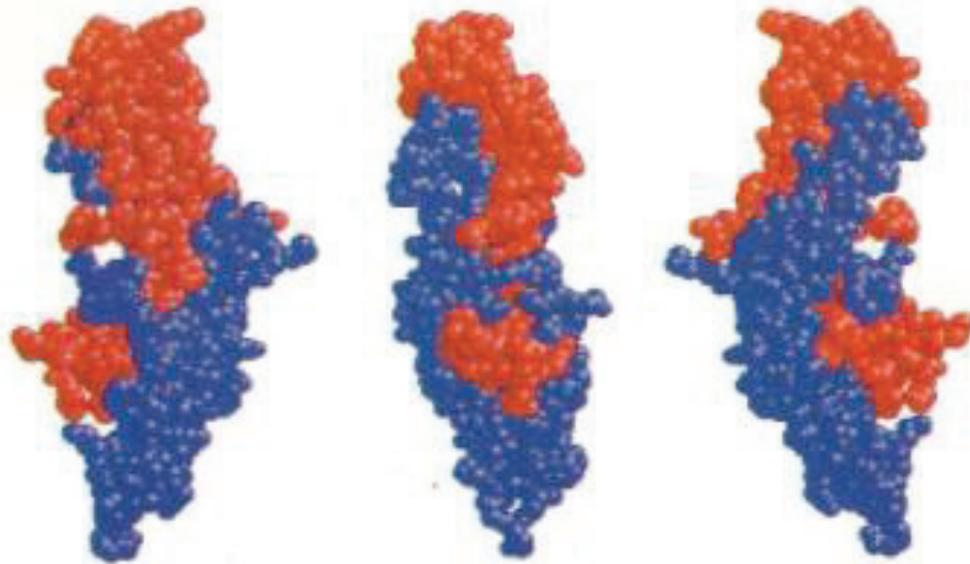


Figure 14 : Structure tridimensionnelle de l'hCG comprenant les sous-unités α en rouge et β en bleu. Vue de face au milieu et profils gauches et droits respectivement (D'après COMBARNOUS, 2001).

La sous-unité α est composée de 96 acides aminés dont 10 résidus de cystéines avec une masse moléculaire de 15 000 g/mol (COMBARNOUS *et al.*, 1997). Bien que sa composition soit constante, sa capacité à se lier à des sous-unités différentes lui est conférée par ses deux chaînes saccharidiques variables, sites de N-glycosylation (RONIN *et al.*, 1996).

La sous-unité β comporte 149 acides aminés pour l'eCG, dont 12 résidus cystéines pour une masse moléculaire de 30 000 g/mol. La particularité des cystéines est qu'elles peuvent former des ponts disulfures pour donner une certaine conformation à la molécule (figure 15) retrouvée au sein de toutes les sous-unités β (COMBARNOUS *et al.*, 1997). C'est l'association des deux sous-unités qui donne à l'eCG sa conformation « active » en dévoilant le site de fixation au récepteur (COMBARNOUS *et al.*, 1984).

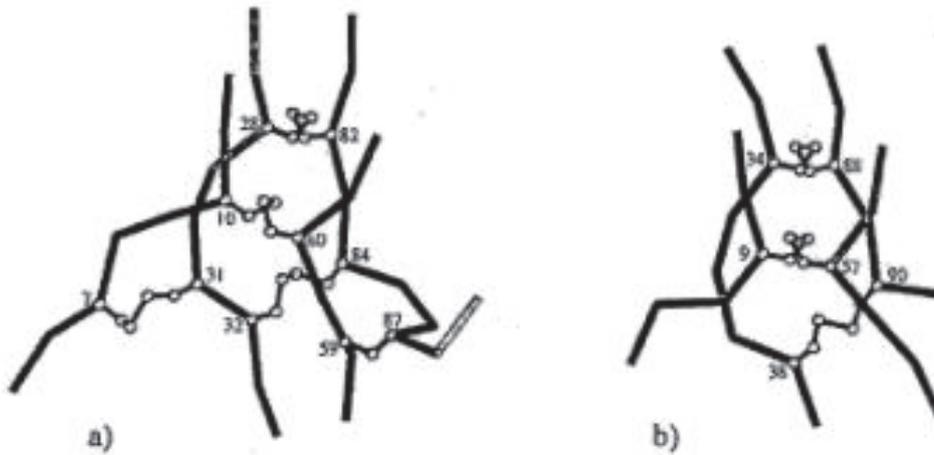


Figure 15 : Nœuds de cystéines avec les ponts disulfures sur la sous-unité α (a) et β (b) (D'après COMBARNOUS *et al.*, 1997).

3. Une forte glycosylation

Chaque sous-unité de l'eCG est composée d'une zone peptidique et d'une zone osidique (glycanes) constituée de chaînes O et N (SHARIF *et al.*, 2014). Les glycanes se terminent par de l'acide sialique. Cet acide sialique joue un rôle important dans la demi-vie de l'eCG. En effet, l'élimination des résidus de l'acide sialique dévoile des résidus de galactose à la surface de la molécule (MURPHY *et al.*, 1991). Ces derniers seront reconnus par la lectine membranaire des cellules hépatiques et l'hormone est ainsi éliminée par cette reconnaissance des résidus galactose. Ainsi, la présence d'acide sialique va masquer les résidus de galactose et l'hormone mettra plus de temps à être éliminée, ce qui a pour conséquence d'augmenter la demi-vie de l'eCG (COMBARNOUS *et al.*, 1994). La glycosylation qui fait la spécificité de l'hormone est variable selon l'environnement, l'âge, le sexe et le stade sexuel de l'animal (RONIN *et al.*, 1996). Elle se réalise au moment de la traduction dans le réticulum endoplasmique granuleux. Les points de glycosylation des hormones glycoprotéiques sont similaires mais la quantité et la composition des carbohydrates n'est pas constante, notamment pour l'eCG qui possède une forte teneur en acide sialique. La quantité d'acide sialique varie non seulement entre chaque jument mais aussi selon le stade de gestation, ce qui renforce la notion de microhétérogénéité.

L'eCG peut finalement être considérée pour ces raisons comme un hétérodimère glycosylé contenant de nombreux ponts disulfures (COMBARNOUS *et al.*, 2001) avec un haut

poids moléculaire lié à sa forte teneur en sucres, majoritairement de l'acide sialique (12-14%) et du D-galactose (10,6-12%) (CHRISTAKOS *et al.*, 1979).

B. Relation entre sa structure et ses propriétés particulières

L'eCG se distingue des autres gonadotropines à plusieurs niveaux (tableau IV) et ces spécificités lui confèrent des propriétés particulières (COMBARNOUS *et al.*, 1984).

Tableau IV : Comparaison des différentes gonadotropines ; aa = acides aminés (Source : SABY C., d'après COMBARNOUS *et al.*, 1984, 2001 ; DRION *et al.*, 1998 ; SAINT-DIZIER, 2004). LH : Luteizing Hormone : hormone lutéinisante, FSH : Follicle Stimulating Hormone : hormone folliculo-stimulante, eCG : gonadotropine chorionique équine, hCG = human Chorionic Gonadotropin = Gonadotropine chorionique humaine

	LH	hCG	FSH	eCG
Origine	hypophyse	placenta	hypophyse	placenta
Activité biologique	LH	LH	FSH	LH/FSH
Sous-unité α (nombre d'acides aminés)	96	92	96	96
Sous-unité β (nombre d'acides aminés)	121	145	109	149
Masse molaire (kDa)	30	37,6	32	44
Acides sialiques (%)	1	9-12	5	10-13,5
Glucides (%)	10	31	25	45
Demi-vie	12-50min	8h	3-5h	4-6j

Elimination	Foie, rein	Foie, rein	Foie, rein	Foie

1. Haut poids moléculaire

L'eCG est la plus lourde des gonadotropines à 44 kDa (tableau IV) pour un nombre total d'acides aminés légèrement plus élevé. Cela l'empêche de passer le filtre rénal, et son élimination est donc uniquement hépatique (AGGARWAL *et al.*, 1981).

2. Forte teneur en sucres

Une des particularités de l'eCG est donc sa forte teneur en sucres : 45% contre 10% pour la LH et 25% pour la FSH (tableau IV). Cette glycosylation est renforcée par les chaînes N-glycosidiques sur les deux sous-unités ainsi que les chaînes O-glycosidiques qui sont des oligosaccharides (SAINT-DIZIER, 2004). Parmi ces sucres, l'acide sialique est présent à 10-13% contre 1 et 5% chez la LH et la FSH respectivement confère une protection contre la dégradation comme nous l'avons vu précédemment.

Ce phénomène explique la demi-vie conséquente de l'eCG qui possède beaucoup d'acides sialiques. Expérimentalement, une eCG désialysée présente un raccourcissement important de sa demi-vie ce qui la rend inefficace *in vivo* (COMBARNOUS *et al.*, 1984) avec des taux d'ovulation fortement diminués (MIN *et al.*, 2020). Dans le cas de l'eCG, une demi-vie plus longue implique également une durée d'action plus longue (COMBARNOUS *et al.*, 1994) car l'hormone va rester présente longtemps et va toujours être capable de se lier à ses récepteurs.

La présence de ces sucres rend aussi la molécule plus chargée et diminue sa faculté à passer notamment le filtre rénal, en plus de sa taille.

3. Conformation dans l'espace

L'organisation dans l'espace consiste donc en trois boucles de polypeptides pour chacune des sous-unités (WU *et al.*, 1994). Ces boucles se retrouvent en position antiparallèle entre les deux sous-unités. Elles pourraient être impliquées dans l'activité FSH et LH de l'eCG du fait des charges des résidus d'acide sialique. Elles sont stabilisées par des liaisons hydrogènes ce qui donne une certaine stabilité à la molécule malgré la flexibilité liée aux

boucles (COMBARNOUS *et al.*, 1997). La stabilité de l'eCG lui permet d'être plus résistante à la dégradation et rallonge sa demi-vie.

De plus, les acides aminés 90 à 110 de la sous-unité β constituent une « ceinture de sécurité » ou boucle de détermination autour l'autre sous-unité (figure 14). Chaque sous-unité se replie en un nœud de cystéines (figure 15). Cette disposition dans l'espace lui donne la propriété de se dissocier lentement avec un pH de demi-dissociation de 3,45 contre des pH allant de 3,7 pour la eLH, 5,3 pour la eFSH (COMBARNOUS *et al.*, 1984). Cela contribue également à rendre l'eCG plus résistante aux dégradations.

Etant donné que la composition en acides aminés, les glycanes et les noyaux cystéines sont plutôt constants entre les gonadotropines, il existe donc des zones de conformation assez régulière entre l'eCG et les autres gonadotropines (COMBARNOUS *et al.*, 1997), avec une forte homologie. Ces similitudes entre les gonadotropines et l'eCG vont potentiellement rendre l'eCG capables d'activer les récepteurs d'autres gonadotropines, dans des espèces différentes. Cela va lui conférer un effet LH ou FSH dans de nombreuses espèces.

C. Bilan sur les propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamie

L'eCG est donc une gonadotropine particulière du fait de sa conformation qui la rend stable et difficile à dégrader, sa grande taille qui module son élimination et sa forte teneur en sucres qui joue un rôle dans l'allongement de sa demi-vie. Bien que cela puisse représenter un avantage, son haut poids moléculaire et sa longue exposition aux anticorps lui donnent des propriétés immunogènes indésirées (DRION, 2005).

Finalement, d'après les RCP des spécialités commercialisées par MSD, l'eCG est rapidement absorbées après injection intra-musculaire (8h chez les petits ruminants, 16h chez les bovins). Sa biodisponibilité est alors de 72% chez les bovins et 92,6% chez les ovins pour le produit de MSD, ce qui est relativement important. En revanche, son élimination est lente grâce aux propriétés de la molécule vues précédemment : elle varie de 34 à 150 heures selon les espèces pour la spécialité de MSD, et de 22 à 220 heures pour le produit de CEVA, ce qui est bien plus long que les autres gonadotropines.

D. L'eCG : une hormone à double activité LH et FSH utilisée chez les ruminants

1. Origine de la double activité de l'eCG

L'eCG ne possède qu'une activité LH faible chez la jument et aucune activité FSH, ce qui limite son utilisation (HOFFERER *et al.*, 1992 ; HOPPEN *et al.*, 1994). Chez cette espèce, l'eCG a pour principal effet de provoquer la formation de corps jaunes secondaires et favoriser la production de progestérone par ceux-ci. De plus, la jument va produire rapidement des anticorps anti-eCG, rendant ainsi inutiles les injections suivantes de cette hormone.

La monospécificité LH de l'eCG a été démontrée avec un rapport d'activité FSH/LH presque nul chez le cheval contre 0,20 chez le porc par analyse des activités LH et FSH avec de l'eCG radioiodée (COMBARNOUS *et al.*, 1984). Dans le cas du porc, par exemple, l'eCG a produit une activité identique à la LH porcine et une activité FSH égale à environ 20% de celle de la FSH porcine, d'où un rapport d'activité FSH/LH de 0,2. De la même manière, chez le rat, ce rapport a été évalué à 0,25. Chez les ruminants, des effets LH et FSH ont également été rapportés, elle possède ainsi des effets d'intérêt dans la maîtrise de la reproduction en système hétérologue (au sein d'une espèce différente de son espèce d'origine donc). Du fait de ses effets LH faible et FSH nul au sein de son espèce d'origine (en système homologue équin), l'eCG ne possède pas d'intérêt dans la maîtrise de la reproduction des équidés.

2. Des effets sur la reproduction parfois contestés

Plusieurs effets sont recherchés par l'administration d'eCG dans les protocoles de synchronisation des chaleurs. Cette hormone possède des actions sur les diverses étapes menant à l'ovulation et sur le maintien de l'embryon, ce qui en fait un élément intéressant dans le cadre de la maîtrise des cycles.

a. Effet sur la croissance folliculaire

Un premier effet recherché lors du traitement avec de l'eCG est un plus grand nombre de petits follicules recrutés, une croissance plus rapide de ceux-ci et un diamètre plus grand du follicule dominant. L'action de l'eCG sur les cellules de la granulosa et de la thèque va entraîner de fortes teneurs en œstradiol chez les ruminants (DE RENSIS *et al.*, 2014 ; BARRETT *et al.*, 2004). Cela s'explique par une régulation positive de la cascade impliquant le cholestérol et conduisant à la synthèse de cette hormones par l'eCG (RIGOGLIO *et al.*, 2013). Ainsi la proportion de follicules atresiques est moins importante, et il y a une augmentation du nombre de follicules recrutés ainsi que leur taille.

b. Effets sur l'ovulation

Le but est d'obtenir de meilleurs taux d'ovulation ainsi que des ovulations plus regroupées dans le temps. Comme nous l'avons vu précédemment, l'eCG induit de meilleurs taux d'œstradiol ainsi qu'une meilleure croissance des follicules (DE RENSIS *et al.*, 2014 ; BARRETT *et al.*, 2004). Nous avons également vu qu'une croissance du follicule suffisante et un bon taux d'œstradiol sont des conditions au phénomène ovulatoire. Cela explique les meilleurs taux d'ovulation observés dans les études, en particulier chez les animaux en anœstrus (SALES *et al.* 2011). Les protocoles étant réalisés selon des délais définis, cela permet de plus de prévoir avec plus de précision l'évènement ovulatoire, et ainsi de regrouper ces ovulations si le protocole est initié pour plusieurs animaux en même temps.

c. Effet sur la phase lutéale et la gestation

Nous avons vu que l'eCG donnait un follicule ovulatoire plus grand, ce qui donnera un corps jaune de taille plus importante (VASCONCELOS *et al.*, 2001). Celui-ci aura alors une plus grande faculté à produire de la progestérone (DE RENSIS *et al.*, 2014). L'utilisation d'eCG pourrait donc aider au maintien de l'embryon qui nécessite un certain seuil de progestérone durant la gestation (MORRIS *et al.*, 2008). Les taux de gestation peuvent donc s'en trouver améliorés sur IA pratiquée à la suite d'un traitement avec de l'eCG.

d. Discussion sur l'efficacité

Selon les conditions et le protocole utilisé, l'effet constaté de l'eCG sur la croissance folliculaire, l'ovulation, le taux de gestation et la fonction lutéale ne sont pas constants. La dose utilisée, les associations d'hormones et la proportion de vaches en anœstrus a pu jouer dans ces différences. Bien qu'il soit donc difficile de comparer les diverses études, le bilan de la littérature sur les effets de l'eCG n'en est pas moins mitigé.

Si des études (tableau V) comme celles de DRIANCOURT *et al.* (1991) ont montré au moins un effet bénéfique sur ces paramètres, d'autres études comme celles de SOUZA *et al.* (2009) PULLEY *et al.* (2013) et FERREIRA *et al.* (2013a) n'ont pas montré d'effets bénéfiques sur les différents paramètres.

En revanche, les expérimentations sur des vaches allaitantes en anœstrus de FERREIRA *et al.* (2013b), SALES *et al.* (2011), laitières en anœstrus de BRYAN *et al.* (2013) et LOPEZ-GATIUS *et al.* (2013) et chez les brebis hors saison de reproduction (BARRETT *et al.*, 2004) ont montré que l'usage de l'eCG dans des protocoles adaptés peut agir positivement sur un ou

plusieurs de ces facteurs indicateurs de fertilité, donnant ainsi des chaleurs regroupées. D'autres expérimentations comme celles de ROSTAMI *et al.* (2011) sont arrivées à la conclusion que l'administration d'eCG au sein des protocoles permet une meilleure reprise des chaleurs après le vêlage.

Tableau V : Bilan de la littérature sur les effets de l'eCG sur la reproduction chez les ruminants (Source : A. COUDURIER). E : œstradiol, UI : Unité Internationale, VL : vache laitière, VA : vache allaitante, mm : millimètre, j : jour

Auteur de l'étude	Protocole	Effets bénéfiques de l'eCG observés	Conclusion de l'étude
SOUZA <i>et al.</i> , 2009	E + P4 + PGF2α + eCG 400 UI + GnRH VL	- Taux de gestation : 33,8% (eCG) contre 28,9% (témoin)	Pas d'effet sur la croissance folliculaire, l'ovulation et le corps jaune
DRIANCOURT <i>et al.</i> , 1991	PGF2α + eCG	- Augmentation du nombre de petits follicules et de la taille du follicule dominant	L'effet sur les follicules a été corrélée au nombre d'ovocytes et d'embryon collectés
FERREIRA <i>et al.</i> , 2013a	E + P4 + PGF2α + 400 ou 600 UI eCG + GnRH VL		Pas d'effet de l'eCG
FERREIRA <i>et al.</i> , 2013b	E + P4 + PGF2α + eCG 400 UI + GnRH VA en anœstrus	- Follicule dominant plus grand avec eCG - Taux de gestation 27,3% (eCG) contre 16% (témoin) - Moins de lutéolyse précoce, corps jaune plus grand	Effets sur la taille des follicules et du corps jaune plus marqué que pour l'étude sur VL
PULLEY <i>et al.</i> , 2013	PGF2α + PGF2α + GnRH + PGF2α + eCG 400 UI + GnRH VL		Pas d'effet de l'eCG
SALES <i>et al.</i> , 2011	E + P4 + PGF2α + E + eCG 300 UI VA en anœstrus	- Croissance folliculaire augmentée de 0,45mm/j avec eCG	Effets de l'eCG sur chaque paramètre, d'autant plus si la NEC < 2,75

		<ul style="list-style-type: none"> - Taux d'ovulation 88,6% (eCG) contre 71,6% (témoin) - Taille du corps jaune augmentée - Taux de gestation 62,3% (eCG) contre 43,9% 	
BRYAN <i>et al.</i> , 2013	GnRH + P4 + PGF2 α + eCG 400 UI +/- GnRH si absence de chaleurs VL en anœstrus	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de gestation 36% (eCG) contre 30,6% Surtout chez les primipares	Pas d'effet sur la croissance folliculaire, l'ovulation et le corps jaune
LOPEZ-GATIUS <i>et al.</i> , 2013	PGF2 α + eCG 500 UI + GnRH VL en anœstrus	<ul style="list-style-type: none"> - Taux de gestation 46,9% (eCG) contre 28,8% (témoin) en cas de <i>repeat breeding</i> 	Effet plus marqué en cas de troubles de la reproduction (mais équivalents chez les vaches saines)
BARRETT <i>et al.</i> , 2004	P4 + eCG 500 UI Brebis en anœstrus	<ul style="list-style-type: none"> - Taux d'ovulation 100% (eCG) contre 20% (témoin) - Présence des structures lutéales chez toutes les brebis traitées 	Peu d'effet sur la dynamique folliculaire mais de meilleurs taux d'ovulation
ROSTAMI <i>et al.</i> , 2011	eCG 500 UI VL en <i>post-partum</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Taux d'ovulation 71,4% (eCG) contre 0% sur la première vague post-partum - Follicule >10mm détecté 1j plus tôt avec eCG 	Effet sur la reprise précoce de l'activité ovarienne avec une ovulation plus tôt après le vêlage

L'administration d'eCG semble donc avoir particulièrement un intérêt dans le cadre d'anœstrus et d'avancement des premières chaleurs après le part.

3. Mise en application au sein de protocoles de synchronisation des chaleurs

Bien que les études n'aient pas toutes démontré les mêmes résultats, l'eCG est largement utilisée au sein de protocoles applicables chez plusieurs espèces : les ruminants d'élevage mais aussi les porcs, lapins, les carnivores domestiques (DRION, 2005). L'indication principale est l'induction de l'œstrus sauf chez le porc et le lapin. Son intégration aux protocoles en association avec d'autres hormones peut permettre de synchroniser les chaleurs des animaux (tableau VI). A forte dose, elle offre la possibilité d'une superovulation recherchée dans certaines circonstances.

Tableau VI : Indications de l'eCG au sein de différentes espèces (Source : d'après DRION, 2005).

Espèce	Indications majeures	Indications mineures	Réaction immune
Humaine	N'est plus utilisé	N'est plus utilisé	++
Bovine	-Induction de l'œstrus -Synchronisation de l'œstrus (après progestagènes et PGF2 α) -Faible niveau de fertilité (en combinaison avec des progestagènes) -Superovulation		++
Caprine/Ovine	-Induction de l'œstrus -Synchronisation de l'œstrus (en combinaison avec progestagènes et PGF2 α)	-Induction de la superovulation	+++/>++
Canine	-Induction de l'œstrus		+
Féline	-Induction de l'œstrus -Induction de l'ovulation		+
Porcine	En association avec hCG -Reprise de cycle -Augmentation de la taille de portée	-Induction de l'œstrus	+

	-Superovulation -Anœstrus		
Lapins	-Induction de la réceptivité au mâle		++

Il peut donc y avoir deux principaux types de synchronisation des chaleurs : l'usage zootechnique sur animaux sains et l'usage à visée thérapeutique sur les animaux ayant des affections de la reproduction (CHASTANT-MAILLARD *et al.*, 2005).

a. Principe général des associations d'hormones

L'eCG se retrouve au cœur de protocoles dans lesquels les différentes hormones impliquées, leurs doses et le moment de l'IA sont précisément renseignés.

Concernant les hormones intervenant dans les protocoles, il s'agit de celles que l'on retrouve naturellement dans l'axe régulateur de la reproduction dont les versions naturelles ou artificielles ont été commercialisées sous forme de différentes spécialités (tableau VII).

Tableau VII : Effets des hormones utilisées en association avec l'eCG et spécialités commercialisées (Source : COUDURIER A. d'après MED'VET). GnRH = Gonadotropin-Releasing Hormone = Gonadolibérine, P4 = Progestérone, PGF2 α = prostaglandine 2 α

Hormone	Action	Intérêt dans le protocole	Spécialités
PGF2 α	Lyse du corps jaune	Retour en chaleur en 2-7 jours (pré-synchronisation) /!\ Période réfractaire du corps jaune de 5 jours	Injectable Naturelle (Dinoprost) Artificielles (Alfaprost, Cloprostenol, Luproستيول)
P4	Mime un corps jaune ou une gestation	Retarde l'ovulation et synchronise les chaleurs au retrait (mime la lyse)	Dispositif intravaginal à libération prolongée (figure 16) Naturelle (Progestérone) Artificielle (Acétate de Flugestone)
GnRH	Provoque le pic de LH puis l'ovulation en 24h (si le follicule fait au moins 8mm)	Provoque l'ovulation, puis le démarrage d'une nouvelle vague deux jours après	Injectable Artificielles (Gonadoréline, Buséreléline, Léciréline)

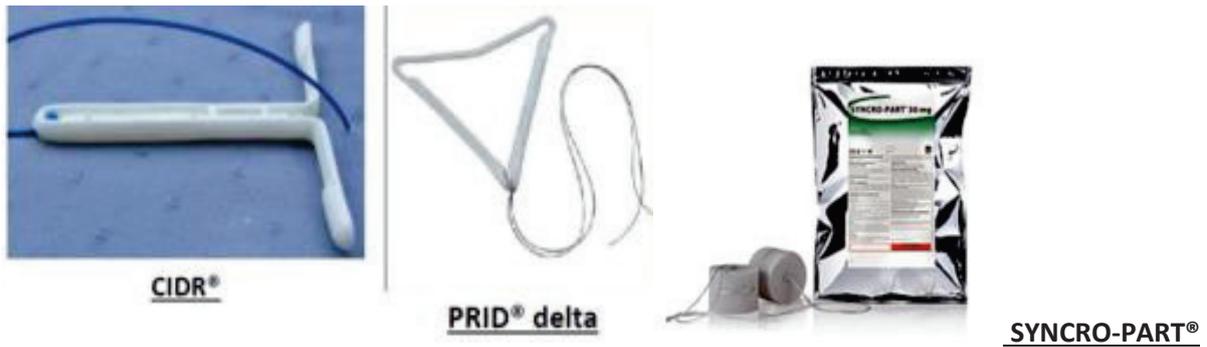


Figure 16 : Dispositifs intravaginaux à libération prolongée de progestérone avec AMM bovins en France commercialisées par ZOETIS à gauche et CEVA au milieu et avec AMM ovins et caprins de CEVA à droite (Source : MED’VET)

Le moment de l’IA est variable selon le protocole : il peut être fixe donc sans détection des chaleurs ou au contraire sur détection des chaleurs.

b. Chez les bovins

Chez les vaches, le protocole classiquement utilisé fait appel à la pose d’un dispositif intravaginal de progestérone laissé en place 7 à 11 jours, associé à une injection de PGF2 α , une injection de GnRH et une injection d’eCG avant IA (figure 17 ; CHASTANT-MAILLARD, 2005).

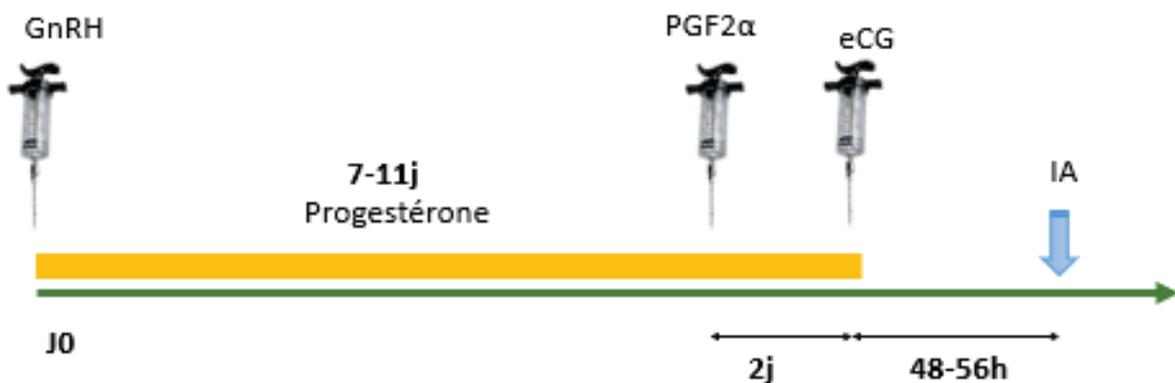


Figure 17 : Protocole de synchronisation des chaleurs avec eCG principalement utilisé chez les bovins (Source : COUDURIER A. d’après CHASTANT-MAILLARD, 2005). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , eCG : equine Chorionic Gonadotropin, j : jour, h : heure

Ce protocole permet une insémination fixe sans nécessité de détecter les chaleurs. Il est applicable quelle que soit l'étape du cycle. En effet, s'il y a un follicule dominant (plus de 8 mm de diamètre) au moment de l'initiation, celui-ci va ovuler grâce à la GnRH injectée le premier jour avec mise en place d'un corps jaune. Il n'y aura pas de retour en chaleurs avant le retrait du dispositif intravaginal, même lorsque le corps jaune mis en place est lysé naturellement ou par l'injection de PGF2 α . En parallèle, les vagues vont se poursuivre sans ovulation jusqu'au retrait. Le retrait et l'injection d'eCG vont favoriser la croissance folliculaire puis l'ovulation dans un délai défini ce qui permet la réalisation d'une IA à date fixe.

S'il n'y a pas de follicule dominant, cela signifie qu'une vague est en phase de recrutement. Bien que l'injection de GnRH ne présente pas d'intérêt dans ce cas, le dispositif va empêcher un retour en chaleurs non prévu et le corps jaune sera éliminé avec la prostaglandine.

Ce programme n'implique pas d'échographie de contrôle, l'insémination est réalisée en aveugle et il fonctionne sur les vaches en anœstrus. En revanche, son coût élevé et les manipulations peuvent constituer un frein pour l'éleveur.

Des modulations de la dose d'eCG sont importantes lorsque l'effet recherché est la superovulation en vue de transplantation d'embryons (RIGOGLIO *et al.*, 2013). En effet, alors que les doses nécessaires pour l'induction de l'ovulation sont généralement comprises entre 400 et 600 UI, la superovulation se produit plutôt entre 1500 et 3000 UI, avec la dose la plus forte pour les vaches non cyclées.

Les protocoles à base d'eCG permettent donc d'agir sur la mécanique hormonale impliquée dans l'ovulation et les chaleurs et donc de s'affranchir des troubles de détection des chaleurs, les phases lutéales prolongées, et des vagues folliculaires non ovulatoires.

c. Chez les ovins et les caprins

Le protocole est réalisé selon le même principe chez les petits ruminants sans GnRH au début du protocole (LURETTE *et al.*, 2016). L'injection de PGF2 α pour lyser le corps jaune est nécessaire seulement chez les caprins car, chez les ovins, la durée de vie du corps jaune est naturellement plus courte que le temps de pose de l'éponge vaginale de progestérone. Chez la chèvre, elle est effectuée en même temps que l'injection d'eCG. La dose varie entre 250 et 600 UI selon la race, la parité, la production et la saison. L'IA est finalement réalisée 43h et 55h après le retrait de l'éponge pour les chèvres et les brebis respectivement (figures 18 et 19).

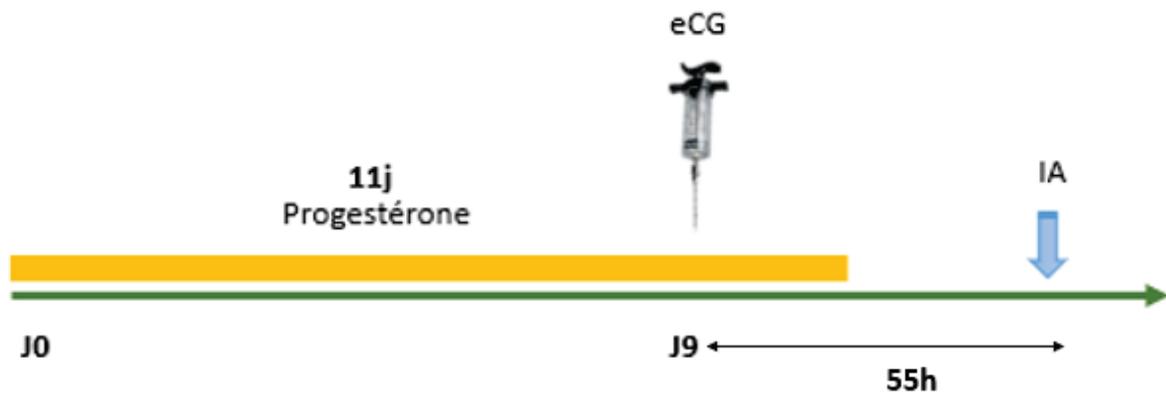


Figure 18 : Protocole classique de synchronisation des chaleurs chez la brebis (Source : COUDURIER A. d'après LURETTE et al., 2016 ; FATET et al., 2011). eCG : equine Chorionic Gonadotropin, IA : Insémination Artificielle, j : jour, h : heure

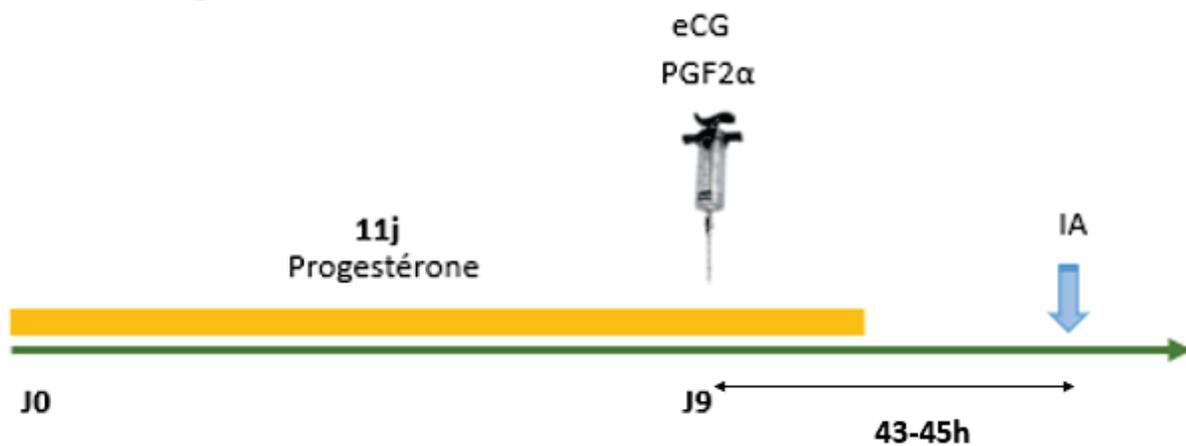


Figure 19 : Protocole classique de synchronisation des chaleurs chez la chèvre (Source : COUDURIER A. d'après FATET et al., 2011). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , eCG : equine Chorionic Gonadotropin, j : jour, h : heure

De même que chez les bovins, des affections de la reproduction peuvent être solutionnées par traitement hormonal avec l'eCG, comme les pseudogestations caprines (LEBOEUF *et al.*, 1998). Cependant, la forte demande de protocoles hormonaux pour désaisonnement est caractéristique des petits ruminants ce qui en fait un enjeu très important chez ces espèces. Nous avons vu précédemment que le désaisonnement permet d'étaler le travail et la production sur l'année pour répondre à la demande du consommateur. L'utilisation de l'eCG a donc pris une ampleur qui ne se limite pas juste à la synchronisation des chaleurs et au traitement des troubles de la reproduction chez les ovins et les caprins.

IV. Les limites de l'utilisation de l'eCG

A. Les inconvénients de son intégration aux protocoles de synchronisation des chaleurs

1. Une efficacité discutée

Comme cela a été mis en évidence dans la partie III. D. 2., les études ne sont pas unanimes sur l'efficacité des protocoles avec eCG par rapport aux lots témoins. Chez les bovins, ses avantages sont surtout démontrés sur les animaux en anœstrus comme dans l'étude de MIALOT *et al.* (2003) qui a comparé l'efficacité d'un traitement GPG (GnRH + PGF2 α + GnRH) et d'un traitement à base de progestérone et d'eCG. D'autres études comme le travail de HERVE (2020) chez les vaches allaitantes ont aussi montré un intérêt surtout chez les vaches en anœstrus ou avec une NEC inférieure à 2,5. Il y aurait donc un intérêt à favoriser l'eCG par rapport à un autre protocole dans un but « curatif » pour traiter l'anœstrus plutôt qu'en routine pour synchroniser les chaleurs où un autre protocole serait suffisant.

Chez les petits ruminants, deux situations doivent être prises en compte : les protocoles réalisés en saison de reproduction et hors saison de reproduction. En saison de reproduction, l'efficacité des protocoles à base d'eCG est également discutée en comparaison avec l'effet mâle qui présente l'avantage d'être moins coûteux pour des résultats équivalents (NAKAFFERO *et al.*, 2020). Hors saison, la question ne se pose pas car seuls les traitements hormonaux associant progestérone et eCG sont efficaces pour le moment.

La longue demi-vie de l'eCG pourrait être une cause des irrégularités des résultats. Les follicules peuvent par exemple subir une lutéinisation prématurée (GOULDING *et al.*, 1991) par un effet LH prolongé qui conduit à la formation de corps jaunes sans ovulation. De même, après ovulation, la stimulation des follicules pourrait se poursuivre ce qui aboutirait à un développement embryonnaire dans un milieu fort en œstrogènes néfaste pour l'embryon. Au bout d'un certain nombre de traitements, cette demi-vie longue peut également être à l'origine de réactions indésirées du système immunitaire. Une autre hormone avec une demi-vie plus courte pourrait alors être plus intéressante pour s'affranchir de ces effets.

2. Une réaction immunitaire aux traitements répétés avec de l'eCG

Les premières observations d'une immunité contre l'eCG ont été observées en 1937 lors des travaux de HARRINGTON. Plus tard, les études de BARIL *et al.* (1993) ont montré que

les injections répétées d'eCG sur plusieurs années causent une baisse du succès de l'IA et ce de manière proportionnelle au nombre d'années. Une origine immunitaire à cet effet a été incriminée, avec la présence d'anticorps anti-eCG dont la cinétique a été évaluée par ELISA quantitative (ROY *et al.*, 1999) chez la chèvre. Dans cette étude, la réponse immunitaire s'est traduite par la production d'IgG dirigés contre l'eCG 10 jours après la première injection avec un pic atteint entre 10 et 17 jours après cette injection. Une baisse progressive de l'immunité a ensuite été observée dans les deux mois. Les traitements ultérieurs ont provoqué des réactions 7 jours après l'injection et des baisses beaucoup plus lentes du fait d'anticorps résiduels (figure 20) c'est-à-dire issus de la précédente injection. Cela induit un taux de liaison de l'eCG plus élevé c'est-à-dire que la proportion d'eCG capturée par les anticorps anti-eCG augmente. En lien avec les études précédentes, la répétition des injections d'eCG a provoqué une production d'anticorps anti-eCG qui était de plus en plus élevée au fil des traitements, d'où une « résistance » à l'eCG qui est capturée par ces anticorps et ne peut plus jouer son rôle.

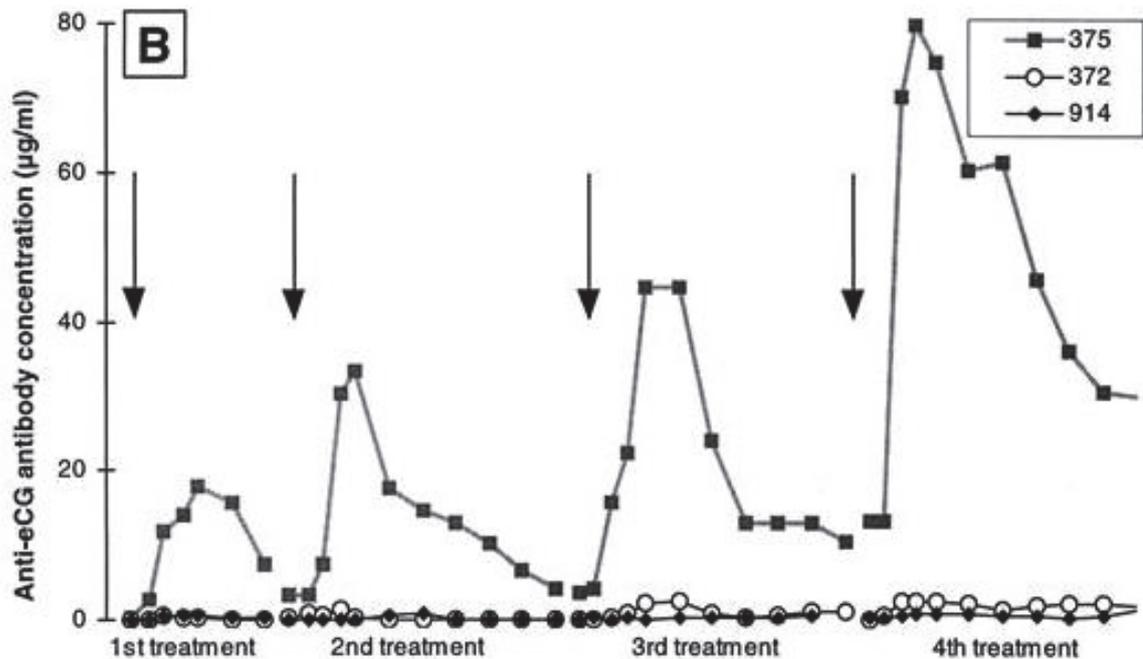


Figure 20 : Cinétique de la concentration en anticorps anti-eCG en fonction du nombre de traitements à l'eCG au cours du temps (Source : ROY *et al.*, 1999). Les flèches indiquent les injections d'eCG, l'axe des abscisses le nombre de traitement et l'axe des ordonnées la concentration en anticorps anti-eCG en µg/ml.

Les taux d'anticorps ont cependant été très variables entre chaque individu. Les chèvres ayant peu répondu la première fois ont révélé également de faibles réactions immunitaires par la suite (et inversement pour les animaux ayant répondu fortement). Ces

groupes d'animaux répondant plus ou moins au jour 10 ont été classés afin d'analyser le polymorphisme de leur complexe majeur d'histocompatibilité de type II (CMH II), en particulier la région OLADRB du chromosome 23. Ce sont en effet ces gènes qui codent pour les glycoprotéines présentatrices d'antigènes aux lymphocytes TCD4+, déclenchant la réaction humorale impliquant les lymphocytes B producteurs d'IgG. L'allèle 280pb se retrouve associé de manière significative à une réaction faible, contrairement aux allèles 295bp et 288bp (figure 21). Ces régions seraient donc potentiellement en cause.

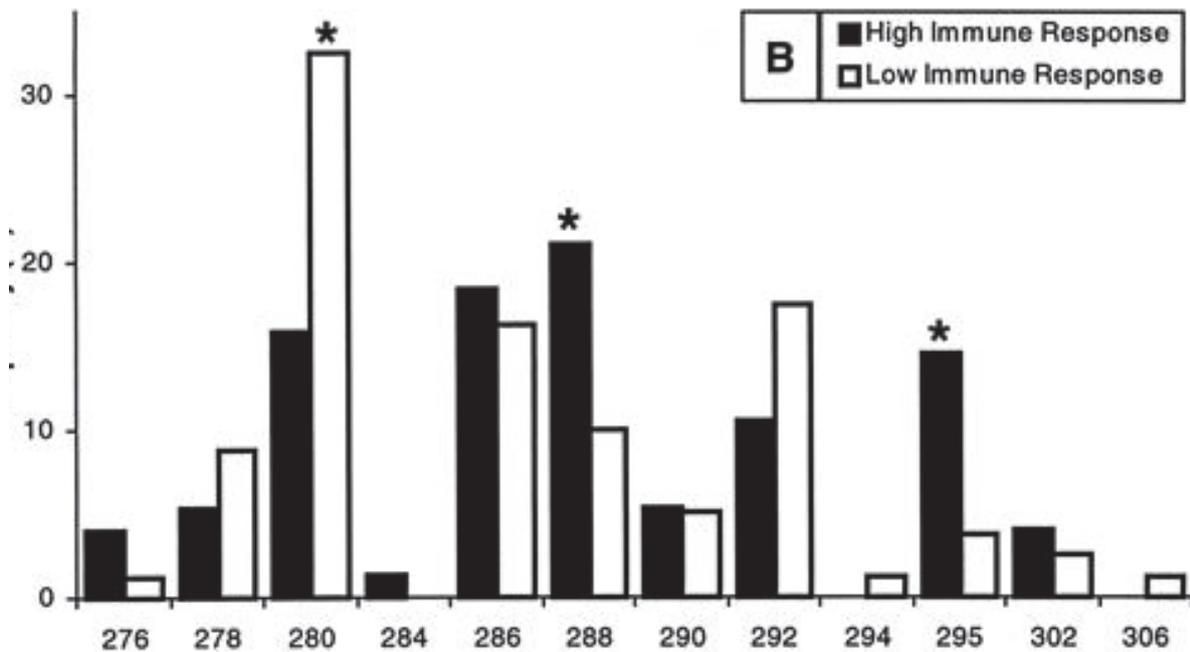


Figure 21 : Répartition des fréquences alléliques en fonction des phénotypes anti-eCG élevés (en noir) et faibles (en blanc) pour le microsatellite OLADRB. L'axe des abscisses représente les fragments de la région OLADR et en ordonnées la fréquence de ces réponses immunitaires fortes ou faibles (Source : ROY *et al.*, 1999).

De plus, il a été observé dans cette étude que la fertilité diminuait avec l'âge et le nombre de traitements reçus dans cette même expérimentation. En particulier, elle diminuait quand le taux d'anticorps résiduels augmentait. Ceci est également corrélé à un pic de LH tardif ou absent. Cette diminution de la fertilité est donc observée lors des injections suivant la première. Enfin, les anticorps anti-eCG ne sont pas transmis par voie transplacentaire aux chevreaux mais ils sont excrétés dans le colostrum et ont été détectés dans le sang des jeunes à partir de 2 jours après l'ingestion avec une persistance quelques semaines (BECKERS *et al.*, 1995).

Des essais ont également été réalisés chez la brebis avec des résultats similaires (COMBES *et al.*, 1999) sur la dynamique des anticorps, bien que les concentrations en

anticorps soient généralement inférieures à celles chez la chèvre. Dans l'espèce ovine, cinq allèles de la région DRB semblent être impliqués dans ce phénomène. Le taux d'anticorps résiduel associé à un fort taux de liaison de l'eCG va également de pair avec une baisse de fertilité à l'IA. De même, un effet semblable a été démontré chez la vache (DRION *et al.*, 2001) mais dans des conditions expérimentales moins proches de la réalité avec des traitements plus fréquents et des doses élevées.

Ces réactions sont d'ailleurs décrites dans les RCP des produits de CEVA et MSD (RCP MedVet Synchronpart ; RCP MedVet Chronogest, consultés en 2021). A cela s'ajoutent de rares cas de chocs anaphylactiques, le risque de gémellité en cas de surdosage et de potentiels effets tératogènes sur le fœtus en cas de gestation de la femelle.

Des sérums d'anticorps monoclonaux anti-eCG avaient été mis en place pour remédier à la longue demi-vie de cette hormone, avant qu'elle ne stimule excessivement l'immunité humorale (DRION, 2005). Leur injection était pratiquée 4-5 jours après l'injection d'eCG. Cependant, des limites de cette méthode ont été montrées, notamment dans le cas de la superovulation où une atresie des follicules non ovulés de plus de 10mm était constatée, avec une baisse de l'œstradiol circulant. Une injection trop précoce soit 72h après l'eCG inhibait la superovulation. Il a également été montré que les capacités d'ovulation des follicules étaient équivalentes avec ou sans sérum anti-eCG d'où une utilisation discutée puis abandonnée.

La conduite à tenir face à des animaux producteurs d'anticorps contre l'eCG est délicate car cela implique que ces animaux peuvent avoir une meilleure capacité à se défendre face à un agent pathogène. L'élimination de ces animaux peut donc engendrer une augmentation de la sensibilité globale du troupeau aux infections (COMBES *et al.*, 1999).

3. Les questions éthiques soulevées par sa production dans les « fermes à sang »

Le Conseil National de l'Ordre des Vétérinaires a été interpellé en 2018 à la suite d'une dénonciation des conditions de production de l'eCG dans des fermes d'Argentine et d'Uruguay par les associations Welfarm et PETA. Ces associations de protection animale ont mené des enquêtes entre 2015 et 2017 sur 5 de ces fermes. Il est en effet inscrit dans le code de déontologie vétérinaire R 242-33 alinéa VIII, que « le vétérinaire respecte les animaux » et donc que les conditions de détention et les traitements des animaux pouvaient être discutées. Ces associations, tout comme Animals' Angels (2015), ont pu notifier des anomalies sur les animaux et au cours des manipulations qui ne sont pas conformes aux normes européennes d'utilisation des chevaux pour l'industrie (EU Platform on Animal Welfare. EU Guide to Good Animal Welfare Practice for the Keeping, Care, Training and Use of Horses; European Union: Brussels, Belgium, 2019).

De nombreuses problématiques, graves pour certaines, ont été mises en évidence : pâturages de mauvaise qualité, conditions environnementales peu contrôlées (température, litière, aliment, interactions...), manque de soins vétérinaires, etc. Ceci est d'autant plus problématique que cette espèce nécessite des soins minimaux comme le soin des sabots, les traitements préventifs, le soin des dents, en particulier lorsque l'on parle d'animaux gravides. Certains rapports vus précédemment dénoncent également des animaux avec des boiteries, maigres, présentant des plaies. Y sont également mentionnées des pertes de poulinières pouvant s'élever à 25-30% par an. Il y aurait aussi un défaut de qualification des ouvriers ainsi que des mauvais traitements, avec pour conséquence un défaut d'habitué des animaux se traduisant par de la crainte (World Horse Welfare and Eurogroup for Animals. Removing the Blinkers: The Health and Welfare of European Equidae in 2015; *World Horse Welfare and Eurogroup for Animals: Brussels, Belgium, 2019*). Concernant la prise de sang en tant que telle, il faudrait normalement s'assurer que le site est désinfecté, les aiguilles stériles à usage unique, la contention adaptée et l'hémostase appliquée en fin de prélèvement. Au vu des prélèvements parfois excessifs, une complémentation devrait également être donnée. Les juments faibles et en fin de vie envoyées à l'abattoir ne sont pas forcément aptes au transport. Les méthodes d'identification à moindre douleur comme la puce doivent être favorisés par rapport au marquage au fer chaud s'il n'y a pas d'obligation légale. Enfin, les avortements, qui sont non nécessaires à l'obtention d'eCG, sont potentiellement stressants et douloureux, alors que la vente de poulains n'en fait pas forcément une non-valeur économique.

Plus généralement, le manque d'harmonisation des pratiques à l'international est décrié (BEAVER *et al.*, 2019). Le ministère de l'agriculture uruguayen a créé en 2017 un livret de bonnes pratiques sur la collecte de sang des juments et un règlement mais sans application stricte et donc sans contrôle réel sur les pratiques en ferme à sang (Manual de Buenas Practicas de Bienstar Animal Para Eqiunos Destinados a la Produccion de Derivados Plasmaticos, 2017).

Peu connu du grand public, l'enquête a tout de même été relayée par des médias tels que BFM, Le Monde, ou TF1. Cependant, les consommateurs comme les éleveurs se préoccupent de l'image des filières animales (LURETTE *et al.*, 2016) et l'opinion publique possède désormais une forte influence sur les choix à effectuer par les professionnels agricoles. Les campagnes « choc » de certaines associations (figure 22) et le relai médiatique ont de nos jours plus de poids dans les décisions prises pour le bien-être animal comme il en a été pour l'interdiction du broyage des poussins mâles dans les filières poules pondeuses depuis le 6 février 2022.



Figure 22 : Affiche de la campagne contre les « fermes à sang » menée par Welfarm (Source : Welfarm, consulté en 2022)

Cependant, il y a une difficulté à établir une base de données scientifique en limitant les biais rencontrés dans les enquêtes militantes. Il y a effectivement une absence de contrôle et de normes qui laisse penser qu'il peut y avoir des manquements sur des troupeaux de taille importante, mais les rapports manquent de preuves et les vidéos tournées ne sont pas forcément précises sur le lieu et la date de tournage. L'Ordre est ainsi en attente de résultats des recherches menées au niveau Européen comme en témoigne le rapport PE 589.295v02-00 A8-0014/2017, points 43, 44 (2017) :

« Le parlement européen,

[...]

43. *se dit vivement préoccupé par l'importation et l'utilisation de médicaments vétérinaires contenant de la gonadotrophine extraite du sérum de jument gravide (PMSG) ;*
44. *exhorte la direction de la Commission chargée des audits et des analyses dans les domaines de la santé et de l'alimentation à contrôler, dans le cadre d'audits, que les entreprises certifiées pour produire l'hormone PMSG respectent les dispositions de protection animale en vigueur pendant la production et à réaliser une enquête et à rédiger un rapport sur le bien-être et le traitement des juments servant au prélèvement d'hormones utilisées dans l'industrie pharmaceutique ; »*

Il y a également eu une proposition de résolution du Parlement Européen sur l'interdiction du commerce et de l'importation de l'eCG en 2017 (B8-0587/2017). Néanmoins,

l'utilisation de cette hormone étant à des fins thérapeutique et de bien-être, et sans éléments recevables contre ces fermes, l'utilisation est actuellement maintenue, dans une démarche de recherche d'eCG de synthèse, car les vétérinaires ne sont toujours pas en mesure de connaître l'origine de l'eCG utilisée dans leurs médicaments.

Ces campagnes ont enfin eu un impact auprès de l'industrie du médicament : en effet, l'entreprise MSD a arrêté de se fournir en Amérique Latine en 2016 pour se tourner vers l'Islande. CEVA en revanche a reconnu importer uniquement via le laboratoire Syntex en Argentine. Ils ont été interpellés en 2015 (Libération, 2017) et ont envoyé une équipe sur place pour recueillir des données qui n'ont pas révélé d'anomalies selon leur rapport. Des syndicats ont été contactés ensuite par ces associations tels que le Syndicat de l'industrie du médicament et réactif vétérinaires (SIMV), le syndicat de la viande Interbev, de la filière porcine (Inaporc) ou caprine (Anicap) mais la décision du Conseil Européen est encore en attente. Des pétitions ont été signées par plus d'1,9 millions de personnes pour interdire d'utiliser des hormones provenant de ces pays.

B. La pertinence de se passer d'hormones dans la maîtrise de la reproduction

1. Discussion autour des effets indésirables des hormones sur la santé et l'environnement

Il existe plusieurs arguments en défaveur de l'usage de l'eCG qui lui sont propres. Tout d'abord, d'après le RCP, des études sur animaux de laboratoire ont révélé un effet tératogène à la suite de l'administration d'eCG chez la femelle gestante (RCP MED'VET, 2022) avec une innocuité non démontrée.

Une autre particularité de l'eCG est qu'il s'agit d'une substance produite *in vivo* par les juments, et donc avec un risque infectieux potentiel (European Food Safety Authority (EFSA), 2010) mais dont l'ampleur est encore à l'étude et non quantifiable. Les autorités sanitaires s'inquiètent notamment d'un risque d'Encéphalite Spongiforme Bovine ou de Tremblante du mouton chez les animaux receveurs. Le prion, responsable de ces 2 affections, possède en effet une capacité non négligeable à franchir les barrières d'espèces (VILOTTE *et al.*, 2012). Un prion présent chez les équidés pourrait donc être transmis aux bovins ou aux petits ruminants. Bien que, d'après l'EFSA, aucun lien n'a été établi avec certitude par manque de données (le prion étant encore le sujet de nombreuses interrogations), il a été à l'origine de crises sanitaires qui ont été marquantes pour les populations comme pour les autorités sanitaires, c'est pourquoi il n'est jamais vraiment écarté lors d'inoculations ou d'ingestion de substances d'origine animale.

D'autre part, les effets néfastes sur le consommateur des résidus d'hormones utilisées à des fins de reproduction des animaux de rente ont été évalués (SCVPH, 1999, 2002). Le consommateur est en effet exposé à ces résidus *via* la consommation d'animaux et de leurs produits ou par rejet de ces résidus dans l'environnement. Cette exposition potentielle est alors indirecte, par les eaux de ruissèlement et les sols sur lesquels sont produits des végétaux et animaux destinés à la consommation humaine. Les eaux sont également susceptibles de ruisseler jusqu'à des eaux de surface pouvant servir de source d'eau potable. La gestion du lisier, potentiellement drainé par les pluies, peut être un point à surveiller dans cette maîtrise des résidus. Une méconnaissance du devenir et des concentrations limites de certaines substances (AMATORE *et al.*, 2021) ou une connaissance de leurs effets néfastes a déjà poussé à l'interdiction de commercialisation de certaines hormones en France.

C'est à cause de ces préoccupations que, par exemple, l'œstradiol 17- β initialement utilisé dans les protocoles, a été examiné pour son effet cancérigène lié aux résidus dans la viande bovine (Former Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health, 1999, 2002). Ces résidus ont été qualifiés de perturbateurs endocriniens pour leurs interactions délétères sur le système neuroendocrinien humain. À la suite de ce compte-rendu du comité en 1999, l'usage de cette hormone a été interdit en France en 2006. D'autres hormones ont aussi été jugées dangereuses pour la santé telles que la testostérone, la Trenbolone, le Zeranol et l'acétate de Melengestrol.

Le cas de la progestérone a également été étudié, mais les données ont été insuffisantes pour conclure sur le risque lié aux résidus dont le principal est la 5 α -Progestérone (European Food Safety Authority, 2010). L'effet carcinogène a été montré sur les animaux de laboratoire, mais les doses n'étaient pas forcément représentatives de la quantité présente dans la viande. Ces métabolites sont dix fois plus importants dans les tissus adipeux que dans le foie et le muscle mais restent inférieurs aux concentrations retrouvées dans les tissus des vaches gravides (AMATORE *et al.*, 2021). Ainsi, actuellement, aucun caractère tératogène, carcinogène ou génotoxique n'a été montré dans ces concentrations, mais des LMR dans les carcasses ont été fixées entre 0,4 à 1 ng/g selon les spécialités et l'espèce-cible (PARIS *et al.*, 2006).

De même, les prostaglandines présentent des demi-vies plutôt faibles, et sont éliminés par voies urinaire et fécale. Dans le muscle et les graisses, les résidus sont quasi-négligeables. Ces métabolites ont été évalués comme non tératogènes, non génotoxiques et non cancérigènes, mis à part un risque d'avortement et toxique en cas de surdosage. Selon les calculs simulant la dose ingérée dans une ration type, la dose maximale théorique serait inférieure à 7% de la dose journalière admissible, donc sans risque pour le consommateur.

Enfin, concernant les hormones peptidiques comme l'eCG, les travaux restent incomplets (AMATORE *et al.*, 2021). Le risque pourrait donc venir non seulement du manque d'information sur le devenir de cette hormone mais aussi sur son association avec d'autres hormones.

2. Les contraintes liées aux cahiers des charges plus strictes

En 2020, la France comptait environ 12% des exploitations engagés dans la filière biologique (Agriculture biologique, Institut National de l'Origine et de la Qualité, 2022). En UE, cela représente 13,79 millions d'ha soit 329 409 exploitations. Des contrôles sont réalisés de manière annuelle avec en plus des contrôles non planifiés pour veiller à l'application d'un cahier des charges strict conforme à une réglementation uniformisée au niveau européen (Règlement (UE) 2018/848 en application depuis le 01/01/2022). Les normes mises en application dans l'agriculture biologique n'autorisent ainsi pas les traitements hormonaux dans un cadre zootechnique (synchronisation des chaleurs, dessaisonnement), bien que l'IA soit permise. Il en est de même pour certains cahiers des charges Agriculture d'Origine Protégée qui restreignent leur usage telle que l'AOP Rocamadour qui autorisait la synchronisation des chaleurs par traitement hormonal pour 60% du troupeau en 2014 par souci d'image auprès du public notamment (LURETTE *et al.*, 2016). Ci-dessous sont présentés les différents éléments du cahier des charges de l'agriculture biologique et régissant l'utilisation des hormones dans le cadre de la reproduction.

« [...]

1.3.2. a) *La reproduction recourt à des méthodes naturelles ; toutefois, l'insémination artificielle est autorisée ;*

b) *La reproduction n'est ni accélérée ni ralentie par des traitements à base d'hormones ou d'autres substances ayant un effet analogue, sauf dans le cadre d'un traitement vétérinaire appliqué à un animal individuel ;*

[...]

1.5.1.4. *Des substances destinées à stimuler la croissance ou la production (y compris les antibiotiques, les coccidiostatiques et autres auxiliaires artificiels de stimulation de la croissance), des hormones ou des substances analogues en vue de maîtriser la reproduction ou à d'autres fins (par exemple, induction ou synchronisation des chaleurs) ne peuvent pas être utilisées*

[...]

3.1.2.2. *En ce qui concerne la reproduction, les règles ci-après s'appliquent :*

a) *Les hormones ou les dérivés hormonaux ne sont pas utilisés ; »*

3. De nouveaux enjeux : vers une interdiction des hormones en reproduction des animaux de rente

Pour des raisons de santé humaine, de respect de l'environnement ainsi que pour conserver une bonne image de l'agriculture française aux yeux du public, l'usage des hormones dans la reproduction des animaux de rente est réglementé par l'Article D234-6 du code rural, depuis le 10 août 2017). Ce texte s'applique au niveau national et prohibe l'usage des spécialités hormonales qui restent localement sur le site d'injection ou dont les temps d'attente dépassent 15 jours ainsi que l'œstradiol 17 β . Il définit les modalités d'utilisation de testostérone, progestérone, substances à effet œstrogène, androgène, gestagène et leurs dérivés :

« [...] »

I. - Les médicaments vétérinaires contenant des substances ou catégories de substances à activité anabolisante, anticatabolisante ou bêta-agoniste ne peuvent être administrés à des animaux appartenant à des espèces dont la chair ou les produits sont destinés à la consommation humaine que dans les conditions suivantes

1° A titre d'usage thérapeutique :

a) La testostérone, la progestérone ou les dérivés donnant facilement les composés initiaux à l'hydrolyse après résorption à l'endroit de l'application, administrés par voie injectable, pour le traitement d'un trouble de la fécondité, à l'exclusion des implants, ou sous forme de spirales vaginales pour le traitement d'un dysfonctionnement ovarien ;

2° A titre d'usage zootechnique

Les substances à effet hormonal œstrogène, androgène ou gestagène, à l'exception de l'œstradiol 17 bêta ou ses dérivés estérifiés, administrées à titre individuel en vue de la synchronisation du cycle œstral, de la préparation au don et à l'implantation d'embryons ;

II. - Les médicaments mentionnés au I ne doivent pas contenir

2° Des substances à effet hormonal dont la mise en forme pharmaceutique ou l'administration provoque un dépôt local ou entraîne un temps d'attente supérieur à quinze jours ; »

L'usage des substances à visée zootechnique est donc encadré à plusieurs niveaux. D'un point de vue européen, des contrôles sont réalisés par des laboratoires communautaires de référence (LCRe) et nationaux (LNR) pour détecter les usages frauduleux. Au niveau national, le code de la santé publique et le code rural présentent la réglementation, les contrôles étant sous la direction du ministère de l'agriculture (direction générale de l'alimentation ou DGAL) et du ministère des finances qui contrôlent respectivement les denrées d'origine animale et l'alimentation destinée aux animaux et les produits transformés. Ces plans de contrôle se font en relation avec les services vétérinaires (PARIS *et al.*, 2006).

Malgré cette surveillance, il persiste une méconnaissance des effets de certains résidus. De plus, la demande du consommateur a changé : en effet, il y a un retour aux méthodes plus naturelles avec une image plus négative de la production intensive et de la chimie (BRICE *et al.*, 2002). Les réglementations autour des spécialités autorisées en

reproduction se durcissent dans un contexte de conflit avec d'autres pays usant de substances interdites en Europe comme les anabolisants.

Dans cette dynamique et à la demande du consommateur notamment, des plans de transition vers un mode de reproduction sans hormone, quelle que soit sa nature, voient le jour. C'est le cas du projet REPROBIO qui fait l'état des lieux des pratiques et attentes en reproduction des petits ruminants et des nouvelles techniques. Le désaisonnement présente un réel intérêt pour les éleveurs mais les divers moyens de maîtrise de la reproduction n'apportent pas de solution idéale. Il en est de même du projet FLOCK-REPROD de recherche pour la transition vers une reproduction caprine sans hormone qui comprend 15 partenaires de l'industrie laitière et de recherche. Il promeut notamment l'usage du traitement photopériodique sans mélatonine et l'effet mâle pour induire les chaleurs des femelles laitières en toute saison. Il englobe plus de 3000 élevages caprins laitiers qui bénéficient d'un soutien technique et économique.

Il existe donc un réel tournant de la part des professionnels comme des autorités vers un mode de reproduction conciliant une reproduction concurrentielle dans le monde avec une préoccupation de la santé publique, du bien-être animal et de l'environnement.

V. Alternatives à l'eCG et ouverture vers une maîtrise de la reproduction des ruminants sans hormone

A. Autres protocoles hormonaux

1. Chez les bovins

D'autres molécules possèdent une action LH ou FSH à l'image de l'eCG : la GnRH et l'hCG (CHORULON[®], MSD). Si la première est déjà largement utilisée pour synchroniser les chaleurs, l'autre l'est moins. Cette version humaine de l'eCG permet une ovulation dans les 28h avec augmentation de la progestéronémie par son effet sur le corps jaune principal et par l'induction de corps jaunes secondaires pendant quelques semaines (DE RENSIS *et al.*, 2010). Contrairement à l'eCG, l'hCG est retrouvée dans l'urine de femme enceinte, le procédé d'extraction ne pose donc pas les problèmes éthiques de la version équine. Son activité LH est plus intéressante chez les espèces animales que l'usage de LH elle-même, avec des taux accrus pendant les 30h suivant l'administration chez les vaches. Elle ne permet cependant pas de s'affranchir des effets immunogènes et du risque sanitaire reproché à l'eCG.

Les molécules à activité « GnRH » peuvent quant à elles être naturelles ou synthétiques. Si la gonadoréline (ACEGON[®], Zoétis ; CYSTORELINE[®], CEVA ; FERTAGYL[®], MSD) est identique à l'hormone naturelle, la GnRH, il existe d'autres molécules modifiées comme la léciréline (REPRORELIN[®], Vétoquinol) et la buséréline (RECEPTAL[®], MSD ; BUSOL[®], Biové). Ces 2 molécules sont des analogues synthétiques qui entraînent un pic de LH plus important sans différence de concentration plasmatique de progestérone. Le corps jaune formé après ovulation reste partiellement fonctionnel, d'où un taux de progestérone dans le sang inférieur à une ovulation issue de l'utilisation d'hCG (DE RENSIS *et al.*, 2008). Le coût de ces hormones peut néanmoins être un frein pour l'éleveur.

La GnRH et l'hCG semblent aussi efficaces pour faire ovuler les vaches (ASLAN *et al.*, 2011) mais la première agit sur l'hypophyse tandis que l'autre agit directement sur l'ovaire. Il peut donc y avoir des différences lorsque la production de LH endogène est déficiente. Ce cas peut être rencontré lors d'affections ou de déficit énergétique (WALSH *et al.*, 2011).

Enfin, la FSH (PLUSET[®], Qalian ; STIMUFOL[®], Reprobiol et FOLLTROPIN[®], Bioniche), actuellement utilisée pour les protocoles de superovulation, pourrait être utilisée sur des protocoles de synchronisation des chaleurs car les follicules de plus de 10mm ont également des récepteurs à la FSH (HAMPTON *et al.*, 2004). Les spécialités disponibles sont utilisées à forte dose pour la superovulation mais, à doses plus faibles, il pourrait y avoir un intérêt dans

le déclenchement de l'ovulation et la croissance des follicules. Tout comme les hormones précédentes, le coût est plus élevé que l'eCG et sa demi-vie est courte.

a. Protocole PGF2 α -PGF2 α

Ce traitement fait partie des plus couramment utilisés, il est relativement peu coûteux, mais réalisable si les chaleurs sont bien détectées et si les vaches sont déjà cyclées (GRIMARD *et al.*, 2003). Le protocole consiste à lyser le corps jaune en place pour induire les chaleurs avec des injections de PGF2 α (figure 23). Cette lyse peut être variable selon le stade lutéal au moment de l'initiation du traitement, d'où l'intérêt de bien détecter la venue en chaleur.

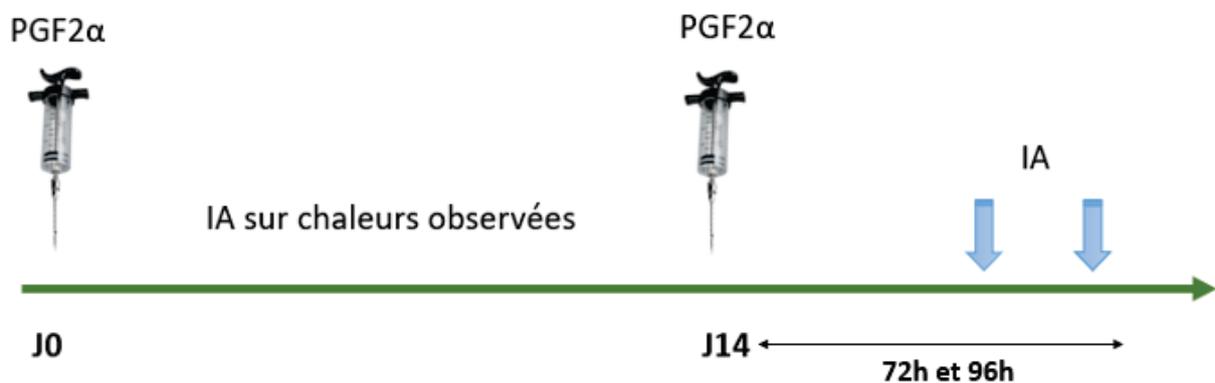


Figure 23 : Schéma d'induction des chaleurs chez la vache avec deux injections de PGF2 α (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure

Si, à la première injection, la vache ne revient pas en chaleur dans les 7 jours, il y a nécessité de refaire une injection 14 jours après la première pour comptabiliser la période réfractaire du corps jaune de 5 jours. En effet, dans le cas où un corps jaune sensible est présent à J0, il sera lysé à la première injection mais une nouvelle ovulation pourra avoir lieu à J7. Si les chaleurs sont détectées, l'IA peut avoir lieu mais dans le cas contraire, le corps jaune sera mis en place à J8 avec une période réfractaire jusqu'à J13. Le corps jaune sera donc sensible à J14 et donc lysé. Si le corps jaune est réfractaire à la première injection, il sera par conséquent sensible 14 jours plus tard et sera lysé par la deuxième injection.

Il est possible de pratiquer une IA unique 80h après la dernière dose (GRIMARD *et al.*, 2003) mais ce protocole marche relativement mal et il est préférable d'inséminer sur chaleurs observées.

b. Protocole GnRH-PGF2 α -GnRH ou GPG

Également un des plus utilisés, ce protocole provoque l'atresie ou l'ovulation de gros follicules avec la GnRH, ce qui va induire une nouvelle vague quelques jours après (GRIMARD *et al.*, 2003). Cela permet ensuite de lyser le corps jaune au bon moment de maturation du follicule dominant et d'induire une nouvelle ovulation avec les injections successives de PGF2 α et de GnRH. Il offre l'avantage de permettre une insémination à l'aveugle, c'est-à-dire sans détection des chaleurs, 16h après la dernière injection (figure 24). Ce traitement peut être indiqué pour la résolution des affections de la reproduction comme le subœstrus ou le *repeat breeding*, c'est-à-dire les troubles affectant les manifestations de chaleurs. Il est également utile contre les kystes lutéaux et folliculaires car les deux hormones utilisées sont chacune efficaces contre un type de kyste (NOWICKI *et al.*, 2017).

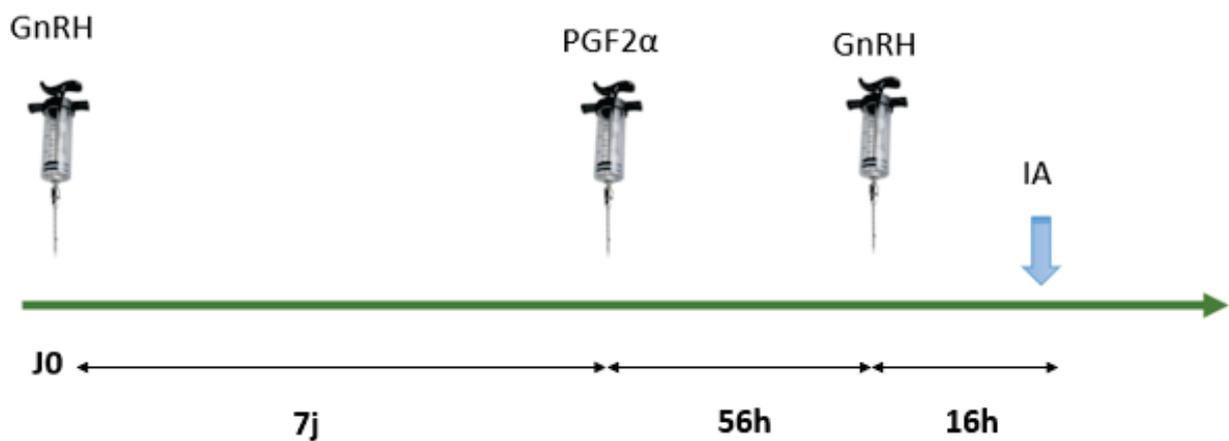


Figure 24 : Schéma du protocole GPG « OvSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone

Bien que ce protocole permette de s'affranchir de la détection des chaleurs, il nécessite tout de même d'avoir des vaches cyclées (NOWICKI *et al.*, 2017). De plus, les taux de réussite à l'insémination ne sont pas les mêmes selon le moment du cycle où le protocole est démarré. Ainsi, si la première injection de GnRH provoque l'ovulation, les taux de réussite seront meilleurs mais, en pratique avec une insémination à n'importe quel moment du cycle, cette ovulation n'arrive que dans la moitié des cas (BISINOTTO *et al.*, 2014). De plus, il y a également un risque que le corps jaune soit encore dans sa période réfractaire au moment de l'injection de prostaglandine ce qui la rend inefficace (NOWICKI *et al.*, 2017).

Ce protocole n'étant pas efficace dans tous les cas, des protocoles de pré-synchronisation et des variantes du GPG ont été développés pour améliorer la venue en

chaleurs des animaux en fin de traitement. Il est possible par exemple d'effectuer en premier lieu deux injections de $\text{PGF2}\alpha$ pour une pré-synchronisation dont les délais sont ceux décrits dans la partie précédente. Cela est peu décrit en France mais certaines études ont montré une hausse d'environ 10% de la fertilité à la suite de la pré-synchronisation associée à un traitement GPG (MARTINEZ *et al.*, 2002). Il est également possible de doubler le traitement GPG ou de pratiquer seulement une dose de prostaglandine et une de GnRH avant ce protocole (STEVENSON *et al.*, 2017) pour augmenter la fertilité, ce qui est aussi peu fréquent en France.

Les études ont montré que, plus le délai est long entre la pré-synchronisation et la première injection du protocole GPG, plus les taux d'ovulation sont élevés chez les vaches laitières en lactation : respectivement 56%, 66,7% et 84,6% pour des délais de 4, 5 et 6 jours (BELLO *et al.*, 2006). En effet, le taux d'ovulation à la 1ère GnRH est un élément clé pour le succès de la synchronisation des chaleurs.

Il existe trois variantes à ce protocole GPG. Dans le protocole « OvSynch », l'IA est réalisée 16h après la dernière injection (figure 24) et permet donc de s'affranchir de la détection des chaleurs. Le protocole « CoSynch » rassemble l'IA et la dernière injection de GnRH (figure 25) afin de limiter les manipulations des animaux comme en élevage allaitant. Concernant la variante « SelectSynch », l'IA doit se réaliser sur détection des chaleurs (figure 26) pour s'assurer que la synchronisation des chaleurs a bien fonctionné avant d'inséminer afin d'accroître la réussite à l'IA.

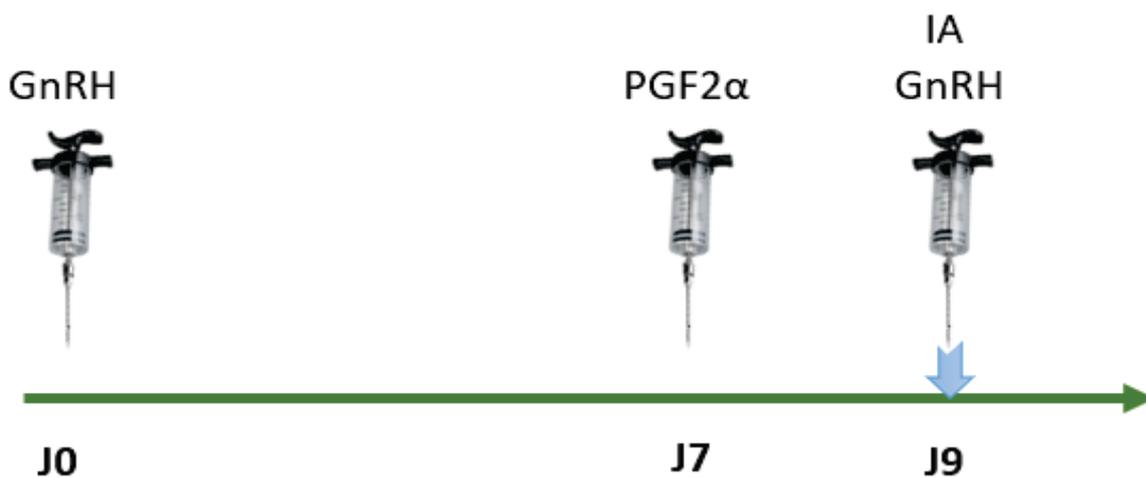


Figure 25 : Schéma du protocole GPG « CoSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, $\text{PGF2}\alpha$: Prostaglandine 2α , j : jour

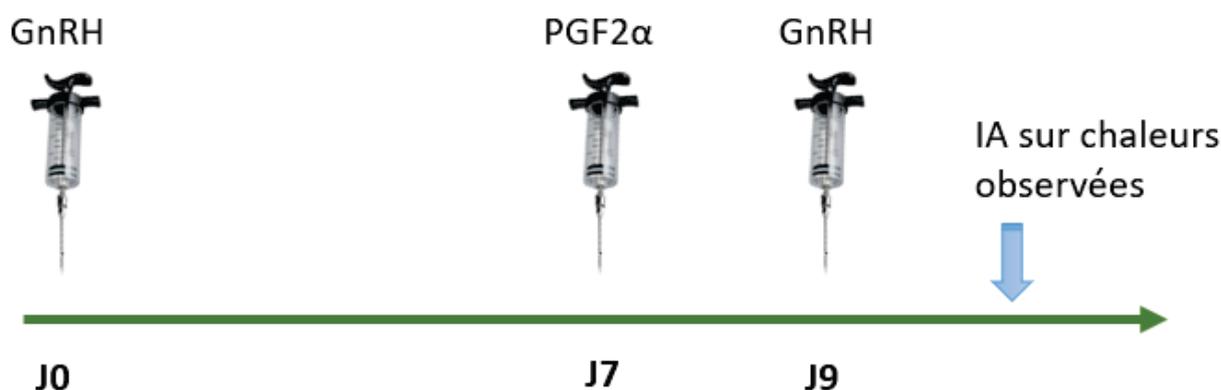


Figure 26 : Schéma du protocole GPG « SelectSynch » chez la vache (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2α : Prostaglandine 2α, j : jour

c. Protocole GnRH-P4-PGF2α-GnRH

Ce protocole correspond à un protocole GPG (présenté ci-dessus) associé à l'utilisation de progestérone. Ce protocole permet une insémination à l'aveugle 16h après la dernière injection mais il est plus coûteux. Il réduit cependant la variabilité du moment de l'ovulation et permet de traiter la plupart des troubles de la reproduction *via* la présence de progestérone (figure 27). Il est une des réponses spécifiques apportées par les laboratoires à la fin de l'utilisation de l'eCG.

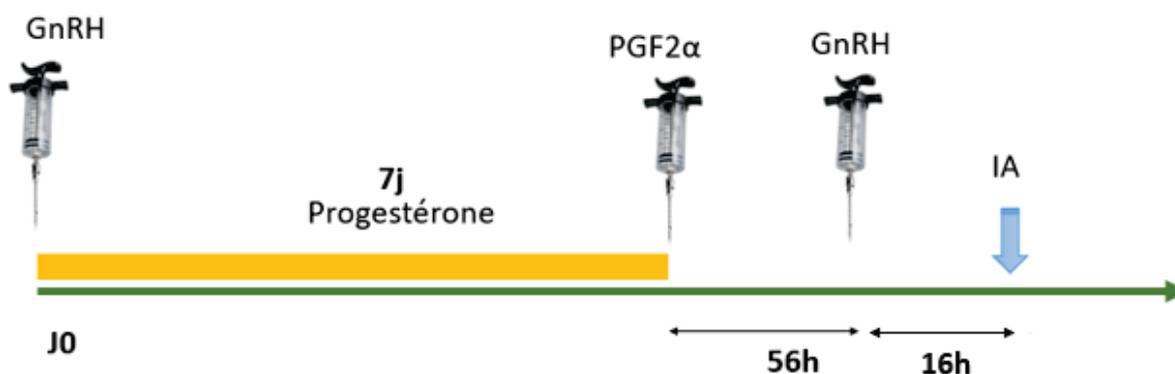


Figure 27 : Schéma du protocole de synchronisation des chaleurs par association de GnRH-P4-PGF2α-GnRH (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone, PGF2α : Prostaglandine 2α, j : jour, h : heure

Le dispositif intravaginal de progestérone mime un corps jaune et empêche donc l'ovulation liée à la GnRH endogène. Une ovulation est tout de même provoquée par l'injection de GnRH exogène. Cela permet de redémarrer une nouvelle vague folliculaire. Le corps jaune en place est ensuite lysé grâce à la PGF2 α . Le dispositif à base de P4 est également enlevé au moment de cette injection. Enfin, environ 2 jours plus tard, une injection de GnRH peut être effectuée pour provoquer l'ovulation de manière moins variable.

Des variantes de ce protocole ont été étudiées avec pose du dispositif intravaginal 5 jours au lieu de 7, et des variations dans les dates d'injection de la dernière GnRH et/ou de l'IA. Les résultats étaient similaires pour les différents protocoles (COLAZO *et al.*, 2011).

Ce protocole GPG avec progestérone permet, selon les études, d'obtenir de meilleurs résultats de fertilité chez la vache (SMALL *et al.*, 2009). Il semble y avoir un intérêt particulier chez les génisses (MARTINEZ *et al.*, 2002). En effet, le dispositif intravaginal éviterait les ovulations précoces et améliorerait globalement les taux de gestation par rapport à un protocole GPG seul chez les vaches allaitantes (STEVENSON *et al.*, 2001) et chez les vaches laitières (EL-ZARKOUNY *et al.*, 2004), cyclées ou non.

2. Chez les petits ruminants

En élevage ovin et caprin, il y a une tendance à l'allègement des traitements hormonaux classiques en les associant avec d'autres méthodes telles que l'effet mâle, c'est-à-dire l'introduction d'un mâle sexuellement actif au sein d'un troupeau de femelles n'ayant pas été au contact de d'un mâle depuis plusieurs semaines, ou l'effet de la luminosité (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Ces espèces sont en effet plus sensibles à ces éléments environnementaux que les bovins, d'où l'intérêt de mettre au point ces protocoles mixtes. Cela demande néanmoins une rigueur accrue de la part de l'éleveur.

a. Traitements photopériodiques avec mélatonine

Selon une enquête en 2019, les traitements photopériodiques avec un implant de mélatonine sont utilisés chez au moins 50% des élevages caprins laitiers adhérents au schéma de sélection Capgènes (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Ces méthodes sont utilisées dans une moindre mesure en élevage ovin mais ont démontré leur efficacité chez les deux espèces.

i. Principe général

Un traitement photopériodique revient à exposer les animaux successivement à des jours courts et longs en alternance. Les jours courts sont équivalents à 8h-12h de lumière sur 24h ce qui équivaut à la saison de reproduction. Les jours longs nécessitent 16h de lumière, ce qui ne favorisent pas la reproduction (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019).

La mélatonine peut être administrée pour donner une illusion de jours courts et donc activer la fonction de reproduction. Elle est présentée sous forme d'un implant sous-cutané libérant la substance pendant 3-4 mois (MELOVINE[®], MedVet, consulté en 2022) qui possède une AMM pour les ovins sans temps d'attente.

Chez les mâles, l'implant permet d'avancer la croissance des testicules, et l'augmentation de la production de sperme (CHEMINEAU *et al.*, 1996). L'addition de jours longs avant l'implant permet de lancer pleinement l'activité de spermiogénèse.

ii. Utilisation en saison de reproduction

Pour synchroniser les ovulations en saison d'activité sexuelle, il est possible de soumettre les femelles à 3 mois de jours longs puis 3 mois de jours courts naturels ou avec implant de mélatonine (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). On obtient deux périodes de reproduction : en démarrant le protocole en décembre, on obtient une courte activité sexuelle en mai puis la saison normale qui démarre un peu plus tard en novembre (figure 28).

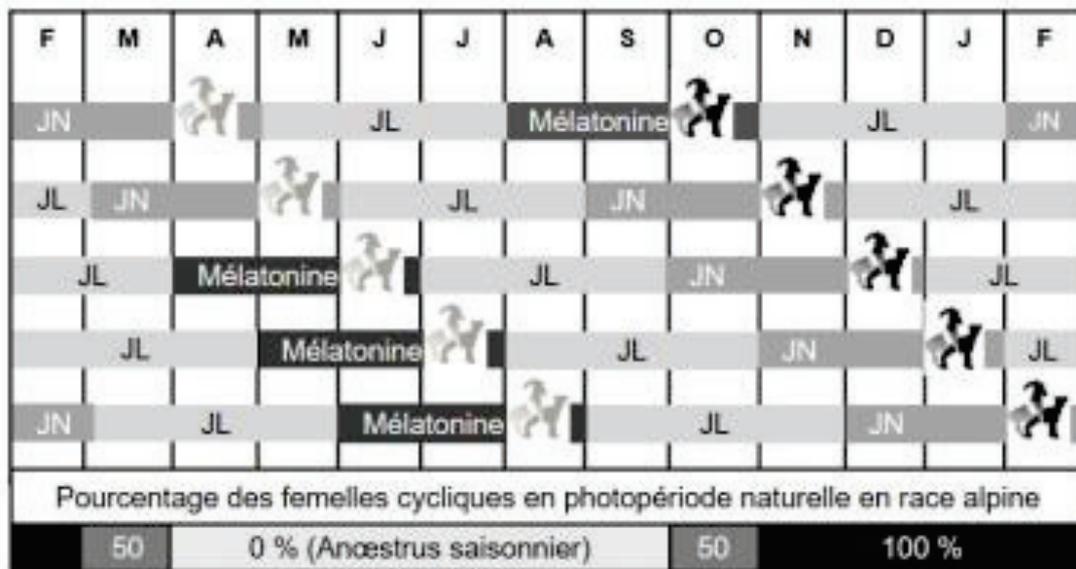


Figure 28 : Protocoles des traitements lumineux pour une reproduction en saison sexuelle normale des petits ruminants (Source : PELLICER-RUBIO et al., 2019). JL : Jours Longs ; JN : Jours Naturels

En association avec l'effet mâle, la pose d'un implant 30 à 40 jours avant l'arrivée des mâles permet d'augmenter la fertilité, d'obtenir des mises-bas plus groupées et précoces (CHEMINEAU et al., 1996).

iii. Utilisation hors saison de reproduction

En pratique, pour un élevage dont la reproduction est souhaitée au printemps, donc à contre-saison, l'exposition aux jours longs est mise en place artificiellement plutôt en hiver puis arrêtée en mars pour profiter des jours courts naturels de cette période (PELLICER-RUBIO et al., 2019).

Si l'on souhaite une mise à la reproduction plutôt en été, les jours longs sont décalés à la fin de l'hiver artificiellement puis les jours longs naturels du printemps prennent le relais. En revanche, il faut ensuite mimer les jours courts avec un traitement sous forme d'implant de mélatonine (figure 29). Cela permet de s'affranchir des contraintes d'élevage pour créer un environnement à jours courts.

Nov.	Déc.	Jan.	Fév.	Mars	Avril	Mai	Juin	Juil.	Août	Sep.	Oct.
	JL Artificiels		JN								
	JL Artificiels			JN							
		JL Artificiels			Mélatonine						
			JL Artificiels			Mélatonine					
				JL Artificiels ou JN			Mélatonine				
					JL Artificiels ou JN			Mélatonine			
Pourcentage des femelles cycliques en photopériode naturelle en race alpine											
	100 %			50 %	0 % (ancestrus saisonnier)						50 %

Figure 29 : Protocoles des traitements lumineux pour une reproduction hors saison sexuelle chez les petits ruminants (Source : PELLICER-RUBIO et al., 2019). JL : Jours Longs ; JN : Jours Naturels

Ces méthodes sont généralement aussi complémentées avec l'introduction d'un mâle sexuellement actif au moment souhaité de reproduction pour stimuler les ovulations. Il y a donc nécessité de soumettre les boucs et béliers à un traitement lumineux. Chez les chèvres ainsi que les boucs, 2 mois de jours longs suivis d'un implant de mélatonine 35 à 70 jours avant la mise en commun des mâles et femelles a permis d'obtenir une fertilité proche de 80%.

b. Protocole PGF2 α -PGF2 α

A l'image de ce qui est réalisé chez la vache, il est possible de synchroniser les chaleurs des petits ruminants grâce à des injections de PGF2 α réalisées sur des animaux cyclés. Les deux injections de PGF2 α sont réalisées à 9 jours d'intervalle chez les brebis contre 10 jours chez les chèvres (figure 30). La venue en chaleurs est observée en général dans les 36h et 48h après la 2ème injection. Il est recommandé d'inséminer 60h après la 2ème injection de PGF2 α chez les chèvres d'après l'étude de FATET (2018) pour un protocole à 9j.

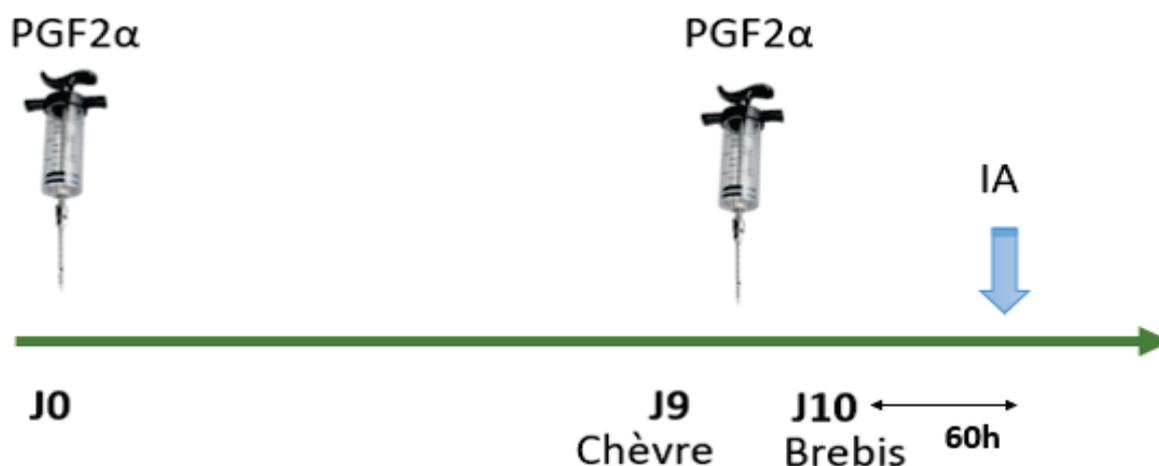


Figure 30 : Schéma de synchronisation des chaleurs chez la chèvre et la brebis utilisant deux injections de prostaglandine (Source : COUDURIER A.). IA : Insémination Artificielle, PGF2 α : Prostaglandine 2 α , j : jour, h : heure

Ce protocole présente l'avantage d'être moins technique et coûteux que le traitement lumineux ou l'effet mâle et il permet de s'affranchir des gonadotropines. En revanche, cela ne s'applique pas dans le cadre du désaisonnement car les animaux doivent être cyclés.

c. Autres traitements hormonaux

De même que chez les bovins, l'hCG pourrait également être intéressante chez les petits ruminants pour son activité LH surtout chez la brebis donnant des résultats à l'ovulation équivalents à la GnRH (DE RENSIS *et al.*, 2010 ; ASLAN *et al.*, 2011). L'avantage principal réside dans son procédé d'extraction à partir d'urine humaine (considéré comme potentiellement plus éthique que le mode de production de l'eCG).

Dans un cadre plus élargi, les effets de l'hMG (gonadotropine ménopausique humaine) et de la FSH porcine ont été testés sur la superovulation des chèvres pour comparer les effets avec l'eCG (RIESENBERG *et al.*, 2001). Il en a été conclu qu'une seule injection de ces substances a suffi à provoquer une réponse superovulatoire, il n'est donc pas exclu de pouvoir les utiliser pour provoquer l'ovulation simple.

Le cas de la bCG (gonadotropine chorionique bovine) a également été étudié. Une activité lutéotrope a été détectée par un test de radiorécepteur mais pour le moment aucune application concrète n'a été démontrée (AILENBERG *et al.*, 1983).

Une association d'un traitement hormonal comprenant prostaglandine et progestérone associé à l'effet mâle ou d'un traitement associant progestérone et effet mâle seulement a été étudiée par PELLICER-RUBIO (2019). Les résultats ont été supérieurs à un traitement avec l'eCG ou l'effet mâle seul, chez les ovins et les caprins, sans détection des chaleurs. Cela ouvre la possibilité à un allègement des programmes hormonaux de reproduction conformément aux enjeux actuels.

L'association d'un traitement lumineux (3 mois de jours longs) et d'un dispositif de progestérone posé 11 jours est également possible (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2008). Les femelles sont ensuite exposées durant 5 jours aux boucs, 49 à 63 jours après le traitement lumineux. Une ou deux IA à 52h, 75h ou 52 et 75h sont pratiquées avec des taux de fertilité supérieurs à 90%.

B. Recherches et perspectives pour l'utilisation d'autres molécules artificielles

1. Problématiques concernant la synthèse d'eCG artificielle

La synthèse d'eCG se heurte à des difficultés pour obtenir une molécule active *in vivo* du fait de sa forte concentration en acides sialiques qui lui confèrent ses propriétés et qui est difficile à reproduire. Plusieurs expérimentations ont tenté de produire de l'eCG de synthèse mais si ces nouvelles molécules possèdent une activité *in vitro*, elles ne sont pas biologiquement actives sur du vivant (GALET, 2000 ; LEGARDINIER, 2004).

Les études de MIN (2020) ont réussi à synthétiser une protéine recombinante, la re-eCG, qui a eu une activité *in vivo* chez la souris, avec un nombre d'ovulation cependant réduit mais des ovocytes présentant une activité fonctionnelle supérieure à celle obtenue avec l'eCG d'origine (MIN *et al.*, 2020). De même, VILLARRAZA *et al.* (2021) ont également reproduit une eCG recombinante active *in vivo* à moindre dose chez les bovins (VILLARRAZA *et al.*, 2021).

2. Nouvelles molécules à l'étude

a. La kisspeptine, une solution de substitution potentielle

L'étude des mécanismes régulateurs de la sécrétion pulsatile de GnRH ont mis en évidence un complexe bien particulier : le complexe Kiss1/GPR54. Le gène Kiss1, suppresseur

de métastase, code pour un peptide de 145 acides aminés qui va être fractionné en petits peptides de 10 à 54 acides aminés, appelés kisspeptines. Ces molécules ont le pouvoir de se lier au récepteur GPR54 en système homologue (récepteur appartenant à l'espèce d'origine de la kisspeptine) ou hétérologue (au sein d'une espèce différente de celle d'origine de la kisspeptine) (CARATY *et al.*, 2007). Ce récepteur est exprimé dans les neurones à GnRH et leur liaison au ligand provoque une hausse de l'activité électrique du neurone (CARATY *et al.*, 2012). La kisspeptine, elle, est sécrétée par les neurones du noyau arqué et dans l'aire pré-optique chez la brebis. Ces derniers comprennent plus de neurones exprimant la kisspeptine chez les femelles que chez les mâles. Chacune des deux populations de neurones exprimant la kisspeptine expriment également un récepteur aux œstrogènes, le récepteur α . De cette manière les neurones de la zone pré-optique transmettent le rétrocontrôle positif des œstrogènes. Les études de SMITH *et al.* (2007) ont montré que l'expression de l'ARNm (acide ribonucléique messenger) du gène Kiss-1 subit une régulation positive entre la fin de l'anœstrus et le début de la période de reproduction, elle pourrait donc avoir un rôle dans la transition vers la saison sexuelle.

Actuellement, l'effet d'une injection de kisspeptine sur la réponse du système reproducteur, notamment la libération de gonadotropines, a été examiné dans les études de MESSAGER *et al.* (2005). Il a été observé un effet important sur la libération et la persistance de la GnRH chez le mouton, effet qui diminuait ensuite par effet du rétrocontrôle négatif de la GnRH sur sa propre production par l'hypothalamus (CARATY *et al.*, 2007). De même, la concentration de LH a augmenté mais sans persistance à la suite de l'administration de kisspeptine. Quant à la FSH, elle augmente également, à moins forte intensité que la LH mais plus longtemps. D'autres études similaires ont démontré les mêmes effets chez les bovins (KADOKAWA *et al.*, 2008) et les caprins (SAITO *et al.*, 2010)

L'intérêt de de kisspeptine a été démontré lors d'essais avec une administration soutenue de kisspeptine qui avait pour fonction de stimuler l'axe hypothalamo-hypophysaire de manière prolongée pour soutenir les taux de LH jusqu'à atteindre le pic voulu pour provoquer l'ovulation. En effet, nous avons vu qu'une injection ponctuelle de kisspeptine ne permettait qu'une augmentation insuffisante de la GnRH, de la FSH et de la LH pour mener le processus jusqu'à l'ovulation. Le but était donc de stimuler plus longtemps la fréquence des pulses de GnRH pour que les différentes phases puissent avoir lieu. Il a été noté que les concentrations en LH et FSH étaient prolongées, donnant lieu à un pic de LH, puis une diminution des pulses de ces hormones était observée. Le taux d'ovulation associé s'élevait à 80% des brebis acycliques (CARATY *et al.*, 2007) ce qui signifie que les taux ont été suffisants pour permettre la croissance du follicule dominant et que le pic de LH a été efficace pour provoquer l'ovulation dans une grande majorité des cas. La dose avait aussi son importance car une trop forte dose entraînait également une chute des taux de gonadotropines après 24h du fait d'une désensibilisation du récepteur GPR54 (SEMINARA *et al.*, 2006).

Chez les brebis en saison de reproduction, la perfusion de kisspeptine seule a permis une synchronisation des animaux avec un pic de LH avancé qui apparaît environ 30h après le

début de la perfusion. Une potentielle utilisation de la kisspeptine se ferait donc sous forme d'implants à libération progressive. Après un traitement à la progestérone chez des brebis cycliques, une perfusion IV à 480 nmol/h durant 8h a permis un pic de LH en 2h après le début de l'administration avec moins de variabilité (CARATY *et al.*, 2007). De même pour les femelles prépubères, notamment les génisses et les agnelles, l'administration d'une perfusion de kisspeptine a permis d'avancer les premières chaleurs par imitation du système neuroendocrinien en période prépubère (respectivement EZZAT *et al.*, 2009 ; REDMOND *et al.*, 2011).

L'intégration de la kisspeptine à un protocole associant prostaglandine et progestérone pendant 14 jours (perfusion de ce peptide 30h après le retrait du dispositif de progestérone) a également donné des résultats en faveur d'une synchronisation des cycles. Un pic précoce de LH a été observé dans les 2h chez les brebis cyclées (CARATY *et al.*, 2012). Chez les brebis en anœstrus, le relargage des gonadotropines a été observé dans les 4h puis un pic de LH a été observé 22h après le début de l'administration de kisspeptine-10 (SEBERT *et al.*, 2010). Ceci s'accompagnait d'une plus forte production d'œstradiol qui provoquait un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadotrope avec une durée minimale de 12h de perfusion.

En pratique, les études cherchent à développer des kisspeptines synthétiques à dose moindre et demi-vie plus longue car la molécule endogène n'est pas utilisable telle quelle. Ces formes synthétiques seraient utilisées en formulation à libération prolongée comme un implant (OKAMURA *et al.*, 2013 ; CARATY *et al.*, 2012). Notamment, l'INRA a basé ses recherches sur les analogues de la kisspeptine de synthèse C6, dont certains se sont révélés efficaces pour l'augmentation de la concentration de LH et FSH à la suite d'une injection, ce qui a pour effet de provoquer une ovulation même hors saison de reproduction (BARDE, 2019 ; SALZANO *et al.*, 2022 ; DECOURT *et al.*, 2019). La comparaison avec un traitement classique à l'eCG a montré des taux plus faibles de gestation pour les essais avec la kisspeptine C6 (45% contre 64% pour l'eCG d'après DECOURT *et al.*, 2019) en race caprine Alpine. Les essais sont donc plutôt favorables à poursuivre les recherches mais l'objectif de remplacement de l'eCG n'est pas encore atteint.

b. Autres molécules à l'essai pour pallier les problématiques liées aux gonadotropines

Une nouvelle gonadotropine, le Trimère BBA, a été évaluée sur sa capacité à avoir une activité similaire à l'eCG (BARRETEAU, 2004). Les effets constatés ont été satisfaisants, *in vitro* et *in vivo*, avec des réponses ovariennes similaires à l'eCG chez la cochette, chez la brebis en anœstrus, et des possibilités de superovulation chez la génisse. Sa demi-vie a été évaluée à 3 jours chez le porc et 5 jours chez le mouton, ce qui est long et peut de provoquer des inconvénients semblables à l'eCG.

La phytothérapie pourrait également être une piste pour trouver des sources d'hormones en s'affranchissant des interdictions en élevage biologique par exemple. En effet, certaines plantes contiennent des phytohormones d'intérêt telles que la mélatonine (DUBBELS *et al.*, 1995), les phyto-œstrogènes et les phyto-progestagènes (BRICE *et al.*, 2002).

C. Méthodes de substitution sans hormone

1. Effet mâle

Cette technique est particulièrement utilisée chez les ovins et les caprins pour synchroniser les chaleurs des femelles, y compris hors saison de reproduction. Elle présente aussi un intérêt pour provoquer la maturité sexuelle des jeunes. En 2019, 30% du cheptel caprin biologique et 60% du cheptel caprin conventionnel utilisait l'effet mâle (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Chez les ovins, les proportions d'utilisation sont importantes en laitier et concernaient dans une étude 68% des élevages interrogés, 28% en filière bio contre 35% en élevage conventionnel (LURETTE *et al.*, 2016).

a. Principe général

Cette technique repose sur le fait qu'un mâle sexuellement opérationnel émet des signaux olfactifs capables d'être captés chez les femelles réceptives, ce qui peut provoquer des chaleurs chez celles qui y sont exposées. Les femelles doivent avoir eu une période de repos sexuel pour être synchronisées par l'arrivée du mâle, sinon l'effet n'est pas suffisant (PARIS *et al.*, 2006).

Le mécanisme met en jeu l'axe hypothalamo-hypophysaire. Les premières zones activées par les signaux issus du mâle sont l'aire pré-optique et le noyau arqué hypothalamique du système nerveux central (FABRE-NYS *et al.*, 2015 ; BEDOS *et al.*, 2016). Il y a alors une diminution du rétrocontrôle négatif des hormones stéroïdes induisant l'état d'anœstrus sous l'effet des phéromones. Cette levée permet d'augmenter la quantité d'œstradiol et la fréquence des pulses de LH et donc un rétablissement de l'œstrus. L'effet est potentialisé par d'autres expériences antérieures et la réponse est ainsi moins importante chez les primipares (FABRE-NYS *et al.*, 2015). Les pulses de GnRH, donc de LH et d'œstradiol, sont accélérés en quelques heures par l'intermédiaire des neurones à kisspeptine (DE BOND *et al.*, 2013). Il s'ensuit la maturation des follicules et l'obtention d'un pic pré-ovulatoire de FSH et de LH à la suite de l'augmentation de l'œstradiol en 8 à 56h. Chez les ovins, le niveau d'œstradiol peut être fluctuant ou stable jusqu'au pic. D'autres phénomènes pour l'instant

inconnus sont mis en cause car il est possible d'observer chez certains ovins l'apparition du pic de LH seulement 4h après exposition au mâle sans augmentation de l'estradiol (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019 ; FABRE-NYS *et al.*, 2015). Enfin, l'efficacité de la méthode dépend de la réceptivité des femelles donc de l'importance de l'état d'œstrus, du nombre de mâles, de leur activité sexuelle et de la qualité des contacts (PARIS *et al.*, 2006).

Les avantages de l'effet mâle en élevage sont l'avancement de la saison de reproduction (au printemps), un regroupement des mises-bas pour donner les lots homogènes et une meilleure adaptation à certaines contraintes de temps comme les troupeaux effectuant la transhumance (THIMONIER *et al.*, 2000). De même, l'effet mâle est le seul moyen utilisé en agriculture biologique de synchroniser les chaleurs en respectant le cahier des charges qui exclut l'usage des hormones y compris la mélatonine. L'inconvénient est que ce groupage ne peut avoir lieu qu'en dehors de la saison de reproduction ou un peu en avance de la saison normale de reproduction.

Cette technique nécessite une bonne détection des chaleurs et plusieurs IA sont nécessaires pour avoir une IA fécondante du fait de la variabilité de la réponse des femelles (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Il est parfois utile d'avoir recours à des dispositifs comme des tabliers marqueurs (portés par les mâles) ou des détecteurs de chaleurs. L'effet mâle est donc le plus souvent utilisé en association avec un traitement lumineux ou hormonal. En association avec la progestérone, il est alors possible de s'affranchir des inconvénients de l'usage de l'eCG. De plus, hors saison sexuelle, un traitement photopériodique est nécessaire pour stimuler l'activité sexuelle des mâles, faute de quoi il n'y a pas d'efficacité (CHEMINEAU *et al.*, 1992). Il est possible de supprimer totalement les variations liées à la saison chez le mâle en alternant un ou deux mois de jours longs puis de jours courts mais cela est surtout appliqué dans les centres d'IA du fait de la contrainte à mimer les jours courts en bâtiment ouvert.

b. Mise en application

La première ovulation, toujours silencieuse chez la brebis, intervient 2-3 jours après l'exposition aux mâles (THIMONIER *et al.*, 2000). Le corps jaune alors mis en place peut donner lieu à deux types de cycles. S'il a une durée de vie habituelle, soit 16-17 jours, le cycle sera qualifié de normal et l'ovulation accompagnée de manifestations de chaleurs aura lieu 19 jours après l'exposition au mâle. Si le corps jaune disparaît précocement le cycle sera dit court. Ce phénomène est lié à une mauvaise maturation des follicules (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Une deuxième ovulation aura alors lieu 5-6 jours après la première, sans expression des chaleurs (THIMONIER *et al.*, 2000). Les chaleurs seront exprimées lors de la troisième ovulation, soit 25 jours après l'exposition au mâle. Il y a donc une venue en chaleurs en deux vagues dans un troupeau de brebis, une vague entre 18 et 20 jours et une entre 24 et 26 jours selon la normalité des cycles (figure 31).

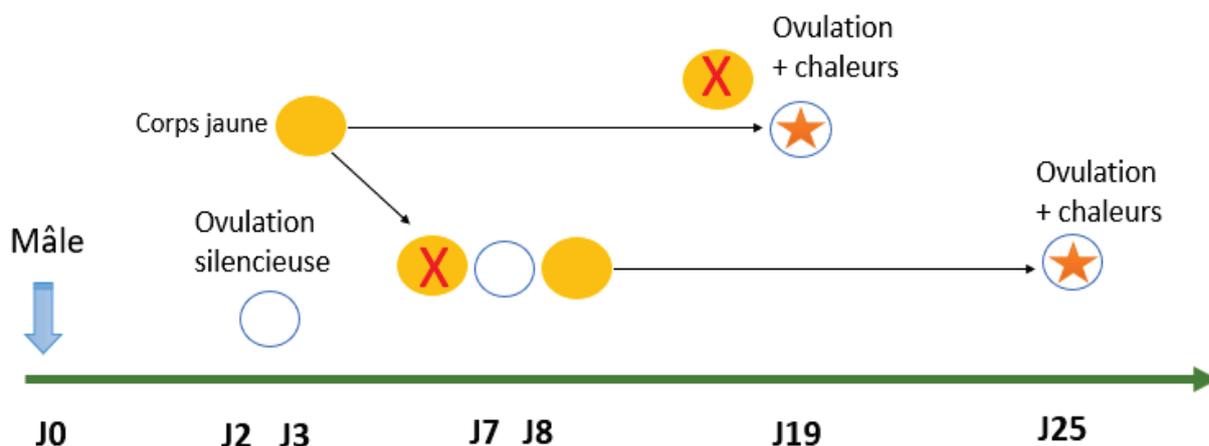


Figure 31 : Représentation chronologique de la reprise des chaleurs après effet mâle à J0 chez la brebis avec possibilité d'un cycle normal ou d'un cycle court avec des chaleurs exprimées à la 3eme ovulation (Source : COUDURIER A.). J : jour

Pour s'affranchir des cycles courts et donc éviter une apparition des chaleurs en deux lots, il est possible de réaliser un prétraitement avec de la progestérone à 20mg le jour de l'exposition ou avec un dispositif intravaginal au moins 6 jours à partir du moment de l'exposition. Cela permettrait d'obtenir de bonnes croissance et maturation des follicules et éviterait la lutéolyse précoce (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). Les chaleurs seraient alors plus regroupées.

Il est également possible de combiner effet mâle et traitement lumineux comme cela a été vu dans les parties V. A. 2. A. ii. et V. A. 2. A. iii.. Hors saison de reproduction, il faut démarrer les jours longs artificiels de début novembre à début décembre pendant 3 mois, puis réaliser 3 mois de jours normaux. Une exposition à des mâles ayant reçu le même traitement donnera des ovulations groupées en avril-mai (figure 29). Le même processus démarré début juin donnera une période de reproduction en novembre correspondant à la période naturelle d'œstrus (figure 28). L'enchaînement de ces deux cycles de traitements lumineux donnera deux périodes de reproduction dans l'année et l'exposition aux mâles permettra de regrouper les ovulations.

Enfin, nous pouvons remarquer que des traitements lumineux ont aussi été évalués chez la vache, espèce non saisonnée. Ainsi, une exposition à un taureau a permis d'avancer l'âge de la puberté de génisses de boucherie (ROBERSON *et al.*, 1991). Il n'y a cependant pas de réponse satisfaisante sur la synchronisation des ovulations, le recours à l'effet mâle n'est donc pas d'actualité dans cette espèce (PARIS *et al.*, 2006).

2. Effet luminosité

Bien que les traitements lumineux soient souvent associés à l'ajout de mélatonine pour mimer les jours courts, selon la période de l'année, il est possible de ne pas y avoir recours pour synchroniser les chaleurs des petits ruminants. En effet, en hiver, instaurer artificiellement des jours longs durant 3 mois et les enchaîner avec des jours courts naturels permet de retarder la saison d'activité sexuelle l'année suivante (AHMADPOUR *et al.*, 2018). Si le processus est démarré début décembre, on observe potentiellement une activité sexuelle de courte durée au printemps en plus de l'activité saisonnière en automne qui se trouvera décalée d'une vingtaine de jours plus tard, donc fin novembre au lieu de début novembre. Une utilisation combinée de l'effet mâle début novembre, donc une vingtaine de jours avant cette deuxième période d'activité sexuelle, occasionne plus d'efficacité car la présence du mâle va favoriser une venue synchrone des femelles en chaleur comme décrit précédemment.

Pour créer des jours longs efficacement en bâtiment, il est nécessaire d'installer des néons ou lampes fluorescentes d'au moins 200 lux au niveau des animaux (CHANVALLON, 2012). En éclairage continu, le crépuscule doit correspondre au crépuscule naturel et donc l'aube sera placée artificiellement en avance. La méthode des flashes, au contraire, fixe une aube artificielle puis un éclairage flash de 2h pendant la nuit situé 16h après l'aube fixée. Il y a donc une période de nuit de 2h avant le flash. Cela permet de mieux utiliser la lumière naturelle et d'économiser l'éclairage artificiel. Cette dernière méthode est plus technique que la première.

En revanche, pour une reproduction en dehors du mois de novembre, les jours courts doivent être simulés par un implant de mélatonine (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019) ou il doit y avoir une réorganisation en plusieurs bâtiments pour une mise en lots (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2009) si le but est d'avoir deux périodes de reproduction, une en novembre et une en mai.

Pour une mise à la reproduction en été, les animaux peuvent être soumis à 6 mois de jours longs à partir de l'hiver puis à 6 mois sans traitement (PELLICER-RUBIO *et al.*, 2019). En complément d'un effet bouc fin juillet, les résultats sont équivalents aux traitements avec mélatonine. Il faut cependant tenir compte d'un état réfractaire aux jours longs lors d'une exposition prolongée (AHMADPOUR *et al.*, 2018). En effet, les ovins exposés pendant plus de 150 jours et les caprins exposés pendant plus de 210 jours longs peuvent subir une activation indésirée de la reproduction.

Plusieurs traitements photopériodiques ont donc été testés, parfois dans les limites de ce qu'il est possible de faire avec ces phénomènes physiologiques. En exposant les animaux à des jours longs puis à une période de luminosité continue, l'activité sexuelle est stimulée même hors saison (CHESNEAU *et al.*, 2017). Cependant, cette méthode peut être rejetée pour les effets néfastes sur l'activité biologique des animaux, en accord avec la Directive Communautaire 98/58/CE de protection des animaux d'élevage qui interdit l'éclairage continu. Les objectifs éthiques qui accompagnent généralement ces démarches de maîtrise

de la reproduction sans hormone ne seraient alors pas cohérents. Les essais pour utiliser les jours longs du printemps comme jours « courts » en rallongeant la durée des jours longs artificiels n'ont également pas été concluants.

La limite principale à l'exclusion de la mélatonine est donc l'obtention des jours courts, qui serait possible dans un bâtiment étanche, comme dans certains centres d'insémination (PARIS *et al.*, 2006). Cependant, plusieurs points limitants font du traitement photopériodique une méthode technique avec des erreurs récurrentes. Les « fautes » de luminosité liées au temps de travail (traite, mise bas, frontal, lampadaires) sont fréquentes, des jours longs de plus de 16h et des périodes trop longues ou courtes peuvent empêcher l'efficacité du programme, de même que l'encrassement des néons (mesuré avec un luxmètre) ou une transition progressive peuvent interférer.

Une méthode de synchronisation des chaleurs sans hormone serait donc une combinaison de l'effet mâle et d'un traitement lumineux sans mélatonine (figure 32). Cela serait possible par une initiation du traitement lumineux en hiver, puis une introduction des mâles 35 jours chez la brebis et 50 jours chez la chèvre après le passage aux jours courts (PARIS *et al.*, 2006 ; PELLICER-RUBIO *et al.*, 2009).

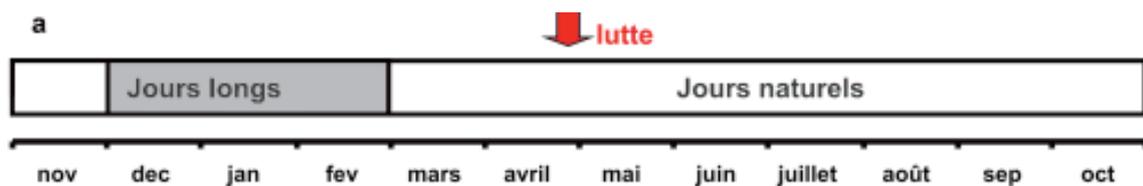


Figure 32 : Protocole d'un traitement photopériodique sans mélatonine associé à un effet mâle (flèche rouge) chez les petits ruminants (D'après PELLICER-RUBIO *et al.*, 2009).

La combinaison des deux permet de potentialiser leurs effets notamment chez les races saisonnées hors période d'œstrus. L'effet luminosité a pour intérêt de provoquer une ovulation à contre saison et de préparer également les mâles. L'effet mâle permet alors de grouper les ovulations. Il y a donc une possibilité de réaliser une synchronisation des chaleurs chez les petits ruminants sans hormone, bien que la technique nécessite de l'investissement et de la technique de la part de l'éleveur.

Conclusion

La maîtrise de la reproduction des ruminants est au cœur des enjeux économiques pour l'éleveur dans un contexte où la production doit être constante sur l'année, avec des périodes improductives minimales dans un fond de baisse générale de la fertilité.

L'eCG a ainsi fait sa place dans le monde de la reproduction animale du fait de ses capacités uniques en termes d'induction des ovulations qui sont conférées par sa structure riche en acides sialiques. Elle apporte un grand avantage sur la résolution des troubles de la fertilité conduisant à un anœstrus, ce qui la rend difficile à remplacer par d'autres hormones et méthodes.

La dynamique actuelle menée par de nouvelles préoccupations du grand public quant à la qualité des aliments d'origine animale et le contexte de réduction des polluants environnementaux vont pourtant en faveur de ce remplacement. En effet, à l'image d'autres substances supprimées du marché pour des risques sanitaires, environnementaux ou éthiques, l'eCG pourrait se retrouver retirée du marché. Les solutions pour remplacer cette hormone deviennent d'autant plus importantes que la situation sanitaire et politique de certaines régions du monde conduit actuellement à des ruptures de stock en France.

C'est ainsi que les études se sont tournées vers des méthodes sans eCG. Il y a un intérêt particulier chez les bovins à utiliser d'autres protocoles hormonaux du type PGF2 α - PGF2 α , GPG, GPG + progestérone, qui ont déjà fait leurs preuves. Chez les petits ruminants, en revanche, une possibilité est ouverte du côté de méthodes sans hormones peu efficaces chez la vache. L'usage combiné d'un effet mâle avec un effet luminosité, avec ou sans mélatonine, possiblement complétementée avec de la progestérone a également fourni de bons résultats pour la synchronisation des chaleurs mais reste difficile à mettre en place.

Il n'y a donc pas de solution concrète sans hormone chez les bovins et les techniques proposées chez les ovins et les caprins demandent de la rigueur à l'éleveur, ce qui occasionne des fautes. La recherche sur la kisspeptine peut donc être une solution chez ces espèces, voire la seule solution rentable chez les petits ruminants, les premiers essais étant encourageants. Il faudra cependant du recul et des études complémentaires pour mettre en place un traitement efficace s'affranchissant des inconvénients qui poussent actuellement l'élevage à se détourner de certains produits déjà sur le marché.

Bibliographie

ABECIA, José-Alfonso, FORCADA, Fernando, ZÚÑIGA, Olga, et al. The effect of progestagen treatment on sheep reproductive performance at different phases of the oestrous cycle. *Animal Research*, 2002, vol. 51, no 2, p. 149-155. <https://doi.org/10.1051/animres:2002008>

AGGARWAL, B. B. et PAPKOFF, H. Relationship of sialic acid residues to in vitro biological and immunological activities of equine gonadotropins. *Biology of reproduction*, 1981, vol. 24, no 5, p. 1082-1087.

Agriculture biologique, Les signes de qualité et d'origine, Institut National de l'Origine et de la Qualité, (consulté en 2022), <https://www.inao.gouv.fr/Les-signes-officiels-de-la-qualite-et-de-l-origine-SIQO/Agriculture-Biologique>

AHMADPOUR, Delnia, LAINÉ, Anne-Lyse, FRERET, Sandrine, et al. Les traitements lumineux basés sur des jours « très longs » sont-ils une alternative à l'utilisation de mélatonine chez la chèvre?. In : 24 Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. 2018. <https://hal.inrae.fr/hal-03128652>

AHMADPOUR, Delnia, LAINÉ, Anne-Lyse, FRERET, Sandrine, et al. Nouveau traitement photopériodique pour synchroniser les ovulations par effet mâle en saison sexuelle sans utilisation d'hormones. In : 24 Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants. 2018. <https://hal.inrae.fr/hal-03128642>

AHMED, Ahmed Ezzat, SAITO, Hayato, SAWADA, Tatsuru, et al. Characteristics of the stimulatory effect of kisspeptin-10 on the secretion of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and growth hormone in prepubertal male and female cattle. *Journal of Reproduction and Development*, 2009, p. 0909170203-0909170203. <https://doi.org/10.1262/jrd.20255>

AILENBERG, M. et SHEMESH, M. Partial purification of a chorionic gonadotropin-like protein from bovine cotyledons. *Biology of reproduction*, 1983, vol. 28, no 3, p. 517-522. <https://doi.org/10.1095/biolreprod28.3.517>

ALLEN, W. R. EQUINE ENDOMETRIAL CUP REACTION. *Immunobiology of Trophoblast*, 1975, vol. 1, p. 217.

ALLEN, W. R., SKIDMORE, J. A., STEWART, F., et al. Effects of fetal genotype and uterine environment on placental development in equids. *Reproduction*, 1993, vol. 98, no 1, p. 55-60. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0980055>

AMATORE, Christian, BACH, Jean-François, BACCELLI, François, et al. Hormones, santé publique et environnement. In : Hormones, santé publique et environnement. EDP sciences, 2021. <https://doi.org/10.1051/978-2-86883-895-7>

APPARAILLY, Florence et COMBARNOUS, Yves. Role of sialic acid residues in the in vitro superactivity of human choriogonadotropin (hCG) in rat Leydig cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1994, vol. 1224, no 3, p. 559-565. [https://doi.org/10.1016/0167-4889\(94\)90294-1](https://doi.org/10.1016/0167-4889(94)90294-1)

Article D234-6 du code rural (en vigueur depuis le 10 août 2017), Légifrance https://www.legifrance.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000035416471/2022-04-26

ASLAN, Selim, ARSLANBAS, D., BEINDORFF, N., et al. Effects of induction of ovulation with GnRH or hCG on follicular and luteal blood flow in Holstein–Friesian heifers. *Reproduction in domestic animals*, 2011, vol. 46, no 5, p. 781-786. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01741.x>

BALASSE, Marie, KELLER, Matthieu, BALASESCU, A., et al. Cycle de reproduction des ovins et rythme saisonnier de l'élevage: un schéma plurimillénaire bouleversé par la recherche agronomique. *Archives contemporaines*. 2017, p. 27-36.

BALL, Peter JH et PETERS, Andy R. *Reproduction in cattle*. 3rd edition. John Wiley & Sons, 2008.

BARDE C., Une nouvelle alternative pour la gestion de la reproduction des petits ruminants? Avril 2019, *Le Point Vétérinaire*, (<https://www.lepointveterinaire.fr/actualites/actualites-professionnelles/une-nouvelle-alternative-pour-la-gestion-de-la-reproduction-des-petits-ruminants.html>)

BARIL, Gérard, LEBOEUF, B., et SAUMANDE, Jean. Synchronization of estrus in goats: the relationship between time of occurrence of estrus and fertility following artificial insemination. *Theriogenology*, 1993, vol. 40, no 3, p. 621-628. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(93\)90414-Z](https://doi.org/10.1016/0093-691X(93)90414-Z)

BARRETEAU, Sophie. Développement d'une nouvelle gonadotropine pour le contrôle de la fertilité chez les porcins, ovins et bovins. 2004. Thèse de doctorat. Tours. <https://www.theses.fr/2004TOUR4059>

BARRETT, D. M. W., BARTLEWSKI, P. M., BATISTA-ARTEAGA, M., et al. Ultrasound and endocrine evaluation of the ovarian response to a single dose of 500 IU of eCG following a 12-day treatment with progestogen-releasing intravaginal sponges in the breeding and nonbreeding seasons in ewes. *Theriogenology*, 2004, vol. 61, no 2-3, p. 311-327. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00215-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00215-2)

BECKERS, J. F., RÉMY, Brigitte, FIGUEIREDO, J. R., et al. Anti-eCG antibodies are transmitted via the colostrum in goats. *Theriogenology*, 1995, vol. 1, no 43, p. 165. <https://hal.inrae.fr/hal-02849006>

BEDOS, Marie, PORTILLO, Wendy, DUBOIS, Jean-Philippe, et al. A high level of male sexual activity is necessary for the activation of the medial preoptic area and the arcuate nucleus during the 'male effect' in anestrus goats. *Physiology & behavior*, 2016, vol. 165, p. 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.07.018>

BELLO, Nora Maria, STEIBEL, J. P., et PURSLEY, J. R. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 2006, vol. 89, no 9, p. 3413-3424. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72378-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72378-5)

BÉRINGUE, Vincent, VILOTTE, Jean-Luc, et LAUDE, Hubert. Transmission interspèces des prions-Le tissu lymphoïde s' en mêle. *médecine/sciences*, 2012, vol. 28, no 6-7, p. 565-568. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012286002>

BISINOTTO RS, RIBEIRO ES & SANTOS JEP. Synchronisation of ovulation for management of reproduction in dairy cows. *Animal*, 8(1 Suppl), 2014 pp. 151-159. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000858>

BLEACH, Emma CL, GLENCROSS, Richard G., et KNIGHT, Philip G. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction*, 2004, vol. 127, no 5, p. 621-629. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00190>

BODIN, L., DRION, P. V., REMY, Benoit, et al. Anti-PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reproduction Nutrition Development*, 1997, vol. 37, no 6, p. 651-660. <https://hal.inrae.fr/hal-02698439>

BRICE, G., LEOEUF, B., et BROQUA, C. Reproductive disorders in goats. False pregnancy in dairy goats. *Point Vétérinaire (France)*, 2003.

BRICE, G., LEOEUF, B., et PERRET, G. Reproduction ovine et caprine sans hormones: utopie ou perspective réaliste. *Renc. Rech. Ruminants*, 2002, vol. 9, p. 135-141. <https://hal.inrae.fr/hal-02760207>

BRICE, Gérard, LEOEUF, Bernard, et BROQUA, Claude. La pseudogestation chez la chèvre laitière. *Le Point Veterinaire*, 2003, no 237, p. 50-52. <https://hal.inrae.fr/hal-02672725>

BRIDGES, G. A., HELSER, L. A., GRUM, D. E., et al. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening prœstrus increases timed-AI pregnancy rates in beef

cows. *Theriogenology*, 2008, vol. 69, no 7, p. 843-851.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.12.011>

BROWN, Francis F., PARSONS, Thomas F., SIGMAN, D. S., et al. Proton nuclear magnetic resonance studies on bovine lutropin, its subunits, and on the alpha subunit of pregnant mare serum gonadotropin. Assignment of histidine resonances in the alpha subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 1979, vol. 254, no 11, p. 4335-4338. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)30010-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)30010-8)

BRUYAS J-F., FIENI F., TAINTURIER D., Repeat-breeding : Un signal d'alerte pour l'éleveur, un casse-tête pour le clinicien, Journées nationales des GTV Tours, Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires. 27 au 29 mai 1998. 79-91

BRYAN, M. A., BÓ, G., MAPLETOFT, R. J., et al. The use of equine chorionic gonadotropin in the treatment of anestrus dairy cows in gonadotropin-releasing hormone/progesterone protocols of 6 or 7 days. *Journal of dairy science*, 2013, vol. 96, no 1, p. 122-131. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5452>

BUFF S., Les biotechniques de la reproduction animale, 2019, VetAgro Sup

CARATY, Alain, DECOURT, Caroline, BRIANT, Christine, et al. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals. *Domestic animal endocrinology*, 2012, vol. 43, no 2, p. 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2012.03.002>

CARATY, Alain, DECOURT, Caroline, BRIANT, Christine, et al. Kisspeptins and the reproductive axis: potential applications to manage reproduction in farm animals. *Domestic animal endocrinology*, 2012, vol. 43, no 2, p. 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2012.03.002>

CARATY, Alain, SMITH, Jeremy Troy, LOMET, Didier, et al. Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology*, 2007, vol. 148, no 11, p. 5258-5267. <https://doi.org/10.1210/en.2007-0554>

Catalogue Centravet 2020/2021

CHANVALLON A., Les traitements photopériodiques et la reproduction caprine, 2012, Idele. <https://idele.fr/detail-article/les-traitements-photoperiodiques-et-la-reproduction-caprine>

CHASTANT-MAILLARD, S. (2005) Actualités sur le cycle de la vache. Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie. Le Point Vétérinaire. 36: Numéro spécial reproduction des ruminants, pp. 10-15.

CHEMINEAU, Philippe et HEYMAN, Yvan. Maîtrise de la reproduction des mammifères d'élevage. Productions animales, 1996, p. 5-15. <https://hal.inrae.fr/hal-02697985>

CHEMINEAU, Philippe, BARIL, Gérard, LEOEUF, Bernard, et al. Implications des progrès récents en physiologie de la reproduction pour la conduite de la reproduction dans l'espèce caprine. Productions animales, 1999, vol. 12, no 2, p. 135-146. <https://hal.inrae.fr/hal-02694092>

CHEMINEAU, Philippe, MALPAUX, Benoit, GUÉRIN, Yves, et al. Lumière et mélatonine pour la maîtrise de la reproduction des ovins et des caprins. In : Annales de zootechnie. 1992. p. 247-261. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00888837>

CHEMINEAU, Philippe, MALPAUX, Benoit, PELLETIER, Julien, et al. Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. Productions Animales, 1996, vol. 9, no 1, p. 45-60. <https://hal.inrae.fr/hal-02694084>

CHESNEAU, Didier, GUILLAUME, Daniel, CHEMINEAU, Philippe, et al. Continuous light after 2 months of long days stimulates ram testis volume and increases fertility in spring. animal, 2017, vol. 11, no 7, p. 1189-1195. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002299>

Chiffres clé du GEB – Bovin, Ovin et Caprin 2021 Idele. <https://idele.fr/detail-dossier/retrouvez-les-chiffres-cles-des-filieres-bovine-ovine-et-caprine-2021> [Consulté en 2020]

CHOPINEAU, Maryse et COUNIS, Raymond. Les gonadotropines: structure, fonctions, mécanismes d'action. La reproduction chez les mammifères et l'homme, 2001, p. 108.

CHRISTAKOS, Sylvia et BAHL, Om P. Pregnant mare serum gonadotropin. Purification and physicochemical, biological, and immunological characterization. Journal of Biological Chemistry, 1979, vol. 254, no 10, p. 4253-4261.7

COLAZO, M. G. et AMBROSE, D. J. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. Theriogenology, 2011, vol. 76, no 3, p. 578-588. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.03.013>

COLE, H. H., HART, G. H., LYONS, W. R., et al. The development and hormonal content of fetal horse gonads. *The Anatomical Record*, 1933, vol. 56, no 3, p. 275-293. <https://doi.org/10.1002/ar.1090560308>

COMBARNOUS, Y., GUILLOU, F., MARTINAT, N., et al. Origin of the FSH+ LH double activity of equine chorionic gonadotropin (eCG/PMSG). *Annales D'endocrinologie*. 1984. p. 261-268.

COMBARNOUS, Yves et VOLLAND-NAIL, Patricia. *Les gonadotropines*. Editions Quae, 1997. <https://hal.inrae.fr/hal-02834892>

COMBARNOUS, Yves, GALET, C., CREPIEUX, Pascale, et al. *Les gonadotropines: structure, fonctions, mécanismes d'action*. 2001. <https://hal.inrae.fr/hal-02831671>

Commission de l'agriculture et du développement rural, *Rapport sur la propriété responsable et les soins des équidés (PE 589.295v02-00 A8-0014/2017, points 43, 44)*, 2017 https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-8-2017-0014_FR.html

D'ALFORT, E. N. V. Intérêt de l'échographie des kystes ovariens. *Le Point Vétérinaire*, 2010, no 303, p. 49. https://www.researchgate.net/profile/Sylvie-Chastant/publication/287274556_Clinical_importance_of_ultrasonography_of_ovarian_cysts_in_cows/links/57c54f3508ae76231545ce4e/Clinical-importance-of-ultrasonography-of-ovarian-cysts-in-cows.pdf

DARDENTE, Hugues, HAZLERIGG, David G., et EBLING, Francis JP. Thyroid hormone and seasonal rhythmicity. *Frontiers in endocrinology*, 2014, vol. 5, p. 19. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00019>

DE BOND, Julie-Ann P., LI, Qun, MILLAR, Robert P., et al. Kisspeptin signaling is required for the luteinizing hormone response in anestrous ewes following the introduction of males. *PloS one*, 2013, vol. 8, no 2, p. e57972. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057972>

DE RENSIS, F. et LÓPEZ-GATIUS, F. Use of equine chorionic gonadotropin to control reproduction of the dairy cow: a review. *Reproduction in domestic animals*, 2014, vol. 49, no 2, p. 177-182. <https://doi.org/10.1111/rda.12268>

DE RENSIS, F., LÓPEZ-GATIUS, F., GARCÍA-ISPIERTO, I., et al. Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology*, 2010, vol. 73, no 8, p. 1001-1008. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.11.027>

DECOURT, Caroline, ROBERT, Vincent, LOMET, Didier, et al. The kisspeptin analog C6 is a possible alternative to PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) for triggering synchronized

and fertile ovulations in the Alpine goat. PLoS One, 2019, vol. 14, no 3, p. e0214424. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214424>

Des juments saignées aux quatre veines pour l'élevage français, Libération, 2017 https://www.liberation.fr/france/2017/10/05/des-juments-saignees-aux-quatre-veines-pour-l-elevage-francais_1601168/

DRIANCOURT, Marc Antoine, THATCHER, W. W., TERQUI, M., et al. Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. Domestic Animal Endocrinology, 1991, vol. 8, no 2, p. 209-221. [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(91\)90057-Q](https://doi.org/10.1016/0739-7240(91)90057-Q)

DRIANCOURT, Marc-Antoine, FRERET, Sandrine, et SAINT-DIZIER, Marie. Les cycles oestriens. 2014. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01129924>

DRION, Pierre V., DE ROOVER, Rudy, HOUTAIN, Jean-Yves, et al. Increase of plasma eCG binding rate after administration of repeated high dose of eCG to cows. Reproduction Nutrition Development, 2001, vol. 41, no 3, p. 207-215. <https://doi.org/10.1051/rnd:2001124>

DRION, Pierre, HOUTAIN, Jean-Yves, MC NAMARA, M., et al. Utilisation répétée des gonadotropines exogènes dans le contrôle de la reproduction: justifications et effets secondaires potentiels. In : Annales de Médecine Vétérinaire. ULg-Université de Liège, Liège, Belgium, 1998. <https://hdl.handle.net/2268/9326>

DRION, Pierre. Utilisation raisonnable des gonadotrophines exogènes dans le contrôle de la reproduction. Folia Veterinaria, 2005. <https://hdl.handle.net/2268/18033>

DUBBELS, R., REITER, R. J., KLENKE, E., et al. Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. Journal of pineal research, 1995, vol. 18, no 1, p. 28-31. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.1995.tb00136.x>

DUCROT, C., GRÖHN, Y. T., HUMBLLOT, P., et al. Postpartum anestrus in French beef cattle: an epidemiological study. Theriogenology, 1994, vol. 42, no 5, p. 753-764. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(94\)90443-M](https://doi.org/10.1016/0093-691X(94)90443-M)

DUQUESNEL, R., PARISOT, D., PIROT, G., et al. La pseudogestation chez la chèvre. Annales de zootechnie. 1992. p. 407-415. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00888857>

EL-ZARKOUNY, S. Z., CARTMILL, J. A., HENSLEY, B. A., et al. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and

progesterone. *Journal of Dairy Science*, 2004, vol. 87, no 4, p. 1024-1037. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73248-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73248-8)

ESTERGREEN, V. L., LIN, M. T., MARTIN, E. L., et al. Distribution of Progesterone and its Metabolites in Cattle Tissues following Administration of Progesterone-4-1 4 C. *Journal of animal science*, 1977, vol. 45, no 3, p. 642-651. <https://doi.org/10.2527/jas1977.453642x>

EU Platform on Animal Welfare. *EU Guide to Good Animal Welfare Practice for the Keeping, Care, Training and Use of Horses*; European Union: Brussels, Belgium, 2019

European Food Safety Authority (EFSA), 2010. Scientific Opinion on Risk of transmission of TSEs via semen and embryo transfer in small ruminants (sheep and goats), *EFSA Journal* 2010; 8(1):1429. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2010.1429>

FABRE-NYS, Claude, KENDRICK, Keith M., et SCARAMUZZI, Rex J. The “ram effect”: new insights into neural modulation of the gonadotropic axis by male odors and socio-sexual interactions. *Frontiers in neuroscience*, 2015, vol. 9, p. 111. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00111>

FABRE-NYS, Claude. Le comportement sexuel des caprins: contrôle hormonal et facteurs sociaux. 2000. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.1.3764>

FATET, Alice, LEBOEUF, Bernard, FRERET, Sandrine, et al. L'insémination dans les filières ovines et caprines. *Renc. Rech. Rum*, 2008, vol. 15, p. 355-358. <https://hal.inrae.fr/hal-02667431>

FATET, Alice, PELLICER-RUBIO, Maria-Teresa, et LEBOEUF, Bernard. Reproductive cycle of goats. *Animal reproduction science*, 2011, vol. 124, no 3-4, p. 211-219. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029>

FATET, Alice, SEBASTIÁN, A. López, URRUTIA-LOPEZ, B., et al. Évaluation de la fertilité des chèvres à l'insémination réalisée 60h ou 65h après une synchronisation hormonale basée sur 2 injections de prostaglandine en saison sexuelle. In : 24. *Rencontres autour des Recherches sur les Ruminants (3R)*. Institut de l'Elevage-INRA, 2018. <https://hal.inrae.fr/hal-02738358>

FERREIRA, R. M., AYRES, H., SALES, J. N. S., et al. Effect of different doses of equine chorionic gonadotropin on follicular and luteal dynamics and P/AI of high-producing Holstein cows. *Animal reproduction science*, 2013a, vol. 140, no 1-2, p. 26-33. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.04.014>

FORDE, N., BELTMAN, M. E., LONERGAN, P., et al. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal reproduction science*, 2011, vol. 124, no 3-4, p. 163-169. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.025>

FRERET, Sandrine, LE DANVIC, Chrystelle, LURETTE, Amandine, et al. Gestion de la reproduction en élevages ovins et caprins, conventionnels et biologiques: état des lieux, nouveaux outils et évaluation de leur acceptabilité (REPROBIO). *Innovations Agronomiques*, 2018, vol. 63, p. np. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01833640>

GALET, Colette. Etude des déterminants structuraux de la sécrétion, de la bioactivité et de la spécificité de la gonadotropine équine, eLH/CG, dans le but de développer de nouvelles molécules à activité gonadotrope. 2000. Thèse de doctorat. Tours.

GALET, Colette. Etude des déterminants structuraux de la sécrétion, de la bioactivité et de la spécificité de la gonadotropine équine, eLH/CG, dans le but de développer de nouvelles molécules à activité gonadotrope. 2000. Thèse de doctorat. Tours. <https://www.theses.fr/2000TOUR4026>

GARCIA-ISPIERTO, Irina et LOPEZ-GATIUS, Fernando. A three-day PGF2 α plus eCG-based fixed-time AI protocol improves fertility compared with spontaneous estrus in dairy cows with silent ovulation. *Journal of Reproduction and Development*, 2013. <https://doi.org/10.1262/jrd.2013-017>

Gonadotropine chorionique équine avec AMM bovins ovins, caprins, MED'VET. <https://www.med-vet.fr/> [Consulté en 2021]

GOULDING, D., WILLIAMS, D. H., ROCHE, J. F., et al. Superovulation in heifers using either pregnant mares serum gonadotrophin or follicle stimulating hormone during the mid luteal stage of the estrous cycle. *Theriogenology*, 1991, vol. 36, no 6, p. 949-958. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90320-D](https://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90320-D)

GRIMARD, Bénédicte, HUMBLLOT, P., PONTER, Andrew, et al. Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *Productions animales*, 2003, vol. 16, no 3, p. 211-227. <https://hal.inrae.fr/hal-02683621>

GRIMARD, Bénédicte et DISENHAUS, Catherine. Les anomalies de reprise de la cyclicité après vêlage. *Le point vétérinaire*, 2005, vol. 36, p. 16-21. https://www.researchgate.net/profile/Benedicte-Grimard/publication/279766963_Anomalies_de_reprise_de_la_cyclicite_chez_la_vache_laitiere/links/559a7d3608ae793d138196e1/Anomalies-de-reprise-de-la-cyclicite-chez-la-vache-laitiere.pdf

HAMPTON, J. H., BADER, J. F., LAMBERSON, W. R., et al. Gonadotropin requirements for dominant follicle selection in GnRH agonist-treated cows. *Reproduction*, 2004, vol. 127, no 6, p. 695-703. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00015>

HANZEN C., *Biotechnologies : L'insémination artificielle des ruminants*, 2015, Université de Liège. <https://hdl.handle.net/2268/70625>

HARINGTON, Charles Robert et ROWLANDS, Idwal Wyn. Fractionation of antithyrotropic and antigonadotropic sera. *Biochemical Journal*, 1937, vol. 31, no 11, p. 2049. <https://doi.org/10.1042/bj0312049>

HASHIZUME, T., SAITO, H., SAWADA, T., et al. Characteristics of stimulation of gonadotropin secretion by kisspeptin-10 in female goats. *Animal reproduction science*, 2010, vol. 118, no 1, p. 37-41. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.05.017>

HERVÉ, Adeline. Comparaison de deux protocoles de synchronisation des chaleurs fondés sur l'utilisation de progestérone et de prostaglandines F2alpha chez les vaches allaitantes en France. 2020. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse. <http://oatao.univ-toulouse.fr/26701>

HERVÉ, Virginie, ROY, François, BERTIN, Jean, et al. Antiequine chorionic gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. *Endocrinology*, 2004, vol. 145, no 1, p. 294-303. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0595>

HOFFERER, S., LECOMPTE, François, MAGALLON, Thierry, et al. Gonadotropines équine : purifications, spécificités, dosages immunologiques et utilisation chez la jument. In : *Annales de zootechnie*. 1992. p. 279-286. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00888840>

HOPPEN, H. O. The equine placenta and equine chorionic gonadotrophin—an overview. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 1994, vol. 102, no 03, p. 235-243. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1211287>

HOPPER R.M. (2021). *Bovine Reproduction*. 2e édition. Wiley : Ames, 1206 p.

Interdiction de l'hormone de fertilité eCG : Welfarm poursuit son combat pour mettre fin à l'exploitation des juments, Welfarm, 2021. <https://welfarm.fr/juments-fermes-sang-hormones/> [Consulté en 2021]

KADOKAWA, H., MATSUI, M., HAYASHI, K., et al. Peripheral administration of kisspeptin-10 increases plasma concentrations of GH as well as LH in prepubertal Holstein heifers. *Journal of Endocrinology*, 2008, vol. 196, no 2, p. 331. [https://doi.org/ 10.1677/JOE-07-0504](https://doi.org/10.1677/JOE-07-0504)

KERBRAT, S., DISENHAUS, C., et PORTANGUEN, J. Profils d'activité lutéale et performances de reproduction du vêlage à la première insémination. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, INRA, 2000, p. 227-230. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=1007836>

LAMB, G. C., STEVENSON, J. S., KESLER, D. J., et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F₂ α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *Journal of Animal Science*, 2001, vol. 79, no 9, p. 2253-2259. <https://doi.org/10.2527/2001.7992253x>

LEBOEUF, Bernard, BOISSARD, Karine, GUILLOUET, Philippe, et al. Alternatives à l'utilisation des hormones exogènes pour la maîtrise de la reproduction des caprins laitiers. In : 2. *Rencontres Régionales de la Recherche et du Développement*. 2010. p. np. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01278829>

LEBOEUF, Bernard, BOUÉ, Pascal, et JENOT, Frantz. Les grandes étapes du développement de l'insémination artificielle caprine en France. *Ethnozootechnie*, 2012, vol. 93, p. 75-82. https://gec.terredeschèvres.fr/IMG/pdf/historique_-ia-caprine_vf2.pdf

LEBOEUF, Bernard, MANFREDI, Eduardo, BOUE, P., et al. L'insémination artificielle et l'amélioration génétique chez la chèvre laitière en France. 1998. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1998.11.3.3936>

LEBORGNE, Marie-Christine, TANGUY, Jean-Michel, et al. *Reproduction des animaux d'élevage (édition 2013)*. Educagri Editions, 2014.

LEGARDINIER, Sébastien. *Stratégies de production en cellules d'insecte d'une glycoprotéine recombinante équine (gonadotrophine eLH/CG) et de ses sous unités portant des chaînes oligosaccharidiques mammaliennes de type complexe*. 2004. Thèse de doctorat. Tours. <https://www.theses.fr/2004TOUR4056>

LEMELIN, Michel, PRINCE, M. J., COULOMBE, M., et al. Produire à l'année : pourquoi et comment ?. In : 7ème colloque sur la chèvre. 2002.

Les conditions de production de l'eCG, *Ordre National des Vétérinaires*, 2018. <https://www.veterinaire.fr/lordre/protection-animale/les-conditions-de-production-de-lecg.html>

Les Fermes à Sang, Welfarm [consulté en 2022] <https://action.welfarm.fr/fermesasang/>

LINDELL, Jan-Otto et KINDAHL, Hans. Exogenous prostaglandin F_{2α} promotes uterine involution in the cow. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1983, vol. 24, no 3, p. 269-274. <https://doi.org/10.1186/BF03546730>

LÓPEZ-SEBASTIAN, A., GONZÁLEZ-BULNES, A., CARRIZOSA, J. A., et al. New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*, 2007, vol. 68, no 8, p. 1081-1087. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.08.003>

LUNENFELD, Bruno. Historical perspectives in gonadotrophin therapy. *Human reproduction update*, 2004, vol. 10, no 6, p. 453-467. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmh044>

LURETTE, Amandine, FRERET, Sandrine, CHANVALLON, A., et al. La gestion de la reproduction en élevages ovins et caprins, conventionnels et biologiques: état des lieux, intérêt et acceptabilité de nouveaux outils dans six bassins de production en France. *INRA Productions Animales*, 2016, vol. 29, no 3, p. 163-184. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01409311>

MALPAUX, Benoît, MIGAUD, Martine, TRICOIRE, Hélène, et al. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *Journal of biological rhythms*, 2001, vol. 16, no 4, p. 336-347. <https://doi.org/10.1177/074873001129002051>

MANTECA VILANOVA, Xavier, DE BRIYNE, Nancy, BEAVER, Bonnie, et al. Horse welfare during equine Chorionic Gonadotropin (eCG) production. *Animals*, 2019, vol. 9, no 12, p. 1053. <https://doi.org/10.3390/ani9121053>

MARTÍNEZ, Marcelo F., KASTELIC, John P., ADAMS, Gregg P., et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, 2002, vol. 57, no 3, p. 1049-1059. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00682-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00682-3)

MESSAGER, Sophie, CHATZIDAKI, Emmanouella E., MA, Dan, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2005, vol. 102, no 5, p. 1761-1766. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409330102>

MIALOT J-P., PONSART C., PONTER A-A., GRIMARD B., L'ancœstrus post-partum chez les bovins : thérapeutique raisonnée, Journées nationales des GTV Tours, Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires, 27 au 29 mai 1998

MIALOT, J. P., CONSTANT, Fabienne, DEZAUX, P., et al. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH+ PGF2 α + GnRH and PRID+ PGF2 α + eCG. *Theriogenology*, 2003, vol. 60, no 2, p. 319-330. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)01371-7](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01371-7)

MIN, Kwan-Sik, PARK, Jong-Ju, LEE, So-Yun, et al. Comparative gene expression profiling of mouse ovaries upon stimulation with natural equine chorionic gonadotropin (N-eCG) and tethered recombinant-eCG (R-eCG). *BMC biotechnology*, 2020, vol. 20, no 1, p. 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00653-8>

MONNIAUX, Danielle, CARATY, Alain, CLEMENT, Frederique, et al. Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *INRA Productions Animales*, 2009, vol. 22, no 6, p. 59-76. <https://hal.inria.fr/hal-00793623>

MONTIEL, F. et AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal reproduction science*, 2005, vol. 85, no 1-2, p. 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2003.11.001>

MORRIS, D. et DISKIN, M. Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, 2008, vol. 2, no 8, p. 1112-1119. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002474>

MURPHY, Bruce D. et MARTINUK, Susan D. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine reviews*, 1991, vol. 12, no 1, p. 27-44. <https://doi.org/10.1210/edrv-12-1-27>

MURPHY, M. G., BOLAND, M. P., et ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *Reproduction*, 1990, vol. 90, no 2, p. 523-533. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0900523>

NAKAFFEERO, Angella, HASSEN, Abubeker, et LEHLOENYA, K. C. Investigation of ram effect and eCG usage in progesterone based oestrous synchronization protocols on fertility of ewes following fixed time artificial insemination. *Small Ruminant Research*, 2020, vol. 183, p. 106034. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106034>.

Normes minimales relatives à la protection des animaux dans les élevages, Directive Communautaire 95/58/CE, 1998. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0058>

NOWICKI A, BARANSKI W, BARYCZKA A & JANOWSKI, OvSynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds - an update. *Journal of Veterinary Research*, 2017, 61(3), pp. 329-336. <https://doi.org/10.1515/jvetres-2017-0043>

OKAMURA, Hiroaki, YAMAMURA, Takashi, et WAKABAYASHI, Yoshihiro. Kisspeptin as a master player in the central control of reproduction in mammals: an overview of kisspeptin research

in domestic animals. *Animal Science Journal*, 2013, vol. 84, no 5, p. 369-381.
<https://doi.org/10.1111/asj.12056>

OPSOMER, Geert, MIJTEN, Peter, CORYN, Marc, *et al.* Post-partum anoestrus in dairy cows: A review. *Veterinary Quarterly*, 1996, vol. 18, no 2, p. 68-75.
<https://doi.org/10.1080/01652176.1996.9694620>

PAPKOFF, Harold. Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1974, vol. 58, no 2, p. 397-404. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(74\)90378-7](https://doi.org/10.1016/0006-291X(74)90378-7)

PARIS, Alain, ANDRÉ, François, ANTIGNAC, Jean-Philippe, *et al.* Hormones et promoteurs de croissance en productions animales: de la physiologie à l'évaluation du risque. *Productions animales*, 2006, vol. 19, no 3, p. 151-240. <https://hal.inrae.fr/hal-02667574>

PELLICER-RUBIO, Maria-Teresa, BOISSARD, Karine, GRIZELJ, Juraj, *et al.* Vers une maîtrise de la reproduction sans hormones chez les petits ruminants. *INRA Productions Animales*, 2019, vol. 32, no 1, p. 51-66. <https://hal.inrae.fr/hal-02626004>

PELLICER-RUBIO, Maria-Teresa, FERCHAUD, Stéphane, FRERET, Sandrine, *et al.* Les méthodes de maîtrise de la reproduction disponibles chez les mammifères d'élevage et leur intérêt en agriculture biologique. *INRA Productions Animales*, 2009, vol. 22, no 3, p. 255-270. <https://hal.inrae.fr/hal-02667431>

PELLICER-RUBIO, Maria-Teresa, LEOEUF, Bernard, BERNELAS, Daniel, *et al.* High fertility using artificial insemination during deep anæstrus after induction and synchronisation of ovulatory activity by the "male effect" in lactating goats subjected to treatment with artificial long days and progestagens. *Animal Reproduction Science*, 2008, vol. 109, no 1-4, p. 172-188. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.11.026>

PETER, A. T., VOS, P. L. A. M., *et al.* Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, 2009, vol. 71, no 9, p. 1333-1342. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.11.012>

PETERS, A. R., MAWHINNEY, I., DREW, S. B., *et al.* Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Veterinary record*, 1999, vol. 145, no 18, p. 516-521. <https://doi.org/10.1136/vr.145.18.516>

PICARD-HAGEN, Nicole, LHERMIE, Guillaume, FLORENTIN, Simon, *et al.* Effect of gonadorelin, lecirelin, and buserelin on LH surge, ovulation, and progesterone in cattle. *Theriogenology*, 2015, vol. 84, no 2, p. 177-183. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.004>

POLGE, C. et ROWSON, L. E. A. Fertilizing capacity of bull spermatozoa after freezing at -79° C. *Nature*, 1952, vol. 169, no 4302, p. 626-627. <https://doi.org/10.1038/169626b0>

PONSART, Claire, GÉRARD, Olivier, et CAPLIN, Stéphanie. L'insémination : historique, état des lieux chez l'animal. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 2004, vol. 32, no 10, p. 880-886. <https://doi.org/10.1016/j.gyobfe.2004.08.011>

Projet européen FLOCK-REPROD (consulté en 2021) <https://www.flock-reprod.eu/>

Proposition de résolution du Parlement européen sur l'interdiction du commerce et de l'importation de l'hormone eCG B8-0587/2017 https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/B-8-2017-0587_FR.pdf

PULLEY, S. L., WALLACE, L. D., MELLIEON JR, H. I., et al. Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. *Theriogenology*, 2013, vol. 79, no 1, p. 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.017>

PUROHIT, Govind Narayan, et al. Recent developments in the diagnosis and therapy of repeat breeding cows and buffaloes. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resource*, 2008, vol. 3, no 62, p. 1-34. <http://www.cababstractsplus.org/cabreviews>

REDMOND, J. S., MACEDO, G. G., VELEZ, I. C., et al. Kisspeptin activates the hypothalamic-adenohypophyseal-gonadal axis in prepubertal ewe lambs. *Reproduction*, 2011, vol. 141, no 4, p. 541-548. <https://doi.org/10.1530/REP-10-0467>

Règlement (UE) 2018/848 du Parlement européen et du Conseil du 30 mai 2018 relatif à la production biologique et à l'étiquetage des produits biologiques. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex%3A32018R0848>

ReprodAction <https://www.reproduction.com/fr/La-reproduction/Le-cycle-sexuel/Anoestrus-suboestrus> [Consulté en 2023]

Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, Numéro spécial, *Le point vétérinaire*, Vol 36, 2005

Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, Numéro spécial, *Le point vétérinaire*, Vol 36, 2005

Reproscope – Campagne 2018-19, 6 années de recul, Idele. <https://idele.fr/detail-article/reproscope-campagne-2018-19-6-annees-de- recul> [Consulté en 2020]

RIESENBERG, S., MINECKE-TILLMANN, S., et MEINECKE, B. Etude ultrasonore du développement folliculaire suite à une superovulation avec une seule application de pFSH, eCG ou hMG chez la chèvre. Recherche sur les petits ruminants , 2001, vol. 40, n° 1, p. 83-93. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00211-X](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00211-X)

RIGOGGIO, Nathia N., FÁTIMA, Luciana A., HANASSAKA, Jaqueline Y., et al. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. Theriogenology, 2013, vol. 79, no 4, p. 673-679. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.023>

RIGOGGIO, Nathia N., FÁTIMA, Luciana A., HANASSAKA, Jaqueline Y., et al. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis. Theriogenology, 2013, vol. 79, no 4, p. 673-679. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.023>

ROBERSON, M. S., WOLFE, M. W., STUMPF, T. T., et al. Influence of growth rate and exposure to bulls on age at puberty in beef heifers. Journal of Animal Science, 1991, vol. 69, no 5, p. 2092-2098. <https://doi.org/10.2527/1991.6952092x>

ROSTAMI, B., NIASARI-NASLAJI, A., VOJGANI, M., et al. Effect of eCG on early resumption of ovarian activity in postpartum dairy cows. Animal reproduction science, 2011, vol. 128, no 1-4, p. 100-106. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.006>

ROY, François, COMBES, Bruno, VAIMAN, Daniel, et al. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with subsequent fertility. Biology of reproduction, 1999, vol. 61, no 1, p. 209-218. <https://doi.org/10.1095/biolreprod61.1.209>

ROY, François, MAUREL, Marie-Christine, COMBES, Bruno, et al. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. Biology of reproduction, 1999, vol. 60, no 4, p. 805-813. <https://doi.org/10.1095/biolreprod60.4.805>

SABY, Claire, Intérêt de l'eCG dans le contrôle du moment de l'ovulation dans un protocole à base de progestagènes chez la vache laitière, 2014, Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse

SAINT-DIZIER, Marie. Etude de la réceptivité à eCG (équine Chorionic Gonadotropin) chez la jument gestante. 2004. Thèse de doctorat. Tours. <https://hal.inrae.fr/tel-02832743>

SALES, J. N. S., CREPALDI, G. A., GIROTTO, R. W., et al. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and

fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Animal reproduction science*, 2011, vol. 124, no 1-2, p. 12-18. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.007>

SALZANO, Giuseppina, ROBERT, Vincent, LOMET, Didier, et al. A customized long acting formulation of the kisspeptin analog C6 triggers ovulation in anestrus ewe. *Journal of Neuroendocrinology*, 2022, vol. 34, no 4, p. e13121. <https://doi.org/10.1111/jne.13121>

SCVPH (Former Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health) 2002. Review of previous SCVPH opinions of 30 April 1999 and 3 May 2000 on the potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products, adopted on 10 April 2002 https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_meat_hormone-out50_en.pdf

SÉBERT, M.-E., LOMET, Didier, SAÏD, S. Ben, et al. Insights into the mechanism by which kisspeptin stimulates a preovulatory LH surge and ovulation in seasonally acyclic ewes: potential role of estradiol. *Domestic animal endocrinology*, 2010, vol. 38, no 4, p. 289-298. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.01.001>

SEMINARA, Stephanie B. Mechanisms of Disease: the first kiss—a crucial role for kisspeptin-1 and its receptor, G-protein-coupled receptor 54, in puberty and reproduction. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, 2006, vol. 2, no 6, p. 328-334. <https://doi.org/10.1038/ncpendmet0139>

SHARIF, Mohammad Ali, KOHRAM, Hamid, ZARE SHAHNEH, Ahmad, et al. Production and purification of equine chorionic gonadotropin hormone using polyclonal antibody. *Iranian Journal of Biotechnology*, 2014, vol. 12, no 1, p. 30-34. http://www.ijbiotech.com/article_7249_0.html

SHELDON, I. M., DOBSON, H., et al. Effect of administration of eCG to postpartum cows on folliculogenesis in the ovary ipsilateral to the previously gravid uterine horn and uterine involution. *Journal of reproduction and fertility*, 2000, vol. 119, no 1, p. 157-164. <http://pascal-francis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=1423832>

SKINNER, Donal C. et MALPAUX, Benoit. High melatonin concentrations in third ventricular cerebrospinal fluid are not due to Galen vein blood recirculating through the choroid plexus. *Endocrinology*, 1999, vol. 140, no 10, p. 4399-4405. <https://doi.org/10.1210/endo.140.10.7074>

SMALL, J. A., COLAZO, M. G., KASTELIC, J. P. et MAPLETOFT, R. J., 2009. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. In : *Theriogenology*. 2009. Vol. 71, n° 4, p. 698-706. DOI 10.1016/j.theriogenology.2008.09.045.

SMITH, Jeremy T., CLAY, Colin M., CARATY, Alain, et al. KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. *Endocrinology*, 2007, vol. 148, no 3, p. 1150-1157. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1435>

SOUZA, A. H., VIECHNIESKI, S., LIMA, F. A., et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. *Theriogenology*, 2009, vol. 72, no 1, p. 10-21. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.025>

STEVENSON, J. S. et SAULS, J. A. Dose and Frequency of PGF2 α Administration to Lactating Dairy Cows Exposed to Presynchronization and Either Five-or Seven-day Ovsynch Protocols: Ovulation, Luteolysis, and Pregnancy Rates. *Kansas Agricultural Experiment Station Research Reports*, 2017, vol. 3, no 8, p. 6. <https://doi.org/10.4148/2378-5977.7521>

SUGINO, Hiromu, BOUSFIELD, G. R., MOORE JR, W. T., et al. Structural studies on equine glycoprotein hormones. Amino acid sequence of equine chorionic gonadotropin beta-subunit. *Journal of Biological Chemistry*, 1987, vol. 262, no 18, p. 8603-8609. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)47456-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)47456-X)

THATCHER, W. W., MOREIRA, F., PANCARCI, S. M., et al. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domestic Animal Endocrinology*, 2002, vol. 23, no 1-2, p. 243-254. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00160-1](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00160-1)

The Trade with Horse Blood and Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG) in the United States, Argentina and Uruguay, *Animals' Angels*, 2015. <https://www.animalsangels.org/investigations/horses/cruel-trade-pregnant-mare-blood-united-states-uruguay-and-argentina-9-30-15> [Consulté en 2021]

THÉRIEZ, M. Influence de l'alimentation sur les performances de reproduction des ovins. 9^{ème} Journée de la recherche ovine et caprine INRA. 1984.

THIMONIER, Jacques, COGNIÉ, Y., LASSOUED, N., et al. L'effet mâle chez les ovins: une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. 2000. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2000.13.4.3782>

TORTORELLA, Rodrigo Dorneles, FERREIRA, Rogério, DOS SANTOS, Joabel Tonello, et al. The effect of equine chorionic gonadotropin on follicular size, luteal volume, circulating progesterone concentrations, and pregnancy rates in anestrous beef cows treated with a novel fixed-time artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 2013, vol. 79, no 8, p. 1204-1209. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013b.02.019>

TRICOIRE, H., MOLLER, M., CHEMINEAU, P., et al. Origin of cerebrospinal fluid melatonin and possible function in the integration of photoperiod. *REPRODUCTION-CAMBRIDGE-SUPPLEMENT-*, 2003, p. 311-321. <https://hal.inrae.fr/hal-02764300>

Trois questions sur l'hormone de juments administrée à des lapins, dénoncée par L214, Francetvinfo, 2019. https://www.francetvinfo.fr/animaux/bien-etre-animal/trois-questions-sur-lhormone-de-juments-administree-a-des-lapins-denoncee-par-l214_3583429.html
[Consulté en 2021]

VASCONCELOS, J. L. M., SARTORI, R., OLIVEIRA, H. N., et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, 2001, vol. 56, no 2, p. 307-314. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00565-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00565-9)

VILLA-GODOY, A., HUGHES, T. L., EMERY, R. S., et al. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 1988, vol. 71, no 4, p. 1063-1072. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79653-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79653-8)

VILLARRAZA, Carlos Javier, ANTUÑA, Sebastián, TARDIVO, María Belén, et al. Développement d'un procédé de fabrication approprié pour la production d'une gonadotrophine chorionique équine recombinante bioactive (reCG) dans des cellules CHO-K1. *Thériogénologie*, 2021, vol. 172, p. 8-19. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.05.013>

WALSH, S. W., WILLIAMS, E. J., et EVANS, A. C. O. A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*, 2011, vol. 123, no 3-4, p. 127-138. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.12.001>

WARD, Darrell N., MOORE, William T., et BURLEIGH, B. Daniel. Structural studies on equine chorionic gonadotropin. *Journal of Protein Chemistry*, 1982, vol. 1, no 4, p. 263-280.

WILSHER, S. et ALLEN, W. R. Factors influencing equine chorionic gonadotrophin production in the mare. *Equine veterinary journal*, 2011, vol. 43, no 4, p. 430-438. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00309.x>

WILTBANK, M. C., SARTORI, R., HERLIHY, M. M., et al. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 2011, vol. 76, no 9, p. 1568-1582. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.08.012>

World Horse Welfare and Eurogroup for Animals. Removing the Blinkers: The Health and Welfare of European Equidae in 2015; World Horse Welfare and Eurogroup for Animals: Brussels, Belgium, 2019

WU, Hao, LUSTBADER, Joyce W., LIU, Yee, et al. Structure of human chorionic gonadotropin at 2.6 Å resolution from MAD analysis of the selenomethionyl protein. *Structure*, 1994, vol. 2, no 6, p. 545-558. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(00\)00054-X](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(00)00054-X)

ZARROUK, Anissa, DRION, Pierre, et BECKERS, Jean-François. La pseudogestation chez la chèvre, facteur d'infertilité. *Annales de Médecine Vétérinaire*. ULg-Université de Liège, 2000. p. 14-21.

ZERFAOUI, Mourad et RONIN, Catherine. Glycosylation is the structural basis for changes in polymorphism and immunoreactivity of pituitary glycoprotein hormones. *European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry*, 1996, vol. 34, no 9, p. 749-754. <https://doi.org/10.1515/cclm.1996.34.9.721>

L'UTILISATION DE LA GONADOTROPINE CHORIONIQUE EQUINE CHEZ LES RUMINANTS (eCG), SES PROBLEMATIQUES ET SA SUBSTITUTION DANS LA MAITRISE DE LA REPRODUCTION

Auteur

COUDURIER Alexia

Résumé

La maîtrise des cycles sexuels des ruminants est un facteur primordial dans l'adaptation des élevages à la demande en produits d'origine animale en France. La mise à la reproduction des bovins, ovins et caprins peut en effet avoir lieu à toute période de l'année, en s'affranchissant des troubles de la reproduction. Des protocoles à base d'hormones agissant sur l'axe contrôlant la reproduction ont été mis en place à cette fin. Parmi les molécules disponibles, l'eCG (*equine Chorionic Gonadotropin*) est une hormone d'origine équine largement utilisée chez les ruminants car elle possède des propriétés qui la distinguent des autres gonadotropines du fait de sa structure riche en acides sialiques.

L'eCG fait aujourd'hui l'objet de controverses concernant ses effets sur l'efficacité de la reproduction et son mode de production par des juments dans des « fermes à sang » qui soulève des questions éthiques. La dynamique actuelle tendant à limiter voire interdire l'usage des hormones en productions animales pose également des questions sur l'avenir de l'eCG en élevage.

Parmi les solutions existantes pour ne plus utiliser d'eCG sans compromettre la maîtrise des cycles, des protocoles utilisant d'autres hormones ont montré leur intérêt chez les bovins comme les protocoles PGF2 α - PGF2 α , GPG ou GPG + progestérone. Chez les petits ruminants, l'effet luminosité et l'effet mâle en complément peuvent être des substituts à l'eCG. Une maîtrise de la reproduction sans hormone n'est néanmoins pas encore envisageable avec les moyens actuels chez ces espèces du fait d'une efficacité insuffisante de ces protocoles et d'une complexité à la mise en œuvre. Des recherches récentes sur une protéine, la kisspeptine, semblent donner de premiers résultats aussi satisfaisants qu'avec les protocoles à eCG, ce qui pourrait en faire une future remplaçante de cette hormone dans le contrôle des cycles.

Mots-clés

Gonadotropine, Ruminants, Reproduction.

Jury

Président du jury : Pr GAUCHERAND Pascal

Directeur de thèse : Dr BRUYERE Pierre

1er assesseur : Dr BRUYERE Pierre

2ème assesseur : Dr BECKER Claire