

## TABLE DES MATIÈRES

### INTRODUCTION

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| <b>1</b>   | <b>CONTEXTE DE L'ETUDE</b>  | <b>7</b>  |
| <b>1.1</b> | <b>L'INFERTILITE DES VACHES LAITIÈRES : CONSTAT D'UN TROUBLE MAJEUR AUX ORIGINES MULTIPLES</b>        | <b>7</b>  |
| <b>1.2</b> | <b>LES CHALEURS DE LA VACHE LAITIÈRE : ENTRE BONNES PRATIQUES ET REALITE DU TERRAIN</b>               | <b>8</b>  |
| <b>1.3</b> | <b>FIXER LE MOMENT DE L'IA : ENTRE TRADITIONS ET INNOVATIONS</b>                                      | <b>12</b> |
| <b>2</b>   | <b>OBJECTIFS DE L'ETUDE</b>   | <b>19</b> |
| <b>3</b>   | <b>MATERIEL ET METHODES</b>   | <b>19</b> |
| <b>3.1</b> | <b>ANIMAUX</b>  | <b>19</b> |
| <b>3.2</b> | <b>VETERINAIRES ET ELEVAGES</b>   | <b>19</b> |
| <b>3.3</b> | <b>PROTOCOLES EXPERIMENTAUX</b>   | <b>20</b> |
| 3.3.1      | LOT TEMOIN  | 20        |
| 3.3.2      | LOT TRAITE  | 20        |
| 3.3.3      | PRISE DE SANG ET PREDI'BOV®   | 21        |
| 3.3.4      | ENREGISTREMENT DES DONNEES  | 24        |
| 3.3.5      | COLLECTE DES DONNEES ET SUIVI DE L'ETUDE  | 25        |
| 3.3.6      | TRAITEMENT DES DONNEES ET ANALYSE STATISTIQUE   | 25        |
| <b>4</b>   | <b>RESULTATS</b>  | <b>29</b> |
| <b>4.1</b> | <b>DESCRIPTION DE L'ECHANTILLON</b>   | <b>29</b> |
| 4.1.1      | ELEVEURS PARTICIPANTS, SITUATION GEOGRAPHIQUE ET STATUT   | 29        |
| 4.1.2      | ANIMAUX   | 29        |
| 4.1.3      | RESULTATS DES PREDI'BOV® ET IA  | 31        |
| 4.1.4      | QUALITE DE L'ENREGISTREMENT PAR L'ELEVEUR DES DONNEES « SECONDAIRES » ET<br>CARACTERISTIQUES DES LOTS | 33        |
| <b>4.2</b> | <b>ANALYSE DES TAUX DE GESTATION</b>  | <b>35</b> |
| 4.2.1      | COMPARAISON DES TAUX DE GESTATION DANS LES DEUX LOTS  | 35        |
| 4.2.2      | COMPARAISON DES TAUX DE GESTATION SELON LA FENETRE D'INSEMINATION                                     | 37        |
| <b>4.3</b> | <b>EXPRESSION DES CHALEURS ET PIC DE LH</b>   | <b>38</b> |
| <b>5</b>   | <b>DISCUSSION</b>   | <b>39</b> |
| <b>5.1</b> | <b>DIFFICULTES LIEES A L'ETUDE</b>  | <b>39</b> |
| <b>5.2</b> | <b>CHALEURS ET PICS DE LH</b>   | <b>40</b> |
| <b>5.3</b> | <b>FENETRE D'INSEMINATION ET TAUX DE GESTATION</b>  | <b>41</b> |
| <b>5.4</b> | <b>TAUX DE GESTATION DANS LES LOTS TEMOINS ET TRAITES</b>   | <b>42</b> |

### CONCLUSION

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| TABLEAU 1 : RESULTATS DE L'ETUDE DE TRIMBERGER ET DAVIS EN 1943, TIRE DE SAUMANDE, 2001 .....   | 12 |
| TABLEAU 2 CARACTERISTIQUES DU PIC DE LH OBTENUES CHEZ LA VACHE DANS DIFFERENTES ETUDES.....   | 16 |
| TABLEAU 3 DELAIS ENTRE LE PIC DE LH ET L'OBSERVATION OVULATION OBTENUS CHEZ LA VACHE DANS DIFFERENTES ETUDES.....   | 16 |
| TABLEAU 4 VALEURS DU KAPPA.....   | 27 |
| TABLEAU 5 NOMBRE DE TABLEAUX D'ENREGISTREMENT DES DONNEES (TED) RECUPERES ET D'ANIMAUX RETENUS DANS LE LOT TEMOIN ET LE LOT TRAITE, EN FONCTION DE CHAQUE ELEVEUR ..... | 30 |
| TABLEAU 6 CAUSES D'EXCLUSION DE TABLEAUX D'ENREGISTREMENT DES DONNEES (TED) ET NOMBRE FINAL DE CAS RETENUS DANS LES LOTS TEMOIN ET TRAITE.....                          | 31 |
| TABLEAU 7 TAUX DE NON REPOSE AUX INFORMATIONS CONCERNANT L'HISTORIQUE DE LA VACHE .....   | 34 |
| TABLEAU 8 : CARACTERISTIQUES DES LOTS TEMOIN ET TRAITE.....   | 34 |
| TABLEAU 9 TAUX DE GESTATION OBSERVES DANS CHAQUE LOT.....   | 35 |
| TABLEAU 10 DETERMINATION DES FACTEURS DE CONFUSION POTENTIELS .....   | 36 |
| TABLEAU 11 TAUX DE GESTATION SELON LA FENETRE D'INSEMINATION.....   | 37 |
| TABLEAU 12 CONCORDANCE ENTRE LES COMPORTEMENTS DE CHALEUR EXPRIMES ET LE PIC DE LH.....   | 38 |

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| FIGURE 1 FENETRE OPTIMALE POUR INSEMINER UNE VACHE .....  | 15 |
| FIGURE 2 CARTE DU PAS-DE-CALAIS ET LOCALISATION DES DIFFERENTS CABINETS VETERINAIRES PARTICIPANT A L'ETUDE .....  | 19 |
| FIGURE 3 DEROLE DE LA PROCEDURE APPLIQUEE AU LOT TEMOIN : CAS D'UNE INSEMINATION REALISEE PAR UN INSEMINATEUR.....  | 20 |
| FIGURE 4 DEROLE DE LA PROCEDURE APPLIQUEE AU LOT TRAITE : CAS D'UNE INSEMINATION REALISEE PAR UN INSEMINATEUR 12 HEURES APRES UN TEST POSITIF .....   | 21 |
| FIGURE 5 REALISATION DU TEST PREDI'BOV® .....   | 23 |
| FIGURE 6 GRILLE DE LECTURE ET D'INTERPRETATION DU PREDI'BOV® .....  | 23 |
| FIGURE 7 REPARTITION DES INSEMINATIONS ARTIFICIELLES REALISEES DANS LE CADRE DU LOT TEMOIN SELON LE RESULTAT DU PREDI'BOV® (PB+ : TEST POSITIF, PB- : TEST NEGATIF).....                                | 32 |
| FIGURE 8 REPARTITION DES ANIMAUX DU LOT TRAITE SELON LA REALISATION OU NON D'UNE INSEMINATION ARTIFICIELLE (IA), LE NOMBRE ET LE RESULTAT DES PREDI'BOV® (PB+ : TEST POSITIF, PB- : TEST NEGATIF) ..... | 32 |
| FIGURE 9 DEVENIR DES ANIMAUX AVEC UN PREMIER PREDI'BOV® (PB) NEGATIF DANS LE LOT TRAITE.....  | 33 |
| FIGURE 10 COMPARAISON DES TAUX DE GESTATION ENTRE LES DEUX LOTS.....  | 35 |
| FIGURE 12 TAUX DE GESTATION SELON LA FENETRE D'INSEMINATION .....   | 37 |

## LISTE DES ANNEXES

|   |    |
|---|----|
| ANNEXE 1 FEUILLE DE ROUTE DISTRIBUEE AUX ELEVEURS .....   | 49 |
| ANNEXE 2 AIDE A LA PREVISION DU MOMENT DE L'IA EN FONCTION DE L'HEURE D'OBTENTION D'UN PREDI'BOV® POSITIF ..... | 56 |
| ANNEXE 3 AIDE A LA PREVISION DU MOMENT DE REALISATION D'UN SECOND OU TROISIEME PREDI'BOV® .....                 | 57 |
| ANNEXE 4 TABLEAU D'ENREGISTREMENT DES DONNEES DU LOT TEMOIN.....  | 58 |
| ANNEXE 5 TABLEAU D'ENREGISTREMENT DES DONNEES DU LOT TEMOIN .....   | 59 |

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

IA : Insémination artificielle

IAMM : Insémination artificielle au mauvais moment

IAPL : Insémination artificielle en phase lutéale

MET : Mort embryonnaire tardive

NF-MEP : Non fécondation-Mort embryonnaire précoce

LH : Hormone lutéinisante

OR : Odds ratio

PB : Predi'Bov®

PH : Prim'Holstein

PP : *Post-partum*

TDE : Tableau d'enregistrement des données

TRIA1 : Taux de réussite en première insémination artificielle



## INTRODUCTION

En France, dans l'espèce bovine, en 2010, sept millions d'inséminations artificielles ont été réalisées. Le choix de l'insémination artificielle est aujourd'hui majoritaire en élevage laitier avec un taux de pénétration (nombre de femelles inséminées sur le nombre de femelles présentes dans les élevages au 1<sup>er</sup> janvier) environ égal à 60%.

L'insémination artificielle est une pratique ancienne, développée depuis les années 40. Elle présente de nombreux atouts notamment sanitaires et logistiques ; en effet, faire le choix de l'insémination artificielle permet de plus être contraint de nourrir, loger et manipuler un taureau sur une exploitation. De plus, l'insémination artificielle a permis de nombreux progrès en autorisant une dissémination rapide et large de la génétique.

Toutefois, l'insémination artificielle présente une contrainte majeure ; elle nécessite la définition d'une période fertile chez la femelle, c'est-à-dire, une période propice à la réception de la semence. Inséminer au bon moment conditionne la réussite de l'insémination artificielle et la rencontre des gamètes.

Classiquement, l'éleveur choisit d'inséminer lorsqu'il observe son animal en chaleurs. Néanmoins, la détection des chaleurs est devenue un problème pour l'éleveur : les vaches manifestent de moins en moins leurs chaleurs et l'éleveur n'y consacre plus assez de temps. De plus, la règle historique des douze heures utilisée jusqu'alors pour prévoir l'insémination à partir du moment des chaleurs, est aujourd'hui remise en question. Le contexte non propice à la réussite de l'insémination artificielle ébauché ci-dessus, sera détaillé en première partie de ce travail.

Face à ces nouvelles problématiques, la société Repropharm a mis au point un nouvel outil : le Predi'Bov®, test qualitatif permettant de repérer le pic d'hormone lutéinisante (LH). Ce test, d'après l'entreprise, pourrait être utilisé pour prévoir avec plus d'exactitude le moment de l'ovulation et fixer en conséquence le moment de l'insémination artificielle. L'intérêt de ce test a été évalué dans l'étude présentée dans ce manuscrit qui décrira les objectifs (deuxième partie), la mise en place (troisième partie) et les résultats (quatrième partie) de l'étude. Enfin, les résultats sont discutés dans la dernière partie.



# 1 Contexte de l'étude

## 1.1 L'infertilité des vaches laitières : constat d'un trouble majeur aux origines multiples

Les résultats publiés ces quinze dernières années aux Etats-Unis, au Québec, en France et en Espagne font l'état d'une diminution de la fertilité chez les vaches laitières « modernes » (Lucy, 2007). En France, on constate une perte de 1 point de fertilité par an entre 1995 et 2005 (Fréret *et al.*, 2011). Cela se traduit par une baisse régulière du taux de réussite en première insémination artificielle (TRIA1) depuis les années 1980 et par une augmentation du nombre d'inséminations artificielles (IA) nécessaires pour obtenir une gestation. A titre d'exemple, en 2006, le TRIA1 moyen français était inférieur à 40% chez les vaches de race Prim'Holstein, alors qu'il était d'environ 60% en 1980. De même, en 2005, 28% des vaches Prim'Holstein avaient reçu au moins trois IA pour obtenir une gestation, contre 23% en 1998 (Saint-Dizier et Chastant, 2008).

Responsable d'une augmentation du nombre de jours où la vache est improductive, l'infertilité engendre donc de lourdes conséquences financières : diminution des revenus (moins de lait produit), augmentation des coûts de production (alimentation, vétérinaire, inséminateur, ...), augmentation de la charge de travail. Le coût pour l'éleveur est estimé à 1,5 euro par vache et par jour (Hobé *et al.*, 2008).

De nombreuses enquêtes récentes (années 2000), à grande échelle, ont été réalisées en France afin de déterminer la chronologie des échecs à l'IA (Fréret *et al.*, 2011 ; Ponsart *et al.*, 2010 ; Ledoux, 2011). Celles-ci ont montré que plus de 50% des échecs après insémination ont lieu avant 35 jours de gestation (Fréret *et al.*, 2011). Ces échecs sont liés pour 4 à 7% à des IA réalisées en phase lutéale (IAPL), pour 31 à 45% à de la non fécondation ou de la mortalité embryonnaire précoce (NF-MEP) (qui ne peuvent pas être différenciées cliniquement chez la vache) et pour 14 à 20% de mortalité embryonnaire tardive (MET) (qui ne peut pas être cliniquement différenciée d'une phase lutéale prolongée) (Fréret *et al.*, 2006 ; Ledoux *et al.*, 2006 ; Ponsart *et al.*, 2007).

Les causes et les facteurs de risque de ces échecs à l'IA sont variés : potentiel génétique, alimentation, production laitière, état corporel des animaux, âge, état sanitaire, saison de reproduction, conduite de l'IA... (Ledoux, 2011). Parmi les facteurs les plus cités expliquant la dégradation de la fertilité de ces dernières années des vaches Holstein, on trouve :

- la dégradation du potentiel génétique pour la fertilité du fait de sa liaison négative avec le potentiel génétique pour la production laitière (caractère qui a fait et fait toujours l'objet d'une sélection intensive) (Boichard *et al.*, 1998 ; Barbat *et al.*, 2005),
- les anomalies de cyclicité telles que : phase lutéale prolongée (production de progestérone pendant plus de 19 jours), reprise tardive de la cyclicité après vêlage (plus de 60 jours après vêlage), interruption de cyclicité (absence de progestérone pendant plus de 12 jours), ... qui sont de plus en plus fréquentes (c'est surtout le cas pour les phases lutéales prolongées) et qui sont associées à une baisse de fertilité (Grimard et Disenhaus, 2005),
- le déficit énergétique en début de lactation qui s'est probablement aggravé avec le temps car, même si les connaissances en alimentation se sont améliorées, la production laitière a beaucoup augmenté lors des dernières décennies en race Holstein (Lucy, 2007 ; Ledoux, 2011).

Or, les échecs à l'IA étant essentiellement très précoces (absence de fécondation et mortalité embryonnaire avant 16 jours de gestation), il est très probable que les conditions de réalisation des IA soient également en cause. Différentes constatations peuvent nous conduire à cette hypothèse.

Tout d'abord, la physiologie des vaches laitières autour des chaleurs a changé : les chaleurs sont plus courtes et les manifestations comportementales sont plus discrètes (voir 1.2). Les chaleurs sont donc plus difficiles à détecter par les éleveurs, ce qui peut influencer la décision de l'éleveur d'appeler l'inséminateur s'il n'est pas sûr que la vache soit en chaleurs et donc retarder le délai entre les chaleurs et l'IA. Ainsi, il a été observé une augmentation de la fréquence de NF-MEP lorsque le délai entre l'appel de l'inséminateur et l'IA dépassait dix-huit heures et une diminution significative du taux de gestation lorsque ce délai était supérieur à vingt-quatre heures (Fréret *et al.*, 2011).

A l'inverse, cela peut également conduire à faire inséminer une vache qui n'est pas en chaleurs, ou trop tôt, « dans le doute ». Il a en effet été constaté que la fréquence des IA réalisées en phase lutéale était augmentée lorsque l'IA était décidée alors qu'un seul signe non spécifique autre que le chevauchement avait été observé (Ponsart *et al.*, 2007) et que le taux de gestation suite à une IA décidée par l'observation de signes non spécifiques des chaleurs et non liés à un comportement sexuel était dégradé (Fréret *et al.*, 2008 ; Fréret *et al.*, 2011).

Ainsi, alors que la fertilité de la vache laitière moderne est une préoccupation croissante, inséminer une vache qui n'est pas prête à recevoir la semence ou, *a contrario*, n'est plus prête à la recevoir, peut être facteur d'infertilité. La mauvaise détection des chaleurs favorise la réalisation d'IA au mauvais moment, tandis que l'allongement du délai « chaleurs-IA » peut être responsable de la détérioration de la qualité des gamètes ou de l'embryon et donc, d'absence de fécondation ou de mortalité embryonnaire. Pour comprendre comment on pourrait faciliter la prise de décision de l'éleveur, une description des pratiques actuelles concernant la détection des chaleurs est nécessaire.

## **1.2 Les chaleurs de la vache laitière : entre bonnes pratiques et réalité du terrain**

Les chaleurs sont une période du cycle sexuel pendant laquelle la femelle accepte l'accouplement avec le mâle et peut être fécondée. Elles résultent d'une séquence spécifique d'événements ovariens et hormonaux (Mauffré *et al.*, 2013). Je n'aborderai pas ici les rappels de physiologie détaillant le cycle sexuel de la vache, de nombreuses thèses vétérinaires et articles récents ayant déjà fait l'objet de ces rappels (Dezaux, 2001 ; Chastant, 2005 ; Bosio, 2006 ; Chicoineau, 2007). Revenons, néanmoins, sur les comportements de la vache laitière qui qualifient la période de chaleurs.

Le comportement spécifique des chaleurs, reconnu de tous et définissant la période des chaleurs, est l'acceptation du chevauchement. La vache en chaleurs reste immobile pendant au moins deux secondes, malgré l'autre vache qui est en équilibre sur sa croupe et qui l'enserme de ses pattes avant.

Ce comportement n'est jamais observé en dehors de la période des chaleurs, ce qui en fait un signe spécifique. Il s'agit d'ailleurs du seul signe spécifique, les autres signes observés durant la période de chaleurs sont alors dits secondaires (Doucet, 2004 ; Roelofs *et al.*, 2010). Ces derniers peuvent être manifestés en dehors de la période de chaleurs, mais, ils sont plus fréquents en période de chaleurs (Kerbrat et Disenhaus, 2004).



Les signes secondaires consistent principalement en des interactions entre vaches, qui peuvent être aussi bien reçus par la vache en chaleurs qu'initiés par celle-ci. Ces interactions sont de différentes natures (Kerbrat et Disenhaus, 2004) :

- Sexuelle :
  - le chevauchement d'une autre congénère,
  - la pose du menton sur la croupe d'une autre congénère,
  - le léchage ou reniflement de la région ano-génitale d'une autre congénère.
  
- Sociale :
  - le léchage de la tête, du flanc ou du cou d'une autre congénère,
  - le frottement de la tête ou de l'encolure sur une autre congénère.
  
- Agonistique :
  - un coup de tête contre la tête d'une autre congénère,
  - un coup de tête contre le corps d'une autre congénère,
  - le reniflement de la mamelle d'une autre congénère.

L'expression du comportement de chaleurs est soumise à de nombreux facteurs de variation :

- Le logement est une condition primordiale à la bonne manifestation des chaleurs. Un espace suffisant, est nécessaire pour que les vaches interagissent. De même, la qualité du sol est importante pour les chevauchements : un sol paillé ou une surface herbagère sont préférables à une aire bétonnée ou un sol glissant (Diskin et Sreenan, 2000).
- Une mauvaise conformation des aplombs et la présence de boiteries au sein du troupeau altèrent l'expression de comportements tels que le chevauchement ou l'augmentation de l'activité locomotrice (Diskin et Sreenan, 2000 ; Saint-Dizier, 2005).
- Le nombre de vaches en chaleurs simultanément influence aussi l'expression des comportements de chaleurs (Roelofs *et al.*, 2005).
- La production laitière, et plus particulièrement l'efficacité alimentaire (rapport entre la quantité de lait produite et la quantité et la qualité des aliments ingérés), est inversement corrélée à l'expression des chaleurs (Saint-Dizier, 2005).
- D'après Roelofs *et al.* (2005), la concentration sanguine en œstrogènes des vaches hautes productrices est moindre, par rapport à des vaches produisant moins de lait. C'est ce qui peut expliquer que les vaches produisant beaucoup de lait ont des chaleurs plus courtes et moins intensément exprimées.

Les facteurs de risque précédemment décrits sont fréquemment observés dans l'élevage français moderne de race Prim'Holstein (PH). C'est un des éléments qui puissent expliquer que le comportement d'acceptation du chevauchement n'est pas exprimé par toutes les vaches de cette race : entre 12 à 58% des vaches selon les études (Van Eerdenburg *et al.*, 1996 ; Kerbrat et Disenhaus, 2004 ; Roelofs *et al.*, 2005).

De plus, même lorsqu'il est exprimé, il n'est pas toujours facile à observer. En effet, le nombre d'acceptations du chevauchement par une vache au cours de la période de chaleurs est, en moyenne, assez faible : entre trois et six fois au cours de chaleurs d'une durée moyenne de douze heures et selon le nombre de vaches en chaleurs, d'après l'étude de Roelofs *et al.* (2005). Ainsi, grâce à un calcul simple et en considérant qu'un comportement d'acceptation du chevauchement dure environ 2 secondes et demie, la vache laitière PH accepte le

chevauchement pendant au total environ 8 et 16 secondes durant la période des chaleurs, soit moins de 1% de ce temps. Le seul critère d'acceptation du chevauchement n'est donc pas suffisant pour une détection efficace de la période des chaleurs.

La prise en compte des signes secondaires dans la détection de la période de chaleurs est alors indispensable ; mais cela requiert de la prudence. Comme introduit plus haut, ces signes sont peu spécifiques, c'est-à-dire qu'ils sont exprimés aussi bien lors de la période des chaleurs qu'en phase lutéale. Ainsi, il faut considérer l'augmentation de fréquence de ces interactions pour définir la période de chaleurs. Il s'agit d'une « période de comportements intensifiés » d'après Roelofs *et al.* (2010). Ainsi, Kerbrat et Disenhaus, en considérant l'augmentation de la fréquence d'expression de certains comportements dits secondaires, ont qualifié 11 vaches comme étant en chaleurs alors que seulement 8 d'entre-elles avaient accepté le chevauchement.

Pour faciliter l'utilisation des signes secondaires dans la détection des chaleurs et pour mieux définir la période de comportements intensifiés, une grille de score des signes secondaires a été élaborée par Van Eerdenburg *et al.* (1996). Cette grille attribuait à chaque signe secondaire initié un nombre de points. Cela permettait d'obtenir un score comportemental qui, s'il dépassait un seuil, autorisait à considérer la vache en chaleurs (Van Eerdenburg *et al.*, 1996). Néanmoins, la mise en place de ce protocole dans trente élevages néerlandais de PH s'est avérée décevante et n'a permis la détection que de 47% des vaches en chaleurs (Heres *et al.*, 2000).

Devant la difficulté d'identifier les vaches en chaleurs, des recommandations sur la manière de conduire l'observation des animaux ont été faites permettant d'atteindre une sensibilité de détection optimale. Ainsi, il a été établi que le moment de l'observation des animaux dans la journée, le nombre de séances d'observation par jour et la durée de ces séances étaient des paramètres à considérer car influençant l'efficacité de la détection visuelle des chaleurs. Il est classiquement recommandé à l'éleveur d'observer les vaches le matin et le soir, au minimum trente minutes et en période calme, c'est-à-dire ni lors de la traite, ni lors de l'affouragement (Saint-Dizier, 2005). En effet, Diskin et Sreenan (2000) ont observé que l'acceptation du chevauchement était plus fréquemment manifestée tôt le matin et tard le soir. D'après cette étude, l'observation des vaches pendant ces tranches horaires dans de bonnes conditions permettrait d'observer jusqu'à 70% des vaches en chaleurs (Diskin et Sreenan, 2000).

Ainsi, les comportements de chaleurs des bovins sont variés. L'acceptation du chevauchement est le seul comportement spécifique ; mais, actuellement, celui-ci n'est pas exprimé par toutes les vaches. Il est donc fortement recommandé aux éleveurs, désormais, de prendre en compte les signes secondaires de chaleurs et plus particulièrement l'augmentation en fréquence de ces comportements. Cependant, ceux-ci sont peu spécifiques, ce qui peut conduire à des erreurs. L'observation deux à trois fois par jour, pendant environ trente minutes, tôt le matin et dans la soirée, durant des moments calmes est conseillé afin de maximiser les chances de détection. Mais ces recommandations, assez chronophages, sont-elles bien suivies par les éleveurs ?

En 2004 et 2005, le groupe fertilité de l'UNCEIA a mené une enquête, nommée Fertilia, dans 135 élevages afin d'appréhender les facteurs de variation de la fertilité dans les élevages français de Prim'Holstein avec une production élevée.

Lors de cette enquête, 42% des éleveurs de Prim'Holstein enquêtés (n=135) déclaraient avoir un problème de détection des chaleurs (Fréret *et al.*, 2006). Dans une autre enquête sur la pratique de détection des chaleurs (Détoestrus), les éleveurs évoquaient la difficulté, pour eux, de trouver du temps et de repérer des manifestations discrètes de chaleurs (Ponsart *et al.*, 2010). D'après ces 2 études, environ 67% des éleveurs déclaraient avoir au moins une période spécifique d'observation, mais ce nombre de passages quotidiens moyen n'était que de  $1,3 \pm 1,1$ , ce qui est inférieur aux recommandations.

L'étude Détoestrus a également permis de décrire 7 typologies d'éleveurs, d'après les signes qu'ils utilisent pour la détection des chaleurs (Ponsart *et al.*, 2010) :

- acceptation du chevauchement ou chevauchement,
- tous signes,
- acceptation du chevauchement et signes secondaires,
- acceptation du chevauchement ou glaires,
- acceptation du chevauchement uniquement,
- tous signes et planning,
- glaires uniquement.

On peut ainsi constater une très grande variabilité dans l'utilisation des signes de chaleurs, même si la majorité des éleveurs déclarait utiliser l'acceptation du chevauchement seul ou en combinaison avec les chevauchements ou les signes sexuels secondaires.

On considère que la sensibilité moyenne de la détection des chaleurs au moyen d'observations quotidiennes est d'environ 50%, alors que la spécificité est proche de 90% (Grimard *et al.*, 2005 cités par Chastant, 2012 ; Disenhaus, 2004 citée par Chastant, 2012). Mais, il est très probable que l'efficacité de la détection visuelle soit extrêmement variable d'un éleveur à l'autre.

Les éleveurs ont des logiques de détection des chaleurs assez diverses bien que l'acceptation du chevauchement reste à raison le comportement le plus utilisé par les éleveurs. De plus, ils ne passent dans leur élevage en moyenne que 1,3 fois par jour, et seulement les 2/3 d'entre eux en dehors des soins aux animaux, dans le but d'observer les chaleurs. En conséquence, malgré une bonne spécificité, la sensibilité de la détection visuelle des chaleurs est très variable. Les chaleurs d'une vache sur deux ne sont pas détectées aujourd'hui en élevage laitier français. Cette difficulté à détecter les chaleurs peut être source d'erreur et complique la prise de décision de l'éleveur.

Le dernier problème qui vient s'ajouter à l'équation est le délai entre l'observation de signes de chaleurs et l'IA. Ce délai va dépendre de la décision de l'éleveur d'appeler immédiatement l'inséminateur ou d'attendre confirmation des chaleurs par l'observation de signes supplémentaires et des contraintes de planning de l'inséminateur. Quelles sont les recommandations à ce sujet et comment cela se passe-t-il aujourd'hui ?

### 1.3 Fixer le moment de l'IA : entre traditions et innovations

La fixation du moment de l'IA par rapport aux chaleurs a été déterminée expérimentalement, il y a plus de 50 ans. C'est à partir de l'étude de Trimberger et Davis en 1943 que la règle utilisée encore aujourd'hui a été établie. Cette étude visant à déterminer le moment optimal pour inséminer par rapport aux chaleurs, a montré que les meilleurs taux de gestation (82,5% et 75%) étaient obtenus lorsque les IA étaient réalisées au milieu et en fin de la période des chaleurs, l'observation du premier comportement de chaleurs servant à définir le début des chaleurs (Trimberger et Davis, 1943 cités par Saumande, 2001) (tableau 1).

**Tableau 1** : Résultats de l'étude de Trimberger et Davis en 1943, tirés de Saumande, 2001

| Moment de l'IA               | Nombre d'animaux | Animaux gestants |      |
|------------------------------|------------------|------------------|------|
|                              |                  | Nombre           | %    |
| Début de l'œstrus            | 25               | 11               | 44   |
| Milieu de l'œstrus           | 40               | 33               | 82,5 |
| Fin d'œstrus                 | 40               | 30               | 75,0 |
| 6h après la fin de l'œstrus  | 40               | 25               | 62,5 |
| 12h après la fin de l'œstrus | 25               | 8                | 32,0 |
| 18h après la fin de l'œstrus | 25               | 7                | 28,0 |
| 24h après la fin de l'œstrus | 25               | 3                | 12,0 |
| 36h après la fin de l'œstrus | 25               | 2                | 8,0  |
| 48h après la fin de l'œstrus | 25               | 0                | 0    |

Trimberger a proposé en conséquence la règle d'insémination connue sous le nom de la règle des « douze heures » ou en anglais « a.m-p.m rule », c'est-à-dire que pour des chaleurs observées le matin, il convient d'inséminer dans l'après-midi, et, pour celles détectées l'après-midi, l'IA doit avoir lieu le lendemain matin (Saumande, 2001).

De façon surprenante, cette règle est encore utilisée aujourd'hui bien que cette étude ait été réalisée alors que le début des chaleurs n'a pas été déterminé de manière rigoureuse (observation des animaux seulement 3 fois par jour, puis toutes les 2 heures pendant les chaleurs afin de déterminer la fin des chaleurs) et que l'IA a été réalisée par un dépôt de sperme frais (et non congelé) dans le col de l'utérus (et non dans l'utérus comme c'est le cas aujourd'hui).

Depuis, plusieurs études ont été menées, avec des conditions expérimentales variées mais plus proches de ce qu'il est fait aujourd'hui en termes de réalisation de l'IA. Toutes ces études semblent montrer que la fertilité n'est pas altérée lorsque l'IA est réalisée entre 0 et 24 heures après le début des chaleurs, ce qui est différent de ce qu'ont observé Trimberger et Davis, car ces données multiples signifient que la fertilité est similaire si l'IA est faite au début des chaleurs (Foote, 1978 ; Gwazdauskas *et al.*, 1981 ; Nebel *et al.*, 1994 ; Saumande, 2001). Les résultats de certaines de ces études sont présentés en peu plus en détail, à titre d'exemple.

En 1994, Nebel *et al.* ont comparé les deux règles d'insémination suivante : la règle des « douze heures », d'une part et une période d'insémination unique par jour, fixée et toujours la même d'un jour sur l'autre, d'autre part. Ils n'ont pas observé de différence sur le taux de gestation entre les deux règles, quelque soit le délai entre le vêlage et l'IA.

De même, des génisses et des vaches de troupeaux appartenant à des organismes de recherche ont été inséminées avec du sperme congelé, soit immédiatement après l'observation d'une immobilisation lors du chevauchement, soit douze heures après. L'analyse statistique des résultats n'a pas mis en évidence de différence de réussite à l'IA selon la période d'insémination : respectivement 48,4% (n=492) et 52,8% (n=489) pour les inséminations précoces et tardives (Gwazdauskas *et al.*, 1981).

Déjà en 1978, une étude qui portait sur des inséminations réalisées avec du sperme frais à différents moments par rapport au début des chaleurs, était en faveur d'une insémination unique par jour. Que les animaux aient été observés en chaleurs pour la première fois le matin ou l'après-midi, seules les inséminations réalisées environ 24 heures après le début des chaleurs conduisaient à une baisse significative, mais limitée, de la fertilité (Foote, 1979).

Trimberger a également testé l'intérêt de prendre comme point de repère l'ovulation, au lieu du début des chaleurs, en étudiant l'impact du délai entre l'IA et l'ovulation sur le taux de gestation : les taux de gestation obtenus suite à une IA réalisée entre 7 et 24 heures avant l'ovulation étaient compris entre 73,3% et 85,7%. Ce qui signifie que les IA réalisées au début de la période des chaleurs (soit 24 heures avant l'ovulation) permettaient d'obtenir un taux de gestation similaire à celui obtenu avec des IA réalisées au milieu des chaleurs (Trimberger, 1948 cité par Saumande, 2001), résultat cohérent avec les conclusions des études précédemment citées.

Aujourd'hui, en France, seuls les ayants droits, cités ci-après, sont autorisés à inséminer. Il s'agit des vétérinaires, de l'éleveur dans son propre élevage, et des techniciens inséminateurs titulaires du Certificat d'aptitude aux fonctions de technicien d'insémination (CAFTI). La plus grande partie des inséminations en France est réalisée par les techniciens des coopératives d'insémination. La plupart des coopératives d'insémination se sont adaptées à la règle des douze heures et organisent deux tournées par jour dans leur clientèle. Mais essentiellement pour des raisons de coût, cette organisation est, aujourd'hui, remise en cause.

Une enquête de terrain récente évoquée plus haut (Fertilia) a montré que la règle des 12 heures n'était pas toujours strictement suivie. Cette enquête réalisée sur 2767 vaches a permis de calculer la répartition du délai entre l'observation du ou des signe(s) déclenchant l'appel et l'IA en élevage. Presque la moitié des vaches ont été inséminées dans un délai de 12 heures suite à l'observation des chaleurs, 28% entre 12 et 18 heures, 19% entre 18 et 24 heures et même 14% ont été inséminées dans un délai supérieur à 24 heures (Fréret *et al.*, 2008). Il n'y a que pour les IA réalisées plus de 24 heures après l'observation des signes de chaleurs déclenchant l'appel de l'inséminateur que le taux de gestation était dégradé (Fréret *et al.*, 2008), ce qui rejoint les résultats observés lors des études expérimentales. Ainsi, inséminer au début, au milieu ou à la fin de la période des chaleurs ne semble pas influencer significativement le taux de gestation.

Ainsi, à part la première étude de Trimberger et Davis (1943), l'ensemble des études conduisent à la même conclusion : l'insémination peut être réalisée à n'importe quel moment au cours des 24 heures qui suivent le début des chaleurs, sans que la fertilité n'en soit affectée. D'après les conclusions précédentes, les coopératives d'IA, pour des raisons financières, pourraient revoir leur système de fonctionnement et réduire leur fréquence de passage dans les fermes.

En résumé, les chaleurs ont longtemps servi de point de départ pour la détermination du moment de l'IA. Il convenait, selon une règle historique, « la règle des 12 heures », d'inséminer environ 12 heures après l'observation des chaleurs. Les coopératives d'IA se sont organisées en conséquence, proposant, dans la plupart des régions laitières de France, deux tournées d'insémination. Cependant, dans la littérature, peu d'auteurs appuient la nécessité du respect du délai de 12 heures proposé par Trimberger et Davis en 1943. De la même façon, en France, le délai entre l'observation des signes de chaleurs déclenchant l'appel de l'insémineur et l'IA s'étend, dans des proportions semblables, de 0 à environ 24 heures, sans que le taux de gestation n'en soit affecté. Une grande variabilité des recommandations quant à la fenêtre d'insémination optimale après les chaleurs est alors constatée.

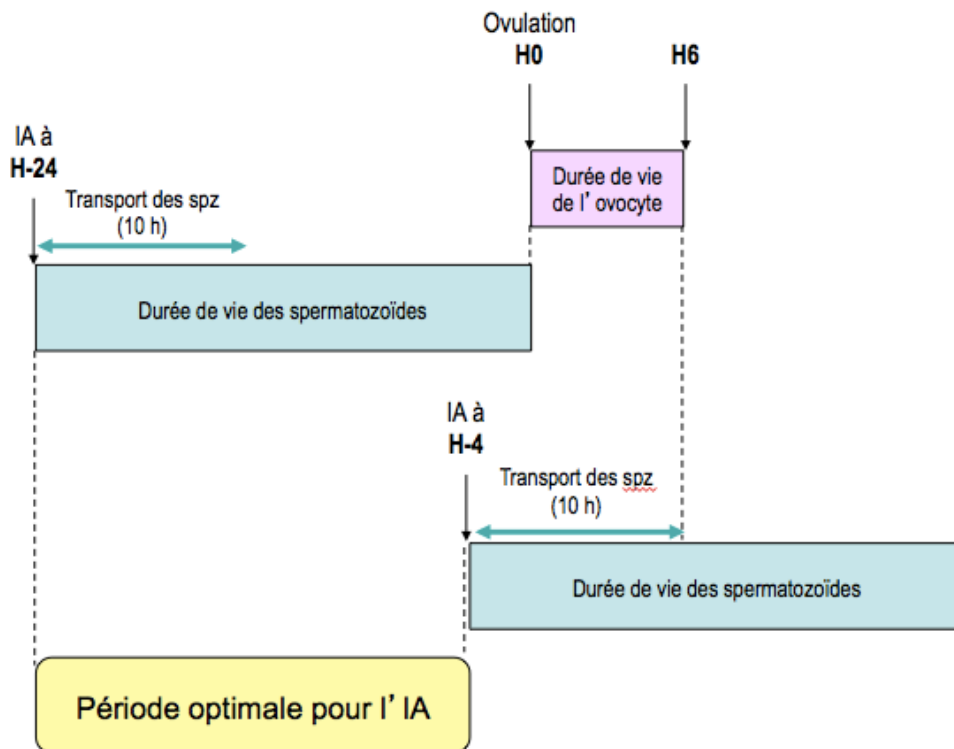
Comment peut-on expliquer physiologiquement l'étendue de la fenêtre optimale pour la réalisation de l'IA par rapport au début des chaleurs ?

Après l'ovulation, l'ovocyte a une durée de vie d'environ 6 heures. Au-delà, plusieurs anomalies peuvent apparaître et concernant surtout le cytosquelette. Ces anomalies peuvent conduire à l'incapacité à bloquer la polyspermie (plusieurs spermatozoïdes deviennent alors capables de le féconder concomitamment) ou à répartir les chromosomes équitablement lors de la fin de la méiose (Hunter et Greve, 1997). En cas de fécondation, elles peuvent ainsi être responsables de mortalité embryonnaire précoce.

Lors de l'IA, les spermatozoïdes décongelés sont déposés à l'entrée du corps utérin, après le col de l'utérus. Ceux-ci ont une durée de vie d'environ 24 heures, après quoi ils perdraient leur pouvoir fécondant (Roelofs, 2005 ; Saint-Dizier et Chastant, 2008 ; Mauffré *et al.*, 2013). Certains spermatozoïdes atteignent l'ampoule quelques minutes après le dépôt de la semence, mais ceux-ci ne seraient pas fécondants (Hawk, 1987 ; Rousseau et Ménézo, 1991). En effet, certaines modifications sont nécessaires pour permettre aux spermatozoïdes d'obtenir leur pouvoir fécondant : il s'agit de la capacitation. La capacitation nécessite le maintien dans les voies génitales femelles pendant environ sept heures (Tiret, 2008 ; Patrat et Serres, 2009). Ce délai (6 à 10 heures) correspond également au temps de transport des spermatozoïdes vers le site de la fécondation, l'oviducte.

En considérant qu'un spermatozoïde ne vit pas plus de 24 heures dans les voies génitales femelles, il est préférable de ne pas inséminer plus de 24 heures avant l'ovulation. La durée de remontée du tractus génital femelle par les spermatozoïdes étant de 10 heures et l'ovocyte ne survivant que 6 heures après l'ovulation, le dernier moment pour inséminer semble être 4 heures avant l'ovulation. Ainsi, la période optimale pour inséminer est entre 24 heures avant l'ovulation et 4 heures avant l'ovulation, soit durant un créneau de 20 heures (figure 1).

**Figure 1** Fenêtre optimale pour inséminer une vache



*La limite inférieure de la période optimale d'insémination artificielle (IA) (c'est-à-dire 24 heures (h) avant l'ovulation) est obtenue en prenant en compte la durée maximale de vie des spermatozoïdes (spz) dans le tractus génital femelle ; la limite supérieure de la période optimale d'insémination (c'est à dire 4 h avant l'ovulation) est obtenue en considérant la durée de vie de l'ovocyte et le temps de remontée des spermatozoïdes dans le tractus génital femelle.*

L'intervalle entre le début des chaleurs et l'ovulation apparaît extrêmement variable (Saumande, 2011). Au moins deux études ont utilisé des critères de définition des chaleurs strictes, avec des périodes d'observation fréquentes voire continues, permettant de définir de manière fiable le début des chaleurs. Dans la première, Saumande et Humblot (2005) ont observé un intervalle moyen de  $38,5 \pm 3,0$  heures avec des valeurs extrêmes de 28 et 61 heures. Dans la seconde, Bloch *et al.*, en 2006, ont noté une valeur moyenne de  $28,6 \pm 0,6$  heures, avec des intervalles de plus de 50 heures pour 7 vaches sur 73. Cette grande variabilité entre individus pourrait expliquer que la fenêtre optimale pour inséminer à partir du début des chaleurs soit assez large.

Cette variabilité trouverait son origine à plus de 80% dans le délai inconstant entre le début des chaleurs et le pic de LH (Saumande et Humblot, 2005). Ainsi, la détermination précise du pic de LH permettrait de prédire avec plus de certitude le moment de l'ovulation et de prévoir plus exactement le moment optimum pour inséminer (Rajamahendran *et al.*, 1989).

Le pic de LH a été étudié chez diverses espèces, dans la première moitié du siècle dernier. Les publications à ce sujet, notamment sur les différences de hauteur et de durée du pic de LH entre individus, sont difficilement accessibles. Néanmoins, certaines caractéristiques du pic de LH ont été décrites dans plusieurs études plus récentes réalisées chez la vache, permettant d'illustrer la variabilité du pic de LH (tableau 2). Néanmoins, certaines de ces études n'avaient pas vocation à établir un profil hormonal et certaines mesures peuvent manquer de précision. On constate à partir de ces études, que la concentration de LH délivrée au moment du pic variait en fonction des individus entre 4 et 30 ng/mL et que la durée du pic variait entre 5 et 12 heures. Des pics de plus de 20 heures ont même été observés dans l'étude de Rajamahendran *et al.* (1989). La variabilité de la durée du pic entre les études pourrait être liée à la définition du pic et à la méthode de dosage de la LH.

**Tableau 2** Caractéristiques du pic de LH obtenues chez la vache dans différentes études

| Références                         | Durée du pic de LH (heures) | Quantité de LH sécrétée au pic (ng/mL) |
|------------------------------------|-----------------------------|--|
| Rajamahendran <i>et al.</i> , 1989 | 23 à 31                     | 4,2 à 7,3                              |
| Bernard <i>et al.</i> , 1983       | <b>6 à 11</b>               | 7 à 22                                 |
| Roelofs, 2005                      | <b>5,1 à 11,9</b>           | <b>4,7 à 14,5</b>                      |
| Saumande et Humblot, 2005          | Non renseigné               | <b>4,4 à 29,3</b>                      |
| Bloch <i>et al.</i> , 2006         | 7,5 à 9                     | 4 à 9                                  |
| Ginther <i>et al.</i> , 2013       | 10                          | 12                                     |

*(Les données en gras ont été évaluées avec précision)*

Plusieurs auteurs ont également mesuré le délai entre le pic de LH et l'ovulation (tableau 3). Ce délai moyen variait environ entre 25 et 29 heures, avec des valeurs extrêmes comprises entre 21,5 et 41 heures. Bien que présentant malgré tout une certaine variabilité entre individus, ce délai apparaît comme moins variable que le délai entre le début des chaleurs et l'ovulation.

**Tableau 3** Délais entre le pic de LH et l'observation ovulation obtenus chez la vache dans différentes études

| Références                   | Délai pic de LH-ovulation (heures) |                      |
|------------------------------|------------------------------------|----------------------|
|                              | Valeurs extrêmes                   | Moyenne ± écart-type |
| Roelofs, 2005                | 21,5 à 27,5                        | 25,3 ± 0,6           |
| Saumande et Humblot, 2005    | 24 à 41                            | 29,4                 |
| Bloch <i>et al.</i> , 2006   | 24 ± 0,5 à 28,2 ± 3,2              | 25,5 ± 0,5           |
| Ginther <i>et al.</i> , 2013 | 23 à 29                            | 25,9 ± 0,5           |

*(Nous n'avons pas accès aux valeurs extrêmes dans l'étude de Bloch et al.,(2006) : seules étaient disponibles les moyennes par groupe de population et la moyenne générale.)*



Depuis des années, l'observation des chaleurs par détection visuelle est utilisée pour prévoir le moment de l'IA. Mais le délai entre le début des chaleurs et l'ovulation est très variable d'un animal à l'autre et dépendant de la bonne détection des chaleurs. Or, prévoir le moment de l'ovulation le plus précisément possible est nécessaire pour maximiser les chances de rencontre entre les gamètes ; en effet, l'ovocyte n'est fécondable que durant six heures. Aussi, la variabilité du délai « chaleurs-pic de LH » serait à 80% responsable de l'inconstance du délai « chaleurs-ovulation ». Détecter le pic de LH pourrait ainsi permettre de prévoir le moment de l'ovulation et de fixer le moment de l'insémination avec plus de précision. Le pic de LH se produit en moyenne entre 25 et 29 heures avant l'ovulation et dure entre 5 et 12 heures. L'objet de l'étude qui suit était donc d'évaluer l'intérêt d'un test utilisable en élevage permettant de détecter le pic de LH.

Rapport-Gratuit.com



## 2 Objectifs de l'étude

Le premier objectif de l'étude était de déterminer s'il était possible d'améliorer la fertilité des vaches françaises laitières de race Prim'Holstein en utilisant Predi'Bov® de manière systématique à chaque IA.

Le second objectif était de tester expérimentalement la fenêtre d'insémination qui est conseillée suite à un Predi'Bov® positif, afin de préciser la notice d'utilisation de Predi'Bov® dans le cadre de l'IA. Et, dans la même volonté de précision de l'utilisation de Predi'Bov® dans le cadre de l'IA, nous avons testé la concordance entre l'expression de certains comportements de chaleurs et l'apparition du pic de LH.

Toute l'étude s'est déroulée sur le terrain, dans des conditions réelles au contact des vétérinaires, des éleveurs et des cheptels du département du Pas-de-Calais.

## 3 Matériel et méthodes

### 3.1 Animaux

L'étude s'est déroulée de mars à octobre 2012, soit à la fin de la campagne d'IA 2011-2012 (la plupart des vaches vêlent d'août à mars).

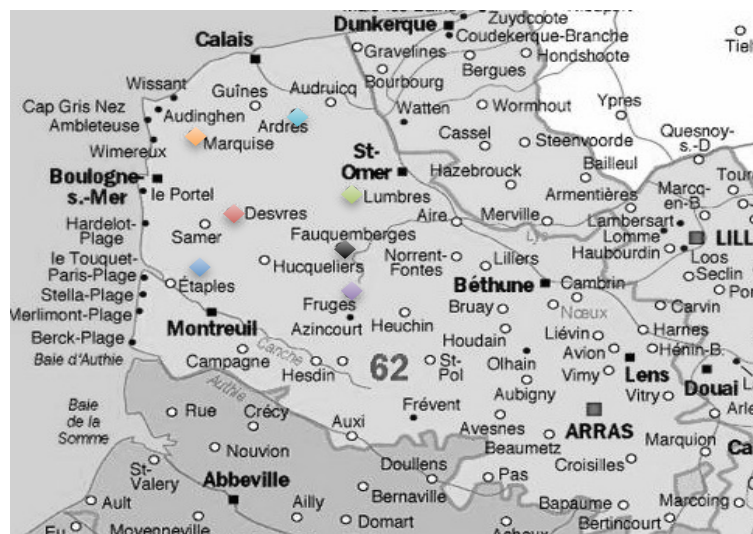
Toutes les vaches à plus de 70 jours *post-partum* et les génisses en âge de reproduire, de race Prim'Holstein, à inséminer entre le 8 mars et le 15 septembre ont été incluses dans l'étude, qu'elles aient ou non déjà été inséminées. Ces animaux provenaient de différents élevages.

Pour inclure une vache dans le protocole nous n'exigions pas un examen clinique de celle-ci, ni même l'examen du tractus génital femelle.

### 3.2 Vétérinaires et élevages

Sept vétérinaires ont participé à l'étude : Dr ST AMAND à Marquise, Dr JOLY à Lumbres, Dr MEURISSE à Desvres, Dr MEURISSE à Ardres, Dr VAN DEN BROECK à Saint Martin d'Hardinghem, Dr BOUCHEZ à Fruges, Dr MICHAUX à Frencq (figure 2).

**Figure 2** Carte du Pas-de-Calais et localisation des différents cabinets vétérinaires participant à l'étude



Le Dr ST AMAND est représenté en orange, le Dr JOLY en vert, le Dr MEURISSE Serge en rouge, Dr MEURISSE Aurélien en bleu turquoise, Dr VAN DEN BROECK en noir, Dr BOUCHEZ en violet, Dr MICHAUX en bleu foncé.

Chaque vétérinaire a sélectionné entre deux et cinq élevages parmi sa clientèle. Le choix des élevages a été laissé à leur libre arbitre, avec cependant les critères d'inclusion suivants : élevage laitier avec des vaches de race Prim'Holstein, détection des chaleurs basée sur l'observation visuelle des comportements ou aidée par un système de type podomètre et au moins un éleveur parmi les éleveurs désignés par chaque vétérinaire devant avoir le statut d'éleveur-inséminateur et pratiquer l'IA sur son propre cheptel.

### 3.3 Protocoles expérimentaux

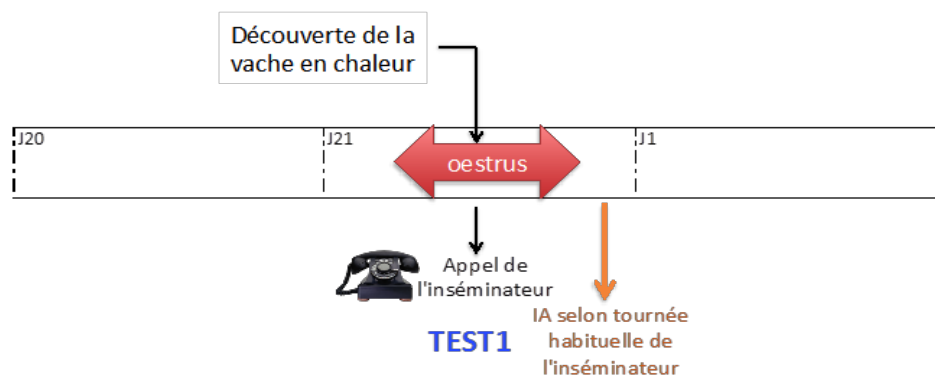
Pour répondre à nos objectifs, 2 lots ont été créés et ont été conduits différemment pour être comparés ; ils ont été nommés lots « témoin » et « traité », respectivement. Dans chaque élevage, la moitié des animaux inclus a été attribuée au lot témoin et l'autre moitié au lot traité. Il convenait d'avoir le même effectif dans les deux lots. Chaque animal ne devait participer qu'une fois à l'étude. Les documents explicatifs qui ont été distribués aux éleveurs sont disponibles en annexe (annexe 1).

#### 3.3.1 Lot témoin

La procédure appliquée au lot témoin a été construite de façon à ce qu'elle présente le moins de contraintes possible pour l'éleveur.

Dans ce lot témoin, l'éleveur ne devait rien changer à ses habitudes en matière de détection des chaleurs et de décision d'appeler l'inséminateur ou d'inséminer. Il devait seulement réaliser une prise de sang à l'animal et exécuter un Predi'Bov® (TEST 1) dès qu'il jugeait que la femelle était en chaleurs et qu'il décidait d'inséminer ou d'appeler l'inséminateur. Ensuite, sans tenir compte du résultat du test, l'animal était inséminé dans les délais coutumiers de l'éleveur ou de la coopérative d'insémination (figure 3).

**Figure 3** Déroulé de la procédure appliquée au lot témoin : cas d'une insémination réalisée par un inséminateur



*TEST 1 : Predi'Bov® 1*

#### 3.3.2 Lot traité

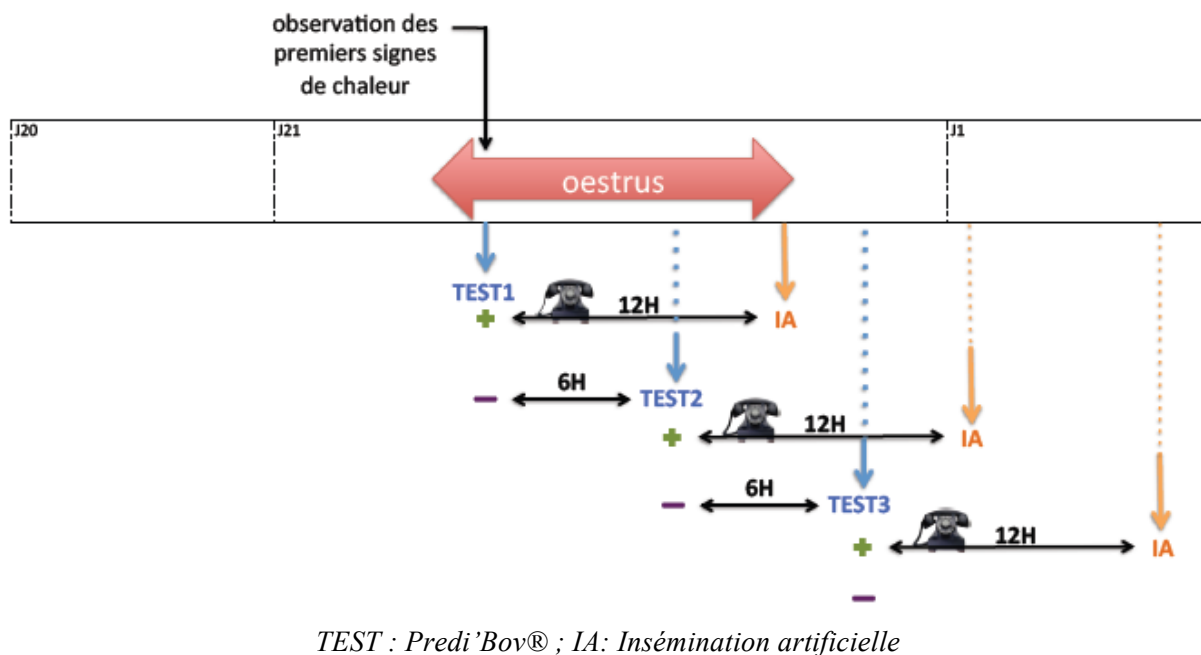
La procédure appliquée au lot traité permettait de tester l'intérêt d'utiliser le Predi'Bov® comme aide à la décision d'inséminer ou d'appeler de l'inséminateur, dans des conditions réelles. Le premier Predi'Bov® était réalisé dès que l'éleveur considérait que l'animal qu'il cherchait à inséminer était en chaleurs. Dans le cas d'une détection visuelle des chaleurs, aucune consigne n'a été donnée quant à la surveillance des chaleurs des bovins ou quant à leur définition. Dans le cas d'une utilisation d'une aide à la détection des chaleurs de type podomètre, le premier Predi'Bov® était pratiqué au moment de l'alerte délivrée par le système podométrique.

Suite à la première prise de sang et à la réalisation du premier Predi'Bov® (TEST1), l'éleveur tenait compte du résultat. Si le test était positif, il était impératif que la vache soit inséminée dans un délai de 10 à 14 heures. Si le test était négatif, une seconde prise de sang et un second test (TEST 2) pouvaient être réalisés dans un délai de 6 à 8 heures.

L'éleveur interprétait le test 2 de la même façon. Si le test était positif, l'insémination devait être pratiquée dans un délai de 10 à 14 heures ; sinon, une troisième prise de sang et un troisième test étaient réalisés (TEST 3) si l'éleveur le souhaitait, dans les 6 à 8 heures suivantes (figure 4). Deux tableaux ont été fournis aux éleveurs pour les aider à déterminer l'heure à laquelle il convenait d'inséminer ou de faire le test suivant, en fonction de l'heure de réalisation du test (annexes 2 et 3).

En cas de réponse négative, au bout de trois tests, le protocole n'incitait pas à la poursuite du raisonnement et à la pratique d'un quatrième test. Néanmoins, rien n'empêchait l'éleveur de réaliser une quatrième prise de sang et un quatrième test. De même, si tous les tests étaient négatifs, aucune consigne n'était donnée à l'éleveur concernant l'insémination ou non de l'animal.

**Figure 4** Déroulé de la procédure appliquée au lot traité : cas d'une insémination réalisée par un inséminateur 12 heures après un test positif



### 3.3.3 Prise de sang et Predi'Bov®

#### 3.3.3.1 Prise de sang

Le sang était prélevé à la queue, selon la technique habituelle, avec un vacutainer, une aiguille et un tube hépariné. Suite au prélèvement, l'éleveur retournait le tube 4 à 5 fois afin de mélanger l'héparine au sang. L'aiguille était changée entre chaque animal.

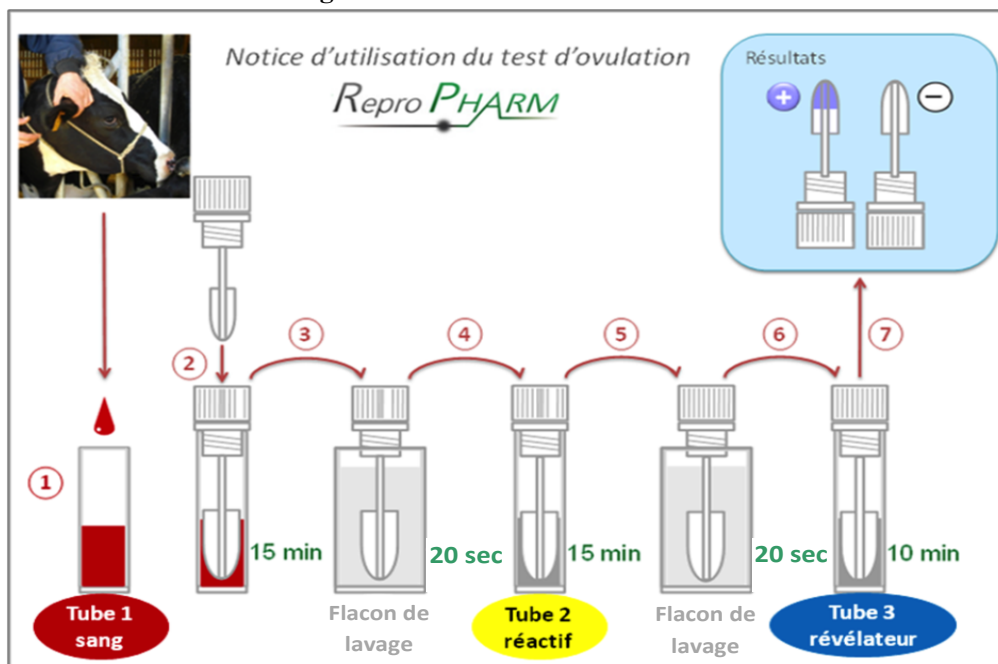
Si, pour une raison quelconque, le test était différé, le prélèvement devait être conservé au réfrigérateur.

### **3.3.3.2 Réalisation**

Pour réaliser un test de détection qualitative du pic de LH, l'éleveur suivait une procédure détaillée ci-dessous (figure 5), détaillée dans la notice d'utilisation du test:

- Sortir un test (3 tubes + 1 flacon) du réfrigérateur 30 minutes avant son utilisation.
- Sortir le stick du tube 1. Poser le stick à l'envers sur le bouchon en prenant garde de ne pas toucher ou souiller l'extrémité du stick.
- Déposer du sang dans le tube 1 jusqu'à la base de l'étiquette, soit 5 gouttes de sang ou environ 0,5 mL. Respecter précautionneusement cette limite et revisser le stick sur le tube.
- Laisser incuber au minimum 15 minutes (l'extrémité du stick doit être immergée dans le sang).
- Après 15 minutes d'incubation, sortir le stick du tube 1 et le secouer plusieurs fois afin d'enlever le maximum de sang.
- Plonger le stick dans le flacon de lavage, fermer le flacon, agiter le flacon pendant 20 secondes.
- Sortir le stick du flacon de lavage, le secouer plusieurs fois avant de le plonger dans le tube 2 (bouchon jaune).
- Laisser incuber au minimum 15 minutes (l'extrémité du stick doit être immergée dans le réactif).
- Après 15 minutes d'incubation, sortir le stick du tube 2 et le secouer plusieurs fois pour enlever le maximum de réactif.
- Plonger le stick dans le flacon de lavage, fermer le flacon, agiter le flacon pendant 20 secondes.
- Sortir le stick du flacon de lavage, le secouer plusieurs fois avant de le plonger dans le tube 3 (bouchon bleu).
- Laisser incuber au minimum 10 minutes (l'extrémité du stick doit être immergée dans le révélateur)

**Figure 5** Réalisation du test Predi'Bov®



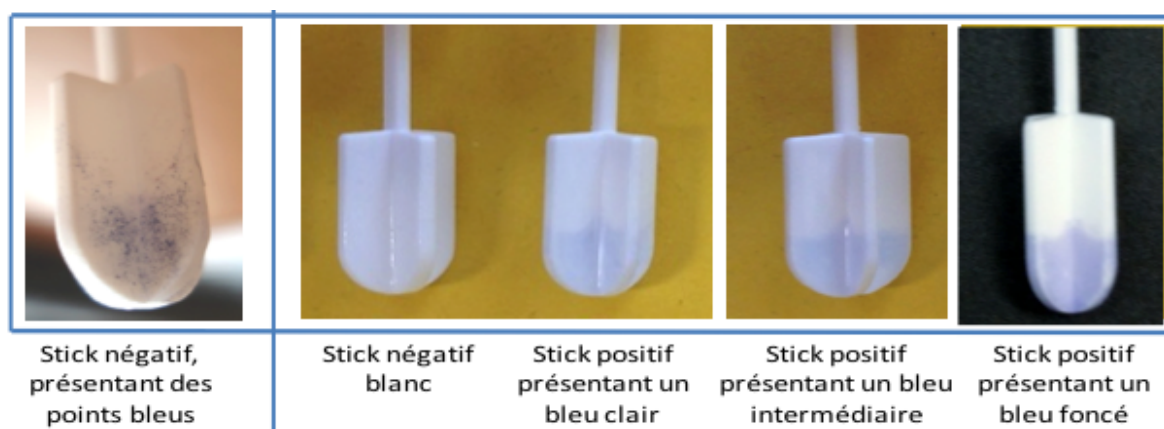
### 3.3.3.3 Lecture et interprétation

Après l'incubation de 10 minutes dans le révélateur et la sortie du stick du tube 3, la lecture du test pouvait être réalisée.

Si l'extrémité du stick apparaissait bleue, le test était positif. Cela signifiait que le pic de LH pré-ovulatoire avait lieu à ce moment. Au contraire si l'extrémité du stick était blanche, le test était négatif et le pic de LH était passé ou à venir.

Dans la notice du Predi'Bov® remise à l'éleveur, un nuancier de bleu permettait de définir la positivité d'un test. Ce nuancier est présenté ci-dessous (figure 6). De bleu clair à bleu foncé, le test était classé positif. S'il apparaissait blanc piqueté de bleu, l'éleveur devait le considérer comme négatif et était amené à recommencer le test immédiatement ; en effet, cette coloration apparaît suite à un mauvais rinçage.

**Figure 6** Grille de lecture et d'interprétation du Predi'Bov®



*D'après la notice d'utilisation du Predi'Bov®*

#### **3.3.3.4 Conservation du test**

Les Predi'Bov® devaient être conservés au réfrigérateur avant utilisation.

Suite à la réalisation du test, il a été demandé de congeler le stick et de l'identifier au nom de l'animal afin que nous puissions, dans un second temps et de façon systématique, contrôler la lecture et l'interprétation de celui-ci.

#### **3.3.3.5 Insémination artificielle**

L'IA était réalisée par l'éleveur ou par l'inséminateur, 10 à 14 heures après un test positif. Aucune consigne quant à la technique d'utilisation ou à propos du choix de la semence n'a été donnée au préalable. Il convenait néanmoins d'inséminer selon la technique usuelle, c'est-à-dire de déposer la semence décongelée 2 cm après le col de l'utérus. La décongélation de la semence était assurée par l'éleveur ou l'inséminateur selon leur habitude.

#### **3.3.3.6 Diagnostic de gestation**

Le diagnostic de gestation par échographie était accompli par les vétérinaires partenaires précédemment cités. Le délai séparant l'IA du diagnostic de gestation était *au minimum* de 35 jours ; il n'y avait pas de limite supérieure.

La gestation était diagnostiquée par échographie selon les critères habituels des vétérinaires participants. La recherche de l'embryon n'a pas été exigée.

#### **3.3.4 Enregistrement des données**

Deux tableaux d'enregistrement des données ont été conçus pour chaque procédure appliquée au lot témoin ou au lot traité. Ainsi, selon que l'animal appartenait au lot témoin ou au lot traité, le tableau d'enregistrement était différent. Ces tableaux sont disponibles en annexe 4. Un tableau a été rempli pour chaque animal inclus dans l'étude.

L'éleveur devait renseigner un certain nombre d'éléments permettant de comprendre le contexte de l'IA :

- Le numéro de travail de l'animal et son statut : parité, nombre de jours *post-partum*, date du dernier vêlage, *etc.*
- L'état corporel de l'animal. Pour l'évaluer, nous n'avons pas utilisé le système de notation habituel, le jugeant trop contraignant ; l'éleveur qualifiait simplement et, de façon subjective, l'état corporel de l'animal avec deux adjectifs « correct » ou « maigre ».
- L'état de santé du tractus génital. Pour appréhender celui-ci, l'éleveur devait informer du contrôle éventuel de l'animal lors d'un suivi de reproduction, de la difficulté du précédent vêlage, des troubles *post-partum* constatés (endométrite, non retour en chaleur...).
- Si un traitement hormonal avait été mis en place, la ou les molécules utilisée(s) ainsi que la date de fin du traitement devaient figurer dans le tableau d'enregistrement.

L'éleveur devait aussi renseigner tous les éléments concernant les chaleurs et l'IA, ces données étaient primordiales :

- Les signes qui ont amené l'éleveur à détecter la période d'œstrus devaient être rapportés, à l'aide d'un questionnaire à choix multiple, ainsi que la date et l'heure de l'observation du ou de ces comportements. Si les chaleurs étaient détectées par un



système d'aide à la détection des chaleurs de type podomètre, la date et l'heure de l'alerte, étaient à renseigner.

- La date et l'heure de la réalisation du Predi'Bov®, ainsi que son résultat était à relever. Dans le cadre du lot traité, il convenait de renseigner également si un second ou troisième test avait été nécessaire. Et, si tel avait été le cas, le résultat ainsi que la date et l'heure de la réalisation du test devaient être notés.
- L'heure et la date d'appel de l'inséminateur, de passage de l'inséminateur et de la réalisation de l'IA.
- La date et le résultat du diagnostic.

### **3.3.5 Collecte des données et suivi de l'étude**

Chaque élevage participant a été visité 2 à 3 fois, afin de faire le point sur l'utilisation du test et de recueillir les impressions et le ressenti des éleveurs. A cette occasion, nous avons récupéré quelques tableaux d'enregistrement. Le reste des données nous a été envoyé par courrier ou transmis *via* les vétérinaires partenaires.

### **3.3.6 Traitement des données et analyse statistique**

#### **3.3.6.1 Saisie des données**

Le contenu des tableaux d'enregistrement a été saisi dans un tableau avec le logiciel Microsoft Excel®.

#### **3.3.6.2 Tri des données**

Certains éleveurs n'ont pas respecté strictement les différentes procédures imposées. Nous avons donc exclu de notre étude certaines IA.

Nous nous sommes d'abord attachés au strict respect des procédures; par exemple, quand une vache faisant partie du lot témoin n'a pas été inséminée, le tableau d'enregistrement a été refusé. Nous avons agi de même, si une vache n'a pas été inséminée suite à un Predi'Bov® positif dans le lot traité.

Ensuite, si des données majeures étaient manquantes sur les tableaux d'enregistrement des données, nous ne prenions pas en considération l'IA ; les comportements de chaleur observés, la date et l'heure de l'observation des chaleurs et de la réalisation du Predi'Bov® et de l'IA, le résultat du diagnostic de gestation et du test...devaient, au *mimumum*, y figurer.

Enfin, chaque animal ne devait apparaître qu'une seule fois dans l'étude. Ainsi, lorsque que le même animal était présent dans les deux lots, il a été écarté de l'étude. De plus, si un même animal a été retrouvé plusieurs fois au sein d'un même lot, seule la première IA a été considérée.

#### **3.3.6.3 Analyse statistique**

##### **3.3.6.3.1 Description de l'échantillon**

Dans le but de décrire les deux lots et d'en vérifier la comparabilité, nous avons compté dans chaque lot le nombre de génisses, primipares, multipares et le nombre de vaches ayant reçu « un traitement hormonal pour induire l'IA ». Nous avons calculé la moyenne pour chaque lot « du nombre d'IA précédentes » et des « jours PP ». La possibilité de décrire de cette manière les lots a été fonction de la qualité du remplissage des tableaux d'enregistrement des données.

Puis, nous avons comparé entre les deux lots les pourcentages de génisses, primipares et multipares et les pourcentages d'animaux ayant été traités pour induire l'IA. Le test statistique du  $\chi^2$  a été utilisé car les variables « Parité » et « Traitement hormonal pour induire l'IA » sont qualitatives et que les effectifs dans chaque groupe étaient supérieurs à 5. Nous avons également comparé entre les deux lots le nombre moyen d'IA précédentes et nombre moyen de jours qui s'était écoulé depuis le part. Le test statistique de Student a été utilisé. En effet, les variables « Nombre d'IA précédentes » et « Jours PP » étant quantitatives, nous comparons des moyennes.

### 3.3.6.3.2 Comparaison des taux de gestation avec (lot traité) ou sans (lot témoin) l'utilisation de Predi'Bov® pour fixer l'IA et facteurs de confusion

Pour évaluer l'intérêt d'utiliser le Predi'Bov® comme aide à la décision d'insémination, nous avons comparé les taux de gestation obtenus dans chaque lot. Pour calculer le taux de gestation dans le lot traité, nous avons choisi de travailler *per protocole*, c'est-à-dire de calculer le taux de gestation à partir des données des individus strictement inséminés suite à un Predi'Bov® positif dans un délai de 10 à 14 heures. Pour comparer les taux de gestation, le test statistique du  $\chi^2$  a été utilisé.

Dans un contexte d'épidémiologie analytique et dans une démarche de mesure d'association, des odds ratio (OR) ont été calculés (Desquilbet, 2014). La significativité de l'OR a été évaluée en fonction de la présence ou de l'absence de 1 dans l'intervalle de confiance à 95%. Dans le but de savoir s'il existait une relation causale entre le type de lots et le taux de gestation, les facteurs de confusion potentiels ont été recherchés de la façon suivante :

- D'abord, identification des facteurs décrits dans la littérature *a priori* associés à un succès de gestation.
- Ensuite vérification des critères suivants pour reconnaître des facteurs comme des facteurs de confusions potentiels :
  - Les facteurs décrits dans la littérature ne devaient pas être une conséquence de la réussite de la gestation ou du fait d'appartenir au lot témoin ou traité.
  - Ils ne devaient pas être associés au taux de gestation avec un degré de significativité inférieur ou égal à 0,20.
  - Ils ne devaient pas être associés au fait d'appartenir au lot témoin ou au lot traité avec un degré de significativité inférieur ou égal à 0,20.

L'association entre la gestation avec les variables qualitatives (« Parité » et « Traitement hormonal pour induire l'IA ») a été testée par le test statistique du  $\chi^2$  et l'association avec les variables quantitatives (« Nombre d'IA précédentes » et « Jours PP ») a été testée par le test statistique de Student.

### 3.3.6.3.3 Calcul des taux de gestation dans chaque fenêtre d'insémination

Parmi les lots témoins et traités confondus, le nombre d'IA suite à un Predi'Bov® positif a été recensé et réparti en 5 catégories :

- IA entre 0 et 5 heures :  $0 \text{ H} \leq \text{IA} < 5 \text{ H}$  (intitulé IA suite PB+/0-5H),
- IA entre 5 et 10 heures :  $5 \text{ H} \leq \text{IA} < 10 \text{ H}$  (intitulé IA suite PB+/5-10H),
- IA entre 10 et 14 heures :  $10 \text{ H} \leq \text{IA} \leq 14 \text{ H}$  (intitulé IA suite PB+/10-14H),
- IA entre 14 et 21 heures :  $14 \text{ H} < \text{IA} < 21 \text{ H}$  (intitulé IA suite PB+/14-21H),
- IA après 21 heures :  $21 \text{ H} \leq \text{IA}$  (intitulé IA suite PB+/>21H).

Dans le lot traité, dans un souci de comparabilité avec le lot témoin, nous n'avons pas pris en compte les IA réalisées suite à un Predi'Bov® positif en deuxième ou troisième intention. En effet, dans le lot témoin les IA ont été effectuées suite à la réalisation d'un unique test. Nous avons alors écarté du lot traité toutes les IA réalisées suite à ces séquences : un Predi'Bov® négatif puis un Predi'Bov® positif ou deux Predi'Bov® négatifs puis un Predi'Bov® positif.

Le test statistique exact de Fischer a été utilisé pour comparer les taux de gestation entre les différentes fenêtres d'insémination. Le test statistique du Chi<sup>2</sup> n'a pas été utilisé car dans l'une des fenêtres d'IA, l'effectif était inférieur à 5.

#### 3.3.6.3.4 Comportement de chaleur et concordance avec le Predi'Bov®

Pour chaque comportement de chaleur exprimé, nous avons calculé le coefficient kappa qui quantifiait la concordance entre l'expression d'un comportement de chaleur et la survenue du pic de LH (Desquilbet, 2014). La question était de savoir si un comportement de chaleur donné était concomitant avec un Predi'Bov® positif. L'interprétation des valeurs du Kappa est rappelée dans le tableau 4.

**Tableau 4** Valeurs du kappa

| Kappa     | Interprétation              |
|-----------|-----------------------------|
| < 0       | Très mauvais (Poor)         |
| 0-0,20    | Mauvais (Slight)            |
| 0,21-0,40 | Passable (Fair)             |
| 0,41-0,60 | Moyenne (Moderate)          |
| 0,61-0,80 | Bonne (Substantial)         |
| 0,81-1,00 | Très bonne (Almost perfect) |

Pour calculer ce coefficient, nous avons travaillé uniquement sur les IA pour lesquelles le délai « observation des chaleurs - réalisation de la prise de sang » n'excédait pas deux heures.

#### 3.3.6.3.5 Degré de significativité

Tous les tests statistiques ont été réalisés en fixant le risque d'erreur de première espèce,  $\alpha$ , à 5%.

#### 3.3.6.4 Présentation des résultats

Les résultats ont été majoritairement présentés avec des tableaux et des graphiques réalisés à l'aide des logiciels Microsoft Excel® et Microsoft Word®.



## 4 Résultats

### 4.1 Description de l'échantillon

#### 4.1.1 Eleveurs participants, situation géographique et statut

Les sept vétérinaires participants ont recruté entre 1 et 7 éleveurs chacun. Au total, 29 élevages se sont portés volontaires pour tester le Predi'Bov®. Chaque cabinet a recruté le nombre d'élevages suivant :

- Dr JOLY: 7 élevages,
- Dr MEURISSE: 5 élevages,
- Dr MEURISSE: 4 élevages,
- Dr SAINT AMAND: 4 élevages,
- Dr BOUCHEZ: 1 élevage,
- Dr VAN DEN BROECK : 3 élevages,
- et Dr MICHAUX: 5 élevages.

Parmi ces éleveurs, 18 inséminaient eux-mêmes et étaient qualifiés « d'éleveur-inséminateur » et 5 étaient équipés d'un système d'aide à la détection des chaleurs de type podomètre. Nous n'avons pas questionné les éleveurs sur leur niveau d'étable ou leur quota laitier, sur l'alimentation qu'ils distribuaient aux animaux, ni même sur leur bâtiment d'élevage.

#### 4.1.2 Animaux

Dans chaque élevage, entre 3 et 56 tableaux d'enregistrement des données (TED) ont été récupérés (tableau 5). Pour les raisons exposées en matériel et méthodes, 154 cas ont été refusés.

**Tableau 5** Nombre de tableaux d'enregistrement des données (TED) récupérés et d'animaux retenus dans le lot témoin et le lot traité, en fonction de chaque éleveur

| Eleveurs     | Nombre de TED récupérés | Nombre final d'individus dans le lot témoin | Nombre final d'individus dans le lot traité | Nombre total et final d'individus |
|--------------|-------------------------|---|---|-----------------------------------|
| Eleveur n°1  | 9                       | 3   | 2   | 5                                 |
| Eleveur n°2  | 12                      | 7   | 5   | 12                                |
| Eleveur n°3  | 29                      | 9   | 8   | 7                                 |
| Eleveur n°4  | 21                      | 7   | 9   | 16                                |
| Eleveur n°5  | 41                      | 12  | 10  | 22                                |
| Eleveur n°6  | 21                      | 6   | 4   | 10                                |
| Eleveur n°7  | 3                       | 2   | 1   | 3                                 |
| Eleveur n°8  | 24                      | 11  | 5   | 16                                |
| Eleveur n°9  | 10                      | 7   | 3   | 10                                |
| Eleveur n°10 | 18                      | 8   | 7   | 15                                |
| Eleveur n°11 | 5                       | 3   | 2   | 5                                 |
| Eleveur n°12 | 7                       | 4   | 3   | 7                                 |
| Eleveur n°13 | 14                      | 5   | 5   | 10                                |
| Eleveur n°14 | 3                       | 1   | 2   | 3                                 |
| Eleveur n°15 | 12                      | 5   | 6   | 11                                |
| Eleveur n°16 | 9                       | 1   | 1   | 2                                 |
| Eleveur n°17 | 31                      | 9   | 10  | 19                                |
| Eleveur n°18 | 19                      | 6   | 9   | 15                                |
| Eleveur n°19 | 13                      | 8   | 2   | 10                                |
| Eleveur n°20 | 25                      | 7   | 8   | 15                                |
| Eleveur n°21 | 8                       | 2   | 2   | 4                                 |
| Eleveur n°22 | 11                      | 4   | 6   | 10                                |
| Eleveur n°23 | 11                      | 1   | 7   | 8                                 |
| Eleveur n°24 | 7                       | 4   | 3   | 7                                 |
| Eleveur n°25 | 56                      | 16  | 13  | 29                                |
| Eleveur n°26 | 27                      | 4   | 8   | 12                                |
| Eleveur n°27 | 6                       | 3   | 2   | 5                                 |
| Eleveur n°28 | 22                      | 13  | 9   | 22                                |
| Eleveur n°29 | 4                       | 2   | 2   | 4                                 |
| Total        | 478                     | 170   | 154   | 324                               |

Parmi les 154 cas exclus (tableau 6), 27 concernaient des animaux présents dans le lot témoin et dans le lot traité; ceux-ci étaient donc témoins et exposés et ont été exclus. Certains TED (25 dans le lot témoin et 31 dans le lot traité) correspondaient à des IA réalisées pour la deuxième ou troisième fois à quelques semaines d'intervalle, sur des animaux déjà entrés en protocole : seul le TED correspondant à la première IA a été conservé.

Douze cas ont été exclus pour absence d'IA : 10 dans le lot témoin (dont 5 suite à un Predi'Bov® positif), or il était impératif qu'il y ait une IA, quelque soit le résultat du Predi'Bov® ; et 2 dans le lot traité car l'IA n'a pas été effectuée malgré un test positif.

Enfin de nombreux TED étaient mal renseignés et ne nous permettaient pas de conclure ou d'utiliser les données :

- absence de diagnostic de gestation : 13 cas dans le lot témoin et 9 dans le lot traité,
- méthode de détection des chaleurs non renseignée : 2 cas dans le lot témoin et 4 cas dans le lot traité,
- heure et date de la réalisation du Predi'Bov® et/ou de l'IA non renseignées : 2 cas dans le 1 lot témoin et 1 cas dans le lot traité.

Enfin, 1 cas pour lesquels deux IA ont été réalisées à quelques heures d'intervalle sur le même animal dans le cadre du lot traité, ont été exclus.

**Tableau 6** Causes d'exclusion de tableaux d'enregistrement des données (TED) et nombre final de cas retenus dans les lots témoin et traité

|   | Lot témoin | Lot traité | Totaux |
|---|------------|------------|--------|
| Nombre de TED récupérés   | 249        | 229        | 478    |
| Témoins et exposés  | 27         | 27         | 54     |
| Plusieurs IA sur le même individu au sein du même lot                             | 25         | 31         | 56     |
| Pas d'IA suite à un test +  | 5          | 2          | 7      |
| Pas d'IA suite à un test -  | 5          | SO         | 5      |
| Pas de DG   | 13         | 9          | 22     |
| Détection des chaleurs non renseignée   | 2          | 4          | 6      |
| Date et heure de l'IA et/ou du test non renseignées                               | 2          | 1          | 3      |
| 2 IA à 12 heures d'intervalle sur le même animal                                  | 0          | 1          | 1      |
| Nombre total de TED pris en compte i-e nombre final d'individus dans l'expérience | 170        | 154        | 324    |

SO : Sans objet ; DG : Diagnostic de gestation ; IA : Insémination artificielle ; TED : tableau d'enregistrement des données

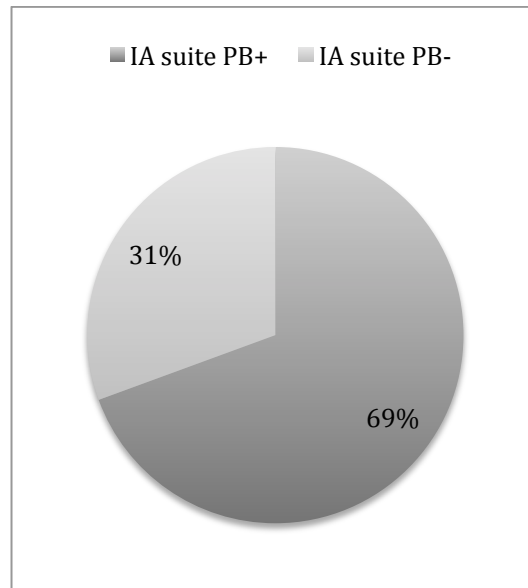
Ont donc été retenus 324 TED qui ont été analysés : 170 dans le lot témoin et 154 dans le lot traité, correspondant, après tri des données, à 170 vaches dans le lot témoin et 154 dans le lot traité.

#### 4.1.3 Résultats des Predi'bov® et IA

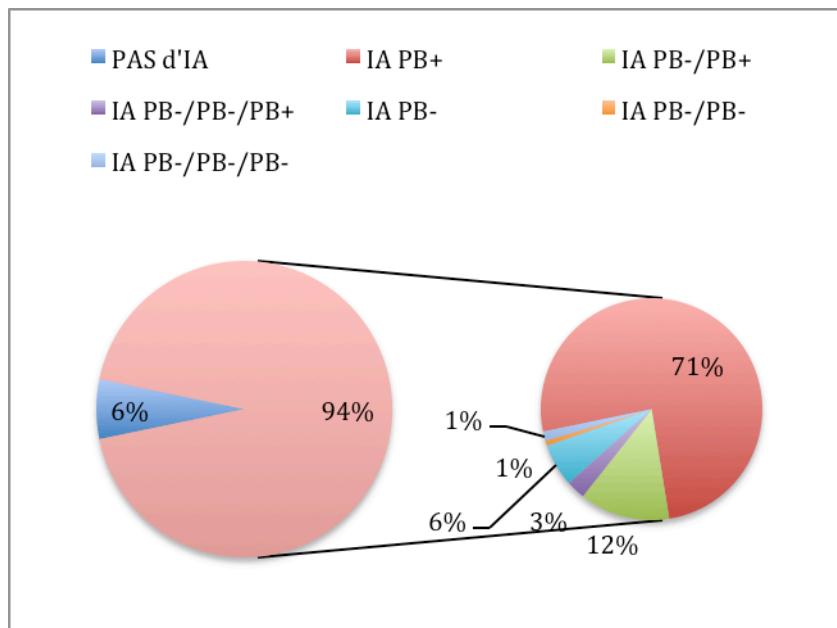
Dans le lot témoin, 170 IA ont été réalisées « en aveugle ». Les résultats des Predi'Bov® réalisés sur ces animaux étaient : 118 positifs (soit 69% des IA) et 52 négatifs (soit 31% des IA) (figure 7). Parmi ces tests, seuls 57 ont été contrôlés par nos soins (35 positifs et 22 négatifs) ; les autres tests n'ont pu être contrôlés car les éleveurs ne les avaient pas conservés.

Dans le lot traité, 154 animaux ont été retenus pour l'analyse. Huit n'ont pas été inséminés suite à 1, 2 ou 3 Predi'Bov® négatifs (6%) (figure 8). Parmi les animaux inséminés, 132 l'ont été suite à un test positif dont 109 dès le premier test (71% des animaux), 19 (12%) après le second test (le premier était négatif) et 4 (3%) après le 3<sup>ème</sup> test (les 2 premiers étaient négatifs). Quatorze animaux (9%) ont été inséminés malgré 1 à 3 Predi'Bov® négatifs. Seuls 52 tests ont été contrôlés par nos soins ; les autres tests n'ont pu être contrôlés car les éleveurs ne les avaient pas conservés.

**Figure 7** Répartition des inséminations artificielles réalisées dans le cadre du lot témoin selon le résultat du Predi'bov® (PB+ : test positif, PB- : test négatif)



**Figure 8** Répartition des animaux du lot traité selon la réalisation ou non d'une insémination artificielle (IA), le nombre et le résultat des Predi'bov® (PB+ : test positif, PB- : test négatif)

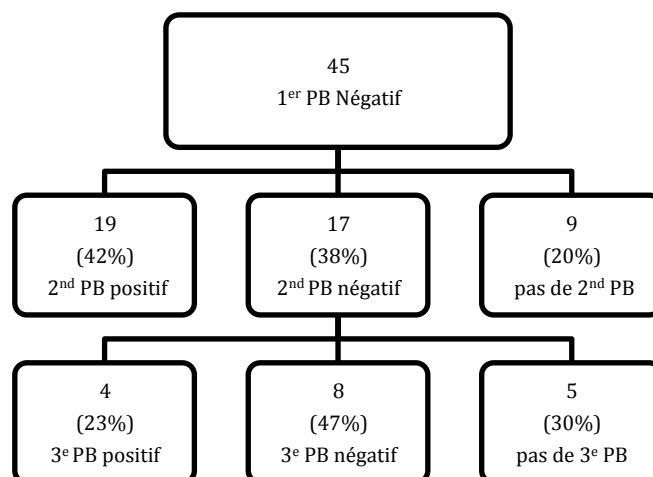


Dans le lot traité, 45 femelles sur 154 (29%) ont présenté un premier Predi'Bov® négatif. Parmi celles-ci, 9 d'entre elles n'ont pas été sujettes à un second test, soit 20%, 19 ont présenté un second Predi'Bov® positif (42%) et 17 un second test négatif (38%).

Parmi les 17 seconds tests négatifs, 5 n'ont pas été suivis par un troisième Predi'Bov® (30%). Huit troisièmes tests se sont avérés négatifs (47%) et 4 positifs (23%) (figure 9).



**Figure 9** Devenir des animaux avec un premier Predi'Bov® (PB) négatif dans le lot traité



Parmi les 36 seconds Predi'Bov® réalisés, 22 l'ont été dans le délai préconisé (6-8 heures après le premier test) et 5 ont été effectués plus de 8 heures après le premier Predi'Bov®. Seul un troisième Predi'Bov a été exécuté plus de 8 heures après le précédent, 10 l'ont été dans le délai indiqué.

#### **4.1.4 Qualité de l'enregistrement par l'éleveur des données « secondaires » et caractéristiques des lots**

Aucun éleveur n'a rempli complètement les tableaux d'enregistrement des données des lots témoin et traité. Le taux de non réponse variait selon le renseignement. Ainsi, les informations concernant « l'état corporel », « le suivi de reproduction » ou « les maladies *post-partum* » ont été peu renseignées (tableau 7). Pour ces informations, le taux de non réponse était respectivement de 61%, 86% et 86% pour les lots témoin et traité confondus.

**Tableau 7** Taux de non réponse aux informations concernant l'historique de la vache

|                         | Informations à renseigner | "Parité" | "Jours PP" | "Etat corporel de la vache" | "Nombre d'IA précédentes" | "Vache en suivi de reproduction" | "Maladie PP" | "Traitement hormonal pour induire l'IA" |
|-------------------------|---------------------------|----------|------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------|---|
| Lot traité              | Nbr TED total             | 170      | 170        | 170                         | 170                       | 170                              | 170          | 170                                     |
|                         | Nbr TED non complétés     | 5        | 0          | 106                         | 17                        | 144                              | 146          | 42                                      |
|                         | Taux de non réponse       | 3%       | 0%         | 62%                         | 10%                       | 85%                              | 86%          | 25%                                     |
| Lot témoin              | Nbr TED total             | 154      | 154        | 154                         | 154                       | 154                              | 154          | 154                                     |
|                         | Nbr TED non complétés     | 3        | 0          | 91                          | 22                        | 136                              | 133          | 38                                      |
|                         | Taux de non réponse       | 2%       | 0%         | 59%                         | 14%                       | 88%                              | 86%          | 25%                                     |
| Lot traité + Lot témoin | Nbr TED total             | 324      | 324        | 324                         | 324                       | 324                              | 324          | 324                                     |
|                         | Nbr TED non complétés     | 8        | 0          | 197                         | 39                        | 280                              | 279          | 80                                      |
|                         | Taux de non réponse       | 2%       | 0%         | <b>61%</b>                  | 12%                       | <b>86%</b>                       | <b>86%</b>   | 25%                                     |

*IA : insémination artificielle ; TED : tableau d'enregistrement des données ; en gras taux de non réponse retenant notre attention ; PP : post-partum*

A notre connaissance, grâce aux données renseignées, 42 génisses participaient à l'étude : 20 dans le lot témoin et 22 dans le lot traité. Les primipares étudiées étaient au nombre de 56 dans le lot témoin et 47 dans le lot traité. Il y avait 162 multipares dans l'échantillon : 89 dans le lot témoin et 73 dans le lot traité. Les individus du lot témoin se situaient en moyenne à  $143 \pm 69$  jours *post-partum* ; ceux du lot traité à  $147 \pm 71$  jours. Les animaux du lot témoin ont eu précédemment  $1,0 \pm 1,3$  IA et ceux du lot traité,  $1,2 \pm 1,4$  IA. Quatre individus ont reçu un traitement hormonal dans le lot témoin contre 11 dans le lot traité. La parité, le nombre de jours PP et le nombre d'IA précédentes n'étaient pas significativement différents entre les lots ; les lots sont donc comparables sur ces critères. Cependant, plus de vaches ont reçu un traitement hormonal dans le lot traité (11%) que dans le lot témoin (4%) ( $p=0,038$ ) (tableau 8).

**Tableau 8** : Caractéristiques des lots témoin et traité

|                          | Parité                 |                          |                          | Jours <i>post-partum</i> (moyenne $\pm$ écart-type) | Nombre d'IA précédentes (moyenne $\pm$ écart-type) | Nombre de vaches ayant reçu un traitement hormonal pour induire l'IA (%) |
|--------------------------|------------------------|--------------------------|--------------------------|---|--|--|
|                          | Nombre de génisses (%) | Nombre de primipares (%) | Nombre de multipares (%) |   |  |  |
| Lot témoin               | 20 (12%)               | 56 (34%)                 | 89 (54%)                 | $143 \pm 69$  | $1 \pm 1,3$  | 4 (4%)   |
| Lot traité               | 22 (15%)               | 47 (34%)                 | 73 (51%)                 | $147 \pm 71$  | $1,2 \pm 1,4$                                      | 11 (11%)   |
| Degré de significativité | p=0,7                  |                          |                          | p=0,68  | p=0,35   | <b>p=0,038</b>   |

*IA : insémination artificielle ; en gras  $p < 0,05$*

## 4.2 Analyse des taux de gestation

### 4.2.1 Comparaison des taux de gestation dans les deux lots

Dans le lot témoin, parmi les 170 femelles inséminées, 86 ont été diagnostiquées gestantes, soit 51% des animaux (intervalle de confiance à 95% (IC95) = [43% ; 58%]) (tableau 9).

Dans le lot traité, 89 femelles ont été inséminées suite à un Predi'Bov® positif dans un délai de 10 à 14 heures. Parmi ces 89 IA, 41 ont été diagnostiquées gestantes, soit un taux de gestation de 46% (IC95 = [36% ; 56%]) (tableau 9).

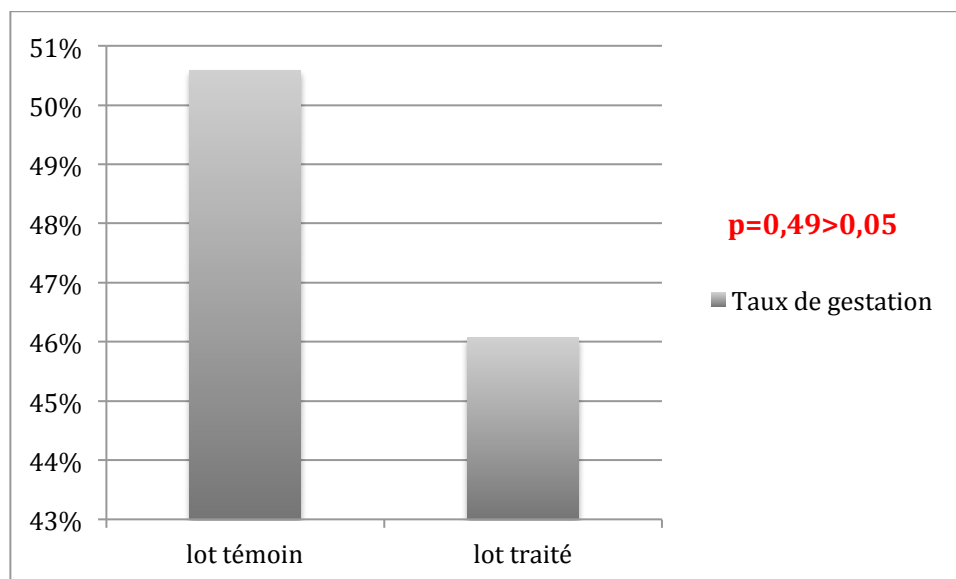
**Tableau 9** Taux de gestation observés dans chaque lot

|            | Nombre d'IA réalisées | Taux de gestation | IC95        | Degré de significativité | Odds ratio (OR) | IC95 de l'OR     |
|------------|-----------------------|-------------------|-------------|--------------------------|-----------------|------------------|
| Lot témoin | 170                   | 51%               | [43% ; 58%] | p=0,49                   | OR = 0,8        | IC95 = [0,5-1,4] |
| Lot traité | 89                    | 46%               | [36% ; 56%] |                          |                 |                  |

*IC95 : intervalle de confiance à 95% ; OR : Odds ratio ; IA : insémination artificielle*

D'après le test du Chi<sup>2</sup>, le pourcentage d'individus gestants dans le lot témoin (51%) n'était pas significativement différent du pourcentage d'individus gestants suite à une insémination 10-14 heures après un Predi'Bov® positif dans le lot traité (46%) (p = 0,49) (figure 10 et tableau 9)

**Figure 10** Comparaison des taux de gestation entre les deux lots



L'association brute entre le fait d'être inséminée 10 à 14 heures après un premier Predi'Bov® positif et le fait d'être gestante n'était pas significative (OR = 0,8 ; IC95 = [0,5-1,4]) (p=0,49) (tableau 9).

Les facteurs retenus qui étaient associés dans la littérature à la gestation étaient :

- La parité,
- Le nombre de jours *post-partum* auquel se situe l'animal,
- La présence de maladies en *post-partum*,
- La mise en place d'un traitement hormonal,
- L'état corporel,
- Le contrôle par un vétérinaire du tractus génital avant la mise à la reproduction.

Toutefois, comme précédemment annoncé, ces données n'ont pas été renseignées de façon optimale.

Par conséquent, nous avons uniquement testé l'association à la gestation des facteurs (rang de parité, jours *post-partum*, traitement hormonal, nombre d'IA précédentes) pour lesquels nous disposions des données (tableau 10). Les critères « jours PP » et « traitement hormonal » n'étaient pas associés (respectivement p=0,33 et p=0,80) dans l'échantillon à la gestation ; ce ne sont pas des facteurs de confusion potentiel dans notre échantillon. Les critères « parité » et « nombre d'IA précédentes » remplissaient les deux premières, conditions citées en matériel et méthodes, pour devenir facteurs de confusion potentiel dans notre échantillon (respectivement p=0,17 et p=0,02). Cependant, d'après le tableau 8, ces deux critères ne sont pas associés à l'appartenance à un lot (respectivement p=0,7 et p=0,35). La « parité » et le « nombre d'IA précédentes » n'étaient donc pas des facteurs de confusion potentiel dans notre échantillon.

**Tableau 10** Détermination des facteurs de confusion potentiels

|                             | Parité                          |                                |                                | Jours <i>post-partum</i><br>(moyenne<br>± écart-<br>type) | Nombre<br>d'IA<br>précédentes<br>(moyenne±<br>écart-type) | Nombre<br>de vaches<br>ayant reçu<br>un<br>traitement<br>hormonal<br>pour<br>induire<br>l'IA (%) |
|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|---|--|
|                             | Nombre<br>de<br>génisses<br>(%) | Nombre de<br>primipares<br>(%) | Nombre de<br>multipares<br>(%) |   |   |  |
| Gestation                   | 21(13%)                         | 61(40%)                        | 72(47%)                        | 140 ± 66  | 0,8 ± 1,2   | 8 (7%)   |
| Non<br>gestation            | 21(14%)                         | 42(27%)                        | 90(59%)                        | 150 ± 71  | 1,3 ± 1,5   | 7 (6,7%)   |
| Degré de<br>significativité | p=0,17                          |                                |                                | p=0,33  | p=0,02  | p=0,8  |

IA : insémination artificielle

#### 4.2.2 Comparaison des taux de gestation selon la fenêtre d'insémination

Les taux de gestation n'étaient significativement pas différents entre les différentes fenêtres d'insémination (0-5 H, 5-10 H, 10-14 H, 14-21 H et > 21 H) ( $p=0,17$ ). Le taux de gestation le plus élevé a été observé pour les IA réalisées entre 14 et 21 heures après un Predi'Bov® positif (60%) et le plus faible pour les IA réalisées entre 0 et 5 heures après (18%) (tableau 11 et figure 12).

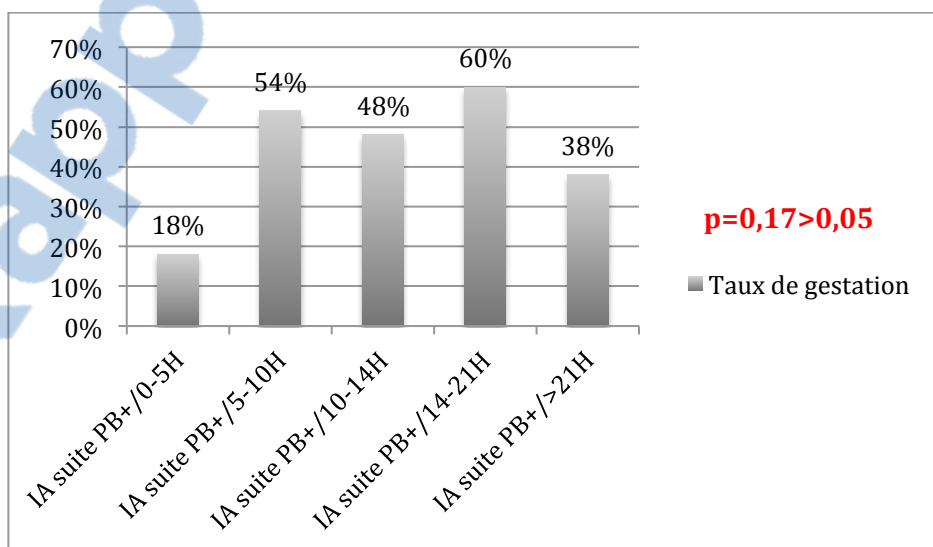
Dans le lot témoin 64 IA (54%) ont été effectuées dans un délai de 10 à 14 heures suite à un Predi'bov® positif contre 78 (72%) dans le lot traité (tableau 11).

**Tableau 11** Taux de gestation selon la fenêtre d'insémination

|                          | IA suite PB+ / 0-5H | IA suite PB+ / 5-10H | IA suite PB+ / 10-14H | IA suite PB+ / 14-21H | IA suite PB+ / >21H | IA suite PB+ total |
|--------------------------|---------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|
| Nombre d'IA (lot témoin) | 7                   | 15                   | 64                    | 17                    | 13                  | 118                |
| DG+(lot témoin)          | 2                   | 10                   | 34                    | 9                     | 3                   | 58                 |
| Nombre d'IA (lot traité) | 4                   | 11                   | 78                    | 8                     | 8                   | 109                |
| DG+ (lot traité)         | 0                   | 4                    | 34                    | 6                     | 5                   | 49                 |
| Nombre total d'IA        | 11                  | 26                   | 142                   | 25                    | 21                  | 227                |
| Nombre total DG+         | 2                   | 14                   | 68                    | 15                    | 8                   | 107                |
| Taux de gestation        | 18%                 | 54%                  | 48%                   | 60%                   | 38%                 |                    |
| IC95                     | 0-41%               | 35-73%               | 40-56%                | 41-79%                | 17-59%              |                    |

IA : insémination artificielle ; DG+ : diagnostic de gestation positif ; IC95 : intervalle de confiance à 95% ; PB+ : Predi'Bov® positif ; en police réduite : les nombres qui ont permis d'établir les pourcentages d'intérêt.

**Figure 11** Taux de gestation selon la fenêtre d'insémination



IA : insémination artificielle ; PB+ : Predi'Bov® positif

### 4.3 Expression des chaleurs et pic de LH

La concordance entre un comportement de chaleur donné et la survenue d'un pic de LH a été jugée « très mauvaise » à « mauvaise » (coefficients kappa de concordance compris entre -0,08 et 0,02) (tableau 12). Ainsi, aucun des comportements de chaleur analysé n'a pu être associé au pic de LH.

**Tableau 12** Concordance entre les comportements de chaleur exprimés et le pic de LH

|                |   | Oreilles             |        | Flairage ano-vulvaire |        | Flairage corps     |        | Se frotte contre    |        |
|----------------|---|----------------------|--------|-----------------------|--------|--------------------|--------|---------------------|--------|
|                |   | Présent              | Absent | Présent               | Absent | Présent            | Absent | Présent             | Absent |
| PB             | + | 42                   | 173    | 30                    | 185    | 21                 | 194    | 17                  | 198    |
|                | - | 17                   | 26     | 4                     | 39     | 3                  | 40     | 6                   | 37     |
| Kappa [IC95]   |   | -0,08[-0,14 ; -0,03] |        | 0,02[-0,02 ; 0,06]    |        | 0,01[-0,02 ; 0,04] |        | -0,02[-0,06 ; 0,01] |        |
| Interprétation |   | Très mauvais         |        | Mauvais               |        | Mauvais            |        | Très mauvais        |        |

|                |   | Meugle              |        | Menton sur croupe |        | Menton sur corps    |        | Coups de tête       |        |
|----------------|---|---------------------|--------|-------------------|--------|---------------------|--------|---------------------|--------|
|                |   | Présent             | Absent | Présent           | Absent | Présent             | Absent | Présent             | Absent |
| PB             | + | 50                  | 165    | 36                | 179    | 14                  | 201    | 27                  | 188    |
|                | - | 12                  | 31     | 9                 | 34     | 8                   | 35     | 7                   | 36     |
| Kappa [IC95]   |   | -0,02 [-0,08; 0,04] |        | -0,02[0,06; 0,03] |        | -0,04[-0,08; -0,01] |        | -0,01[-0,06; -0,03] |        |
| Interprétation |   | Très mauvais        |        | Très mauvais      |        | Très mauvais        |        | Très mauvais        |        |

|                |   | Diminution appétit |        | Glaire à la vulve |        | Acceptation chevauchement |        | Chevauche          |        |
|----------------|---|--------------------|--------|-------------------|--------|---------------------------|--------|--------------------|--------|
|                |   | Présent            | Absent | Présent           | Absent | Présent                   | Absent | Présent            | Absent |
| PB             | + | 3                  | 212    | 53                | 162    | 116                       | 99     | 134                | 81     |
|                | - | 1                  | 42     | 11                | 32     | 22                        | 21     | 30                 | 13     |
| Kappa [IC95]   |   | 0[-0,02; 0,01]     |        | 0[-0,06; 0,05]    |        | 0,02[-0,08; 0,11]         |        | -0,05[-0,16; 0,06] |        |
| Interprétation |   | Mauvais            |        | Mauvais           |        | Mauvais                   |        | Très mauvais       |        |

|                |   | Evite/fuit           |        | Bouscule            |        | Agitation/Nervosité |        | Plus de temps debout |        |
|----------------|---|----------------------|--------|---------------------|--------|---------------------|--------|----------------------|--------|
|                |   | Présent              | Absent | Présent             | Absent | Présent             | Absent | Présent              | Absent |
| PB             | + | 6                    | 209    | 36                  | 179    | 88                  | 127    | 34                   | 181    |
|                | - | 5                    | 38     | 10                  | 33     | 20                  | 23     | 13                   | 30     |
| Kappa [IC95]   |   | -0,03 [-0,05; -0,01] |        | -0,03 [-0,07; 0,02] |        | -0,03[-0,11; 0,05]  |        | -0,06[-0,11; -0,01]  |        |
| Interprétation |   | Très mauvais         |        | Très mauvais        |        | Très mauvais        |        | Très mauvais         |        |

|                |   | Podomètre          |        | Diminution P° laitière |        |
|----------------|---|--------------------|--------|------------------------|--------|
|                |   | Présent            | Absent | Présent                | Absent |
| PB             | + | 15                 | 200    | 17                     | 198    |
|                | - | 1                  | 42     | 3                      | 40     |
| Kappa [IC95]   |   | 0,02 [-0,01; 0,04] |        | 0 [-0,03; 0,03]        |        |
| Interprétation |   | Mauvais            |        | Mauvais                |        |

IC95 : intervalle de confiance à 95% ; PB : Predi'Bov® ; P° : production

## 5 Discussion

Je commencerai par souligner l'originalité de cette étude expérimentale. En effet, bien que le pic de LH soit reconnu depuis longtemps comme un élément important à considérer pour prédire l'ovulation, aucune étude à notre connaissance n'en avait encore mesuré l'efficacité (Bernard *et al.*, 1983 ; Rajamahendran *et al.*, 1989 ; Roelofs, 2005).

Les outils à notre portée pour doser la LH étaient, jusqu'à présent, destinés à un usage exclusivement en laboratoire. La société Repropharm a proposé un dosage qualitatif, réalisable cette fois au chevet de l'animal, dans une volonté d'innovation.

### 5.1 Difficultés liées à l'étude

Nous étions initialement très dubitatifs quant au strict respect des procédures ; en effet l'éleveur devait répéter les prélèvements de sang à des intervalles n'excédant pas 8 heures et respecter le moment de l'IA fixé par un test positif. De plus, le Predi'Bov® ne donnait un résultat qu'au bout de 40 minutes ce qui n'était pas immédiat et pouvait sembler long pour l'utilisateur. Enfin, comme le soulignait Roelofs, doser la LH présente un inconvénient majeur en relation avec la courte durée d'excrétion de la LH dans le sang (Roelofs, 2005). L'ensemble de ces points nous paraissait difficilement compatible avec une charge de travail propre à l'éleveur déjà conséquente.

Grande fut notre surprise quand nous avons constaté que, dans le lot traité, dans seulement 9 cas sur 45, les éleveurs n'ont pas réalisé de deuxième test et que dans 4 cas sur 17, ils n'en ont pas effectué un troisième. Les éleveurs se sont, étonnamment, prêtés au jeu, respectant les délais imposés entre la réalisation de deux tests (seuls 14 seconds tests sur 36 n'ont pas été réalisés dans le délai indiqué et 2 troisièmes tests sur 12). Néanmoins, ces considérations sont à nuancer car les éleveurs recevaient dix euros pour chaque test effectué.

De la même façon, seules 2 IA n'ont pas été réalisées suite à un Predi'Bov® positif et 78 IA sur 109 (71%) ont été effectuées dans un délai de 10 à 14 heures à la suite d'un premier test positif. Réaliser l'IA 10 à 14 heures après un Predi'Bov positif, dans le lot traité, a été respecté dans presque 3 cas sur 4 ce qui est supérieur à nos attentes.

Cependant, les consignes n'ont pas toujours été respectées conduisant à l'exclusion de l'étude de certains tableaux d'enregistrement. Par exemple, 27 femelles ont été écartées de l'échantillon car elles étaient à la fois dans les lots témoin et exposé et 56 IA n'ont pas été prises en compte car les femelles ont été incluses plusieurs fois dans un même lot.

Par ailleurs, nous n'avions pas soupçonné la difficulté que pouvait représenter la lecture du résultat du Predi'Bov®. En effet, de nombreux éleveurs se sont plaints de la faible différence entre un Predi'Bov® « faiblement positif », c'est-à-dire « bleu très pâle », et un Predi'Bov® « négatif », c'est-à-dire blanc, qui peut, selon la lumière et le rinçage, présenter des nuances bleues. La lecture du résultat n'est donc pas si simple aux dires des éleveurs ; cela pourrait faire l'objet d'erreur. Il conviendrait de former les éleveurs à la lecture du test ou de mettre à leur disposition un nuancier de teintes plus précis que celui présent dans la notice d'utilisation du test.

La collecte des données s'est avérée très compliquée. Aucun éleveur n'a rempli correctement les tableaux d'enregistrement des données. D'ailleurs, 31 tableaux d'enregistrement des données ont été refusés pour cause de défauts majeurs de remplissage. Aussi, les identités et l'historique des vaches étaient parfois mal renseignés et ne nous a pas permis de pousser l'analyse statistique aussi loin que nous l'aurions voulu. En effet, nous nous sommes contentés d'un OR brut pour quantifier l'association entre la gestation et

l'appartenance au lot car il nous a été impossible de déterminer, avec exactitude, le rôle de certains facteurs, tels que l'état corporel ou les maladies *post-partum*, dans l'association.

Ces considérations justifient mon ressenti à propos de la réalisation d'une étude de terrain sur un grand effectif. Ce type d'étude nécessite un suivi régulier synonyme de présence régulière en élevage. La seule présentation aux éleveurs et vétérinaires du déroulé de l'étude et du test n'a pas été suffisante, ni les 2 visites réalisées dans chaque élevage.

## 5.2 Chaleurs et pics de LH

Un des objectifs de l'étude consistait à établir une « notice » d'utilisation du Predi'Bov®. Un de nos problèmes résidait en la détermination du moment à partir duquel réaliser ce test. Nous avons alors proposé de se baser sur les comportements de chaleurs. Dans un contexte national de difficulté dans la détection des chaleurs (Ponsart *et al.*, 2010 ; Chastant, 2012), il est entendu que s'appuyer sur la détection des chaleurs pour améliorer la fertilité n'est pas très judicieux. Cependant, peu d'autres alternatives s'offraient à nous, dans un premier temps, pour tester le produit à grande échelle.

Aucun comportement de chaleurs testé dans cette étude n'a été concomitant, à deux heures près, à un pic de LH. S'appuyer sur certains comportements de chaleurs pour réduire le nombre de Predi'Bov® réalisés n'a donc pas été concluant. Ces résultats sont conformes à ceux de Roelofs *et al.*, qui en 2005, soulignaient la grande variabilité des comportements de chaleur exprimés et du délai « comportement de chaleurs-ovulation » entre les individus (Roelofs *et al.*, 2005).

Cependant, dans le lot témoin et le lot traité, environ 70% des animaux (respectivement 69% et 71%) ont eu un Predi'Bov positif dès le premier test. Cela signifie que lorsque l'éleveur prenait la décision d'inséminer, dans 70% des cas, les animaux se situaient au moment de leur pic de LH. On pourrait alors imaginer une nouvelle utilisation de Predi'Bov® : l'éleveur réaliserait le test lorsqu'il n'est pas sûr que la vache soit en chaleurs. Si le test est positif, l'éleveur soumettrait l'animal à l'insémination. Dans le cas d'un test négatif, il y aurait 70% de chances que la vache ne soit pas en chaleurs. L'éleveur aurait alors la liberté de réaliser un nouveau test 6 à 8 heures après ou d'attendre le cycle suivant.

Définir comme point de départ la manifestation des comportements de chaleurs pour réaliser les Predi'Bov® n'autorise donc pas, dans tous les cas, la détection du pic de LH. Dans le lot traité, parmi les 154 individus étudiés, 8 ont présenté 3 tests consécutivement négatifs. Il est, alors, difficile d'établir une marche à suivre après un Predi'Bov® négatif.

Physiologiquement, comment expliquer 3 tests consécutivement négatifs ? Plusieurs solutions sont envisageables : soit le pic de LH est survenu avant l'observation de la manifestation des comportements de chaleurs, soit un quatrième ou un cinquième test auraient été nécessaires, soit l'animal n'était pas en chaleurs. D'après les mesures de Bloch *et al.*, 25% des bovins de leur échantillon avaient un intervalle « chaleurs-pic de LH » de  $0 \pm 0,6$  heures et la moyenne du délai « chaleurs-pic de LH » était de  $2,8 \pm 0,4$  heures, ce qui signifie que le pic de LH peut être consécutif, simultané voire même antérieur à la manifestation des comportements de chaleurs (Bloch *et al.*, 2006).



### 5.3 Fenêtre d'insémination et taux de gestation

Les taux de gestation pour 5 fenêtres d'IA sur l'ensemble des lots témoin et traité ont été calculés et comparés. Ceux-ci n'étaient significativement pas différents les uns des autres. Le délai entre l'obtention d'un Predi'Bov® positif et l'IA ne serait donc pas un facteur majeur de la réussite ou non de l'IA.

Le délai de 10-14 heures appliqué dans notre étude a été choisi suite à des considérations physiologiques. En effet, comme discuté plus tôt dans la partie bibliographique, le moment idéal pour inséminer se situerait entre 24 heures et 4 heures avant l'ovulation, dans le but de favoriser la rencontre des gamètes. Or d'après Bloch *et al.*, l'intervalle moyen entre « pic de LH-ovulation » est d'environ 25 heures (Bloch *et al.*, 2006). Il faudrait alors inséminer entre 1 et 21 heures après le pic de LH. Choisir le délai 10-14 heures après un pic de LH paraissait judicieux car celui-ci était compris dans et central à l'intervalle 1-21 heures.

Ainsi, il n'est pas forcément étonnant, au regard de ce qui précède, qu'il n'y ait pas de différence significative entre les quatre fenêtres d'insémination analysées :  $0H \leq IA < 5H$ ,  $5H \leq IA < 10H$ ,  $10H \leq IA \leq 14H$  et  $14H < IA < 21H$ . Par contre, il a été plus surprenant que le taux de gestation obtenu suite à un délai « pic de LH-IA » supérieur à 21 heures ne soit pas significativement différent des autres.

Les études définissant la fenêtre d'insémination optimale suite à un pic de LH sont inexistantes à notre connaissance. En revanche, de nombreux auteurs ont publié sur le délai optimal « chaleurs-IA ». Cependant, comme développé dans la première partie, tous les auteurs ne sont pas unanimes. L'insémination pourrait être exécutée à n'importe quel moment au cours des 24 heures qui suivent le début des chaleurs (Trimberger et Davis, 1943 tiré de Saumande, 2001 ; Foote, 1979 ; Gwazdauskas *et al.*, 1981 ; Nebel *et al.*, 1994 ; Dransfield *et al.*, 1998 ; Saacke, 2008). D'après les résultats de Bloch *et al.*, en 2006, cela reviendrait à inséminer dans les 21 heures qui suivent le pic de LH ou Predi'Bov positif.

Roelofs *et al.*, en 2006, ont mesuré, de manière originale, les effets de l'intervalle « IA-ovulation » sur le taux de gestation ; la dernière étude datait de 1948 (Trimberger, 1948 tiré de Saumande, 2001). Lorsque l'IA était réalisée 36 à 12 heures avant l'ovulation, le taux de gestation était supérieur à 80 % (Roelofs *et al.*, 2006). Ainsi en considérant les résultats de l'étude de Bloch *et al.* en 2006, il conviendrait d'inséminer jusqu'à 13 heures après un pic de LH, soit 13 heures après un Predi'Bov positif.

Ces considérations bibliographiques ne sont pas éloignées de nos résultats ; de ce fait, il reste toutefois surprenant que le taux de gestation correspondant au délai « pic de LH-IA » supérieur à 21 heures ne soit pas significativement différent des autres.

Une des explications pourrait résider dans le fait que les effectifs des 2 fenêtres extrêmes,  $IA \geq 21H$  ( $n=23$ ) et  $0H \leq IA < 5H$  ( $n=12$ ) étaient assez faibles. Seule la fenêtre  $10H \leq IA \leq 14H$  a été testée à grande échelle avec un effectif conséquent, autorisant, ainsi, un intervalle de confiance à 95% et un résultat précis. L'étude manquerait alors de puissance statistique en raison de trop petits effectifs. Une des solutions pour remédier à ce problème aurait été de regrouper certaines fenêtres pour en augmenter les effectifs ; néanmoins, au regard de l'intervalle physiologique précédemment établi (*i-e* réaliser une IA 1 à 21 heures après le pic de LH) et de la bibliographie, il nous semblait important de distinguer la fenêtre « 14-21 heures » de la fenêtre « >21 heures ».

Dans ce contexte, il conviendrait de réaliser une nouvelle étude avec des effectifs égaux et conséquents pour chaque fenêtre d'insémination.

#### 5.4 Taux de gestation dans les lots témoins et traités

Les taux de gestation obtenus dans les protocoles 1 et 2 n'étaient pas significativement différents. Inséminer 10-14 heures après un Predi'Bov® positif ne permettrait pas de gagner en fertilité. L'intérêt d'utiliser de façon systématique Predi'Bov® dans le cadre de l'IA serait alors limité.

Cependant, il convient d'évoquer le fait qu'environ autant d'animaux ont été inséminés dans un délai de 10 à 14 heures à la suite d'un Predi'Bov® dans le lot témoin et dans le lot traité. En effet, on dénombre 64 IA réalisées dans ce délai sur 118 dans le lot témoin contre 78 IA sur 109 dans le lot traité. Cette similitude entre les deux lots pourrait expliquer le fait que les taux de gestation ne soient pas significativement différents.

Dans le lot traité, les éleveurs ne devaient pas tenir compte du résultat du Predi'Bov® pour prévoir l'insémination. Or, comme rapporté précédemment 64 IA sur 118 ont été effectuées suite à un Predi'Bov® positif (soit 54%) dans un délai de 10 à 14 heures. Ce résultat peut refléter les réelles habitudes de l'éleveur ou nous amener à mettre en doute l'honnêteté scientifique de certains éleveurs ; on peut se demander si, dans le lot témoin, certains éleveurs n'auraient pas tenu compte du résultat du test pour programmer l'heure de l'IA.

En effet, d'après l'enquête Fertilia, seulement 28% des IA sont réalisées dans un délai de 12 à 18 heures après l'observation des signes déclenchant l'appel de l'inséminateur, et 21% dans un délai de 6 à 12 heures (Fréret *et al.*, 2008). Or, dans notre étude, 54% des IA ont été réalisées dans un délai de 10 à 14 heures suivant l'appel de l'inséminateur. Cela ne semble donc pas reproduire les habitudes des éleveurs français. Ce dernier point serait en adéquation avec notre hypothèse de non respect de la procédure appliquée au lot témoin.

La reproduction, et plus particulièrement la chance de gestation, est un phénomène biologique sujet à de nombreux facteurs tels que l'état sanitaire du tractus génital femelle, la qualité de la semence, la quantité de lait produite par l'animal, l'état corporel.... Ceux-ci, en tant que facteurs de confusion, peuvent masquer l'association entre « faire partie du lot traité » et « être gestant » (Desquilbet, 2014). Aucun des facteurs suivants dont nous avons les données (rang de parité, jours *post-partum*, nombre d'IA précédentes) n'ont participé à une invalidation de la conclusion d'analyse statistique. Le facteur « traitement hormonal pour induire l'IA » est associé à l'appartenance aux lots mais n'est pas associé à la gestation ; il est néanmoins intéressant de constater que peu de vaches ont été traitées dans les deux lots (4 et 11) et que le faible effectif traité pourrait être responsable de la « non association » avec la gestation. Avec un effectif conséquent, le facteur « traitement hormonal pour induire l'IA » pourrait être un facteur de confusion potentiel. De plus, il existe une multitude de facteurs de confusion potentiels auxquels nous ne nous sommes pas intéressés et qui pourraient influencer nos résultats.

Cette absence de différence entre les taux de gestation des deux lots pourrait aussi être expliquée par le fait que tous les résultats des Predi'Bov® n'aient pas été vérifiés ; seuls 57 tests ont été vérifiés dans le lot témoin et 52 dans le lot traité. Ainsi, dans le lot traité, certains éleveurs croyaient inséminer 10 à 14 heures après un test positif alors qu'en réalité celui-ci était négatif. Cela constitue un biais de classement non différentiel ; celui-ci est capable de diminuer la force de l'association en surestimant dans le lot traité le nombre d'individus gestants suite à une IA dans un délai de 10 à 14 heures après un test positif (Desquilbet, 2014).

Enfin, il est possible que l'absence de différence entre les taux de gestation des deux lots soit liée à une faible sensibilité et/ou spécificité du test Predi'Bov®. Ces données ne sont pas connues. On peut donc se demander si le Predi'Bov® détecte les pics de LH de l'ensemble des bovins, le seuil de détection étant de 3 ng/mL. Est-il possible qu'il existe des pics de LH inférieurs à ce seuil et donc non détectés par le Predi'Bov® ou que de simples pulses de la phase folliculaire supérieurs à ce seuil soient détectés par le Predi'Bov® ?

La bibliographie au sujet de la variabilité des pics de LH, présentée précédemment, ne semble pas nous orienter vers de telles considérations. Néanmoins, la détermination de la valeur de sensibilité et spécificité du Predi'Bov® me semble indispensable.

Les taux de gestation obtenus dans les lots témoin et traité, respectivement 51% et 49%, sont supérieurs au TRIA1 moyen de 45,9% observé en 2006, d'après l'enquête Fertilia, chez les vaches de race Prim'Holstein (Fréret *et al.*, 2006). Ce résultat est à nuancer car les taux de gestation obtenus dans notre étude ne sont pas consécutifs de façon systématique à une première IA ; certaines vaches incluses en étaient à leur deuxième ou troisième tentative, voire plus. De même, le 45,9% correspond au TRIA1 moyen de vaches Prim'Holstein ; or, dans notre étude nous avons également travaillé avec les génisses et les taux de gestation précédemment présentés englobent les vaches et les génisses.

De plus, il n'est pas exclu que les éleveurs sélectionnés attachent plus d'importance à leur reproduction que l'éleveur français moyen, et, de ce fait aient de meilleurs résultats de reproduction. Rappelons que les vétérinaires ont choisi les élevages en fonction du potentiel intérêt de l'éleveur pour l'étude ; aucun tirage au sort n'a été effectué.

Notre étude s'est déroulée dans le Pas-de-Calais ; pour comparer les résultats des taux de gestation de celle-ci à une moyenne nationale, il faudrait être sûr que dans ce département, les résultats de reproduction ne soient pas « meilleurs » que dans d'autres régions de France.

Enfin, les éleveurs ont choisi eux-mêmes les vaches à inclure dans les lots témoin et traité. On ne peut donc pas connaître les critères exacts d'inclusion ou d'exclusion des animaux à tel ou tel lot, ni si ceux-ci ont un rapport quelconque avec la chance d'être gestant ou non.

D'après cette étude, utiliser Predi'Bov® en systématique à chaque IA ne permet pas d'améliorer la fertilité. Pour les raisons évoquées ci-dessus, une nouvelle étude serait à envisager. Il conviendrait alors de choisir les éleveurs au hasard parmi la clientèle des vétérinaires et de sélectionner les candidates en les désignant à l'avance dans un lot. Moins de liberté devrait être laissée aux éleveurs. De même, peut-être faudrait-il envisager de réaliser nous-mêmes les Predi'Bov®, dans le lot témoin, à partir du sang récupéré par les éleveurs afin que ceux-ci ne soient pas tentés par la lecture du résultat.

Aussi, j'insisterais sur le fait que, compte-tenu de la difficulté à considérer la reproduction dans sa globalité, utiliser le Predi'Bov® en systématique à chaque IA me semble très ambitieux. Peut-être faudrait-il s'orienter vers une utilisation plus raisonnée du test ; une des utilisations possibles a été détaillée précédemment : le Predi'Bov® pourrait permettre de conforter l'éleveur dans sa décision d'inséminer. De nouvelles études seraient nécessaires mais on pourrait imaginer utiliser le Predi'Bov® sur des animaux à 3 IA ou plus ; dans ce cas, le test permettrait d'éliminer une cause d'échecs de gestation parmi tant d'autres (*i-e* insémination artificielle au mauvais moment (IAMM)). De même, le Predi'Bov® pourrait être utilisé suite à des protocoles de synchronisation des chaleurs afin de sécuriser l'IA.

## CONCLUSION

Utiliser le Predi'Bov® n'a pas permis d'améliorer le taux de gestation dans le lot traité. Une nouvelle étude est nécessaire pour mesurer avec plus de précision les effets du Predi'Bov® sur la fertilité. Avant cela, il serait intéressant de définir la fenêtre d'insémination optimale après le pic de LH dans le but de maximiser les chances de réussite de la future étude.

Bien que le moment de l'insémination soit un facteur conditionnant sa réussite, celle-ci s'inscrit cependant dans un contexte beaucoup plus large. Réussir une IA implique la maîtrise de nombreux paramètres tels que la santé du tractus génital femelle, l'état corporel de l'animal et la qualité de l'ovocyte, le choix du taureau et la qualité de la semence mâle, *etc.* La reproduction de la vache laitière est un sujet complexe et multifactoriel, le vétérinaire doit y tenir un rôle de premier plan.

## BIBLIOGRAPHIE

BARBAT A, DRUET T, BONAÏTI B, GUILLAUME F, COLLEAU JJ, BOICHARD D. Bilan phénotypique de la fertilité à l'insémination artificielle dans les trois principales races laitières françaises. In : *Rencontres Recherches Ruminants 12<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2005, 137–140.

BERNARD C, VALET JP, BELAND R, LAMBERT RD. Prediction of bovine ovulation by a rapid radioimmunoassay for plasma LH. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1983, **68**, 425-430.

BLOCH A, FOLMAN T, KAIM M, ROTH Z, BRAW-TAL R, WOLFENSON D. Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2006, **89**, (12), 4694–4702.

BOICHARD D, BARBAT A, BRIEND M. Evaluation génétique des caractères de fertilité femelle chez les bovins laitiers. In : *Rencontres Recherches Ruminants 5<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 1998, 103–106.

BOSIO L. Relations entre fertilité et évolution de l'état corporel chez la vache laitière : le point sur la bibliographie. Thèse Méd. Vét., Lyon, 2006.

CHASTANT S. Actualités sur le cycle de la vache. *Le point vétérinaire, N° spécial "Reproduction des ruminants : Maîtrise des cycles et pathologie*, 2005, 10-15.

CHASTANT S. *Troubles de la reproduction chez la vache laitière moderne*. Power Point. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, Unité de pathologie de la reproduction, 2012, 107 diapos.

CHICOINEAU V. Comparaison de l'efficacité du traitement de synchronisation des chaleurs CRESTAR® classique avec celle du nouveau traitement CRESTAR SO® chez la vache laitière. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2007.

DESQUILBET L. *Comment établir une relation de cause à effet en médecine*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Département des sciences biologiques et pharmaceutiques, 2014, version 2.6, 98 p.

DESQUILBET L. *Concordances sur séries de mesure*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Département des sciences biologiques et pharmaceutiques, 2014, version 6.4, 20 p.

DEZAUX P. Synchronisation des chaleurs chez les vaches allaitantes par l'association GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH. Thèse Méd Vét., Alfort, 2001.

DISKIN MG, SREENAN JM. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reproduction, Nutrition and Development*, 2000, **40**, 481-491.

DOUCET M. Techniques de détection de l'œstrus chez la vache laitière. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2004.

DRANSFIELD MBG, NEBEL RL, PEARSON RE, WARNICK LD. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *Journal of Dairy Science*, 1998, **81**, 1874-1882.

FOOTE RH. Time of artificial insemination and fertility in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 1979, **62**, 355-358.

FRERET S, PONSART C, RAI DB, JEANGUYOT N, PACCARD P, HUMBLLOT P. Facteurs de variation de la fertilité en première insémination et des taux de mortalités embryonnaires en élevages laitiers Prim'Holstein. In : *Rencontres Recherches Ruminants 13<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2006, 281-285.

FRERET S, PONSART C, PACCARD P, JEANGUYOT N, HUMBLLOT P. Relations entre modalités de détection des chaleurs, conditions d'insémination, production laitière et fertilité en première insémination en troupeaux Prim'Holstein (enquête Fertilia). In : *Rencontres Recherches Ruminants 15<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2008, 375.

FRERET S, SALVETTI P, GATIEN J, HUMBLLOT P, PONSART C. Facteurs de variation de la fertilité en première IA chez les vaches Prim'Holstein. In : *Rencontres Recherches Ruminants 18<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2011, 89-92.

GINTHER OJ, PINAFFI FLV, KHAN FA, DUARTE LF, BEG MA. Follicular-phase concentrations of progesterone, estradiol-17 $\beta$ , LH, FSH and a PGF2 $\alpha$  metabolite and daily clustering of prolactin pulses, based on hourly blood sampling and hourly detection of ovulation in heifers. *Theriogenology*, 2013a, **79**, 918-928.

GINTHER OJ, PINAFFI FLV, KHAN FA, DUARTE LF, BEG MA. Circadian influence on the preovulatory surge, ovulation, and prolactin concentrations in heifers. *Theriogenology*, 2013b, **79**, 528-533.

GRIMARD B, DISENHAUS C. Anomalies de la reprise de cyclicité après vêlage chez la vache laitière, fréquence, facteurs de risque, diagnostic et traitement. *Le point vétérinaire, N° spécial "Reproduction des ruminants : Maîtrise des cycles et pathologie"*, 2005, 16-21.

GWAZDAUSKAS FC, LINEWEAVER JA, VINSON WE. Rates of conception by artificial insemination of Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 1981, **64**, 358-362.

HAWK HW. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *Journal of Dairy Science*, 1987, **70**, (7), 1487-1503.

HERES L, DIELEMAN SJ, VAN EERDENBURG FJCM. Validation of a new method of visual estrus detection on the farm. *The Veterinary Quarterly*, 2000, **22**, (1), 50-55.

HOBE M, LEMERCIER G, SEITE JC. Impact économique de la reproduction. In : *Journées Nationales des GTV*. Nantes, mai 2008, 97-102.

HUNTER RHF, GREVE T. Could artificial insemination of cattle be more fruitful? Penalties associated with ageing eggs. *Reproduction in Domestic Animals*, 1997, **32**, (3), 137-141.

KERBRAT S, DISENHAUS C. A proposition for an updated behavioural characterisation of

the oestrus period in dairy cows. *Applied Behaviour Science*, 2004, **87**, 223-238.

LEDOUX D. Echecs précoces de gestation chez la vache laitière de race Holstein : incidences, implication dans la baisse de fertilité et facteurs de risque. Thèse de L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paristech, 2011.

LEDOUX D, HUMBLLOT P, CONSTANT F, PONTER A, GRIMARD B. Echecs précoces de gestation chez la vache laitière. *Le point vétérinaire*, 2006, **37**, 50-55.

LUCY MC. Fertility in high-producing dairy cows: reasons for decline and corrective strategies for sustainable improvement. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, 2007, **64**, 237-254.

MAUFFRE V, CONSTANT F, MASSE-MOREL G. *Reproduction des Ruminants*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité d'enseignement de production laitière 2, 2012, 23 p.

NEBEL RL, WALKER WL, MCGILLIARD L. Timing of artificial insemination of dairy cows : fixed time once daily versus morning and afternoon. *Journal of Dairy Science*, 1994, **77**, 3185-3191.

PATRAT C, SERRES C. La capacitation in vivo : influence de l'environnement féminin. *Gynécologie, obstétrique & fertilité*, 2009, **37**, (6), 536-539.

PONSART C, FRAPPAT B, LE MEZEC P, FRERET S, SEEGER H, PACCARD P *et al.* Une palette d'outils pour améliorer la reproduction des vaches laitières. In : *Rencontre Recherche Ruminant 14<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2007, 351-358.

PONSART C, FRAPPAT B, GATIEN J, CHANVALLON A, CONSTANT F, DISENHAUS C *et al.* La détection par les éleveurs des chaleurs des vaches : des pratiques et des logiques de décision très diverses. In : *Rencontres Recherches Ruminants, 17<sup>ème</sup>*. Paris, décembre 2010, 129-132.

RAJAMAHENDRAN R, ROBINSON J, DESBOTTES S, WALTON JS. Temporal relationships among estrus, body temperature, milk yield, progesterone and luteinizing hormone levels, and ovulation in dairy cows. *Theriogenology*, 1989, **31**, (6), 1173-1182

ROELOFS JB. When to inseminate the cow ? Insemination, ovulation et fertilization in dairy cattle. Thèse PhD, Wageningen University, 2005.

ROELOFS JB, VAN EERDENBURG FJCM, SOEDE NM, KEMP B. Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*, 2005, **63**, (5), 1366-1377.

ROELOFS JB, GRAAT EAM, MULLAART E, SOEDE NM, VOSKAMP-HARKEMA W, KEMP B. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology*, 2006, **66**, 2173-2181.

ROELOFS JB, LOPEZ-GATIUS F, HUNTER RHF, VAN EERDENBURG, HANZEN Ch. When is a cow in estrus ? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, 2010, **74**, 327-344.

ROUSSEAU JP, MENEZO Y. Rôle du tractus génital femelle dans les déplacements des gamètes et de l'œuf fécondé. *In* : Thibault C, Levasseur MC. (éditeurs). *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. Ellipses, Paris, 1991, 359-376.

SAACKE RG. Insemination factors related to timed AI in cattle. *Theriogenology*, 2008, **70**, 479-484.

SAINT-DIZIER M. La détection des chaleurs chez la vache. *Le Point Vétérinaire*, 2005, **36**, 22-27.

SAINT-DIZIER M, CHASTANT S. Baisse de la fécondité : quelle est la part de l'animal ? *Le Point Vétérinaire*, 2008, **287**, 33-38.

SAUMANDE J. Faut-il reconsidérer le moment souhaitable de l'insémination au cours de l'œstrus chez les bovins ? Une revue de données de la littérature. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 2001, **152**, 755-764.

SAUMANDE J, HUMBLLOT P. The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Animal Reproduction Science*, 2005, **85**, (3-4), 171-182.

TIRET L. *Physiologie de l'appareil reproducteur*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité pédagogique de physiologie et thérapeutique, 2008, 104p.

VAN EERDENBURG, LOEFFLER HSH, VAN VLIET JH. Detection of oestrus in dairy cows : a new approach to an old problem. *The Veterinary Quarterly*, 1996, **18**, (2), 52-54.



## ANNEXES

### Annexe 1 Feuille de route distribuée aux éleveurs

## UTILISATION D'UN TEST D'OVULATION, PREDI'BOV® DANS LE CADRE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE BOVINE (IA)

### CONTEXTE DE L'ETUDE

- D'après une étude réalisée par FERTILIA en 2006, 42% des éleveurs reconnaissent éprouver des difficultés à détecter les chaleurs. Une perte des références comportementales<sup>1</sup> et des références temporelles<sup>2</sup> sont fréquemment citées comme étant à l'origine de ce constat.
- Dans un souci de précision exacte du moment de l'insémination, il convient de déterminer avec précision le moment de l'ovulation. Celle-ci est précédée d'un pic pré-ovulatoire de LH (antérieur de 24H). Ainsi, repérer le pic de LH permet de savoir quand aura lieu l'ovulation et d'en déduire le moment optimal pour l'insémination, 12H plus tard. C'est ce que vous propose le test PREDI'BOV®.

### PRINCIPE DE PREDI'BOV

PREDI'BOV est un test d'ovulation dédié à l'espèce bovine. Il permet de prédire le moment de l'ovulation par détection du pic pré ovulatoire de LH. Il se réalise très facilement sur l'exploitation à partir de quelques gouttes de sang.

La lecture du résultat est extrêmement simple :

- si l'extrémité du stick apparaît bleue, le test est dit « positif » et cela signifie que l'échantillon de sang contient le pic de LH
- si l'extrémité du stick reste blanche, le test est dit « négatif » et signifie que l'échantillon ne contient pas le pic de LH, celui-ci étant soit passé soit à venir

Vous trouverez une notice d'utilisation du test dans les boîtes de PREDI'BOV.

### 1 ETUDE, 2 PROCEDURES

Dans le cadre de l'étude nous souhaitons que vous réalisiez deux protocoles qui s'appliqueront indifféremment à l'IA1, IA2, IA3, etc.

- Un **protocole 1** qui présente peu de contraintes : vous réalisez un **PREDI'BOV** à l'appel de l'inséminateur ou 10 à 14h avant l'IA et vous inséminez comme d'habitude quel que soit le résultat du test (descriptif: page 2).
- Un **protocole 2** où **l'IA sera réalisée 12H après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV positif.** Pour cela il est nécessaire que vous conveniez d'un arrangement avec votre inséminateur ou, pour les éleveurs-inséminateurs, que vous inséminiez à l'heure adéquate (parfois tardive). (descriptif: page 3).

<sup>1</sup> En France, 20% des vaches présentent des chaleurs silencieuses et 40% une absence d'acceptation du chevauchement

<sup>2</sup> Les chaleurs sont séparées de l'ovulation par un intervalle de temps allant de 22h à 61h



- Le protocole 2 présente une version "2bis", pour les élevages équipés d'un podomètre (descriptif page 5).

**Les protocoles 1 et 2 sont réalisés en alternance afin d'avoir un effectif égal dans les deux : prendre une vache sur deux dans chacun: la première vache en protocole 1, la deuxième en protocole 2 etc...**

Avant toute chose il vous faut remplir la "Feuille de renseignement de l'élevage" et signer "la charte d'engagement réciproque" garantissant le bon déroulé de l'étude.

### **PROTOCOLE N°1 : IA habituelle et PREDI'BOV®**

**L'objectif de ce premier protocole est de constituer l'étude témoin et d'évaluer vos habitudes quant à la détection des chaleurs et au choix du moment de l'IA.**

#### PROTOCOLE N°1

1/ **NE CHANGEZ RIEN !** Portez la même attention à votre troupeau qu'à l'habitude. Gardez les mêmes critères pour décider du moment de l'IA.

2/ **QUI ?** Génisses et vaches primipares ou multipares sélectionnées à partir de 70 Jours post-partum s'il s'agit d'une IA1. Il s'applique également à tous les rangs d'IA : IA2, IA3, IA4, etc.

3/ **COMBIEN ?** entre 12 femelles minimum jusqu'à 20, sachant qu'il est préférable d'avoir le maximum de vaches dans un même élevage.

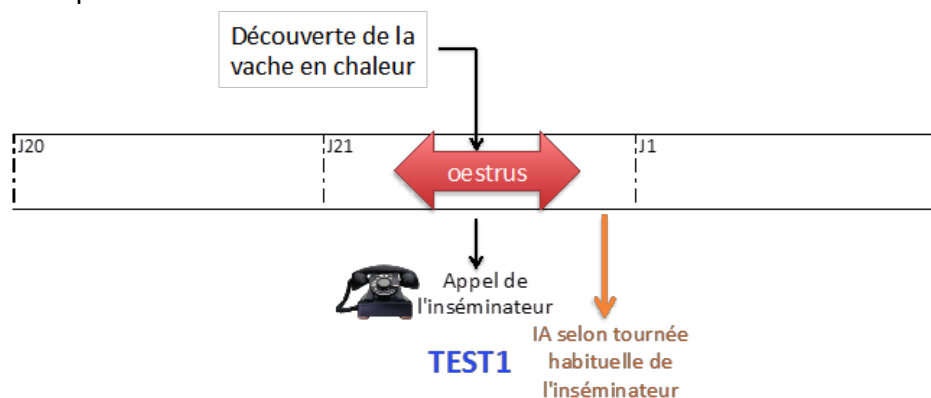
4/ **DEUX CONSIGNES :**

- Faire une prise de sang **lorsque vous prenez la décision d'appeler l'inséminateur ou au moment où vous décidez de programmer l'insémination (cas des éleveurs inséminateurs).**

**L'idéal est de réaliser le test après avoir appelé votre inséminateur. Le résultat du test ne doit en AUCUN CAS MODIFIER la DECISION d'INSEMINER.** Le sang est déposé dans le premier flacon « sang », point rouge annoté 1, du test PREDI'BOV.

Si vous devez différer la réalisation du test, le sang doit être prélevé sur tube hépariné (vacutainer à bouchon vert) et être conservé à 4°C. Dans ce cas, il faut IDENTIFIER le tube avec N° de la vache et heure de prélèvement.

- Compléter MINUTIEUSEMENT** le tableau ci-joint "Tableau d'enregistrement protocole n°1". Un tutoriel "Tutoriel n°1" accompagne ce tableau afin de vous guider pour le remplir.



5/ Quel que soit le résultat du test, l'IA sera réalisée à l'heure initiale où vous l'aviez prévue avec l'inséminateur.

6/ Vous porterez une attention particulière sur un éventuel retour en chaleur aux alentours de 20 jours post IA1.

7/ Enfin, pour "valider" la réussite ou non de l'IA, un suivi de reproduction sera réalisé par votre vétérinaire à 35 jours post IA.

**IL EST INDISPENSABLE DE RESPECTER LE PROTOCOLE ET DE NE PAS SE LAISSER INFLUENCER PAR LA LECTURE DU TEST.**

## **PROTOCOLE N°2 : IA ciblée avec PREDI'BOV® sur début des chaleurs**

Notre objectif est d'utiliser PREDI'BOV sur la base de la détection visuelle des premiers signes de chaleurs afin de montrer l'intérêt de son utilisation conjointe à savoir : améliorer la réussite de l'IA et augmenter ainsi le taux de gestation. Le protocole 2 est le protocole "expérimental".

### **PREAMBULE**

Il est nécessaire pour notre étude, que l'insémination soit réalisée 12h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV positif. Cela nécessite donc :

- Un arrangement préalable avec votre inséminateur
- Pour les éleveurs-inséminateurs : inséminer parfois à des heures tardives.

### **PROTOCOLE N°2**

1/ **QUI?** Génisses et vaches primipares ou multipares sélectionnées à partir de 70 Jours post-partum s'il s'agit d'une IA1. Il s'applique également à tous les rangs d'IA : IA2, IA3, IA4, etc.

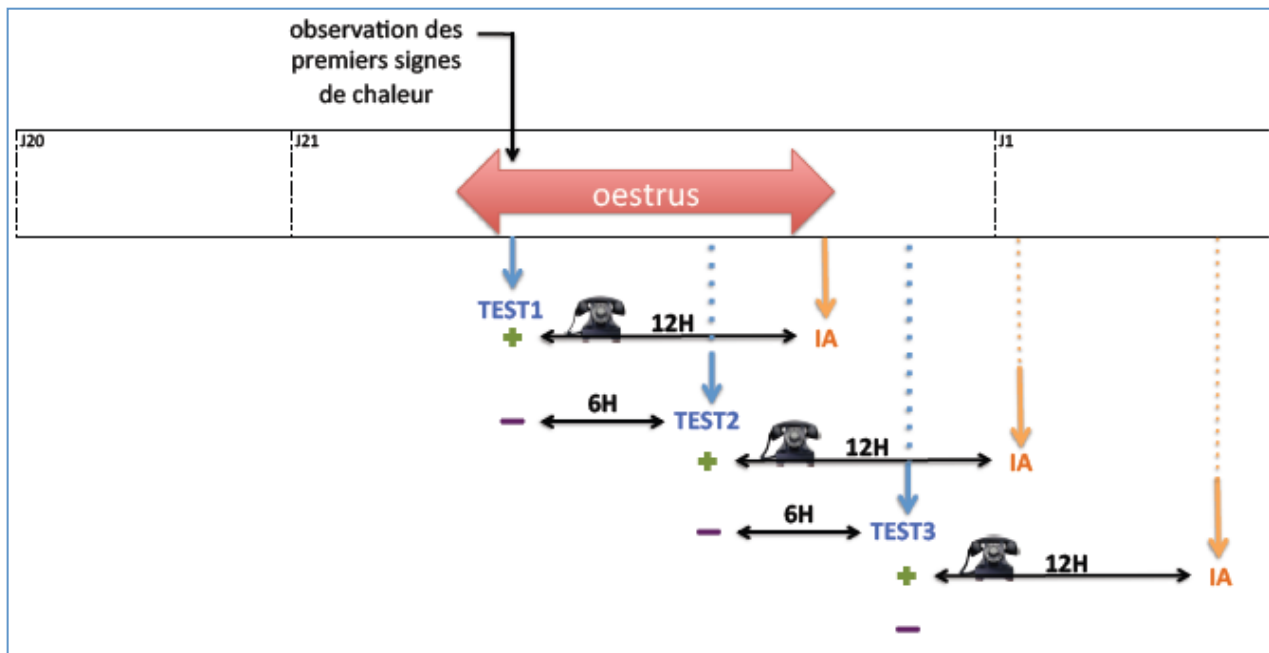
2/ Il s'agit ici de détecter les chaleurs de manière visuelle le plus **précocement** possible. Cela signifie que pour estimer une vache en chaleur **il n'est pas nécessaire d'attendre l'acceptation du chevauchement**. Il faut se concentrer, en particulier, sur les signes dits secondaires tels que le flairage et léchage de la zone ano-vulvaire, etc.

Nous vous conseillons pour cela trois périodes d'observations de 20 minutes par jour (ou deux de 30 min) et de redoubler d'attention dès **18 jours après les dernières chaleurs**.

3/ Faites un **premier PREDI'BOV dès les premiers signes de chaleur**.

Veuillez rapporter les caractéristiques de la vache en chaleur au moment du premier PREDI'BOV dans le tableau "Tableau d'enregistrement protocole n°2". Un tutoriel "Tutoriel n°2" accompagne ce tableau afin de vous guider pour le remplir.

- Si PREDI'BOV est positif (stick bleu) **l'IA doit être réalisée 12h après la prise de sang, sachant qu'une fenêtre de 10 à 14h est tolérée**. Pour vous aider, un tableau horaire "horaire IA" vous donne l'heure à laquelle prévoir l'insémination en tenant compte de l'heure d'obtention d'un test PREDI'BOV positif.
- Si PREDI'BOV est négatif (stick blanc), vous avez la possibilité de **refaire un deuxième test PREDI'BOV voire un troisième test si le deuxième est toujours négatif** (NB : il se peut que vous n'arriviez jamais à un PREDI'BOV positif ce qui signifierait que le pic de LH est apparu avant les premiers signes de chaleurs).  
**Entre deux prises de sang successives, il doit s'écouler, dans la mesure du possible, entre 6 et 8 Heures.**  
Pour vous aider, un tableau horaire "horaire PREDI'BOV" vous indique l'heure à laquelle prévoir la prise de sang pour les PREDI'BOV n°2 et 3 en tenant compte de l'heure de réalisation du PREDI'BOV n°1.



4/ Si vous vous voyez dans l'incapacité de respecter l'intervalle de 12h (soit entre 10 et 14h) entre PREDI'BOV et l'IA, libre à vous d'inséminer ou non. Sachez néanmoins que :

- Les chances de réussite de l'IA sont maximales à 12h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV + (toléré 10-14h)
- Les chances de réussite de l'IA sont inférieures à 30% de 18h à 24h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV+
- Quasiment impossible après 24h

5/ Là encore, il est important pour l'analyse des données de **COMPLETER MINUTIEUSEMENT** le tableau ci-joint "Tableau d'enregistrement protocole n°2". Un tutoriel "Tutoriel n°2" accompagne ce tableau afin de vous guider pour le remplir.

6/ Vous porterez une attention particulière sur un éventuel retour en chaleur aux alentours de 20 jours post IA à noter dans le tableau d'enregistrement.

7/ Enfin, pour « valider » la réussite ou non de l'IA, un suivi de reproduction sera réalisé par votre vétérinaire à 35 jours post IA.

**IL EST INDISPENSABLE DE RESPECTER LE PROTOCOLE.**

## PROCOLE N°2 BIS : IA ciblée avec PREDI'BOV® SUR ALERTE PODOMETRE

Notre objectif est d'utiliser PREDI'BOV sur la base de l'alerte chaleur donnée par le podomètre et de montrer l'intérêt de cette utilisation conjointe à savoir : augmenter la réussite de l'insémination.

### PREAMBULE

Il est nécessaire pour notre étude, que l'insémination soit réalisée 12h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV positif. Cela nécessite donc :

- Un arrangement préalable avec votre inséminateur
- Pour les éleveurs-inséminateurs : inséminer parfois à des heures tardives.

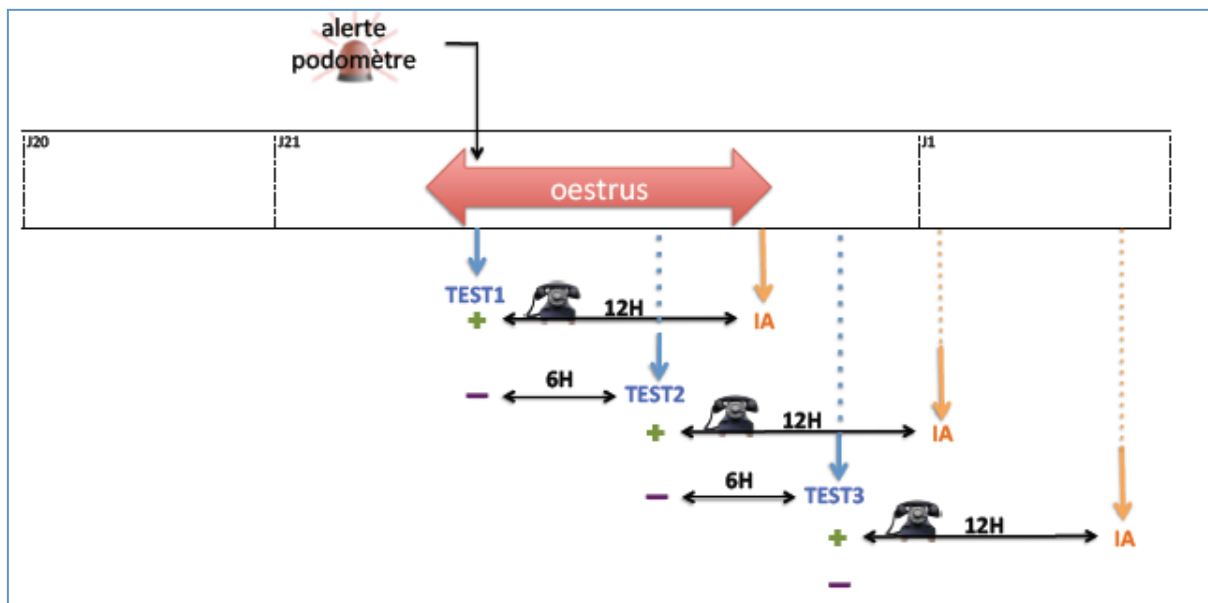
### PROCOLE N°2 BIS

1/ **QUI?** Génisses et vaches primipares ou multipares sélectionnées à partir de 70 Jours post-partum s'il s'agit d'une IA1. Il s'applique également à tous les rangs d'IA : IA2, IA3, IA4, etc.

2/ Il s'agit ici de réaliser le premier PREDI'BOV lorsque l'alerte "chaleur" est donnée par le podomètre. Cependant, n'hésitez pas à nous faire part de vos observations sur le comportement de chaleur de la vache; un espace est prévu à cet effet dans le "Tableau d'enregistrement protocole n°2 bis". Un tutoriel "Tutoriel n°2bis" accompagne ce tableau afin de vous guider pour le remplir.

- Si PREDI'BOV est positif (stick bleu) **l'IA doit être réalisée 12h après la prise de sang, sachant qu'une fenêtre de 10 à 14h est tolérée**. Un tableau horaire "horaire IA" vous donne l'heure à laquelle prévoir l'insémination en tenant compte de l'heure d'obtention d'un PREDI'BOV positif.
- Si PREDI'BOV est négatif (stick blanc), vous avez la possibilité de **refaire un/ ou plusieurs PREDI'BOV** jusqu'à l'obtention du pic de LH. (NB : il se peut que vous n'arriviez jamais à un PREDI'BOV positif ce qui signifierait que le pic de LH est apparu avant les chaleurs).  
**Entre deux prises de sang successives, il doit s'écouler, dans la mesure du possible, entre 6 et 8Heures.**

Un tableau horaire "horaire PREDI'BOV" vous donne l'heure à laquelle prévoir le PREDI'BOV n°2 et 3 en tenant compte de l'heure de réalisation du précédent.



3/ Si vous vous voyez dans l'incapacité de respecter l'intervalle de 12h entre PREDI'BOV et l'IA, libre à vous d'inséminer ou non. Sachez néanmoins que :

- **Les chances de réussite de l'IA sont maximales à 12h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV + (toléré 10-14h)**
- **Les chances de réussite de l'IA sont inférieures à 30% de 18h à 24h après une prise de sang ayant donné un PREDI'BOV+**
- **Quasiment impossible après 24h**

4/ Là encore, il est important pour l'analyse des données de **COMPLÉTER MINUTIEUSEMENT** le tableau ci-joint "Tableau d'enregistrement protocole n°2bis". Un tutoriel "Tutoriel n°2bis" accompagne ce tableau afin de vous guider pour le remplir.

5/ Vous porterez une attention particulière sur un éventuel retour en chaleur aux alentours de 20 jours post IA.

6/ Enfin, pour "valider" la réussite ou non de l'IA, un suivi de reproduction sera réalisé par votre vétérinaire à 35 jours post IA.

**IL EST INDISPENSABLE DE RESPECTER LE PROTOCOLE.**

**Annexe 2** Aide à la prévision du moment de l'IA en fonction de l'heure d'obtention d'un Predi'Bov® positif

**Tableau Horaires IA Complet**

| <b>HEURE de la PRISE de SANG ayant donné un PREDI'BOV positif</b> | <b>Heure de réalisation de l'IA</b> |
|---|-------------------------------------|
| 06H   | 18H                                 |
| 07H   | 19H                                 |
| 08H   | 20H                                 |
| 09H   | 21H                                 |
| 10H   | 22H                                 |
| 11H   | 23H                                 |
| 12H   | 23H                                 |
| 13H   | 23H                                 |
| 14H   | 00H                                 |
| 15H   | 05H                                 |
| 16H   | 05H                                 |
| 17H   | 05H                                 |
| 18H   | 06H                                 |
| 19H   | 07H                                 |
| 20H   | 08H                                 |
| 21H   | 09H                                 |
| 22H   | 10H                                 |
| 23H   | 11H                                 |
| 24H   | 12H                                 |



**Annexe 3** Aide à la prévision du moment de réalisation d'un second ou troisième Predi'Bov®

**Tableau Horaires PREDI'BOV Complet**

| Heure des PREMIERES manifestations des chaleurs | Heure de la PRISE de SANG pour PREDI'BOV 1 | Heure de la PRISE de SANG pour PREDI'BOV 2 | Heure de la PRISE de SANG pour PREDI'BOV 3 |
|---|--|--|--|
| 6H  | 6H   | 12H  | 18H  |
| 7H  | 7H   | 13H  | 19H  |
| 8H  | 8H   | 14H  | 20H  |
| 9H  | 9H   | 15H  | 21H  |
| 10H   | 10H  | 16H  | 22H  |
| 11H   | 11H  | 17H  | 23H  |
| 12H   | 12H  | 18H  | 24H  |
| 13H   | 13H  | 21H  | 5H   |
| 14H   | 14H  | 22H  | 6H   |
| 15H   | 15H  | 22H  | 6H   |
| 16H   | 16H  | 22H  | 6H   |
| 17H   | 17H  | 23H  | 6H   |
| 18H   | 18H  | 24H  | 6H   |
| 19H   | 19H  | 5H   | 11H  |
| 20H   | 20H  | 5H   | 11H  |
| 21H   | 21H  | 5H   | 11H  |
| 22H   | 22H  | 6H   | 12H  |
| 23H   | 23H  | 6H   | 12H  |
| 24H   | 24H  | 6H   | 12H  |

**Annexe 4** Tableau d'enregistrement des données du lot témoin

| TABLEAU D'ENREGISTREMENT - PROTOCOLE 1   |  |  |
|--|--|--|
| Numéro de la vache   |  |  |
| Parité   | Génisse <input type="checkbox"/> Primipare <input type="checkbox"/> Multipare <input type="checkbox"/>               |  |
| Rang de parité   |  |  |
| Etat corporel de vache   | Maigre <input type="checkbox"/> Correct <input type="checkbox"/>   |  |
| Date du dernier vêlage   |  |  |
| Informations relatives au vêlage   | • Difficulté au vêlage <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                   |  |
|  | • Non-délivrance <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
| Vache contrôlée en suivi de reproduction   | OUI <input type="checkbox"/> Date :                      NON <input type="checkbox"/>                                |  |
| Pathologie post partum   | • Métrite/Endométrite <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                    |  |
|  | • Kystes <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
|  | • Non retour en chaleur <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                  |  |
|  | • Autres : <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
| Date des dernières chaleurs  |  |  |
| Nombre d'IA précédentes  |  |  |
| Traitement hormonal  | OUI <input type="checkbox"/> Date de fin :                      NON <input type="checkbox"/>                         |  |
|  | lequel:  |  |
| Manifestations des chaleurs  | ■ <b>Observation visuelle des chaleurs :</b>   |  |
|  | • Dresse et remue les oreilles <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                           |  |
|  | • Flairage/léchage région ano-vulvaire <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                   |  |
|  | • Flairage/léchage corps (autre que région ano-vulvaire) <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span> |  |
|  | • Se frotte contre <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                       |  |
|  | • Evite/fuit <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
|  | • Bouscule <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
|  | • Meugle <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>   |  |
|  | • Pose menton sur croupe <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                 |  |
|  | • Pose menton sur corps (autre que croupe) <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>               |  |
|  | • Coups de tête <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>  |  |
|  | • Agitation/nervosité <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                                    |  |
|  | • Passe plus de temps debout <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                             |  |
|  | • Augmentation de la fréquentation au DAC <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                |  |
|  | • Chevauche <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>  |  |
|  | • Acceptation du chevauchement <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                           |  |
|  | ■ <b>Alerte du podomètre</b> <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>                             |  |
| ■ <b>Données lait :</b>  |  |  |
| • Modification conductivité du lait <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span>    |  |  |
| • Diminution de la production laitière <span style="float: right;"><input type="checkbox"/></span> |  |  |
| ■ <b>Autres :</b>  |  |  |
| <b>PREMIERE manifestation chaleurs</b>   | Date :                      Heure :  |  |
| Alerte Podomètre   | Date :                      Heure :  |  |
| PREDI'BOV  | Prise de sang  | Date :                      Heure :                          |
|  | Réalisation  | Date :                      Heure :                          |
|  | Résultat   | Bleu <input type="checkbox"/> Blanc <input type="checkbox"/> |
| Appel de l'inséminateur  | Date :                      Heure :  |  |
| <b>Réalisation de l'insémination</b>   | OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>  |  |
|  | Date :                      Heure :  |  |
| Retour de chaleurs à 21 jours  | OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>  |  |

## Annexe 5 Tableau d'enregistrement des données du lot témoin

| TABLEAU D'ENREGISTREMENT - PROTOCOLE 2 et 2 bis |   |
|---|---|
| <b>Numéro de la vache</b>                       |   |
| Parité  | Génisse <input type="checkbox"/> Primipare <input type="checkbox"/> Multipare <input type="checkbox"/>  |
| Rang de parité                                  |   |
| Etat corporel de vache                          | Maigre <input type="checkbox"/> Correct <input type="checkbox"/>  |
| Date du dernier vêlage                          |   |
| Informations relatives au vêlage                | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Difficulté au vêlage <input type="checkbox"/></li> <li>• Non-délivrance <input type="checkbox"/></li> </ul>  |
| Vache contrôlée en suivi de reproduction        | OUI <input type="checkbox"/> Date : _____ NON <input type="checkbox"/>  |
| Pathologie post partum                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Métrite/Endométrite <input type="checkbox"/></li> <li>• Kystes <input type="checkbox"/></li> <li>• Non retour en chaleur <input type="checkbox"/></li> <li>• Autres : <input type="checkbox"/></li> </ul>  |
| Date des dernières chaleurs                     |   |
| Nombre d'IA précédentes                         |   |
| Traitement hormonal                             | OUI <input type="checkbox"/> Date de fin : _____ NON <input type="checkbox"/><br>lequel: _____  |
| Manifestations des chaleurs                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Observation visuelle des chaleurs :</b></li> <li>• Dresse et remue les oreilles <input type="checkbox"/></li> <li>• Flairage/léchage région ano-vulvaire <input type="checkbox"/></li> <li>• Flairage/léchage corps (autre que région ano-vulvaire) <input type="checkbox"/></li> <li>• Se frotte contre <input type="checkbox"/></li> <li>• Evite/fuit <input type="checkbox"/></li> <li>• Bouscule <input type="checkbox"/></li> <li>• Meugle <input type="checkbox"/></li> <li>• Pose menton sur croupe <input type="checkbox"/></li> <li>• Pose menton sur corps (autre que croupe) <input type="checkbox"/></li> <li>• Coups de tête <input type="checkbox"/></li> <li>• Agitation/nervosité <input type="checkbox"/></li> <li>• Passe plus de temps debout <input type="checkbox"/></li> <li>• Augmentation de la fréquentation au DAC <input type="checkbox"/></li> <li>• Chevauche <input type="checkbox"/></li> <li>• Acceptation du chevauchement <input type="checkbox"/></li> <li>■ <b>Alerte du podomètre</b> <input type="checkbox"/></li> <li>■ <b>Données lait :</b></li> <li>• Modification conductivité du lait <input type="checkbox"/></li> <li>• Diminution de la production laitière <input type="checkbox"/></li> <li>■ <b>Autres :</b></li> </ul> |
| <b>PREMIERE manifestation chaleurs</b>          | Date : _____ Heure : _____  |
| Alerte Podomètre                                | Date : _____ Heure : _____  |
| Prise de sang                                   | Date : _____ Heure : _____  |
| PREDI'BOV 1 Réalisation                         | Date : _____ Heure : _____  |
| Résultat  | Bleu <input type="checkbox"/> Blanc <input type="checkbox"/>  |
| Prise de sang                                   | Date : _____ Heure : _____  |
| PREDI'BOV 2 Réalisation                         | Date : _____ Heure : _____  |
| Résultat  | Bleu <input type="checkbox"/> Blanc <input type="checkbox"/>  |
| Prise de sang                                   | Date : _____ Heure : _____  |
| PREDI'BOV 3 Réalisation                         | Date : _____ Heure : _____  |
| Résultat  | Bleu <input type="checkbox"/> Blanc <input type="checkbox"/>  |
| Appel de l'inséminateur                         | Date : _____ Heure : _____  |
| <b>Réalisation de l'insémination</b>            | OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>   |
| Retour de chaleurs à 21 jours                   | Date : _____ Heure : _____  |
| Retour de chaleurs à 21 jours                   | OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>   |

*Rapport-gratuit.com*   
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

# **UTILISATION D'UN TEST DETECTANT LE PIC DE LH (PREDI'BOV®) DANS LE CADRE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE, CHEZ LA VACHE LAITIERE.**

**NOM et Prénom** : Bée Clémence

**Résumé** La détection des chaleurs est, aujourd'hui, un problème majeur pour l'éleveur. Aussi, les règles d'insémination artificielle suite aux chaleurs sont remises en causes par certains auteurs et les pratiques de chacun sont très variées. Dans ce contexte, la fertilité est dégradée avec une part d'inséminations artificielles réalisées au mauvais moment de 4 à 7%, et une part de non-fécondation ou mort embryonnaire précoce suite à une insémination artificielle estimée entre 31 et 45%.

Face à ces constats, il a été décidé de réaliser une étude en collaboration avec des vétérinaires du Pas-de-Calais, traitait du choix du moment de l'insémination et des possibilités d'améliorer la prise de décision. La société Repropharm a mis au point un test qualitatif, utilisable au chevet de l'animal, qui permet de détecter le pic de LH. Ce test a donc été utilisé dans l'étude présentée dans ce manuscrit, qui avait pour objectif, entre autres, d'évaluer l'intérêt d'inséminer dans un délai de 10 à 14 heures suite à un Predi'Bov® positif pour améliorer le taux de gestation par rapport à un lot témoin, inséminé selon les habitudes de l'éleveur. Le taux de gestation du lot témoin (51%) n'était au bilan pas significativement différent de celui du lot traité (46%). Utiliser le Predi'Bov® n'a pas permis d'améliorer le taux de gestation dans le lot traité. Une nouvelle étude est nécessaire pour mesurer avec plus de précision les effets de l'usage du Predi'Bov® sur la fertilité. Avant cela, il serait intéressant de définir la fenêtre d'insémination optimale après le pic de LH dans le but de maximiser les chances de réussite de la future étude.

## **Mots clés**

INSÉMINATION ARTIFICIELLE/ CHALEUR/ DÉTECTION DES CHALEURS/ PIC DE LH/ INFERTILITÉ/  
TEST/ PREDI'BOV/ BOVIN/ VACHE LAITIERE/ PAS-DE-CALAIS

## **Jury :**

Président : Pr.

Directeur : Dr Constant Fabienne

Assesseur : Pr Grimard-Ballif Bénédicte

Invité :

# **USE OF A TEST DETECTING THE LH SURGE (PREDI'BOV®) THROUGH ARTIFICIAL INSEMINATION IN DAIRY COWS.**

**SURNAME:** Bée Clémence

**Summary** Heat detection is a major problem for today's farmers. Artificial insemination protocols following heat detection are challenged by some authors and each practice has a different approach to the matter. In this context, fertility is degraded with 4 to 7% artificial inseminations performed at the wrong time, and between 31 and 45% artificial inseminations followed by non-fertilization or early embryonic death. Given these facts, a study was designed and performed with the collaboration of field veterinarians from the Pas-de-Calais department: this study dealt with the timing of insemination and opportunities to improve decision making. The Repropharm company has developed a qualitative test used at the animal's bedside, which can detect the LH surge. This test was used in the study presented in this manuscript, which aimed, amongst other things, to assess the usefulness of inseminating within 10-14 hours following a positive Predi'Bov ® to improve pregnancy rate compared to a control group, inseminated accordingly to the breeder's habits. The pregnancy rate of the control group (51%) was not significantly different from the treated group (46%). Therefore, using Predi'Bov ® did not improve the pregnancy rate in the treated group. A new study is needed to measure more accurately the effects of Predi'Bov ® on fertility. Although, it would be interesting in the first time to define the optimal insemination window after the LH surge in order to maximize the chances of success in the future study.

## **Keywords**

ARTIFICIAL INSEMINATION/ HEAT/ HEAT DETECTION/ LH SURGE/ INFERTILITY/ PREDI'BOV/  
COW/ DAIRY COW/ PAS-DE-CALAIS

## **Jury :**

President : Pr.

Director : Dr Constant Fabienne

Assessor : Pr Grimard-Ballif Bénédicte

Guest :