

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR BATNA
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES**



MÉMOIRE

pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Filière

Sciences vétérinaires

Option

Maitrise des facteurs de la reproduction chez les herbivores

Présenté par :

BENBIA Souhila

Thème

**ÉTUDE COMPARATIVE DE LA BIOLOGIE DE LA GLAIRE
CERVICALE BOVINE AU COURS D'UN ŒSTRUS INDUIT
ET SPONTANÉ**

Soutenu publiquement le : **03/07/2011**

Devant le jury :

Grade et Université

Président : **Mehennaoui S.**

Rapporteur : **Laroui S.**

Examineur : **Kaidi R.**

Examineur : **Yahia M.**

Professeur. Université El-Hadj Lakhdar Batna

Professeur. Université El-Hadj Lakhdar Batna

Professeur. Université Saâd D'Ahlab Blida

MC. Université El-Hadj Lakhdar Batna

Année universitaire : 2010-2011

Remerciements

Avant toute chose, je remercie *Dieu*, le tout puissant, pour m'avoir donné la force, la volonté et la patience durant toutes mes années d'étude.

A Monsieur le Professeur Mehanaoui S,

Professeur à l'institut vétérinaire de Batna

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre mémoire.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Laroui S

Professeur à la faculté de médecine de Batna

Pour ses encouragements, sa patience et sa disponibilité,

Qu'il trouve ici l'expression de toute ma reconnaissance

A Monsieur le Docteur Yahia M

Maître de Conférences à la faculté des sciences de Batna,

Qui nous a guidé et conseillé tout au long de la réalisation de ce travail,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury du mémoire,

Recevez notre respectueuse considération.

A Monsieur le Professeur Kaidi R,

Professeur à l'université de Blida,

Malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de siéger dans notre jury de mémoire,

Sincères remerciements et profonde reconnaissance

A tous mes **enseignants de l'école doctorale** qui ont contribué à ma formation...

Sincères remerciements

A Monsieur Benhadid M,

Docteur vétérinaire et inséminateur dans la wilaya de Batna,

Qui a mis à notre disposition toutes les données et les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail,

Sincères remerciements

A Monsieur Yahia Atia

Maitre assistant, au CHU de Batna

Qui a mis à notre disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail,

Je le remercie très respectueusement de sa participation au jury en tant qu'invité

A tous ceux qui ont permis de mener à bien ce travail : service de biochimie de CHU de Batna, polyclinique d'Arris, de Kais, laboratoire des mécaniques des fluides

A tous ceux que j'aurais oublié, qu'ils m'en excusent

Dédicaces

A mes parents,

Si je suis allée loin dans mes études, c'est aussi grâce à vous. Merci de m'avoir encouragée à "aller tout droit". Merci d'être là ... si proche de moi.

A toute ma famille.

Pour son soutien et son affection, merci

A mes amis,

A tous ceux qui, de près ou de loin, ont participé à la réalisation de ce travail.

Liste des matières

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	

Partie théorique

CHAPITRE I. Aspects endocriniens du cycle œstral

I. 1. Folliculogenèse et ovulation.....	1
I. 1. 1. Folliculogenèse basale.....	2
I. 1. 2. Folliculogenèse terminale.....	4
I. 2. Formation et évolution d'un corps jaune	7

CHAPITRE II. Synchronisation et détection des chaleurs

II. 1. Synchronisation des chaleurs chez la vache laitière.....	9
II. 1. 1. Méthode par lutéolyse rapide	9
II. 1. 2. Méthode du blocage du cycle.....	12
II. 2. Détection des chaleurs chez la vache laitière.....	15

CHAPITRE III Propriétés biologiques de la glaire cervicale

III. 1. Rappel anatomique et histologique du cervix	17
III. 2. Glaire cervicale.....	19
III. 2. 1. Origine de la glaire cervicale	20
III. 2. 2. Mécanisme de sécrétion de la glaire cervicale.....	20
III. 2. 3. Propriétés biologiques de la glaire cervicale bovine.....	21

Partie expérimentale

CHAPITRE I Matériel et Méthodes

I. 1. Présentation de l'exploitation.....	29
I. 2. Protocole expérimental	29
I. 2. 1. Synchronisation des chaleurs	29
I. 2. 2. Collecte de la glaire	29
I. 2. 3. Dosage des paramètres biochimiques du mucus cervical	31

I. 2. 4.	Dosage des électrolytes du mucus cervical.....	34
I. 2. 5.	Mesure des paramètres rhéologiques et physiques du mucus cervical.....	34
I. 2. 6.	Cytologie du mucus cervical.....	35
I. 2. 7.	Analyses statistiques.....	36

CHAPITRE II. Résultats et discussion

II. 1.	Propriétés biochimiques du mucus cervical de la vache.....	37
II. 1. 1.	Phosphatase alcaline.....	37
II. 1. 2.	α -amylase.....	39
II. 1. 3.	Lactate déshydrogénase.....	40
II. 1. 4.	Glucose.....	42
II. 1. 5.	Fructose.....	43
II. 1. 6.	Cholestérol.....	44
II. 1. 7.	Protéines totales.....	46
II. 2.	Profils électrolytiques du mucus cervical de la vache.....	47
II. 3.	Propriétés rhéologiques et physique du mucus cervical.....	52
II. 3. 1.	Cristallisation.....	53
II. 3. 2.	Viscosité.....	54
II. 3. 3.	Spinnbarkeit.....	57
II. 4.	Cytologie de la glaire cervicale.....	58
II. 5.	Influence des propriétés biologiques de la glaire cervicale sur la fertilité.....	62

Conclusion

Bibliographie

Liste des abréviations

µl : microlitre

µg: microgramme

µg/ml : microgramme/millilitre

AMH: anti-Mullerian hormone

ATM: ataxia telangiectasia mutated ATD

BMP15: bone morphogenetic protein 15 GDF9B

BMP4 : bone morphogenetic protein 4 BMP2B

Ca : calcium

CE : cellule épithéliale

CELV : cellules épithéliales à large vacuoles

CIDR®: Control Internal Drug Releasing

Cl: chlore

cm: centimètre

CYP19A1: cytochrome P450, family 19, subfamily A, polypeptide 1 aromatase, P450Aro

Cys : cystéine

DMC1: DMC1 dosage suppressor of mck1 homolog, meiosis-specific homologous recombination (yeast) LIM15

eCG: equine Chorionic Gonadotropin

FGF7: fibroblast growth factor 7 KGF

FIGLA: folliculogenesis specific basic helix-loop-helix FIGalpha

FOXO3: forkhead box O3 FKHL1

FSH: Folliculo-Stimulating-Hormone

GDF9: growth differentiation factor 9

IA: insémination artificielle

IgA: immunoglobuline type A

IGF1: insulin-like growth factor 1

IgG: immunoglobuline type G

IgM: immunoglobuline type M

INH : inhibin

GnRH : gonadolibirine hormone

K: potassium

KITLG: KIT ligand SCF, Kitl, Steel factor

LH: lutéinisin Hormone

LHCGR: luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor LHR

LHX8: LIM homeobox 8

LIF: leukemia inhibitory factor CDF

LDH : lactate déshydrogénase

Mg: magnésium

mg : milligramme

mL : millilitre

mmol/l : millimole/ litre

MSH5: mutS homolog 5 (E. coli)

Na : sodium

nm : nanomètre

NOBOX: NOBOX oogenesis homeobox OG2

PAL: phosphatase alcaline

PGF2 α : prostaglandine F2 α

PRID® : Progesterone Intravaginal Device

PNN : polynucléaires neutrophile

r : coefficient de corrélation

SEM : erreur standard de la moyenne

SOHLH1: spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 1 TEB2

SOHLH2: spermatogenesis and oogenesis specific basic helix-loop-helix 2 TEB1

STRA8: stimulated by retinoic acid gene 8 homolog (mouse)

TGFA: transforming growth factor, alpha TFGA

TRIA : taux de réussite en première insémination

UI/g: unité internationale / gramme

UI/l : unité internationale /lilitre

Liste des figures

Figure 1. Principales étapes du développement folliculaire et de la maturation ovocytaire.....	2
Figure 2. Régulation du développement folliculaire basal.....	3
Figure 3. Croissance folliculaire par vague au cours du cycle œstral chez la vache.....	4
Figure 4. Régulation de la sélection et du développement terminal du follicule ovulatoire pendant la phase folliculaire du cycle ovarien chez une espèce mono-ovulante	6
Figure 5. Protocole de synchronisation des chaleurs à base de prostaglandine F _{2α}	10
Figure 6. Protocole de synchronisation associant GnRH et prostaglandine F _{2α} (Ovsynch)	12
Figure 7. Protocole classique de synchronisation à base de progestagènes (Crestar ®) ou progestérone (PRID®).....	14
Figure 8. A. Tractus génital de la vache . B. structure interne du cervix.	18
Figure 9 . Forme typique de la cristallisation de la glaire cervicale bovine pendant la phase folliculaire (A) ; lutéale (B).....	22
Figure 10. Quelques aspects des cristaux de KCl (a) (1440×); trois grands cristaux de KCl et celui de NaCl à l'apex des bras dendritiques(b) (360×)	22
Figure 11. Structure et composition de la mucine.....	24
Figure 12. A. Infrastructure de la glaire cervicale bovine, pendant la phase folliculaire (a) et lutéale (c) . B. Changement hormonaux au cours d'un cycle œstral.....	25
Figure 13. Montage utilisé pour la collecte de la glaire	30
Figure 14. Classification du mucus vaginal.....	30
Figure 15. Concentration de lactate déshydrogénase de la glaire cervicale pendant un œstrus naturel et synchronisé.....	40
Figure 16. Concentration de cholestérol dans la glaire cervicale pendant un œstrus naturel et synchronisé.....	44
Figure 17. Concentration des protéines totales dans la glaire cervicale pendant un œstrus naturel et synchronisé.....	46
Figure 18. Relation entre la viscosité, la cristallisation et la concentration de sodium (a), calcium (b), chlore (c) et potassium (d) dans la glaire cervicale bovine.	57

Figure 19. Examen cytologique d'un frottis cervical: CE (A) , PNN (B) (flèche jaune), CELV (C) (flèche noire) (x400)	60
Figure 20. Effet de la concentration des protéines totales(a) et de la LDH et choletérol (b) sur le nombre des IA.	63
Figure 21. Effet de la viscosité et la cristallisation sur le nombre des IA	64
Figure 22. Influence du taux de cellules épithéliales à large vacuole (CELV) (a), des neutrophiles (b) et les cellules épithéliales (CE) (c) sur le nombre des inséminations artificielles.	65

Liste des tableaux

Tableau 1. Caractéristiques de la glaire cervicale durant les deux stades du cycle ovarien...	23
Tableau 2. Système de notation de la cristallisation du mucus cervical	35
Tableau 3. Paramètres biochimiques du mucus cervical bovin.....	37
Tableau 4. Profils électrolytiques du mucus cervical de la vache au cours d'un œstrus naturel et synchronisé	47
Tableau 5. Propriétés rhéologiques et physiques du mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé	52
Tableau 6. Propriétés cytologiques du mucus cervical de la vache	59
Tableau 7. Influence de quelques propriétés biologiques du mucus cervical sur le nombre des inséminations artificielles	63

INTRODUCTION

Introduction

La réussite de la reproduction est primordiale pour la rentabilité économique de l'élevage, elle constitue un préalable indispensable à toute production. La première clé de cette réussite est une bonne observation des chaleurs par l'éleveur afin d'inséminer la vache au moment optimal ainsi mettre à la reproduction des femelles prêtes à reproduire et ceci le plus tôt possible et le plus longtemps possible.

Les voies génitales féminines jouent un rôle vital dans la reproduction en assurant la fécondation et le développement embryonnaire précoce. Les spermatozoïdes lors de leur remonté dans ces voies sont exposés séquentiellement à un environnement variable qui assure leur hyperactivation et maturation finale, aussi appelé capacitation.

Ces voies génitales fournissent des filtres biologiques pour sélectionner les spermatozoïdes les plus aptes à féconder et régulent le moment et la façon dont ces cellules spermatiques atteindront le site de la fécondation. L' environnement féminin doit être donc capable de contrôler d'une façon coordonnée et progressive les modifications fonctionnelles des spermatozoïdes qui garantiront leur potentiel fécondant.

Plusieurs études ont décrit le rôle de la glaire cervicale sur la fertilité chez la vache laitière [Ježková *et al.*, 2008]. Par ailleurs, un désordre quantitatif ou qualitatif de la glaire survenant lors du l'œstrus apparait comme une des causes de diminution de la fertilité [Kumaresan *et al.*, 2009].

A cet effet, notre contribution à travers ce travail s'inscrit dans le cadre d'étude des propriétés biologiques des sécrétions cervicales collectées quelques minutes avant l'insémination artificielle et à ses implications dans la fonction de la reproduction.

Dans un premier temps, à travers une étude bibliographique, nous rappellerons les grandes lignes de l'endocrinologie du cycle œstral de la vache laitière non gravide, les différents traitements de synchronisation en rappelant les moyens de détection des chaleurs les plus utilisés, et enfin nous étudierons les propriétés biologiques de la glaire cervicale.

La seconde partie, rapporte les techniques expérimentales qui consistent à comparer l'effet des traitements de synchronisation sur les différents paramètres de la glaire et la relation entre ces derniers et la fertilité chez la vache à oestrus naturel et synchronisé.

PARTIE THÉORIQUE

CHAPITRE I

ASPECTS ENDOCRINIENS DU CYCLE ŒSTRAL

L'équilibre des mécanismes contrôlant la reproduction repose sur une relation permanente entre le système nerveux central et les gonades, relation assurée par les hormones gonadotropes et stéroïdiennes [Chemineau *et al.*, 1996]. Chez la vache et d'autres mammifères, la fonction de l'ovaire est de produire à chaque ovulation un ou plusieurs ovocytes fécondables et de créer un environnement hormonal propice au démarrage éventuel d'une gestation.

Au sein de l'ovaire, deux processus de développement étroitement imbriqués : l'ovogenèse et la folliculogenèse, déterminent le nombre et la qualité des ovocytes produits. Après l'ovulation il ya formation d'un corps jaune ; qui sécrète de la progestérone. Finalement la lutéolyse se produit sous l'action de la prostaglandine F2 α (PGF2 α) sécrétée par l'utérus et un nouveau cycle débute [Wiltbank *et al.*, 1995 ; Weems *et al.*, 1995, 2006].

I. 1. Folliculogenèse et ovulation

Le développement des follicules ovariens, ou folliculogenèse, est un processus continu commence au démarrage de croissance du follicule primordial et se termine par la dégénérescence (ou atresie) de plus de 99% des follicules en croissance à l'ovulation [Fiéni *et al.*, 1995 ; Hanzen *et al.*, 2000 ; Monniaux *et al.*, 2009] . Cette dernière étape ne se produit que si les caractéristiques endogènes (développementales, hormonales, métaboliques) de l'individu et son environnement le permettent (saison, nutrition, interactions sociales).

La durée totale du développement folliculaire chez la vache pubère selon Drion *et al.* (1996) est 5 mois, et il ne concerne que 10% du stock folliculaire ; le reste de ce stock diminue au cours de la vie de l'animal [Hanzen *et al.*, 2000]. D'après plusieurs auteurs, le développement des follicules jusqu'à l'apparition de l'antrum est très lent et représente au moins 75% de la durée totale du développement folliculaire [Monniaux *et al.*, 1997 ; McGee et Hsueh., 2000].

Par contre, celui des follicules à antrum, plus rapide, est cependant plus long que la durée d'un cycle sexuel pour toutes les espèces de mammifères, il dure 22 à 42 jours chez la vache [Monniaux *et al.*, 2009].

D'un point de vue fonctionnel, le développement folliculaire peut se subdiviser en deux phases successives : la folliculogénèse basale (non gonado-dépendante) à croissance continue de plusieurs mois et la folliculogénèse terminale (gonado-dépendante) à caractère cyclique [Fieni *et al.*, 1995 ; Mialot *et al.*, 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009] (Figure 1).

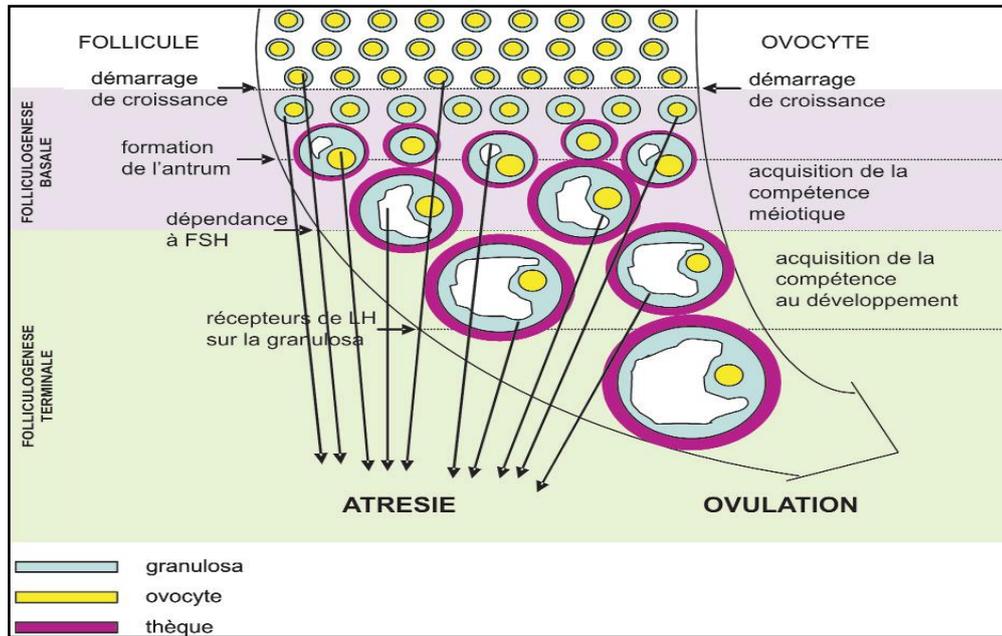


Figure 1. Principales étapes du développement folliculaire et de la maturation ovocytaire [Monniaux *et al.*, 2009].

I. 1. 1. Folliculogénèse basale

Elle se déroule apparemment normalement en l'absence de FSH selon un mode paracrine [Kumar *et al.*, 1997]. Selon Monniaux *et al.* (1997), le développement folliculaire se poursuit jusqu'à une taille limite caractéristique de chaque espèce, variant de 0,2 mm chez les rongeurs à 10 mm chez la jument, 3-4 mm chez la vache. Néanmoins, le rôle modulateur de quelques facteurs endocriniens mérite d'être signalé.

En premier lieu, l'AMH, sécrétée par les cellules de granulosa des follicules en croissance (mais pas des follicules primordiaux), joue un rôle déterminant de «gardien» de la réserve ovarienne [Durlinger *et al.*, 1999]. Ainsi FSH et LH, l'insuline et l'IGF1 sont capables de stimuler le développement folliculaire [Mazerbourg *et al.*, 2003].

La croissance et l'atrésie des plus petits follicules sont donc peu dépendantes des gonadotropines et de leurs variations cycliques, mais ces hormones modulent probablement les capacités de synthèse et la maturation des cellules de la granulosa [Thibault et Levasseur., 2001]. D'autres facteurs, d'origine ovocytaire et somatique jouent un rôle dans le développement des plus petits follicules [Ennuyer., 2000 ; Lucy *et al.*, 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009] .

Une fois les follicules primordiaux formés, certains vont démarrer leur croissance immédiatement et d'autres vont attendre, pendant plusieurs mois ou plusieurs années. La nature du signal de démarrage n'est pas encore connue, plusieurs facteurs ovocytaires (NOBOX, LHX8, SOHLH1 ou SOHLH2, FOXO3) [Castrillon *et al.*, 2003, Choi et Rajkovic., 2006 ; Pangas *et al.*, 2006 ; Reddy *et al.*, 2008] et/ ou somatique (KITLG , BMP4) [Huang *et al.*, 1993 ; Klinger et De Felici., 2002 ; Nilsson et Skinner., 2003] semblent jouer un rôle important dans le démarrage de la croissance des follicules primordiaux.

Les principales régulations du développement folliculaire basal sont schématisées dans la figure 2.

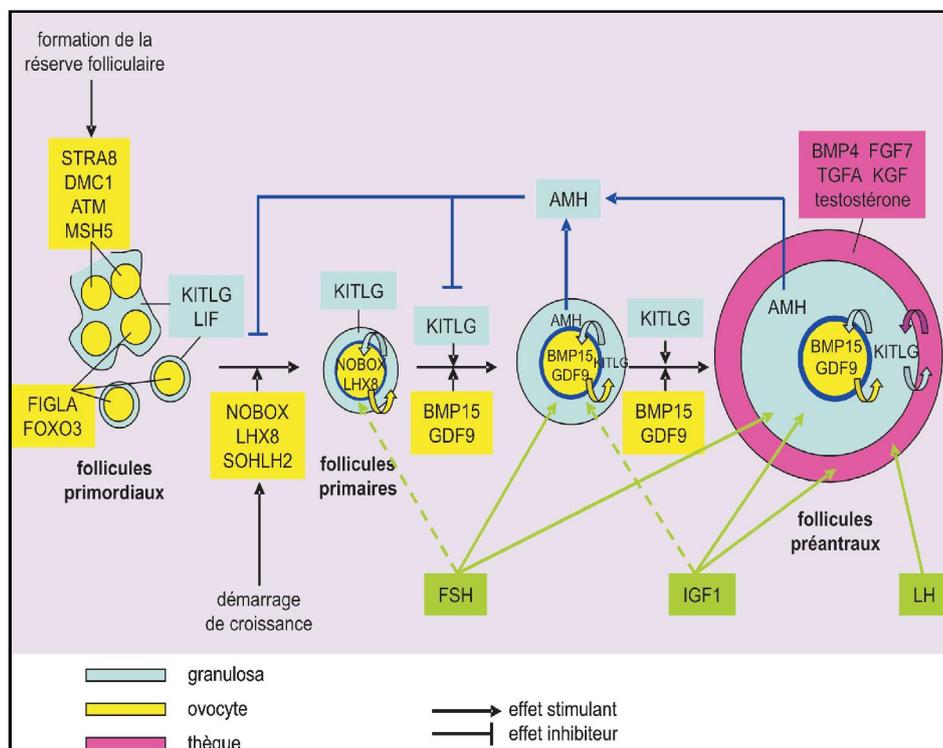


Figure 2. Régulation du développement folliculaire basal [Monniaux *et al.*, 2009].

I. 1. 2. Folliculogenèse terminale

Par définition, le développement folliculaire terminal est strictement dépendant de la présence de gonadotropines, et particulièrement de FSH qui en est le chef d'orchestre.

Outre les gonadotropines, les principaux régulateurs de la croissance folliculaire terminale sont de nombreux facteurs, d'origine locale ou endocrine (facteurs de croissance, matrice extracellulaire, protéases, stéroïdes) agissent en synergie avec les gonadotropines pour réguler son déroulement et sensibilisent les follicules à FSH [McGee et Hsueh., 2000]. Ensuite, la dominance du follicule préovulatoire est assurée par la LH, hormone à laquelle ce follicule est progressivement devenu hypersensible et qui prend le relais de la FSH [Monniaux *et al.*, 2009].

La taille folliculaire où apparaît la dépendance est de 3 mm chez la vache [Thibault et Levasseur., 2001 ; Monniaux *et al.*, 2009]. Cette croissance finale se déroule sous forme de vagues folliculaires [Ennuyer., 2000 ; Thibault et Levasseur., 2001 ; Chastant-Maillard *et al.*, 2002].

Chez la vache, il y a une à quatre vagues, le plus souvent (dans 95% des cas) deux ou trois vagues [Fiéni *et al.*, 1995; Ennuyer., 2000 ; Diskin *et al.*, 2003]. Plus précisément, les vagues débutent à J2, J8 et J14 pour des cycles à 3 vagues (J0 correspondant à l'ovulation). Elles apparaissent à J2 et J11 pour des cycles à 2 vagues [Lucy *et al.*, 2001].

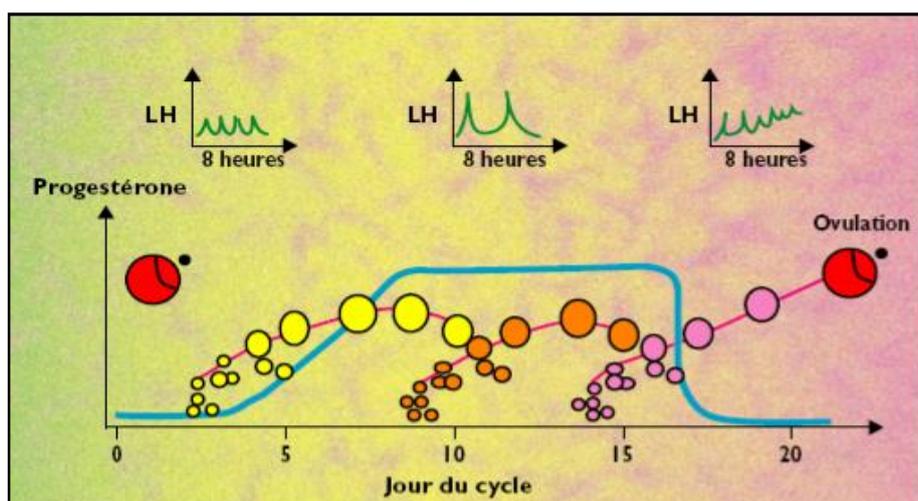


Figure 3. Croissance folliculaire par vague au cours du cycle œstral chez la vache (J0 étant l'ovulation [Ennuyer., 2000].

Dans toutes les espèces, la vague de développement folliculaire terminal qui aboutit à l'ovulation démarre au moment de la lutéolyse, l'ovulation ayant lieu en fin de phase folliculaire du cycle sexuel. La jument présente la particularité de pouvoir ovuler également pendant la phase lutéale du cycle [Thibault et Levasseur., 2001]. Chaque vague folliculaire comporte trois phases :

- **Phase de recrutement**

Tous les follicules gonado-dépendants présents dans les ovaires entrent alors en croissance terminale « recrutement » [Ennuyer., 2000 ; Thibault et Levasseur., 2001]. Ils forment une « cohorte » qui comprend plusieurs follicules de taille et de sensibilité différente aux gonadotropines. La croissance folliculaire terminale commence à un diamètre de 2 à 5 mm [Ennuyer., 2000; Driancourt *et al.*, 2001 ; Mialot., 2001].

Le recrutement coïncide avec l'apparition d'une activité aromatasase dans la granulosa qui perdent progressivement leur activité de prolifération et de synthèse d'AMH, et se différencient en cellules stéroïdogènes par l'augmentation de la synthèse d'oestradiol à partir des androgènes d'origine thécale. Simultanément, ces cellules de granulosa deviennent sensibles à LH (apparition et augmentation brutale des récepteurs de LH) [Monniaux *et al.*, 2009].

- **Phase de sélection**

Cette phase ne concerne que quelques follicules (de 1 à 3 en général) [Ennuyer., 2000]. Ainsi, au début de la phase folliculaire du cycle sexuel, le dialogue ovaire/axe hypothalamo-hypophysaire met en jeu plusieurs follicules. Progressivement, la petite «avance» dont pourrait bénéficier un follicule par rapport aux autres s'amplifie. Ce dernier instaure alors une sorte de dialogue privilégié en sécrétant de plus en plus d'oestradiol, ce qui a pour conséquence une diminution importante des teneurs en FSH, qui provoque l'atrésie des follicules de la cohorte [Driancourt *et al.*, 2001].

Le follicule dit «dominant» ne souffre pas quant à lui de cette baisse des teneurs en FSH, puisqu'il induit, par rétroaction positive cette fois [Ennuyer., 2000], via l'oestradiol, une forte augmentation de la fréquence des pulses de LH à laquelle il devient hypersensible, grâce à la très forte expression de récepteurs de LH dans ses cellules de granulosa. La croissance terminal de ce follicule dominant est explosive : de l'ordre de 5-6 mm par jour [Fiéni *et al.*, 1995].

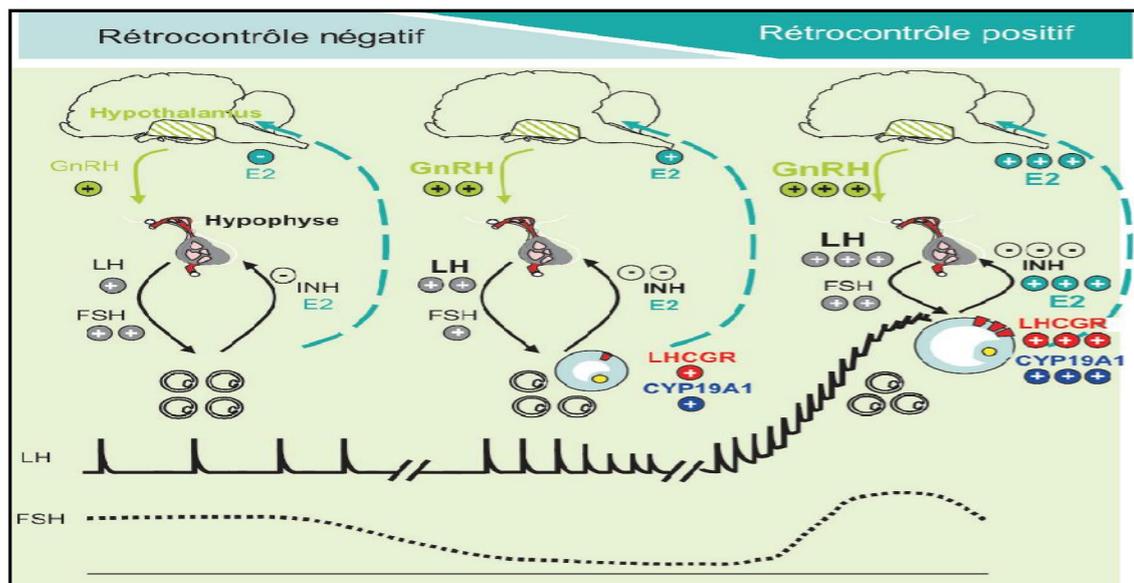


Figure 4. Régulation de la sélection et du développement terminal du follicule ovulatoire pendant la phase folliculaire du cycle ovarien chez une espèce mono-ovulante [Monniaux *et al.*, 2009].

- **Phase de dominance**

Il s'agit de la phase LH dépendante. En effet le devenir de follicule dominant dépend de la fréquence et l'amplitude de la décharge LH. On a ainsi deux cas de figure :

- Atrésie de ou des follicules dominant : si un corps jaune est présent dans l'ovaire, la progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus. Les pulses de LH n'ont alors lieu que toutes les 3 à 4 heures, ce qui est responsable de la perte de dominance. Après une phase statique d'environ 6 jours, le follicule dominant s'atrophie : la vague folliculaire était non ovulatoire. Une nouvelle vague folliculaire émerge alors [Lucy *et al.*, 2001].

- Ovulation de ou des follicules dominants : L'augmentation de la LH endogène apparaît le plus souvent sous la forme d'un «pic» de très forte amplitude tous les heures [Ennuyer., 2000], qui induit, dans les heures qui le suivent, la rupture du follicule ovulatoire et la libération de l'ovocyte dans l'oviducte. Seuls les follicules qui expriment de nombreux récepteurs de LH à la surface des cellules de granulosa sont capables d'ovuler en réponse au pic préovulatoire de LH [Mialot., 2001]. Cette dernière, se fixe sur ses récepteurs au niveau des cellules folliculaires (granulosa murale et thèques) qui répondent à ce signal par la régulation de l'expression de plusieurs gènes, et le transmettent ensuite aux cellules du cumulus et à l'ovocyte (Figure 4).

Les deux ovaires communiquent entre eux via la sécrétion d'inhibine et d'oestrogènes dans la circulation générale et se comportent comme un seul organe. Il faut signaler que 60% des ovulations ont lieu sur l'ovaire droit [Lucy *et al.*, 2001].

I. 2. Formation et évolution d'un corps jaune

C'est par des transformations morphologiques et fonctionnelles (lutéinisation) des cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule ovulant que se constitue le corps jaune [Weems *et al.*, 2006]. Cette lutéinisation coïncide avec une augmentation très importante de la sécrétion de progestérone [Thibault et Levasseur., 2001].

Cet organite contient des grandes cellules issues de la granulosa et des petites provenant de la thèque interne, elles présentent les caractéristiques des cellules stéroïdogènes [Drion *et al.*, 1996 ;Thibault et Levasseur., 2001] . Les grandes cellules lutéales représentent environ 30% des cellules du corps jaune, secrètent environs 70% de progestérone sans stimulation de la LH (lutéinisin Hormone) [Weems *et al.*, 2006].

Chez les ruminants, ces cellules possèdent un grand nombre de granules sécrétoires denses, dans les zones proches de la membrane plasmique. L'ocytocine et la relaxine ont été mises en évidence dans certains de ces granules [Fiéni *et al.*, 1995 ; Thibault et Levasseur., 2001]. Les petites cellules lutéales, de diamètre inférieur à 20 μm , représentent environ 70% des cellules du corps jaune, mais secrètent environs 30% de progestérone sous contrôle de la LH [Niswender *et al.*, 1994].

Les petites et grandes cellules stéroïdogènes représentent environ 50% des cellules du corps jaune, qui comporte également des cellules vasculaires et des cellules conjonctives [Thibault et Levasseur., 2001].

D'après Fiéni *et al.* (1995), l'évolution du corps jaune chez la vache se réalise en trois temps :

- Une période de croissance (4 à 5 jours,) au cours de laquelle il est insensible aux prostaglandines $F_{2\alpha}$ [Weems *et al.*, 1995 ; Wiltbank *et al.*, 1995] ;
- Un temps de maintien d'activité (8 à 10 jours) (il atteint alors un diamètre minimal de 20 mm en fin de croissance) ;

En fin de phase lutéale, seule les petites cellules continuent à produire de la progestérone.

Les grandes cellules s'orientent vers la production d'ocytocine, sous l'effet l'oestradiol folliculaire, qui se fixe sur les récepteurs utérins, provoquant ainsi la synthèse et la libération de prostaglandines, provoquant ainsi la lutéolyse du corps jaune vers le 17ème jour du cycle. [Weems *et al.*, 2006].

La $PGF2\alpha$ conduit à l'arrêt du fonctionnement du corps jaune mais non sa destruction physique ; il reste apparent jusqu'au cycle suivant sous forme de corpus albicans. La concentration en progestérone chute, il y a levée du rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et une nouvelle décharge d'hormones gonadotropes apparaît permettant une nouvelle croissance folliculaire [Christenson *et al.*, 1994].

S'il y a fécondation et formation d'un fœtus, le trophoblaste produit aux alentours du 15ème jour de gestation de la trophoblastine qui inhibe la production de $PGF2\alpha$. Le corps jaune devient alors gestatif et producteur de progestérone. Celle-ci inhibe le relargage de FSH et donc tout cycle potentiel [Christenson *et al.*, 1994 ; Thatcher *et al.*, 2001].

CHAPITRE II
SYNCHRONISATION ET DÉTECTION
DES CHALEURS

La maîtrise de la reproduction est devenue une nécessité en élevage bovin laitier. Elle est primordiale notamment pour la rentabilité économique de l'élevage laitier : réalisation de l'objectif d'un veau par vache et par an, planification des vêlages pour remplir le quota laitier annuel, diminution des frais d'insémination ou de traitement en cas d'échec à la mise à la reproduction.

La première clé de cette réussite est une bonne observation des chaleurs par l'éleveur afin d'inséminer la vache au moment optimal [Seegers *et al.*, 2010]. Cette activité chronophage, pour être efficace, passe par une bonne expression des chaleurs par les vaches. Or dans les troupeaux laitiers modernes, cette expression est devenue plus frustrée et les éleveurs accordent de moins en moins de temps à leur détection.

Les traitements de synchronisation des chaleurs permettent de s'affranchir de cette détection, de regrouper la venue en chaleur d'un groupe d'animaux et d'inséminer à «l'aveugle». En plus d'intervenir au niveau du troupeau, ils permettent d'induire des chaleurs chez des vaches en anoestrus, c'est-à-dire non cyclées.

II. 1. Synchronisation des chaleurs chez la vache laitière

De nombreuses hormones utilisées seules ou associées, permettent de synchroniser et parfois d'induire l'ovulation afin d'obtenir une fécondation en inséminant sur chaleurs observées ou à l'aveugle à des moments bien précis après l'arrêt du traitement. Le principe utilisé dans les deux méthodes de synchronisation repose sur la physiologie du corps jaune.

II. 1. 1. Méthode par lutéolyse rapide

II. 1. 1. 1. Traitement à base de prostaglandine F2 α seule

Cette méthode utilise de la prostaglandine F2 α ou ses analogues (exemple : cloprosténol, luprostiol ...). La PGF2 α est synthétisée chez les bovins par les cellules de granulosa [Bridges et Fortune., 2003], cellules lutéale [Weems *et al.*, 1998, 2002] et principalement par l'utérus (endomètre) [Thatcher *et al.*, 1995]. Cette molécule joue plusieurs rôles : affecte l'ovulation [Randel *et al.*, 1996] ; la lyse du corps jaune [Gipoulou *et al.*, 2003] ; maintient la gestation [Banu *et al.*, 2003] ; la parturition [Challis *et al.*, 2000 ;

Taverne *et al.*, 2001] ; intervient dans la physiologie de postpartum [Velez *et al.*, 1991 ; Randel *et al.*, 1996].

Ces substances ont été employées pour la synchronisation de l'œstrus seule ou avec des progestérones, œstrogènes, et gonadolibirines hormones (GnRH) [Diskin *et al.*, 2001 ; Driancourt., 2001 ; Ahmadi *et al.*, 2007].

L'action lutéolytique de la $PGF_{2\alpha}$ n'est possible qu'entre J5 et J17 du cycle sexuel (J0 correspondant à l'ovulation), période où le corps jaune est sensible à cette substance [Grimard *et al.*, 2003] , suite à la présence des récepteurs membranaires à $PGF_{2\alpha}$ [Sakamoto *et al.*, 1995 ; Wiltbank *et al.*, 1995 ; Tsai *et al.*, 2001].

Cette interaction provoque une inhibition d'une lipoprotéine responsable du transport du cholestérol intracellulaire, origine de la synthèse des hormones stéroïdiennes dont la progestérone [Rodgers *et al.*, 1995 ; Niswender *et al.*, 2000] et par conséquent la diminution de la progestéronémie [O'Shea et McCoy., 1988]. Ce qui provoque une augmentation de la fréquence des pulses de LH [Ziecik *et al.*, 2001 ; Ziecik., 2002 ; Stepien et Ziecik., 2002], ainsi une élévation significative de la sécrétion d'œstradiol par le follicule dominant, l'apparition de l'œstrus et l'ovulation [Ennuyer., 2000].

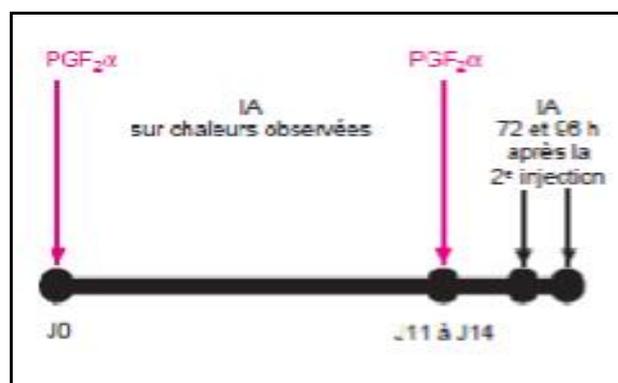


Figure 5. Protocole de synchronisation des chaleurs à base de prostaglandine F2 α

[Grimard *et al.*, 2003].

Au vu des connaissances sur la dynamique de la croissance folliculaire (souvent deux vagues pour les vaches et trois pour les génisses), les protocoles de synchronisation conseillés selon plusieurs auteurs [Stevenson *et al.*, 1999 ; Jemmeson., 2000 ; Hanzen *et al.*, 2003] comprennent-ils 2 injections à 11-14 jours d'intervalle ,génisses et vaches respectivement. La plupart des animaux expriment des chaleurs entre 48 et 96 h après

l'arrêt du traitement et peuvent être inséminés à l'aveugle à 72 et 96 h [Grimard *et al.*, 2003].

Tandis que Mialot *et al.* (1999) et Driancourt (2001), ont montré que malgré la lutéolyse rapide (24 heures), l'intervalle entre l'injection et les chaleurs est variable et dépend du stade de croissance du follicule au moment du traitement, ce qui rend la synchronisation de l'ovulation insuffisante pour réaliser une insémination unique à un moment déterminé, sans observation des chaleurs [Pursley *et al.*, 1997 ;Gipoulou *et al.*, 2003].

Le traitement à base de PGF_{2α} se révèle être le moins coûteux (surtout si de nombreuses vaches sont fécondées après la première injection), mais ne peut être utilisé que si les vaches sont cyclées [Mailot *et al.*, 1998 ; Hanzen *et al.*, 2000].

II. 1. 1. 2. Associations GnRH/ PGF_{2α} (protocole GPG)

Les PGF_{2α} agissent sur la durée de vie du corps jaune, elles n'ont pas d'effet direct sur la croissance folliculaire. L'idée de synchroniser la folliculogénèse avant l'administration de PGF_{2α} a amené à utiliser la GnRH.

Le plus courant de ces protocoles est le protocole GPG pour Gonadolibérine-ProstaglandineF_{2α}-Gonadolibérine. Il est communément appelé Ovsynch ou encore protocole 721 en référence aux intervalles de temps entre chaque injection. Il à été proposé pour la première fois par Pursley *et al.* (1995), même si d'autres auteurs avaient déjà étudiés les effets d'association diverses entre GnRH et PGF_{2α} [Twagiramungu *et al.*, 1994 et 1995].

Le protocole, maintenant classique, est illustré dans la figure 6. En fonction du stade de croissance du follicule dominant, la première injection de GnRH provoque soit l'atrésie, l'ovulation ou la lutéinisation des gros follicules présents dans l'ovaire [Geary *et al.*, 1998; Hanzen *et al.*, 2003].

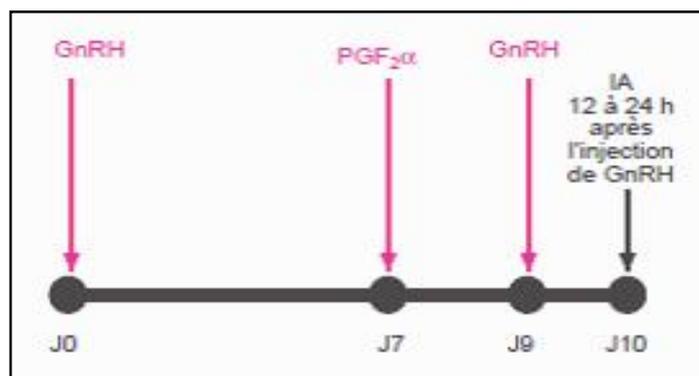


Figure 6. Protocole de synchronisation associant GnRH et prostaglandine F_{2α} (Ovsynch) [Grimard *et al.*, 2003].

Une injection de PGF_{2α} pratiquée 7 jours après est importante, surtout si la première injection de GnRH a eu lieu en phase métoestrus ou enfin de dioestrus, elle entraîne la lutéolyse au moment où un follicule dominant est présent et celui-ci devient préovulatoire [Hanzen *et al.*, 2003 ; Pursley *et al.*, 1997].

L'injection de GnRH réalisée 48 h après l'injection de PGF_{2α} améliore la fertilité des vaches laitières en augmentant leurs concentrations en LH (dans les deux heures qui suivent l'injection [Hanzen *et al.*, 2003]. De plus, elle entraîne l'ovulation d'un follicule de meilleure qualité et surtout, elle synchronise précisément le moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs, 24 à 32 h plus tard, pour 87 à 100 % des vaches [Pursley *et al.*, 1995 et 1998 ; Thatcher *et al.*, 2001].

Le protocole GPG a été déconseillé chez les génisses laitières et les vaches non cyclées [Twagiramungu *et al.*, 1995]. Il a par contre été largement utilisé chez les vaches laitières et les résultats obtenus sont satisfaisants [Jemmeson., 2000 ; Cecyre *et al.*, 2001].

II. 1. 2. Méthode du blocage du cycle

Elle consiste à bloquer l'évolution du cycle suffisamment longtemps pour que toutes les femelles arrivent au terme de leur phase lutéale sans pouvoir aller au-delà. L'arrêt du traitement équivaut à lever l'inhibition de l'évolution ovarienne, ce qui revient à libérer l'hypophyse qui reprend son activité de sécréter la FSH, le corps jaune est régressé, les follicules se développent en même temps et l'ovulation survient alors dans un faible espace de temps.

Ces substances bloquantes ont été administrées par toutes les voies : oral, sous cutanée, intramusculaire ou mieux par voie intra-vaginale [Hanzen *et al.*, 2000]. Selon la nature de la substance, on peut citer : les implants sous cutanés, dispositifs intra-vaginales.

II. 1. 2. 1. Associations progestérones /GnRH/ œstrogènes /PMSG/ PGF2 α

L'apport de progestérone par voie orale n'est plus disponible et seuls trois dispositifs diffusant des progestagènes ou progestérone sont disponibles. L'implant Crestar® classique ou Crestar SO® (Intervet, 3 mg de norgestomet), la spirale vaginale PRID® et la capsule intravaginale CIDR® (CIDR® / CIDR-E® (E pour Estradiol). Les protocoles de synchronisation sont illustrés dans la figure 7.

L'association œstrogène et progestagène agit à la fois sur la croissance folliculaire et sur la durée de vie du corps jaune [Driancourt., 2001 ; Chastant-Maillard *et al.*, 2002]. De plus ils améliorent l'absorption vaginale des progestérones en créant une vasodilatation [Gipoulou *et al.*, 2003], ce qui est particulièrement intéressant dans le cadre des dispositifs vaginales.

Administrés en début de cycle, les œstrogènes ont une activité antilutéotrope, ils provoquent la disparition d'un corps jaune en début de formation qui pourrait persister après le retrait du dispositif et ainsi diminuer le taux de synchronisation des chaleurs [Bo *et al.*, 1995 ; Hanzen *et al.*, 2000]. Par contre, en présence d'un corps jaune fonctionnel, les œstrogènes ont une activité lutéolytique [Grimard *et al.*, 2003].

L'introduction de ces hormones en début de protocole a permis de réduire la durée du traitement progestatif et d'améliorer la fertilité à l'œstrus induit [Diskin *et al.*, 2001]. De plus, l'activité antilutéotrope et lutéolytique des œstrogènes n'est pas efficace à 100 %, si le traitement commence entre J0 et J4 du cycle, le corps jaune peut persister dans 14 à 85 % des cas [Pratt *et al.*, 1991 ; Burns *et al.*, 1993 ; Kesler *et al.*, 1997]. L'interdiction de l'utilisation zootechnique des œstrogènes constitue une réelle difficulté pour la maîtrise des cycles [Picard-Hagen *et al.*, 2005].

L'association de GnRH avec les progestagènes permet de synchroniser les vagues folliculaires [Fournier *et al.*, 2004], parce que l'injection de GnRH permet l'ovulation de tous les follicules sensibles à la LH. On évite ainsi la persistance du follicule dominant

éventuellement présent en début de traitement et donc le démarrage d'une nouvelle vague [Chastant-Maillard *et al.*, 2002]. C'est le follicule de cette nouvelle vague qui ovulera.

L'injection de $\text{PGF}_{2\alpha}$ au moment du retrait ou, mieux, 48 h avant le retrait du dispositif peut améliorer la synchronisation des chaleurs et la fertilité des vaches cyclées avant traitement [Mialot *et al.*, 1998]. Cet effet améliorateur n'est cependant pas toujours observé chez les vaches allaitantes cyclées [Grimard *et al.*, 2003].

L'utilisation des $\text{PGF}_{2\alpha}$ permet de plus de réduire la durée de traitement de 10 à 8 jours et d'augmenter le pourcentage de femelles détectées en chaleurs (de 74 à 95%) [Lucy *et al.*, 2001].

Une injection d'eCG (Equine Chorionic Gonadotropin, anciennement PMSG) est conseillée au moment du retrait du dispositif, surtout si les vaches sont en anoestrus avant traitement. L'effet FSH et LH de l'eCG va soutenir la croissance folliculaire terminale, la production endogène d'œstrogènes favorise l'ovulation [Petit *et al.* 1979 ; Deletang., 1983].

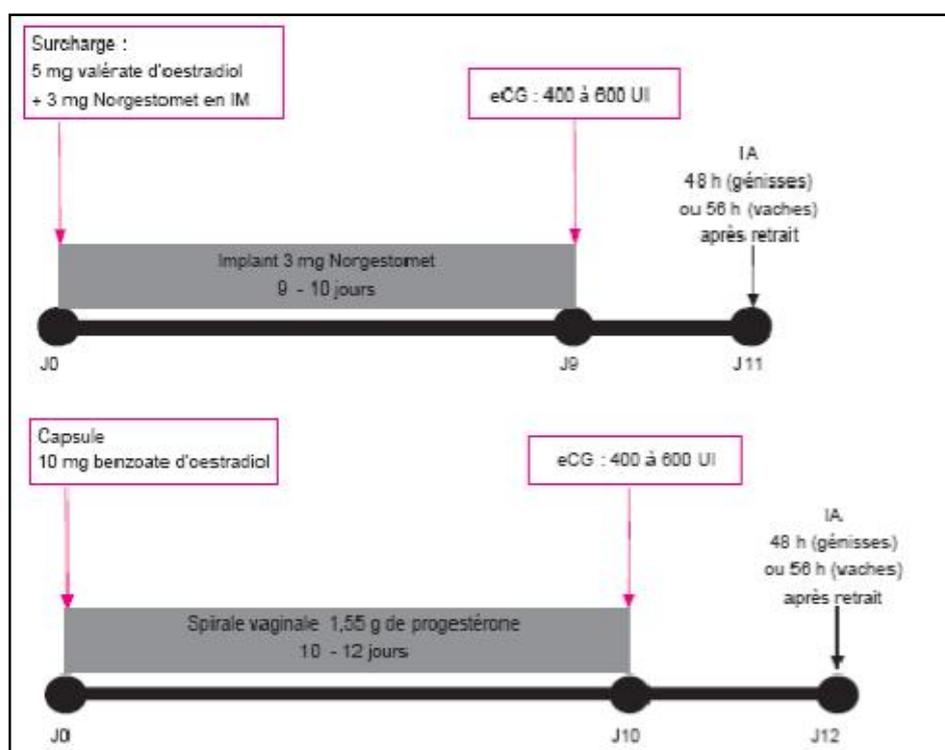


Figure 7. Protocole classique de synchronisation à base de progestagènes (Crestar®) ou progestérone (PRID®) [Grimard *et al.*, 2003].

II. 2. Détection des chaleurs chez la vache laitière

Une bonne reproduction est l'un des aspects les plus critiques de la rentabilité d'un élevage. Les pertes économiques dues à un pauvre niveau de reproduction ont de multiples facettes: une diminution de la production totale de la vache et le nombre de veaux qui naissent dans un élevage, de plus le cout direct pour la saillie et les frais vétérinaires est élevé

Pour maximiser sa production totale une vache doit être saillie 80 à 90 jours après le vêlage. Ceci lui permet de produire un nouveau-né et de commencer une nouvelle lactation tous les 12,5 à 12,8 mois. Les intervalles de vêlage plus longs ont, en général, un effet détrimentale sur la production de vie.

Que le service soit naturel (saillie naturelle) ou artificiel (IA), la détection précise des chaleurs est essentielle pour obtenir de bons résultats de reproduction. De plus, l'enregistrement des données concernant les chaleurs et les services est nécessaire pour prédire les dates de chaleurs ou les dates de vêlages futurs et prendre soin des vaches en fonction de leur statut reproductif [Saint-Dizier M., 2005].

Que sont les chaleurs?

Œstrus, ou chaleurs, est un comportement. Par définition, c'est une période de réceptivité sexuelle caractérisée par la monte, qui se produit normalement chez les génisses pubères et les vaches non gestantes. Cette période de réceptivité dure de 6 à 30 heures et se répète en moyenne tous les 21 jours. Cependant, un intervalle entre deux chaleurs (le cycle des chaleurs) peut varier de 18 à 24 jours [Mialot *et al.*, 2001].

Signe des chaleurs

Ces dernières années, plusieurs références ont permis de confirmer que les chaleurs avaient une durée raccourcie et une expression comportementale devenue fruste voire parfois absente en race Holstein [Imitiaz-Hussain *et al.*, 1992].

Des facteurs de variation de l'expression ont été bien décrits tels que la nature des logements et des surfaces (plus ou moins glissantes) [Bernheim *et al.*, 1996 ; Rodtian *et al.*, 1996] l'espace disponible [Metz et Mekking., 1984], la température [Roddian *et al.*, 1996] ou la normalité de la cyclicité après vêlage. D'autres sont moins établis : production laitière élevée [Lopez *et al.*, 1994] et déficit énergétique postpartum [Seegers *et al.*, 2010].

L'efficacité de la détection dépendra de l'éleveur lui même, de sa technicité et du temps qu'il y consacrera ; pour être efficace, avec cependant un taux de détection de seulement 70 %, il serait nécessaire de consacrer à la surveillance des animaux au minimum 30 minutes deux fois par jour à 12 h d'intervalle, après la traite et en dehors des périodes d'affouragement [Van Vliet et Van Eerdenburg., 1996].

Il a été rapporté que la plupart des vaches montrent leurs signes de chaleurs de manière progressive [Saint-Dizier., 2005]. La connaissance précise de cette gradation permet de déterminer si la vache est au début, au milieu, ou vers la fin de ses chaleurs. Une vache est en chaleur lorsqu'elle ne s'esquive pas quand elle est montée (chevauchée) par d'autres vaches ou par un taureau, de plus l'observation de modifications de l'aspect de la vulve, l'augmentation de la sécrétion de mucus et des modifications de ses caractéristiques physico-chimiques, des odeurs spécifiques [Saumande., 2000].

Il faut signaler que, l'expression des chaleurs suit un cycle journalier très prononcé. La plupart des tentatives de monte se produisent la nuit, aux premières heures de la journée et en fin de soirée. Les résultats de nombreuses recherches indiquent que plus ou moins 70% des montes se produisent entre 7 heures du soir et 7 heures du matin. De manière à pouvoir détecter plus de 90% des chaleurs dans un troupeau, les vaches doivent être observées attentivement aux premières heures de la matinée, aux heures tardives de la soirée et à intervalles de 4 à 5 heures pendant la journée [Saint-Dizier., 2005].

CHAPITRE III

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES DE LA GLAIRE CERVICALE

Le mucus cervical est une sécrétion mucoïde complexe et fluctuante, élaborée par le canal cervical, qui fait l'objet d'une production cyclique sous dépendance hormonale. Investi de diverses fonctions physiologiques visant à faciliter, en période féconde, l'ascension vers l'utérus d'une population suffisante de spermatozoïdes sains et à assurer l'aseptisation de ce dernier dans les diverses situations physiologiques, il subit, pour être à même de les exercer, des modifications qualitatives, quantitatives et structurales qui le rendent ou non pénétrable par les spermatozoïdes.

Tenant une place fondamentale dans le processus reproducteur, le mucus cervical est fréquemment impliqué dans les problèmes de stérilité chez la femme et la diminution de la fertilité chez d'autres mammifères, pour la solution desquels son évaluation fait partie du bilan clinique de base.

III. 1. Rappels anatomiques et histologiques du cervix

Comme celui des autres Mammifères, le col utérin de la vache est un étroit canal long de 7 à 8 cm (peut atteindre 15 cm après plusieurs gestations [Hafez et Kanagawa., 1972]. C'est la porte du système génitale femelle, toujours en construction, qui s'ouvre pour le part et s'entrouvre pour l'œstrus [Barone., 1978].

Le col utérin est constitué par un fort épaissement de la paroi du tractus génital entre le corps et le vagin. Il est peut discernable en surface. Par contre, sa paroi épaisse, sa forme cylindroïde et surtout sa consistance ferme permettent de le distinguer facilement du corps utérin à la palpation.

Généralement cette consistance subisse des variations selon le stade du cycle œstral : elle est molle est friable durant la phase folliculaire et rigide et épaisse pendant la phase lutéale. Cette situation est rencontrée aussi chez d'autre espèces comme le cheval [Hafez., 1973], chien [Silva *et al.*, 1995].

Plusieurs études ont montré que ces changements de structure de tissu cervical sont à l'origine des modifications biochimiques principalement au niveau du réseau de collagène [Hafez., 1993 ; Breeveld-Dwarkasing *et al.*, 2003].

A l'analogie avec le col utérin de la Femme et selon Breeveld-Dwarkasing *et al.* (2003), Fuchs *et al.* (1996), le cervix de la vache est subdivisé anatomiquement en deux grands segments:

- Vaginal ou exocervix, qui forme une protusion dans le vagin et est revêtu d'un épithélium squameux, pluristratifié de type vaginal;
- Médiane et utérin ou endocervix, le canal cervical proprement dit, très sinueux, recouvert sur la majeure partie de sa longueur d'un épithélium prismatique, unistratifié de type utérin (Figure 8).

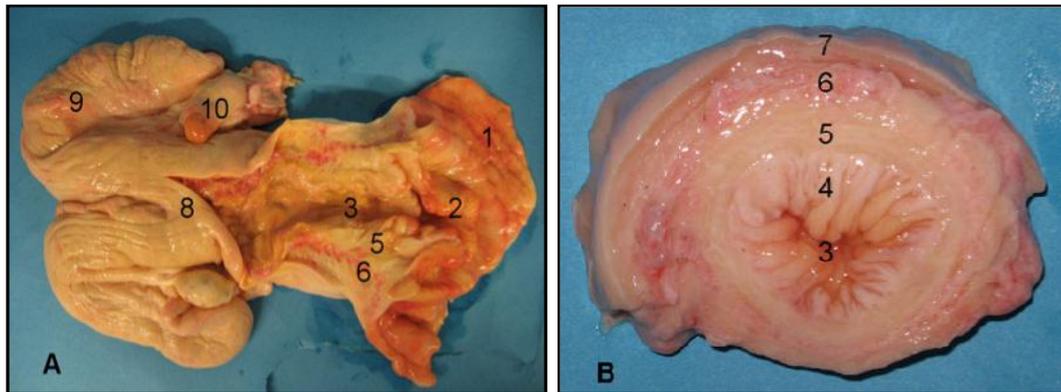


Figure 8. **A.** Tractus génital de la vache, (vue dorsal avec incision longitudinale présentant la position du cervix à l'intérieur). **B.** structure interne du cervix. 1: paroi vaginale; 2: région caudale du cervix ; 4 : muqueuse; 5 : sous muqueuse ; 6 : musculieuse ; 7 : séreuse ; 8 : corps de l'utérus ; 9 : corne utérine ; 10 : ovaire [Van Engelen *et al.*, 2009].

Sur le plan histologique il comporte :

➤ **Muqueuse** : est très différente de l'endomètre. Elle est plus mince, dépourvue de glandes. Au cours d'un cycle œstral, la muqueuse découpée par une série d'anneaux cartilagineux, en formant deux à quatre fleurs épanouies, subissent des modifications histologiques importantes sous l'action des variations des taux des hormones stéroïdes [Breeveld-Dwarkasing *et al.*, 2003].

Selon **Thibier et Humblot (1981)**, ces modifications ne suivent pas le même schéma que l'épithélium utérin. C'est au cours de l'œstrus que les cellules épithéliales atteignent une taille maximale, leur noyau est alors long et leur grand axe perpendiculaire à la membrane basale. En phase lutéale, ces cellules deviennent plus petites et cuboïdes.

La propria est pourvue de nombreuses fibres de collagène qui lui donnent sa consistance ferme et se retrouvent jusqu'aux faisceaux les plus profonds de la musculature. Ces fibres sont susceptibles de se gonfler fortement sous l'influence des hormones ovariennes et contribuent à modifier la consistance et l'aspect du col au cours de l'œstrus [Barone., 1978].

➤ **Musculeuse** : est constituée de:

- Couche de muscles longitudinaux externes, apparaissant sous forme d'une assise discontinue dont les interstices sont occupés par du tissu conjonctif.
- Une épaisse couche de muscles circulaires internes, assemblés en faisceaux compacts qui s'anastomosent, enserrant un tissu conjonctif dense [Breeveld-Dwarkasing *et al.*, 2003].

➤ **Séreuse** : est constituée d'une couche épaisse de tissus conjonctif lâche et des vaisseaux sanguins [Breeveld-Dwarkasing *et al.*, 2003].

III. 2. Glai re cervicale

Pendant l'œstrus, le col devient souple et dilaté, les plis se relâchent. Les glandes cervicales sécrètent dans les replis du col un mucus qui forme des glaires de consistance élastique et qui se mêle à la sécrétion légèrement hémorragique de l'endomètre congestionné [Moghissi., 1972 ; Barone., 1978].

Cette glaire, joue un rôle essentiel dans le processus de reproduction chez tous les mammifères, du fait que les spermatozoïdes sont situés dans la plupart des cas dans les cryptes du cervix, ils atteignent l'oviducte 8 h environ après la monte naturelle ou l'insémination artificielle [Tsiligianni *et al.*, 2001]. Elle participe à l'aseptisation de cervix et l'utérus à la fois [Hafez B et Hafez E., 2002]. La quantité de la glaire sécrétée estimée par Holy (1983), est de 106,8 -2000 ml.

Les caractéristiques physico-chimiques du mucus cervical changent complètement selon le moment du cycle, sous l'influence des hormones stéroïdes afin de faciliter le passage des spermatozoïdes [Hafez B et Hafez E., 2002]. Chez les bovins, l'échec de fécondation est du surtout à l'échec des spermatozoïdes à contacter les ovules plutôt que d'une infertilité due aux ovules [Hawk., 1987]. Par conséquent, il est important de connaître la composition de la glaire cervicale pendant l'œstrus.

Le fait que la motilité propre des spermatozoïdes permette le franchissement du col de l'utérus, entraîne une sélection des spermatozoïdes les plus vigoureux et élimination des spermatozoïdes morts. La motilité des spermatozoïdes récupérés dans l'utérus est significativement plus élevée que la motilité moyenne des spermatozoïdes utilisés pour l'insémination artificielle [Suga et Higaki., 1971].

III. 2. 1. Origine de la glaire cervicale

Le col de l'utérus est rempli d'un mucus qui est généralement similaire à celle des voies respiratoires. Il est élaboré par l'épithélium ciliosécréteur qui tapisse les parois du conduit cervical [Barone., 1978]. Une centaine de replis et de cryptes en « doigt de gant » multiplient sa surface qui est constituée d'une association de cellules sécrétrices et ciliées.

Les cellules sécrétrices, au pôle apical recouvert de microvillosités, élaborent le mucus puis le libèrent dans la lumière du conduit cervical. Des cellules de réserve, coincées à la base de l'épithélium, assurent sa régénération en se différenciant en l'un ou l'autre type cellulaire lorsque le besoin s'en fait sentir [Chrétien., 1974].

III. 2. 2. Mécanisme de sécrétion de la glaire cervicale

Si l'on ne peut omettre la possibilité d'une régulation nerveuse, démontrée chez le lapin et cobaye chez lequel elle entraîne, par excitation du cervix, une excrétion réflexe de mucus cervical, celle-ci apparaîtrait très secondaire chez la vache [Hafez., 1973] et la femme [Chrétien., 1974] par rapport au contrôle hormonal.

L'augmentation du nombre de cellules sécrétrices en activité et du volume de mucus sécrété au milieu du cycle laissait deviner la prépondérance des œstrogènes circulants au niveau du mécanisme initiateur. L'apport d'œstradiol après castration chez la femme a confirmé l'action antagoniste sur la production du mucus cervical des hormones ovariennes [Moricard *et al.*, 1964], et démontre que ces dernières sont aussi responsables des modifications physicochimiques qu'il manifeste au cours du cycle [Chrétien., 1980].

En effet, la nature de la sécrétion cervicale a été prévisiblement changée par l'administration de l'œstrogène ou de la progestérone chez une vache ovariectomisée [Lamond et Shanahan., 1969]. Chez la femme, le traitement à base de progestagène a produit un mucus cervical incompatible avec la pénétration de sperme [Moghissi., 1966].

L'élaboration du mucus est réalisée sous influence oestrogénique au cours d'une phase de mise en charge qui atteint son maximum au milieu du cycle. Au cours de cette phase, le mucus synthétisé dans la partie basale de la cellule s'y accumule en repoussant le noyau vers le centre avant d'accéder au pôle apical où il finit généralement par repousser la membrane pour constituer un saccule extérieur [Chrétien., 1974].

L'évacuation de la sécrétion par les cellules à mucus se fait au cours d'une « phase sécrétrice », selon deux modalités d'inégale importance : le mode apocrine, largement prédominant, qui libère le mucus par rupture du saccule apical, et le mode mérocrine, par lequel le mucus est évacué par un pore apical [Chrétien et Guillon., 1978]. Les mucines sont sécrétées dans le canal cervical par exocytose des cellules endocervicale [Gorodeski., 1996].

III. 2. 3. Propriétés biologique de la glaire cervicale bovine

La glaire cervicale, biopolymère fortement hydraté, est un hydrogel composé essentiellement de deux phases, l'une liquide, dont la plupart des constituants subissent des variations quantitatives en réponse à celles du contexte hormonal, appelée aussi « phase d'eau » [Blandau et Moghissi, 1973 ; Linford., 1974]. Cette phase est piégée dans une infrastructure glycoprotéique ou « phase solide » [Odeblad., 2002].

III. 2. 3. 1. Propriétés physiques de la glaire cervicale bovine

Le mucus cervical est un mélange des mucines et plasma cervical [Gorodeski., 1996]. Sa nature et sa structure lui confèrent des propriétés physiques spécifiques, qui sont intimement associées à sa fonction physiologique.

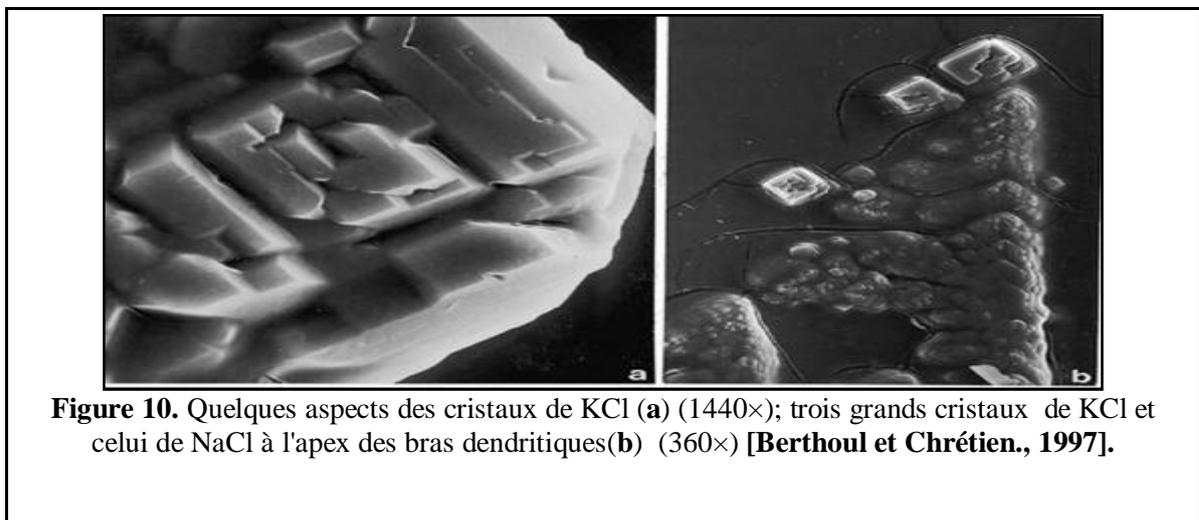
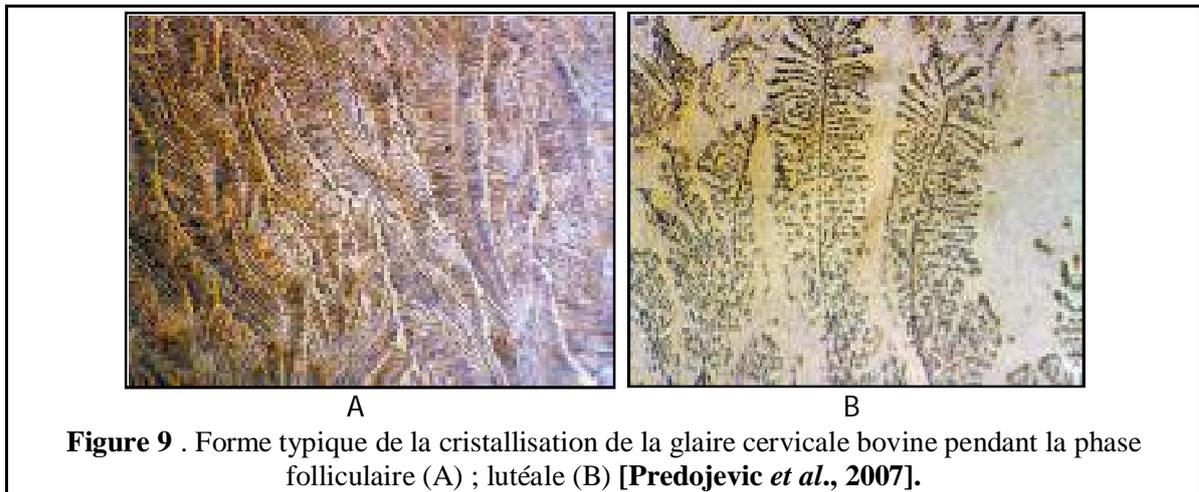
Pendant l'œstrus, la quantité du mucus est importante et devient aqueux, transparent, filant et facile à prélevé ce qui facilite le passage des spermatozoïdes, par contre pendant la phase lutéale, il devient, épais, opaque, visqueux et n'affleure pas l'orifice externe du cervix [Hafez , ESE., 1993].

Les caractéristiques physiques les plus importantes du mucus cervical étudiés par plusieurs auteurs [Tsiligianni *et al.*, 2000a ; Rutllant *et al.*, 2002 ; González et Evelin., 2009] sont : le volume, la consistance, le pH, matière sèche et cendre, la réceptivité , la conductivité, la cristallisation et les propriétés rhéologiques telles que la viscosité et spinbarkeit.

La rhéologie est l'étude de l'écoulement et les propriétés de déformation d'un système donné [Rutllant *et al.*, 2002]. Ces propriétés montrent des variations au cours d'un cycle ovarien, en réponse a l'état hormonal de la femelle [Hafez B et Hafez E., 2002].

De tels changements du mucus peuvent être employés en tant que indicateur de l'état hormonal ou d'ovulation imminente [Tsiligianni *et al.*, 2001].

Plusieurs études ont suggéré que les changements des propriétés rhéologiques des sécrétions cervico-vaginal puissent être à l'origine de l'infertilité chez la vache [López *et al.*, 1997 ; Rutllant *et al.*, 1997,1999].



Quels sont les facteurs qui peuvent rendre le mucus cervical imperméable physiquement aux spermatozoïdes?

Il y a seulement une période limitée pendant un cycle normal quand le mucus permet aux spermatozoïdes de pénétrer facilement. Pénétration maximale du mucus cervical humain et bovin se produit pendant l'ovulation avec une réduction marquée avant et après cette phase [Roark et Herman., 1950; Pommerenke., 1962].

Durant cette période, la sécrétion d'œstrogène est abondante et le mucus qui est sécrété est fortement caractéristique. Dès que la progestérone gagnera la dominance, que la nature de la sécrétion change nettement. Un déséquilibre hormonal serait influencé donc sur les propriétés du mucus et par conséquent dans son perméabilité (Tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques de la glaire cervicale durant les deux stades de cycle ovarien [Predojevic *et al.*, 2007]

Propriétés	Phase oestrogénique	Phase
Progestéronique		
Volume	maximum	minimum
Teneur en eau	maximum	minimum
Élasticité	maximum	minimum
Cristallisation	maximum	minimum
Teneur en cellules	minimum	maximum
Protéine	minimum	maximum

Plus récemment, il a été prouvé que le composant structural du

mucus cervico-vaginal pendant l'œstrus est entièrement formé des fibres de mucine, qui est essentiellement formée de glycoprotéines polymérisées, unies par des liens non covalents et constituants des fibrilles reliées par des ponts disulfures [Rutllant *et al.*, 2002 ; Predojevic *et al.*, 2007]. L'ensemble forme une trame infrastructurelle de filaments anastomosés piégeant et retenant la phase liquide et que l'on peut comparer au maillage d'un tricot [Lai *et al.*, 2009].

Au microscope électronique à balayage et diffusion de lumière, les fibres qui forment le gel de mucus sont des longs filaments denses et flexibles entourés par des courtes chaînes glucidiques (75 –80%) [Rutllant *et al.*, 2002], la pluparts entre eux sont chargés négatives (acide sialique ou de sulfate) [Lai *et al.*, 2009].

Les segments protéiques fortement glycosylés sont souvent hydrophiles et séparés par des segments protéiques (20 –25%) réticulés relativement hydrophobes qui sont stabilisés par des ponts disulfures (Cys- Cys) [Perez-Vilar et Hill., 1998 ; Perez-Vilar *et al.*, 1998].

Tous les mucines ayant de longs domaines flexibles de 'PTS' (proline, thréonine, sérine) qui sont fortement glycosylés, constituent 40% à 80% du poids de la mucine sécrétée [Cone., 2009 ; Lai *et al.*, 2009]. Plusieurs types de molécules d'oligosaccharides sont présentées dans le segment glucosylés, et entre eux se trouvent beaucoup de molécules d'eau liées par des faibles liaisons "d'eau " [Odeblad., 2002].

La visco-élasticité ainsi les autres propriétés biophysiques du mucus dépend nettement de la concentration de ces mucines ou de glycoprotéines sécrétées principalement par l'épithélium cervical [Ulcova-Gallova., 2010].

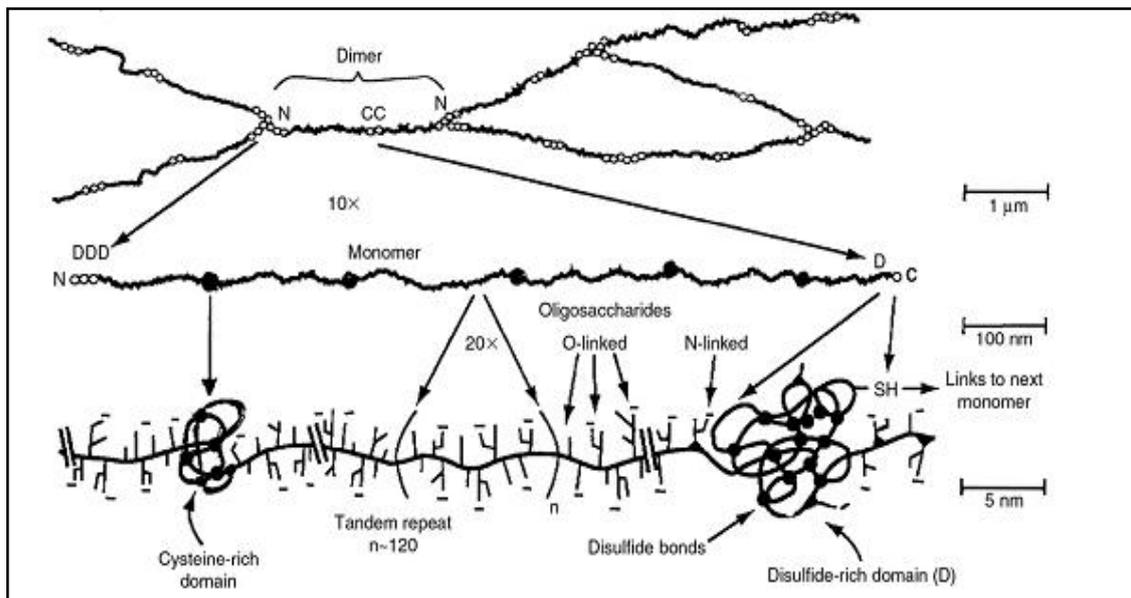


Figure 11. Structure et composition de la mucine [Lai *et al.*, 2009].

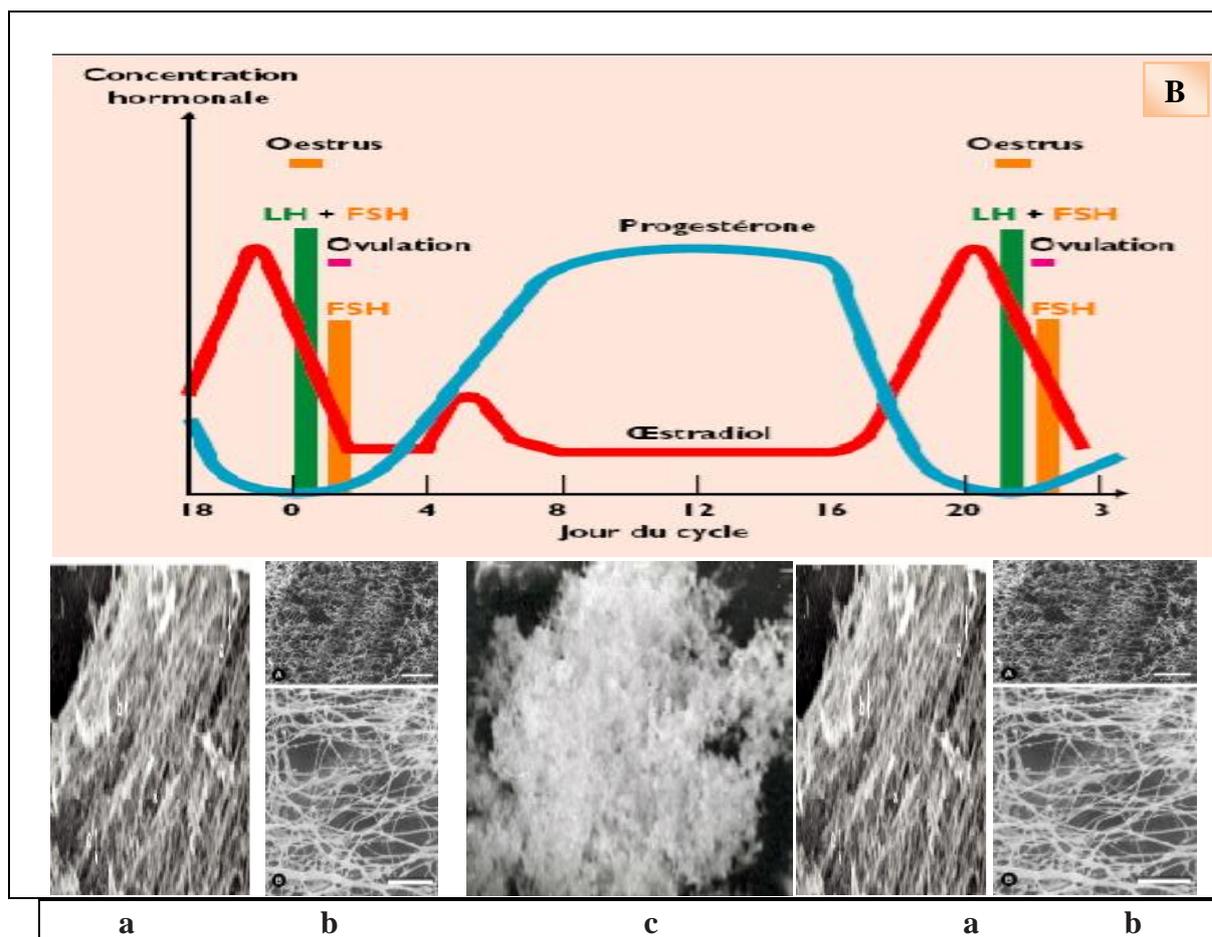


Figure 12. A. Infrastructure de la glaire cervicale bovine, pendant la phase folliculaire (a) et lutéale (c) [Predojevic *et al.*, 2007] et au moment d'œstrus et l'ovulation (b) [Rutllant *et al.*, 2002]. **B.** Changement hormonaux au cours d'un cycle œstral [Roche., 2003].

III. 2. 3. 2. Propriétés chimiques de la glaire cervicale bovine

Le mucus cervical est un mélange des mucines « phase solide » et plasma cervical [Gorodeski., 1996]. Le plasma cervical compose 95 –99% du poids total du mucus cervical [Blandau et Moghissi., 1973], il est essentiellement composé d'eau (de 95 à 99%) et contient de très nombreuses substances dissoutes à poids moléculaire élevées et faibles, celles-ci présentent dans les mailles tridimensionnelles de la phase solide [Linford., 1974 ; Odeblad., 2002].

A. Constituants de faibles poids moléculaires

- *Sels minéraux et électrolytes* : ils représentent environ 1% à 2 % de la masse du mucus [Meyer et Silberberg., 1980 ; Lai *et al.*, 2009]. Les électrolytes les plus fréquents sont : Ca^{++} , Na^+ , Cl^- , K^+ et Mg^{++} [Sato *et al.*, 1980 ;

Tsiligianni et al., 2001]. Ces sels subissent des variations quantitatives parallèles à celles de l'eau de sorte que le mucus reste normalement isotonique.

- **Composés organiques** : glucose, fructose, sorbitol, galactose, acides aminés, hexosamine [**Roberts et Parker., 1974 ; Tsiligianni et al., 2001**] et lipides dont le cholestérol [**Trakatellis., 1986**] qui sont à des concentrations très faibles (1-2%) [**Slomiany et al., 1986 ; Nadziejko et al., 1993**].

B. Constituants à poids moléculaire élevé

La phase aqueuse renferme de très nombreuses protéines, les unes proviennent d'une transsudation à partir du sérum sanguin : immunoglobulines (IgA, IgG et IgM), les globulines et l'albumine [**Gorodeski., 1996 ; Therien et al., 1999; Visconti et al., 2002**]. D'autres semblent sécrétées par les cellules cervicales : certaines IgA et IgG, lactoferrine [**Hulka et Omran.,1969 ; Moghissi et Blandau., 1972**].

Ainsi qu'une panoplie très complexe d'enzymes, telles amylase, muramidase ou « lysozyme », phosphatases acide et alcaline, lactate déshydrogénase, α - manosidase, β -N-acetyloglucosaminidase, β - glucuronidase, et β – galactosidase [**Tsiligianni et al., 2001**], les enzymes de l'oxydation des acides gras, du cycle de l'acide citrique, du métabolisme du glucose et de celui des acides aminés. Quelle que soit leur origine, la concentration de toutes ces protéines augmente sous stimulation progestative et diminue sous l'effet des œstrogènes.

III. 2. 3. 3. Propriétés immuno -cytologiques de la glaire cervicale bovine

A. Défenses non spécifiques du cervix

Chez la vache en activité génitale, le rôle du cervix dans la défense non spécifique est à la fois anatomique et physiologique, lié à la réceptivité hormonale de la muqueuse cervico-vaginale.

- **Les moyens de défenses anatomiques**

Le cervix utérin est une jointure anatomique située à l'extrémité postérieure du vagin dont la muqueuse est composé d'un réseau des fibres de collagènes, ces derniers jouent un rôle dans la modification de la texture du col de l'utérus [**Breeveld-Dwarkasing et al., 2003**]. Lors de la phase folliculaire (J19-J20, J0 étant le jour de l'ovulation), le col

est alors ouvert de 0,5 cm, sa muqueuse est rouge rosée et très humide. Pendant l'œstrus, il est ouvert de 1 cm, sa muqueuse oedématiée est hyperhémisée.

En début de phase lutéale (J1-J4), l'ostium externe du col se referme, l'oedème diminue, la muqueuse passe du rouge au rouge-rose. Le col reste donc fermé au cours de la phase lutéale assurant une barrière entre l'environnement extérieur et la lumière utérine [Rosenberger., 1979].

- **Les moyens de défenses physiologiques**

Le mucus cervico-vaginal fait office de barrière contre les micro-organismes, en jouant un rôle d'aseptisation du canal cervical et de la cavité utérine [Barriere et Lopes, 1987] par l'intermédiaire d'un double mécanisme :

En période d'œstrus, le maillage infrastructural du mucus est trop lâche pour opposer un obstacle physique absolu aux bactéries mais il piège les éléments figurés (hématies, cellules épithéliales) qui sont évacués par le flux descendant. Une protéine soluble bactériostatique lactoferrine [Castellino *et al.*, 1970; Bhushana Rao *et al.*, 1973] et une enzyme bactéricide le peroxydase [Elstein et Pollard., 1968; Hamana *et al.*, 1971] et les lysozymes [Eggert-Kruse *et al.*, 2000] présentent dans la phase liquide neutralisent les agents bactériens [Barriere et Lopes., 1987].

En dehors de la période ovulatoire, l'asepsie est essentiellement assurée par piégeage des hôtes indésirables au sein des mailles resserrées [Rutlant *et al.*, 2002 ; Predojevic *et al.*, 2007].

B. Défenses spécifiques du cervix

Les défenses spécifiques du cervix comprennent les défenses médiées par des anticorps (immunité humorale) et les défenses médiées par des cellules effectrices (immunité cellulaire) très mal connues.

- **Immunité humorale**

Les sécrétions cervicales et cervico-vaginales contiennent des IgA, IgG et IgM, dont les concentrations varient en fonction de la date du cycle œstral et l'événements pathologiques, comme inflammation ou une infection génitale [Kutteh *et al.*, 1988 ; Mestecky *et al.*, 1989 ; Parr M et Parr E., 1994]. L'augmentation des immunoglobulines en fin de phase folliculaire peut être attribuée à une augmentation du flux sanguin et à une

augmentation de la perméabilité capillaire sanguine au cours de cette phase du cycle [Alavi-Shoushtari *et al.*, 2006].

Selon une étude expérimentale d'inoculation intra-utérine d'un organisme pathogène (*Campylobacter fetus*), les immunoglobulines dans les sécrétions cervicales et vaginales apparaissent dans l'ordre IgM, IgA et IgG et disparaissent dans l'ordre IgM, IgG et IgA [Corbeil *et al.*, 1974 ; Dhaliwal *et al.*, 2001].

C. cytologie de la glaire cervicale

Différents types cellulaires peuvent être observés sur des frottis de la glaire cervicale : des cellules épithéliales, des cellules épithéliales à large vacuoles, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes, des éosinophiles, des macrophages, des globules rouges, des micro-organismes et des débris [Ahmadi *et al.*, 2004, 2005b ; Deguillaume., 2007].

PARTIE EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Notre essai pratique a débuté le mois d'avril 2010, sur des vaches laitières productrices (pie noir et pie rouge) dont la production journalière moyenne est de 9-11 L. l'âge moyen est de 2-6 ans avec moyenne de poids 500-580 Kg. Le mode de reproduction est l'insémination artificielle. Leurs dernières mises bas sont aux alentours de 2 mois avant la mise à la reproduction.

I. 1. Présentation de l'exploitation

Notre étude s'est déroulée au niveau des fermes de bovins laitiers privées situées dans la commune de Djarma, wilaya de Batna, où la température est très élevée en été et très froide en hiver. Les vaches sont logées en stabulation libre, reçoivent une alimentation adaptée aux conditions climatiques, basée principalement sur la paille, fourrage vert et concentré...etc.

I. 2. Protocole expérimental

I. 2. 1. Synchronisation des chaleurs

Le protocole de synchronisation utilisé dans cette étude est différent, selon la présence ou l'absence du corps, nous avons subdivisé les vaches en 3 lots :

- **Premier groupe** (n = 25) : oestrus naturel.
- **Deuxième groupe** (n = 15) : les chaleurs sont induites à l'aide de progestagènes par l'utilisation d'un implant hypodermique (implant auriculaire : CRESTAR®, Intervet Schering Plough, Beaucouze, France). Le jour de la pose de l'implant, une injection de 5 mg de valérate d'oestradiol est administrée. L'implant reste en place 12 jours, une injection d'eCG le jour du retrait de l'implant est réalisée.
- **Troisième groupe** (n = 10) : les chaleurs sont induites par l'utilisation de deux injections d'un analogue de la prostaglandine F₂α ; le cloprostenol (ESTRUMATE®, Intervet Shering-plough, Beaucouze, France, 500µg par voie intramusculaire) à 12 jours d'intervalle ; pour induire la lutéolyse d'un corps jaune fonctionnel.

I. 2. 2. Collecte de la glaire

Le montage utilisé pour la collecte de la glaire est constitué d'un tube en acier inoxydable à bout fermé avec trous, de 35 cm de long et un diamètre interne de 0.5 mm.

L'une des extrémités de tube est insérée dans une seringue de 30 ml. Cette dernière est reliée par un tube transparent en plastique de 1m de long et 0.5mm de diamètre interne.



Figure 13. Montage utilisé pour la collecte de la glaire

Avant de réaliser les prélèvements ; un examen de contenu vaginal est effectué ; une main préalablement gantée par un gant de fouillé rectale est introduite jusqu'à l'ostium externe du col afin de racler toute la circonférence du vagin. Les vaches présentent un mucus sale, contenant du sang ou du pus sont exclues.



Proportion de pus :

0 point : Mucus clair et translucide

1 point : Mucus contenant des flocons blancs

2 points : Moins de 50 mL d'exsudat contenant moins de 50% de matériel mucopurulent, blanc

3 points : Plus de 50 mL d'exsudat contenant du pus blanc ou jaunâtre et occasionnellement sanguinolent

Odeur du pus :

0 point : Odeur normale

1 point : Odeur fétide

Figure 14. Classification du mucus vaginal [Williams *et al.* 2005].

Après cet examen de contenu vaginal, la vulve est lavée à l'aide de l'eau et séchée. De l'huile ou d'autres lubrifiants sont utilisés pour faciliter l'introduction du bras dans le rectum. Le montage est introduit dans le vagin et guidé jusqu'à l'ostium externe du col de l'utérus, repéré par une palpation transrectale ; une

fois l'extrémité du dispositif introduite dans le premier anneau du col on réalise une aspiration buccale douce du mucus cervical.

Immédiatement les prélèvements sont versés dans des tubes secs en plastique de 5 ml portent des étiquettes, avant de mettre ces tubes dans une glissière ; nous avons réalisé des frottis cervicaux pour étudier la cytologie et la cristallisation. Deux lames sont systématiquement conservées pour chaque prélèvement, la première étant stockée dans un porte lame et la seconde, dite lame jumelle, dans un autre porte lame, après avoir numérotée.

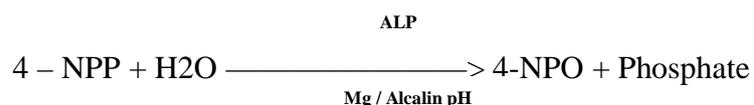
Après cette opération les échantillons sont acheminés, sous froid, au laboratoire où ils sont conservés à (-30°C) jusqu'à leur utilisation.

I. 2. 3. Dosage des paramètres biochimiques de mucus cervical

Pour le dosage des différents éléments organiques: glucose, cholestérol, protéines totales et fructose ; ainsi la mesure de l'activité catalytique des enzymes : phosphatase alcaline, lactate déshydrogénase et finalement α -amylase., nous avons utilisé comme appareil un analyseur automate METROLAB 2300 ; dont la distribution des réactifs et des échantillons ainsi la dilution de ces derniers sont faites de façon automatique en un temps programmé. Cet automate possède 9 longueurs d'onde situées entre 340 et 750 nm.

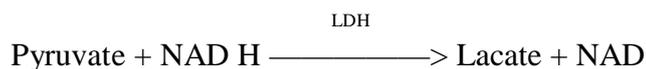
I. 2. 3. 1. Phosphatase alcaline

L'activité de la phosphatase alcaline dans les échantillons de mucus cervical a été dosée par colorimétrie, en utilisant un kit commerciale spécifique. 2 μ l du mucus homogénéisés ont été ajoutés à 180 μ l de substrat (4-nitrophenylphosphate). La réaction mesure le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm qui est proportionnelle à l'activité de l'PAL dans le mucus.

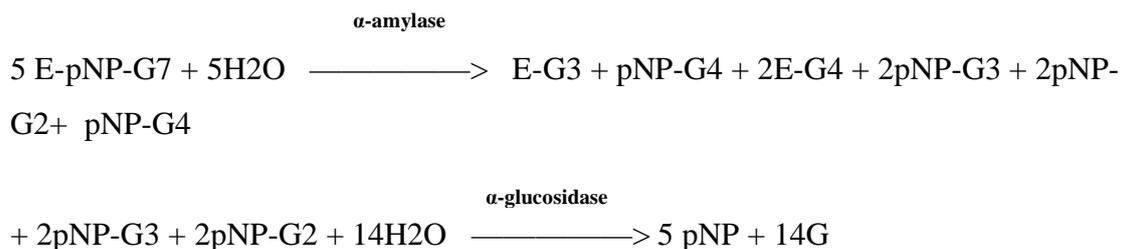


I. 2. 3. 2. Lactate déshydrogénase

L'activité lactate déshydrogénase a été dosée par la méthode colorimétrique. 2 µl de mucus homogénéisés ont été ajoutés à 180 µl de substrat (le pyruvate ou le lactate). La LDH catalyse la réduction du pyruvate en lactate en oxydant la nicotinamide adénine dinucléotide réduite (NADH) en NAD. L'activité de la LDH a été déterminée par le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm pendant la production de la NAD.

**I. 2. 3. 3. α-amylase**

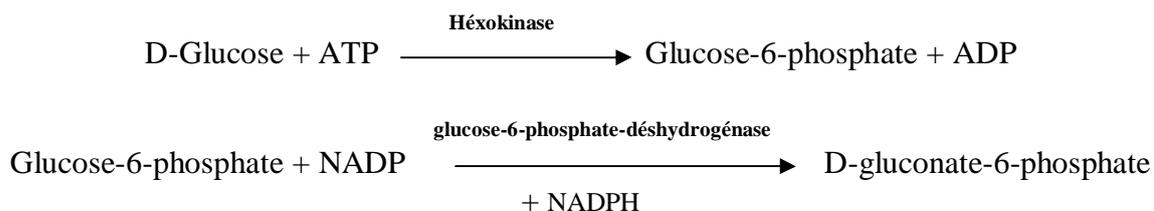
L'activité de α-amylase a été dosée par un test enzymatique colorimétrique. 2 µl du mucus homogénéisé ont été ajoutés à 1 mL de substrat (l'éthylidène-pNP-G7). Le taux de formation de pNP est proportionnel à l'activité de l'α-amylase présente dans l'échantillon, elle se mesure à 405 nm.



G = Glucose ; pNP = p-nitrophénol.

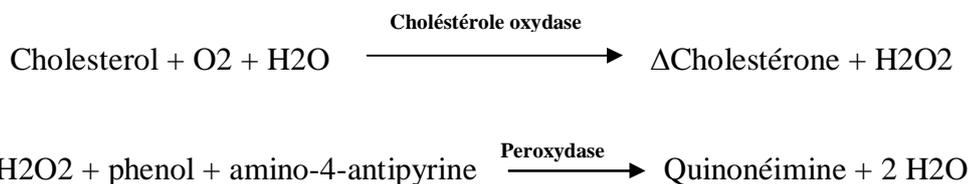
I. 2. 3. 4. Dosage de glucose

Le dosage a été effectué par la méthode enzymatique au glucose oxydase (GOD-PAP). Il se produit ainsi la réaction ci-dessous. La quantité de NADPH formé au cours de la réaction est proportionnelle à la quantité de glucose. On la détermine par son absorption à 340 nm. Les résultats sont exprimés en (mg/100 ml).

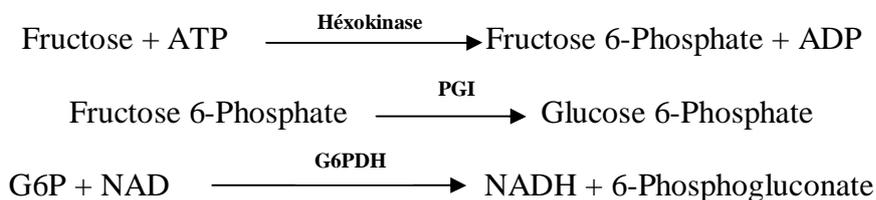


I. 2. 3. 5. Dosage de cholestérol

Le dosage a été fait par la méthode colorimétrique enzymatique au cholestérol oxydase. L'échantillon mis au contact du réactif donne la réaction suivante:

**I. 2. 3. 6. Dosage de fructose**

Le dosage a été effectué par la méthode enzymatique, 10 μ l du mucus homogénéisé ont été ajoutés à 1mL de réactif de fructose (5mg/ml), les résultats sont exprimés en (μ g/ml). L'échantillon mis au contact du réactif donne la réaction ci-dessous. L'augmentation de l'absorbance à 340 nm est directement proportionnelle à la concentration en fructose.

**I. 2. 3. 7. Dosage des protéines totales**

Le dosage a été effectué par la méthode colorimétrique. La concentration de la protéine totale a été estimée par une méthode de Biuret, 80 μ l d'échantillon homogénéisé ont été additionnés à 1 ml du réactif commerciale. L'augmentation de l'absorbance qui en découle est mesurée par un détecteur à 545 nm. L'échantillon mis au contact du réactif donne la réaction suivante:



I. 2. 4. Dosage des électrolytes du mucus cervical

Le dosage des éléments minéraux : calcium (Ca^{++}), potassium (K^+), sodium (Na^+) et chlore (Cl^-) a été fait par un système clinique entièrement automatique SYNCHRO CX[®] et un ionogramme ESCH WEILER[®].

L'analyseur SYNCHRO CX[®] capable d'analyser la chimie générale, les électrolytes, les protéines, les médicaments thérapeutiques ainsi que les stupéfiants. Toutes les réactions sont automatisées et programmées (quantité de réactifs et d'échantillon, durée des réactions, température d'incubation, longueur d'onde...).

I. 2. 5. Mesure des paramètres rhéologiques et physiques de mucus cervical

I. 2. 5. 1. Viscosité

La viscosité a été mesurée selon la méthode de [Tsiligianni *et al.*, 2000] par un viscosimètre capillaire. D'après la loi de Poiseuille on a une relation linéaire entre la viscosité d'une solution et le temps d'écoulement d'un volume donné V à travers le capillaire. Le viscosimètre est placé dans un thermostat maintenu à température constante. Nous avons mesuré le temps d'écoulement d'un volume constant V défini par deux traits de repères (M1 et M2) situés de part et d'autre d'un petit réservoir surmontant le capillaire.

I. 2. 5. 2. Spinnabreite

Elle a été mesurée, selon la méthode décrite par d'Adams (1979) ; Moghissi (1973). Nous avons déposé délicatement une petite quantité de mucus cervical sur une lame en verre. Après avoir établi un contact avec le mucus cervical à l'aide d'une seconde lame de verre disposée perpendiculairement à la première, nous avons séparé ces deux lames par un mouvement ascensionnel de la lame supérieure.

La longueur du filament de mucus qui se forme entre les lames est estimée (en centimètres) avant sa rupture à l'aide d'un fil attaché à la seconde lame en verre. L'opération est répétée deux fois pour le même échantillon, après nous avons enregistré la moyenne de ces deux essais.

I. 2 . 5. 3. Cristallisation

C'est la formation de feuilles de fougère (cristaux typiques) après le séchage de mucus. À cette fin, des frottis cervicaux ont été réalisés juste après la collecte, séchés à la température ambiante pendant 12 heures. La lecture des lames a été faite par un microscope optique à un grossissement (400×). Le degré de cristallisation a été classé selon un système de notation utilisé par plusieurs auteurs [Tsiligianni *et al.*, 2000 ; Ahmadi *et al.*, 2005] de 0 – 4, comme le montre le tableau ci-dessous :

Tableau 2. Système de notation de la cristallisation de mucus cervical [Tsiligianni *et al.*, 2000a ; Ahmadi *et al.*, 2005a].

points	Aspect des cristaux formés
0	pas de cristaux (ou glaire amorphe)
1	atypiques seulement (aspect de cristallisation linéaire en feuille de fougère observé à certains endroits, pas de branches latérales).
2	la majorité atypique
3	la majorité typique (belle cristallisation en feuille de fougère avec branches latérales à certains endroits de la lamelle, cristallisation linéaire ou glaire amorphe à d'autres).
4	Seulement typiques (cristallisation en feuille de fougère sur toute la lamelle)

I. 2. 6. Cytologie de mucus cervical

Les frottis cervicaux, sont réalisés juste après la collecte. Pour cela, nous avons déposé délicatement une petite quantité de mucus cervical sur une lame en verre ; l'étalement de mucus a été fait par une autre lame propre ; que nous avons déposé sur la première.

La séparation des deux lames est faite par un simple étirement (la deuxième lame utilisée sera gardée comme une lame jumelle) [Betsch., 1992]. Ensuite nous avons laissé les frottis 30-35mn dans la température ambiante pour les sécher, puis ils ont été numérotés et transportés sous la conservation de froid dans une glissière.

Toutes les lames ont été colorées (4h après la collecte) par la coloration de May-Grünwald-Giemsa (pendant 30 mn). La lecture des lames a été faite sur plusieurs temps : d'abord au plus faible grossissement (10×) pour attester de son homogénéité et rechercher une zone de lecture correcte, puis au grossissement intermédiaire pour le

comptage cellulaire et finalement le plus fort grossissement (400×), (1000×) pour confirmer le type cellulaire présent [Ahmadi *et al.*, 2006b., Betsch., 1992].

L'examen microscopique nous a permis la mise en évidence des cellules suivantes : polynucléaires neutrophiles (PNN), cellule épithéliale (CE) et cellules épithéliales à larges vacuoles (CELV). Cent cellules sont comptées par frottis, pour être comptées, une cellule doit avoir un contour nucléaire et cytoplasmique visible et intègre. Ne sont pas comptées : les cellules anucléées (hématies et squames).

Lors d'impossibilité de lecture de la lame (nombre de cellules insuffisantes, contamination trop importante, etc...) on fait recours à la lame jumelle.

I. 2. 7. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Graphpad prism 5. L'analyse de la variance (ANOVA I) a été employée pour comparer des moyennes de variables continues entre les groupes. L'homogénéité de la variance entre groupes est vérifiée par le test de Bartlett. Dans le cas où ce test est significatif ($P < 0.05$), la distribution a été normalisée par la transformation appropriée (logarithmique, la racine des carrés) où nécessaire. Lorsque ce test s'avère non significatif ($P > 0.05$), les résultats ont été soumis à un test de Tukey pour comparer les moyennes entre chaque groupe.

Le nombre des IA est comparé par le test T (Student). L'homogénéité de la variance est vérifiée par le test F. Les résultats sont exprimés en (moyenne \pm SEM). La différence statistique a été considérée significative quand $P < 0,05$.

CHAPITRE II

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Au cours de l'expérimentation, cinq vaches issues du deuxième groupe ont été exclues de l'étude en raison de l'absence du mucus cervical. Il faut signaler en core l'hétérogénéité de la quantité de la glaire entre les différents dosages, en raison de la petite quantité récoltée chez certaines vaches.

II. 1. Propriétés biochimiques de mucus cervical de la vache

Les résultats concernant les propriétés biochimiques de mucus cervical de la vache sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3. Paramètres biochimiques du mucus cervical bovin.

Paramètres biochimiques	Numéros des groupes			P
	1 (N=25/25)*	2 (N=10/15)*	3 (N=5/10)*	
Phosphatase alcaline (UI/g)	0,946 ± 0,20	1,310 ± 0,33 ^q	0,98 ± 0,30	0.63
Lactate déshydrogénase (UI/l)	6,52 ± 0,66 ^a	13,29 ± 2,15 ^b	4,98 ± 1,59 ^a	0.003
α-amylase (UI/l)	14,75 ± 0,959 ^a	15,13 ± 1,6 ^a	13,36 ± 2,60	0.85
Glucose (mg/100 ml)	7,04 ± 1,28 ^a	11,37 ± 1,7 ^a	7,53 ± 1,15 ^a	1.15
Cholestérol (mmol/l)	0,09 ± 0,02 ^{ad}	1,13 ± 0,30 ^{bc}	0,07 ± 0,05 ^{ad}	<0.05
Fructose (µg/ml)	6.42 ± 0.66 ^a	8.86 ± 1.18 ^a	6.47 ± 1.54 ^a	0.17
Protéines totales (µg/ml)	1174 ± 33,10 ^a	1481 ± 107,8 ^{bc}	1157 ± 69,09 ^{ad}	<0.05

()* : Nombre de vaches utilisées/ nombre de vaches recrutées.

a, b, c: comparaison entre moyennes des groupes (1.2.3) avec un seuil de signification (P < 0.05).

II. 1. 1. Phosphatase alcaline

C'est une phosphomonoestérase, catalyse l'hydrolyse de phosphate de divers esters et libère une molécule de phosphate inorganique. Elle a été détectée dans le liquide folliculaire de la vache [Caravaglios et Cilotti., 1957]. Au niveau du cervix, elle est secrétée principalement dans le cytoplasme des cellules basales et celles sécrétrices du mucus au niveau de la muqueuse cervicale [Gould *et al.*, 1980].

Leur activité est liée inversement à la taille du follicule présent dans l'ovaire [Kenney., 1973 ; Wise., 1987], pour cette raison elle a été utilisée comme un indicateur de l'atrésie folliculaires [Henderson et Cupps, 1990]. Une corrélation négative entre l'activité de la PAL et la fertilité des vaches à œstrus naturel ou synchronisées a été rapportée [Prasad *et al.*, 1981].

L'analyse statistique de nos résultats indique que l'activité de l'enzyme en question n'est pas significativement différente entre les trois groupes ($P=0.63$). Ces résultats sont similaires rapportés par d'autres études [Prasad *et al.*, 1981 ; Tsiligianni *et al.*, 2003].

D'après de nombreux auteurs, la concentration de cette enzyme dans la glaire cervicale est liée étroitement au statu hormonal [Smith *et al.*, 1970 ; Eltohamy *et al.*, 1990], elle est doublée chez les vaches à œstrus naturel et triplée en cas de synchronisation à base de $PGF2\alpha$ entre le 9^{ème} et le 18^{ème} jours puis elle diminue en 19^{ème} jours pos-œstral [Prasad *et al.*, 1981]. Les mêmes changements ont été constatés chez des femmes qui reçoivent des contraceptifs à base des progestérones [Vanlinkenberg., 1953 ; Smith *et al.*, 1970].

L'activité de la PAL a été étudié dans les sécrétions utérines pendant les différentes phases du cycle œstral chez la vache, ou il a été constaté que cette enzyme présente une activité intense au cours de la phase lutéale comparée à la phase folliculaire [Bugalia et Sharma., 1990, 2001]. Cette diminution liée directement à l'augmentation de la concentration des ostéogènes [Schultz *et al.*, 1973].

La concentration de la PAL obtenue dans notre étude était un peu élevée chez le groupe 2 ($1,310 \pm 0,339$ U/g), que celle du groupe 3 ($0,989 \pm 0,306$ U/g) et groupe 1 ($0,946 \pm 0,209$ U/g) ceci s'explique, en partie, à l'effet de traitement de synchronisation sur le statu hormonal de vaches. En effet dans le protocole CRESTAR[®], les œstrogènes administrés au début du traitement assurent le contrôle de la phase lutéale grâce à leur activité antilutéotrope et lutéolytique.

Cependant, cette activité n'est pas efficace, si le traitement commence entre J0 et J4 du cycle, le corps jaune peut persister dans 14 à 85 % des cas [Grimard *et al.*, 2003]. C'est pourquoi il est préconisé d'injecter par voie intramusculaire de la $PGF2\alpha$ ou ces analogue (2 mL de PROSOLVIN[®]) 48 heures avant le retrait de l'implant, afin de lyser un éventuel corps jaune [Ennuyer., 2000].

Dans notre étude, nous n'avons pas utilisé $PGF2\alpha$, ni ces analogues dans le protocole de CRESTAR[®], ce qui a conduit probablement à des concentrations élevées de progestérone endogène au moment du retrait de l'implant, et donc une légère augmentation de la concentration de la PAL.

Par contre, chez le groupe3, l'utilisation de PGF2 α (deux injections) a entraîné la lyse du corps jaune éventuellement présent, d'où la diminution du taux de progestérone et la levée du rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et par conséquence l'augmentation de l'oestradiol-17 β plasmatique généralement 72^h – 90^h après la deuxième injection [Grimard *et al.*, 2003], tout dépend du stade où se trouve le futur follicule dominant au moment de l'injection [Ennuyer., 2000].

Il est donc probable que le taux élevé des œstrogènes joue un rôle dans la diminution de l'activité de PAL dans les groupes 1 et 3 [Gould et Ansari., 1981 ; Tsiligianni *et al.*, 2003].

II. 1. 2. α -amylase

Enzyme de 46-60 kDa, catalyse l'hydrolyse du glycogène, amidon et dextrines au niveau de la liaison α (1-4) glucose. Elle est présente dans tous les tissus et les liquides biologiques principalement dans le sperme, sécrétions tubaires et le mucus cervical [Esterhuizen *et al.*, 1995 ; Tsiligianni *et al.*, 2003]. Sa présence dans la glaire cervicale joue un rôle important dans la fertilité chez différentes espèces [Skerlavay *et al.*, 1968 ; Esterhuizen *et al.*, 1995].

Selon Vermeiden *et al.* (1989), le traitement des spermatozoïdes par α -amylase améliore le mouvement de sperme et le taux de gestation chez la femme, cette amélioration due à un effet de la concentration de cette enzyme sur certains paramètres physiques du mucus, essentiellement : la cristallisation et spinnaperkeit.

En effet, lorsque la teneur de mucus en enzyme est élevée (75 mg/ml), ces deux paramètres sont considérablement réduits ou même inexistant, produisant plus ou moins d'anomalies marquées de fertilité.

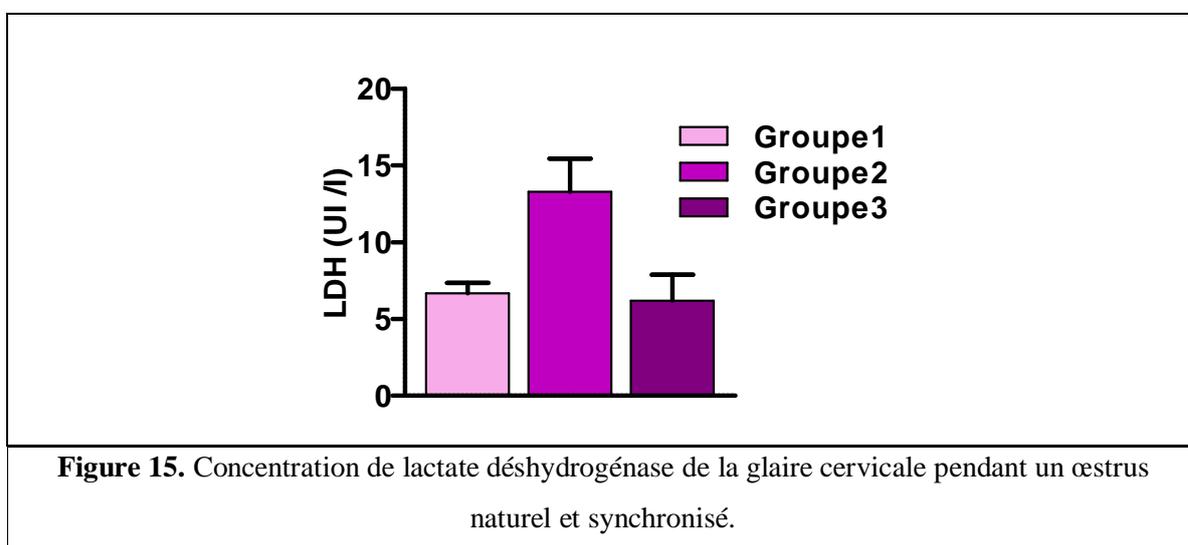
Dans notre étude, l'activité de α -amylase ne présente aucune différence significative entre les trois groupes (P = 0.85), ce résultat est en accord avec celui obtenu par [Tsiligianni *et al.*, 2003].

D'après le tableau N°3, nous remarquons une légère diminution de la teneur de l'enzyme en question chez les vaches du troisième groupe que celles des autres groupes. Ceci pourrait être lié à la levée de l'inhibition exercée par la progestérone sous l'effet de

la $\text{PGF}_2\alpha$, la sécrétion de GnRH reprend alors [Thibault et Levasseur., 2001]. Il en résulte une augmentation du taux d'œstradiol- 17β plasmatique 48^{h} - 72^{h} après injection et par conséquent la synthèse et la libération de LH [Bachlaus *et al.*, 1979].

Plusieurs auteurs ont constaté que l'activité de α -amylase est sous l'influence hormonale [Skerlavay *et al.*, 1968 ; Sheth *et al.*, 1975]. Elle est relativement élevée pendant la phase folliculaire et lutéale du cycle, et plus basse au moment de l'ovulation, cette chute peut être coïncider avec le taux élevé de l'œstrogène [Skerlavay *et al.*, 1968 ; Tsiligianni *et al.*, 2003].

En revanche, l'administration des progestagènes a eu comme conséquence une augmentation significative de α -amylase cervicale [Sheth *et al.*, 1975].



II. 1. 3. Lactate déshydrogénase

La déshydrogénase lactique est une enzyme impliquée dans l'étape finale de la glycolyse anaérobie ; elle catalyse la conversion réciproque de pyruvate et de lactate accompagnée de la conversion concomitante de NADH et de NAD. Elle présente une grande diversité dans les tissus et l'oviducte [Holmdahl et Mastroianni, 1965; Restall et Wales, 1966], ovocyte [Brinster., 1973 ; Engel et Petzoldt., 1973] et le cervix [Tsiligianni *et al.*, 2003].

Il a été constaté d'après une étude cytochimique de la muqueuse cervicale que cette enzyme cytoplasmique sécrétée principalement par les cellules basales, sécrétrices et ciliées, tout au long du cycle œstral [Could *et al.*, 1980].

D'après nos résultats, l'activité de la LDH a montré une différence très significative ($P=0.003$) entre le deuxième groupe et les deux autres groupes de vaches. Par contre selon **Tsiligianni et al. (2003)**, aucune différence significative entre les vaches à œstrus synchronisé par la prostaglandine ou la progestérone n'a été constatée.

L'hypothèse proposée pour expliquer cette différence serait la différence entre les méthodes de synchronisation appliquées dans les deux études; dans notre travail, nous avons utilisé un implant « CRESTAR[®] », par contre, dans l'étude de **Tsiligianni et al. (2003)** un dispositif intra-vaginale « PRID » a été utilisé.

Les raisons pour lesquelles des différences ont été constatées dans notre étude peut être attribuer à l'action des traitements de synchronisation sur la sécrétion des hormones stéroïdiennes [**Tsiligianni et al., 2003**]. En effet, de nombreuses études ont montré que les œstrogènes diminuent l'activité de la LDH, à l'inverse des progestérones l'augmentent [**Clark et Yochim., 1971; Treves et al., 1986**].

Takehisa (1980) a étudié le lien qui pouvait exister entre l'activité catalytique de LDH et le pic préovulatoire de LH, il a constaté que cette activité était inversement proportionnelle au pic LH.

L'effet de l'implant sur l'endocrinologie de la vache a été constaté par **Grimard et al. (2003)**, administré en début de cycle (à partir du cinquième jour), les œstrogènes, ont une activité antilutéotrope, ainsi en présence d'un corps jaune fonctionnel, il ont une action lutéolytique.

Cependant, cette activité n'est pas systématiquement efficace, surtout si la pose d'implant commence entre J0 et J4 du cycle, le corps jaune naturel peut persister après le retrait de progestagène dans 14 à 85 % des cas [**Pratt et al., 1991; Burns et al., 1993; Kesler et al., 1997**]. Dans ce dernier cas, et sur le plan endocrinien, le taux de progestérone reste élevé et celui d'œstradiol pré-ovulatoire devient bas.

De Rensis et Scaramuzzi (2003), ont décrit que l'amplitude des pulses et la concentration plasmatique de LH diminuent chez les vaches avec une faible concentration d'œstradiol contrairement à celles en possédant davantage.

II. 1. 4. Glucose

Le glucose constitue la source essentielle d'énergie pour l'organisme, permet la synthèse des lipides, des acides aminés et du matériel nucléaire [Thibault et Levasseur., 2001]. Il est, en effet, présent avec des concentrations élevées dans le liquide séminal dont il participe à la motilité [Hoppe., 1976 ; Cooper., 1984] et la capacitation des spermatozoïdes [Fraser et Quinn., 1981 ; Fraser et Herod., 1990; Williams et Ford., 2001].

Cependant, l'effet du glucose sur le métabolisme énergétique de la cellule spermatique se diffère entre espèces. Par exemple, il est censé pour empêcher la capacitation chez les bovins [Parrish *et al.*, 1989], mais il la favorise chez d'autres espèces [Travis *et al.*, 2001] .

Les spermatozoïdes assurent le métabolisme du glucose par deux voies : la glycolyse (la gaine fibreuse de flagelle), et la voie de phosphate de pentose (la tête et la pièce intermédiaire du spermatozoïde) [Travis et Kopf., 2002 ; Uner et Sakkas., 2003].

La présence du glucose dans les sécrétions cervicales et utérines a été constatée par plusieurs auteurs [Guay *et al.*, 1972 ; Van der Linden *et al.*, 1992 ; Tsiligianni *et al.*, 2001], toutefois, cet élément, se retrouve en plus grande concentration dans l'utérus que le cervix au moment de l'œstrus [Guay *et al.*, 1972 ; Tsiligianni *et al.*, 2001].

Cette différence s'explique par la présence d'autres substances énergétiques dans le mucus cervical tels que le pyruvate, acétate, fructose, lactate. En effet, les spermatozoïdes des taureaux utilisent d'avantage l'acétate que le glucose pour couvrir leurs besoins énergétiques, il semble que le pyruvate étant le plus oxydé que l'acétate [Scott *et al.*, 1962 ; Murdoch *et al.*, 1966].

Classiquement, le glucose, considéré comme un facteur de variation notable de la fertilité chez la femme, en effet, la diminution de sa teneur dans la glaire cervicale au moment de l'ovulation, était responsable de l'infertilité [Navarette *et al.*, 1968; Weed et Carrera. ,1970].

En revanche, la concentration de glucose mesurée dans notre étude ne présente aucune différence significative entre les différents groupes ($P = 1.15$). Ces résultats sont similaires, en partie, à ceux observés par Tsiligianni *et al.* (2001) et différents ceux obtenus par Bane et Rajakoski (1961) dans une étude de la glaire cervicale chez la femme.

Cependant, la concentration du glucose chez le groupe synchronisé à base d'un implant obtenu dans notre étude était de ($11,37 \pm 1,7$ mg/dl), ce qui est inférieurs à celui obtenu par **Tsiligianni et al., 2001** lors de l'utilisation d'un spirale vaginal (PRID) à base des progestagènes (16 ± 3.2 mg/ 100ml).

Ce taux élevé peut être lié, en partie, principalement à la concentration de progestérone plasmatique [**Van Der Linden et al., 1992**]. En effet, la concentration du glucose montre des variations cycliques dans les sécrétions utérines de la vache et cervicales de la femme, elle est basse pendant la phase oestrogénique et plus élevée au cours de la phase lutéale, avec une chute remarquable au moment de l'ovulation [**Guay et al., 1972 ; van der Linden et al., 1992**].

La race et la note d'état corporelle peuvent influencer la réponse aux traitements de synchronisation des chaleurs. Il a été observé par **Burke et al. (1996)**, une corrélation positive entre la note d'état corporel et le taux de synchronisation.

II. 1. 5. Fructose

C'est l'hexose prédominant trouvé dans le liquide séminal de nombreuses espèces, tels que, l'homme, bélier, taureau et lapin. Il participe au métabolisme énergétique des cellules spermatiques [**Schoenfeld et al., 1979 ; Aalseth et Saacke., 1987 ; Aumuller and Riva., 1992**], même en l'absence des enzymes réducteurs, le cas du chien [**Mann, 1964**].

Selon **Lewis-Jones et al. (1996)**, il existe une corrélation négative entre la motilité des spermatozoïdes et la concentration du fructose dans le liquide séminal. La principale voie du métabolisme du fructose par les spermatozoïdes du taureau est la phosphorylation oxydative. Leur présence dans le mucus cervical a été détectée par de nombreuses études [**El Naggar et Horvath., 1971 ; Gibbons et al., 1974 ; Tsiligianni et al., 2001**].

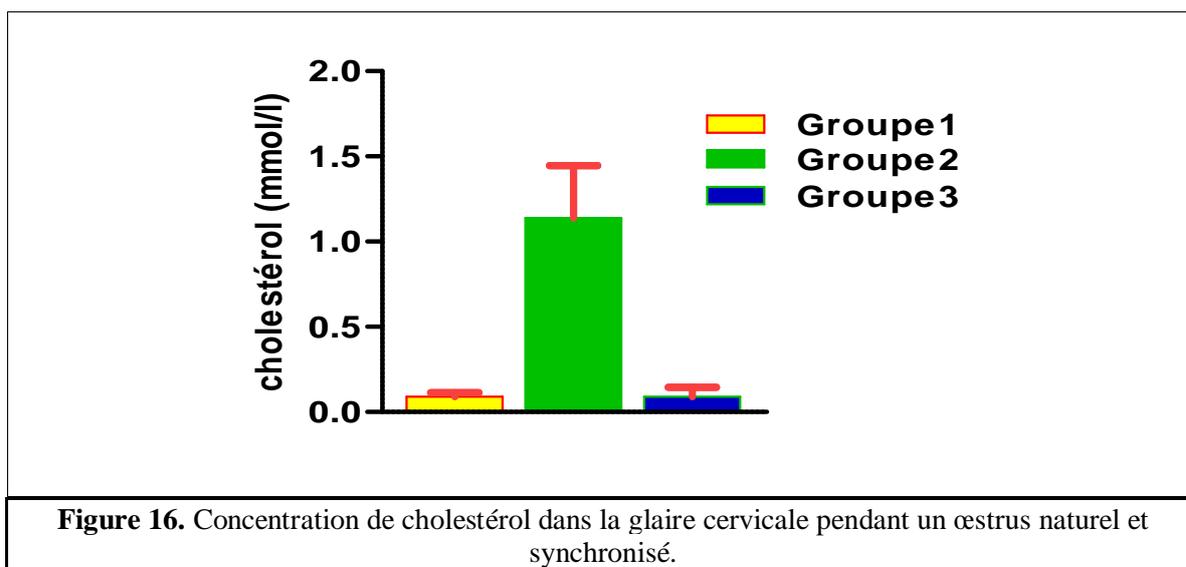
Les traitements de synchronisation des chaleurs utilisés dans notre étude ne semblent pas avoir une influence sur la concentration du fructose du mucus cervical chez les différents groupes ($P= 0.17$).

Tsiligianni et al. (2001), ont trouvé des résultats similaires, par contre **El-Naggar et Horvath (1971)** ont rapporté des valeurs très élevées du fructose chez les vaches à oestrus spontané, alors que **Gibbons et al. (1974)** n'ont pas pu détecter la présence de cet

élément dans la glaire cervicale au moment d'œstrus. Nos résultats ne peuvent être comparés à ceux des autres études [El-Naggar et Horvath., 1971 ; Gibbons *et al.*, 1974], parce qu'ils ont utilisé des méthodes non spécifiques pour le dosage du fructose [Tsiligianni *et al.*, 2001].

Cependant, Il ressort du tableau N°3, que la concentration du fructose chez les vaches du groupe 2 est élevée ($8.86 \pm 1.18 \mu\text{g}/\text{ml}$) comparativement à celle du groupe 1 ou 3 ($6.42 \pm 0.66 \mu\text{g}/\text{ml}$; $6.47 \pm 1.54 \mu\text{g}/\text{ml}$ respectivement).

Cette différence peut être due aux effets des traitements de synchronisation sur l'endocrinologie des vaches, sachant que la progestérone augmente la concentration du fructose dans le mucus cervical [Van Der Linden *et al.*, 1992]. En effet, pendant la phase lutéale le taux de cet élément augmente jusqu'au 17^{ème} jour du cycle, puis elle diminue progressivement, pour atteindre un faible taux au moment d'œstrus [Zaaijer et Van Der Horst., 1983].



II. 1. 6. Cholestérol

C'est le stérol le plus abondant dans les tissus animaux et la source de la plupart des hormones stéroïdiennes. Il joue un rôle crucial dans le phénomène de capacitation. En effet, des études récentes ont démontré la présence des microdomaines sur la membrane des spermatozoïdes chez la plupart des mammifères, aussi appelés « lipid rafts », enrichis en cholestérol et en sphingolipides, au niveau du feuillet externe de la membrane plasmique [Arienti *et al.*, 1997 ; Palmerini *et al.*, 1999, 2003 ; Girouard *et al.*, 2008].

Ces microdomaines, souvent, associés à des vésicules ayant un ratio cholestérol/phospholipides élevé avec la sphingomyéline comme phospholipide majoritaire appelé épидидymosome [Girouard *et al.*, 2008].

Puisque le cholestérol a un effet stabilisant sur les membranes [Yeagle., 1985], sa présence dans le milieu où se trouve le spermatozoïde provoque sa décapacitation [Ward et Kopf., 1993 ; Visconti *et al.*, 1999 a, 1999b].

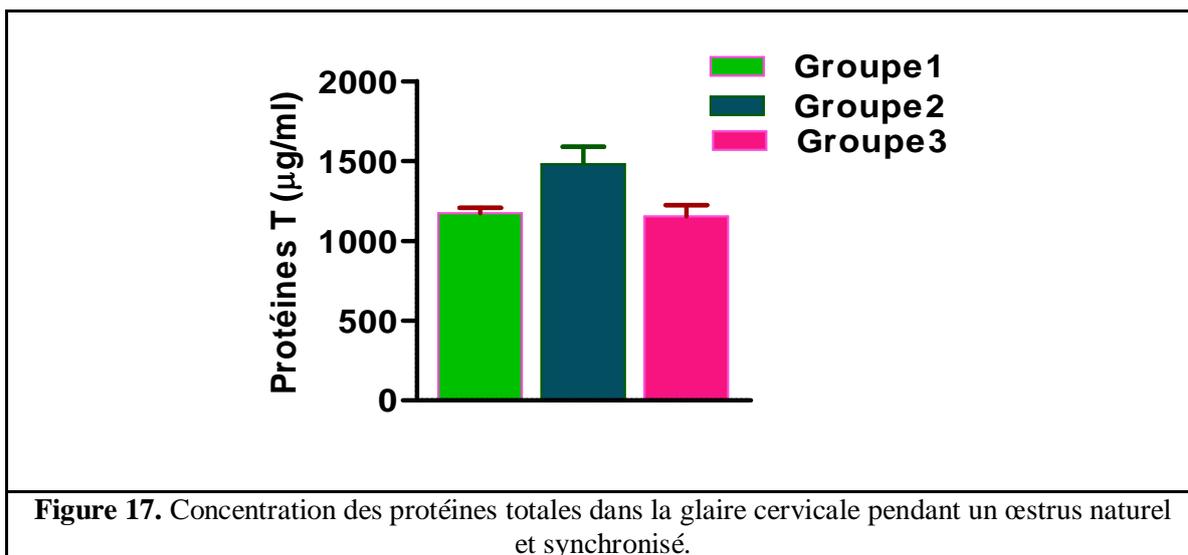
D'après nos résultats, il semble que le cholestérol de la glaire cervicale est affecté par l'utilisation des traitements de la synchronisation. Dans ce contexte, nous avons détecté, des différences très significatives ($P=0.006$) entre les moyennes des groupes de vaches à œstrus naturel et synchronisé par un progestagène, ainsi nous avons observé des variations très significatives en concentration du cholestérol entre le deuxième et le troisième groupe ($P<0.01$).

Tandis que, aucune différence significative n'a été constatée entre le groupe à œstrus naturel et celui synchronisé par des analogues de la prostaglandine $F2\alpha$ ($P\geq 0.05$).

Ces résultats sont similaires à ceux observés par Tsiligianni *et al.* (2001). Par contre Zaaijer *et al.* (1993), ont montré que lors de l'utilisation de PRID et $PGF2\alpha$ la teneur en cholestérol cervicale n'est pas affectée.

Il faut signaler que le mucus cervicale utilisé par ces derniers auteurs est collecté 72 h après le retrait de PRID. Mais ce n'est pas le cas dans la présente étude, dont nous avons utilisé des implants, ainsi la collecte du mucus a été réalisée sur chaleurs observées généralement dans un intervalle moyen de 48h après le retrait d'implant et 56h après la deuxième injection des prostaglandines $F2\alpha$.

Cette différence peut être influencée par le statu hormonal des vaches. En effet, la concentration du cholestérol dans le mucus cervical présente des variations cycliques liées à la teneur de progestérone plasmatique, elle est très élevée 12 jours après l'œstrus, et plus basse au moment d'œstrus [Zaaijer et Van Der Horst., 1983].



II. 1. 7. Protéines totales

Elles servent de squelette aux enzymes et hormones, des molécules du transport des vitamines, d'hormones stéroïdiennes et de minéraux et possiblement des modulateurs de l'activité génétique et la signalisation cellulaire [Godkin *et al.*, 1984, 1988].

Elles interviennent dans la structure et la physiologie du mucus cervical. En effet, la mucine est constituée de 40% à 80% d'acides aminés : proline, thréonine, sérine fortement glycosylés (O-glycosylation), ainsi elles jouent un rôle dans le phénomène de capacitation par le biais des albumines (accepteurs de cholestérol de la membrane cytoplasmiques des spermatozoïdes) [Focarelli *et al.*, 1990 ; De Lamirande *et al.*, 1997; Therien *et al.*, 1999; Visconti *et al.*, 2002].

Le taux des protéines totales du mucus cervical obtenue dans notre étude, montre une différence significative entre les vaches du premier groupe et celles du deuxième groupe ($P < 0.004$) ainsi entre ce dernier et le troisième groupe ($P < 0.05$). Cette constatation était en accord avec celle de plusieurs auteurs [Prasad *et al.*, 1980, 1981 ; Tsiligianni *et al.*, 2001].

Les valeurs obtenues pour l'œstrus naturel sont similaires à ce qui est rapporté dans la littérature [Hamana *et al.*, 1971 ; Linford ., 1974 ; Eltohamy *et al.*, 1990]. Cette différence peut s'expliquer par le niveau élevé des progestérones plasmatiques suite à une régression insuffisante du corps jaune après les traitements de synchronisation au moment du prélèvement.

Toutefois, **Prasad *et al.* (1981)**, ont constaté que le taux des protéines du mucus cervical reste élevé comparable à celui de metoestrus lors de la présence d'un corps jaune fonctionnel au moment de l'œstrus après un traitement de synchronisation. Ainsi, d'après le même auteur, la concentration des protéines cervicales diminuent à moitié puis en un huitième au cours du premier et le troisième jour respectivement après l'arrêt du traitement de synchronisation.

Des corrélations entre les hormones stéroïdiennes et la teneur de ces protéines ont été rapporté, car la plus basse concentration étant rencontrée au moment de l'œstrus [**Linford., 1974 ; Agarwal et Datta., 1976 ; Agarwal *et al.*, 1978**]. Ainsi, ils ont été largement utilisé ce lien comme un indicateur de l'état hormonale et par conséquence de l'ovulation chez plusieurs femelles [**Tsiligianni *et al.*, 2001**].

II. 2. Profils électrolytiques du mucus cervical de la vache

Les résultats concernant les profils électrolytiques du mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4. Profils électrolytiques du mucus cervical de la vache au cours d'un œstrus naturel et synchronisé.

Taux des électrolytes (mEq/l)	Numéros des groupes			P
	1	2	3	
	(N=25/25)*	(N=10/15)*	(N=5/10)*	
Sodium (Na⁺)	141.2 ± 0.32 ^a	128.6 ± 0.41 ^b	142 ± 0.56 ^a	< 0.0001
Chlore (Cl⁻)	127.4 ± 2.4 ^a	124.3 ± 1.16 ^b	134.9 ± 1.85 ^a	< 0.01
Potassium (K⁺)	22.98 ± 0.6 ^a	40.99 ± 0.96 ^b	26.02 ± 0.45 ^a	< 0.0001
Calcium (Ca⁺⁺)	15.52 ± 0.48 ^a	10.47 ± 0.77 ^b	17.80 ± 0.48 ^a	< 0.0001

(*) : Nombre de vaches utilisées/ nombre de vaches recrutées.

a, b, c: comparaison entre moyennes des groupes (1.2.3) avec un seuil de signification (P < 0.05).

Le **Sodium et le Chlore** ont un rôle vital dans le maintien de la pression osmotique des liquides physiologiques. Ces ions sont localisés en grande partie en milieu extracellulaire, où le plasma renferme 149 mEq/l de Na et 103 mEq/l pour le Cl [**Jean-Blain., 2002**], presque les mêmes valeurs (150 mEq/l de Na et 145 mEq/l de Cl) ont été détectées dans la glaire cervicale par **Sato *et al.* (1981)**.

Il a été rapporté que le Sodium sanguin n'est pas la source unique du sodium cervicale, mais sa présence en grande quantité résulte de sécrétions propres des cellules cervicales [Igarashi, 1954]. Gorodeski (1998), a constaté que la concentration élevée de l'œstradiol sanguin provoque une augmentation de la perméabilité des cellules sécrétrices de l'épithélium cervical.

Le **calcium** est un constituant important dans le milieu des spermatozoïdes afin de permettre un bon déroulement de la capacitation et prévient sa motilité [Baldi *et al.*, 1991; De Lamirande et Gagnon., 1995]. Par conséquent, les concentrations de cet ion sont plus élevées dans le plasma séminal et dans les sécrétions génitales femelles [Olds et Vandemark., 1957; Gould et Ansari., 1981; Handrow *et al.*, 1989; Mende *et al.*, 1990; Tsiligianni *et al.*, 2002].

L'entrée du Calcium dans le milieu intra-spermatique est assurée par des canaux calciques voltage-dépendants après avoir inactivé la pompe à calcium et celle de sodium-calcium [Das Gupta *et al.*, 1994; Fraser *et al.*, 1993, 1995], ce qui conduit à une hyperpolarisation membranaire.

Cette entrée ou influx calcique ne serait possible que lors de l'augmentation de la perméabilité et la déstabilisation membranaire, suite à un efflux lipidique principalement du cholestérol lors du passage des spermatozoïdes à travers le mucus cervical dont le rôle est l'hyperactivation et l'initiation de la capacitation des spermatozoïdes [Bielfield *et al.*, 1991; Zhu *et al.*, 1992, 1994].

Le **potassium** est le cation qui existe en plus grande concentration dans le secteur intracellulaire, principalement au niveau de la mitochondrie, où il participe à la formation de l'ATP, en plus, il maintient l'équilibre acido-basique des liquides physiologiques [Guayt., 1966b; Jean-Blain., 2002], responsable de l'hyperpolarisation membranaire, qui participe dans le déroulement de la capacitation et hyperactivation des spermatozoïdes [Fraser *et al.*, 1993].

En effet, le potentiel membranaire des spermatozoïdes du taureau était 30 mV avant et 60 mV après la capacitation, suite à l'augmentation de l'influx potassique dans le milieu intra-spermatique [Zeng *et al.*, 1995].

Cependant, une concentration élevée de Potassium dans le plasma séminal conduit à une diminution de la motilité des spermatozoïdes [Nelson., 1967], suite à une dépolarisation de leur membrane cytoplasmique [Haas *et al.*, 2000 ; Jacob *et al.*, 2006].

Ce cation intervient aussi dans la régulation de la pression osmotique des liquides physiologiques dont le mucus cervical, où 80% de cette pression est due au sodium et potassium [Olds et Vandemark., 1957].

De ce fait, tout changement des concentrations de potassium du mucus cervical peut entraver la reproduction [Guayt., 1966b]. Ce dernier auteur a considéré cet ion comme une image réelle de stade physiologique de l'animal.

Les résultats statistiques de notre étude ont montré une diminution significative de la teneur de sodium, calcium ($P < 0.0001$) et de chlore ($P < 0.01$) ainsi une augmentation ($P < 0.0001$) du taux de potassium dans le groupe 2 que dans les deux autres groupes.

Il faut souligner que le premier et troisième groupe ne présente aucune différence significative entre eux ($P \geq 0.05$). Le taux de (Cl), (Na) et de (Ca) obtenu dans la présente étude chez le premier et le troisième groupe n'est pas significativement différent de celui rapporté par Guayt (1966a ; 1966c).

Cependant, la concentration de potassium (40.99 ± 0.95 mEq/l) dans le deuxième groupe était supérieure à ce qui est rapportée dans la littérature [Guayt., 1966b ; Eltohamy *et al.*, 1990]. Par exemple, Sato *et al.* (1981), ont observé dans leur étude que la concentration de potassium était (40 mEq/l) au moment de l'injection de la PGF2 α chez des vaches dont le diamètre du corps jaune est 2.5 cm, cette teneur s'abaisse en moitié au moment de l'œstrus (20 mEq/l).

Par ailleurs, Tsiligianni *et al.* (2002), ont constaté que les traitements de synchronisation quel soient à base de progestérone (PRID) ou de PGF2 α sont responsables d'une augmentation de la concentration à la fois de calcium et de potassium, mais ils ont aucun effet sur la teneur de sodium ($P \geq 0.05$).

D'après Sato *et al.* (1981), l'utilisation de traitement de synchronisation à base de PGF2 α n'a pas d'effet sur les teneurs de (Cl) et de (Na) et (K) du mucus cervical des vaches après l'arrêt du traitement.

Un taux élevé de ces ions chez des vaches en proestrus (Na (150 mEq/l) et Cl (110 mEq/l)) a été obtenu avec un pic au moment de l'ovulation (200 mEq/l de Na et 120 mEq/l pour Cl), par rapport à celles étant en metoestrus (120 mEq/l de Na et 110 mEq/l pour Cl).

Plusieurs études ont prouvé que le profil électrolytique de la glaire cervicale subit des changements cycliques, tout dépend du statut hormonal de la femelle [Kopito *et al.*, 1973 ; Gould et Ansari., 1981; Eltohamy *et al.*, 1990].

En effet, le taux élevé des œstrogènes était responsable d'une élévation de sodium, chlore, calcium et zinc avec une diminution de potassium. Par contre, lorsque les progestérones dominent, la concentration de potassium était significativement élevée par rapport aux autres éléments [Eltohamy *et al.*, 1990 ; Guayt, 1966a, 1966b, 1966c].

Le mécanisme physiologique impliqué dans ses changements a été étudié récemment par plusieurs études [Gorodeski et Pal., 2000 et Gorodeski., 2000a, 2000b].

Il a été rapporté que l'augmentation des œstrogènes était responsable des changements de la taille des cellules de l'épithélium cervicale suite à une dépolymérisation des filament d'actine-G du cytosquelette [Sheterline *et al.*, 1995; De La Cruz et Pollard., 1996] et une élévation de la perméabilité membranaire pour les ions Na⁺ et Cl⁻ [Hardy et Valverde., 1994 ; Gorodeski GI., 2000c] ainsi une augmentation de calcium cytoplasmique par l'intermédiaire des histamines et des neurotransmetteurs [Jovov *et al.*, 1994]. Ceci provoque une augmentation de la sensibilité des cellules et une diminution de volume (eau intracellulaire) et par conséquent, l'élévation de la teneur d'eau dans le milieu extracellulaire.

Cette déformation cellulaire rend donc la perméabilité paracellulaire élevée et par conséquence le transport des électrolytes du sang au canal cervical par transport passif était à son maximum suite à l'augmentation de la taille de l'espace intercellulaire [Gorodeski., 2000a].

Donc, la différence du taux des électrolytes qui a été constaté dans la présente étude entre le deuxième et les autres groupes peut être expliquée, en partie, par une

altération de la teneur des œstrogènes suite à une utilisation de l'implant imprégné par des progestagènes.

Plusieurs facteurs tels que les conditions climatiques, alimentaires, l'état corporel et la cyclicité avant la pose de traitement de synchronisation peut être impliqués dans ce déséquilibre hormonale.

En effet, lorsque la pose de l'implant a été effectuée tôt au début du cycle, l'effet lutéotrope et lutéolytique des œstrogènes sur un corps jaune au début de formation sera inhibé [Beal *et al.*, 1988 ; Brink et Kiracofe., 1988 ; Smith et Stevenson., 1995].

Par ailleurs, de nombreuses études ont établi que, une balance énergétique négative conduit à un développement folliculaire imparfait et une manifestation des chaleurs faibles, suite à une inhibition de la libération pulsée principalement de LH [Lucy *et al.*, 1992 ; Jonsson *et al.*, 1997 ; Moreira *et al.*, 2000a ; Ronchi *et al.*, 2001 ; De Rensis *et al.*, 2002].

Il faut signaler que selon Richards *et al.* (1995), l'état nutritionnel de l'animal ne modifiait pas les concentrations plasmatiques des hormones stéroïdiennes. Ainsi, selon le jour du cycle où le traitement s'applique, on constate que le développement et la dynamique folliculaire peuvent être affectés et les profils plasmatiques en progestérone sont modifiés [Moreira *et al.*, 2000_b].

Le stress thermique joue aussi un rôle important dans la réponse des vaches aux traitements de synchronisation [Gilad *et al.*, 1993 ; Roth *et al.*, 2000]. Il semble que les vaches exposées à des températures élevées montrent des concentrations plasmatiques basses en œstradiol [Imitiaz-Hussain *et al.*, 1992 ; Younas *et al.*, 1993].

Donc lorsqu'on synchronise à l'aveugle un groupe d'animaux dans ces conditions, certains entre eux ne seront pas au moment optimal en début de traitement ni au moment de l'insémination artificielle.

Il faut signaler que la collecte du mucus cervical chez les vaches appartenant au groupe 2 dans la présente étude a été réalisée en grande partie en période estivale où la température est très élevée. En plus, l'œstrus a été évalué par les éleveurs.

Ces circonstances de terrain peuvent dévier le moment optimal de l'insémination. Pour déterminer plus précisément le moment d'œstrus, surtout en période estivale, il aurait été intéressant d'intensifier les heures d'observation des animaux ainsi que l'utilisation d'autres moyens de détection tels que le dosage de progestérone afin de mettre en évidence la présence d'un éventuel corps jaune [Humblot *et al.*, 1996 ; Chevallier *et al.*, 1996]. Cette démarche n'a pas été adoptée dans notre travail.

II. 3. Propriétés rhéologiques et physiques du mucus cervical

Les résultats concernant les propriétés rhéologiques et physiques de mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé, sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 5. Propriétés rhéologiques et physiques du mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé

Propriétés rhéologiques	Numéros des groupes			P
	1	2	3	
	(N=10/25)*	(N=5/15)*	(N=5/10)*	
Cristallisation (0- 4)	2.40 ± 0.33 ^a	1,00 ± 0.31 ^b	2,6 ± 0.40 ^a	0.003
Spinnbarkeit (cm)	10.17 ± 0.52 ^a	7.54 ± 0.22 ^b	9.9 ± 0.33 ^a	< 0.0001
Viscosité (mmH₂O)	25.87 ± 1.03 ^a	44.5 ± 0.70 ^b	26.14 ± 0.52 ^a	< 0.0001

(*) : Nombre de vaches utilisées/ nombre de vaches recrutées.

a, b : comparaison entre moyennes des groupes (1.2.3) avec un seuil de signification (P < 0.05).

Sa nature et sa structure confèrent au mucus cervical des propriétés physiques spécifiques telles que la cristallisation, l'indice de réfraction (plus bas en période ovulatoire), le pH et le volume.

Ainsi comme tous les matériaux viscoélastiques, le comportement rhéologique du mucus est complexe (non newtonien), il possède des propriétés fortement variables oscillant entre un liquide visqueux et un élastique solide, conditionnant les modalités de son écoulement.

Parmi ces propriétés, l'élasticité du flux, plasticité, viscosité et la filance (spinnbarkeit) étaient souvent employées pour décrire l'uniformité du mucus [López-Gatius *et al.*, 1994 ; Lai *et al.*, 2009]. La filance et la cristallisation apparaissent les paramètres les plus utilisés en pratique à cause de leurs mesures rapides. Par contre, les

autres propriétés rhéologiques qui sont d'un grand intérêt théorique, mais difficiles à quantifier ne sont pas largement utilisés dans la pratique.

II. 3. 1. Cristallisation

C'est la capacité de la glaire à former des arborisations dendritiques après le séchage à l'aire libre d'un frottis. Il a été constaté qu'elle n'est pas d'un phénomène permanent, ni homogène, mais elle montre des variations intenses selon le statut physiologique de la femelle [Ježková *et al.*, 2008 ; González et Evelin., 2009].

Les analyses cristallographiques ont prouvé clairement que les cristaux ayant formés les dendrites se composent d'un mélange de NaCl et de KCl dans lesquels NaCl est le principal composant. Généralement, des cristaux de KCl ont été observés à l'extrémité des bras dendritiques ou dans les intervalles interdendritiques [Berthou et Chrétien., 1997].

Nous constatons d'après nos résultats statistiques une corrélation positive ($r = 0,85$, $r = 0,87$, $r = 0,91$ et $r = 0,81$ pour Na, Ca, Cl et K respectivement) et hautement significative ($P < 0.001$) entre tous les électrolytes et la cristallisation chez les vaches à œstrus naturel (Figure 19).

Cette même constatation a été rapportée par de nombreuses études [Sato *et al.*, 1981 ; Berthou et Chrétien., 1997]. Il a été suggéré que la cristallisation se produit dans toutes les solutions contenant des protéines ou autres hydrocarbures (mucine) et les électrolytes, principalement le chlorure et le sodium [Cunningham *et al.*, 1989].

D'après le tableau (5), la cristallisation obtenue dans la présente étude était significativement basse ($P = 0.003$) dans le deuxième groupe que pour les deux autres groupes. La même constatation a été signalée par Ahmadi *et al.* (2005a) dans la glaire des vaches en jours 8 et 5 avant la parturition.

Par contre, Tsiligianni *et al.* (2000a) ont constaté que la formation des dendrites entièrement développées avec un aspect classique de feuille de fougère (forme typique) était relativement affectée par l'utilisation des différents traitements de synchronisation quelque en soit avec PRID ou / et par des $PGF_{2\alpha}$.

Cette différence pourrait être un miroir de statu physiologique des ces animaux à œstrus naturel ou induit [Bernhard Zondek et Samouel Rozin., 1954 ; Adams et Tang,

1979]. En effet, la formation des cristaux typiques sur toute la lame devient de plus en plus marquée lorsque l'ovulation se rapproche, ceci coïncide avec l'élévation de la concentration de l'œstradiol 17β plasmatique et disparaît alors progressivement pendant la phase lutéale en présence d'un corps jaune fonctionnel [Noakes *et al.*, 2002 ; Ahmadi *et al.*, 2005a].

Selon Berthou et Chrétien., (1997), elle est liée à un bon fonctionnement hormonal pendant la période ovulatoire. Donc n'importe quel déséquilibre hormonal se reflète sur les propriétés du mucus et par conséquent la fertilité de la vache.

II. 3. 2. Viscosité

Le tableau (5) montre que la viscosité obtenue dans le groupe 2 est élevée (44.5 ± 0.70 mmH₂O) comparable à celle du premier groupe (25.87 ± 1.03 mmH₂O) et le troisième (26.34 ± 0.43 mmH₂O). De même, une différence hautement significative ($p < 0.0001$) a été observée entre ces deux derniers groupes et le deuxième groupe.

Une autre étude comparant l'effet des traitements de synchronisation à base de progestérone (le PRID qui est un dispositif vaginal) ou de PGF 2α chez la vache laitière, a montré des différences hautement significatives ($P < 0,001$) de la viscosité à l'œstrus induit (respectivement « 64.5 ± 6.3 mmH₂O », « 41.7 ± 5.8 mmH₂O » pour PRID et PGF 2α) et celui naturel elle était ($23.2 \pm 1,1$ mmH₂O) [Tsiligianni *et al.*, 2002].

Ces résultats sont supérieurs aux nôtres, dans le cas des groupes à œstrus induit par la PGF 2α . La faible teneur de la viscosité qui a été prouvée dans la présente étude chez les vaches à œstrus naturel est largement signalée par plusieurs études [Roberts., 1978 ; Hafez. B et Hafez. E., 2002].

D'après nos résultats, le traitement à base des progestagènes augmente largement la viscosité, cette constatation a été rapportée dans la littérature [Tsiligianni *et al.*, 2000a, 2002].

L'effets des hormones stéroïdiennes [Everhardt *et al.*, 1990], principalement l'augmentation du taux de progestérone au moment du prélèvement de la glaire pourrait être responsable de cette élévation de la viscosité [Hafez.B et Hafez. E., 2002].

Il a été constaté que les traitements de synchronisation à base de progestérone provoque une diminution du pic LH ainsi une élévation du taux de progestérone [Duchens *et al.*, 1994].

D'autres facteurs pourraient être impliqués dans le changement de la viscoélasticité de la glaire principalement la concentration des glycoprotéines dans le mucus, en particulier les résidus glucidiques, de l'acide sialique et le degré de sulfatation [Lee *et al.*, 2002 ; Nasir-ud-Din *et al.*, 2003; Lai *et al.*, 2009].

Ainsi des variations de la teneur des glycoprotéines et de l'acide sialique paraissent être en relation étroite avec la progestéronémie : l'augmentation de cette hormone provoque chez la femme et la vache une augmentation de la concentration de la mucine [Gibbons *et al.*, 1973] et de l'acide sialique [Agrawal and Datta., 1976], qui appariaient responsables de la production d'une glaire opaque et plus visqueuse pendant la phase lutéale ou lors de l'utilisation des traitements à base de progestérone [Gibbons *et al.*, 1973].

Cependant, un taux élevé des œstrogènes lors de l'œstrus, diminuait la concentration de ces deux molécules [Odeblad., 2002 ; Bansil and Turner., 2006], ce qui a diminué la viscosité durant cette période [Madsen *et al.*, 1998 ; Carson *et al.*, 1998].

Nasir-ud-Din *et al.* (2003), ont montré que le soufre et l'acide sialique intervient dans l'intégrité de la mucine, toute en empêchant leur dégradation par des protéases.

En effet, le traitement de mucine par des dithiothreitol (DTT) (clivage des ponts disulfures), était responsable de la dissociation des multimères de mucine en de nombreux monomères. Dans ce cas, le gel qui se forme dans la plupart du temps est visqueux et relativement moins élastique [Nasir-ud-Din *et al.*, 2003].

Il ressort de nos résultats qu'il y a une corrélation négative et hautement significative ($P < 0.001$) pour sodium, chlore et calcium et d'un degré moindre pour le potassium ($P = 0.01$) entre la viscosité et tous les paramètres électrolytiques ($r = -0,92$; $r = -0,97$; $r = -0,92$; $r = -0,70$ respectivement pour sodium, chlore, potassium et calcium). Cette constatation a été en contradiction avec celle obtenue par Tsiligianni *et al.* (2002).

En revanche, de nombreuses études dans la littérature [Carlstedt and Cone., 2009 ; Bansil and Turner., 2006 ; Lai *et al.*, 2009], ont montré que les variations de la

concentration ionique principalement les bivalents tels que le calcium et magnésium peuvent directement mener aux changements de la conformation de la mucine et par conséquent de la viscoélasticité du mucus [Crowther *et al.*, 1984 ; Steiner and Nossal, 1984; Yeates and Besseris., 1997].

En effet, Les concentrations élevées des cations polyvalents, tels que le calcium et le magnésium, peuvent s'effondrer le gel du mucus entièrement et faciliter les réticulations suite à la formation des liaisons non covalentes entre les monomères qui aboutissent donc à l'augmentation de la taille de mucine [Raynal *et al.*, 2003 ; Cone., 2009].

Ainsi, Lee *et al.* (2002), ont constaté que l'addition d'un agent de chélation (EDTA) au mucus cervicale de la brebis, provoque une augmentation de la viscosité de ce dernier. Ils ont conclu que le déplacement partiel du calcium ou l'ion du zinc peut causer une diminution de la déphosphorylation des protéines et affecter le contenu des macromolécules libres.

Ces variations semblent inversement proportionnelles à la quantité d'eau contenue dans le mucus et proportionnelle à celle des protéines totales ; les valeurs les plus basses de la viscosité ont été observées quand la dilution est plus grande et à la concentrations la plus élevée des protéines [Lee *et al.*, 2002].

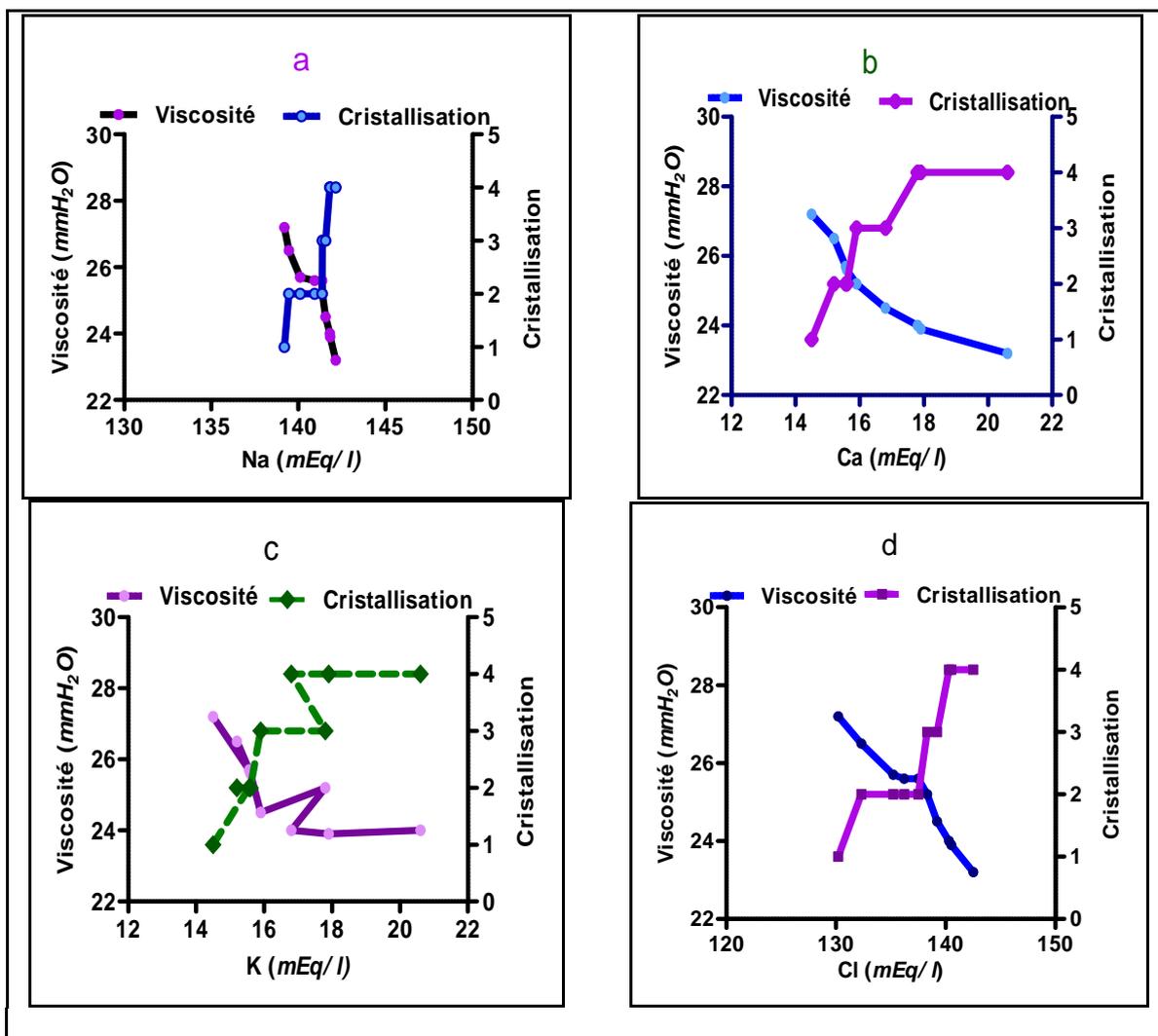


Figure 18. Relation entre la viscosité, la cristallisation et la concentration de sodium (a), calcium (b), chlore (c) et potassium (d) dans la glaire cervicale bovine.

II. 3. 3. Spinnbarkeit

c'est la capacité de mucus à être étirée en longs filaments élastiques au cours de la période ovulatoire [Tsiligianni *et al.*, 2000a]. C'est une mesure très spécifique et indirecte de l'élasticité dont le rôle est mesuré l'aptitude de gel à récupérer sa forme originale après une déformation provoquée par un étirement [Lai *et al.*, 2009].

D'après les résultats statistiques de notre étude, nous remarquons une augmentation hautement significative ($p < 0.0001$) de la spinnbarkeit chez le deuxième groupe de vaches par rapport au premier et au troisième groupe. Tandis que, aucune différence n'a été constatée entre ces deux derniers groupes ($p > 0.05$).

Ces résultats étaient largement supérieurs à ceux obtenus chez la brebis par **Rexroad et al. (1977)**, qui ont utilisé 60 mg de 6- α -methyl-17- α acétoxyprogestérone (MAP) pendant 12 jours pour la synchronisation de l'œstrus (1.8 ± 4.2 cm) ou injection des œstrogènes pendant la phase lutéale (2.1 ± 9 cm).

Les valeurs de la filance les plus élevées durant l'œstrus naturel ont été signalées par plusieurs études dans la littérature [**Rexroad et Barb., 1977**]. Dans un autre travail, **Tsiligianni et al. (2000a)**, ont montré que la spinnbarkeit a été basse lors de l'utilisation des PRID (3.1 ± 0.5 cm) ou de PGF2 α (4.7 ± 1.0 cm). Cette propriété rhéologique dépend de l'état physiologique de la femelle [**Hafez.B et Hafez. E., 2002**].

Il a été remarqué, après traitement des femmes par un progestagène, une diminution de la spinability, l'absence de la cristallisation et le serrage des glycoprotéines ont rendu le mucus collecté pendant l'ovulation induite très semblable à celui élaboré pendant la phase lutéale sous la dominance totale de progestérone [**Chretien et Dubois., 1991**].

La différence entre les traitements de synchronisation dans la présente étude peut être attribuée à l'augmentation de la concentration des progestérones et l'altération de celle des œstrogènes, suite à une croissance folliculaire anormale après l'utilisation des progestagènes [**Chretien et Dubois., 1991 ; Tsiligianni et al., 2000a**].

D'autres facteurs peuvent altérer la spinnbarkeit du mucus cervical, l'augmentation de la concentration des électrolyte [**Crowther et al., 1984 ; Steiner et al., 1984**] et des protéines dans la glaire [**Rexroad et al., 1977**]. En effet, les concentrations élevées des cations polyvalents, tels que le calcium et le magnésium, peuvent faciliter la réticulation réversible entre les monomères de mucine [**Raynal et al., 2003**].

II. 4. Cytologie de la glaire cervicale

Les résultats concernant les propriétés rhéologiques et physiques du mucus cervical de vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé sont représentés dans le tableau N°6 :

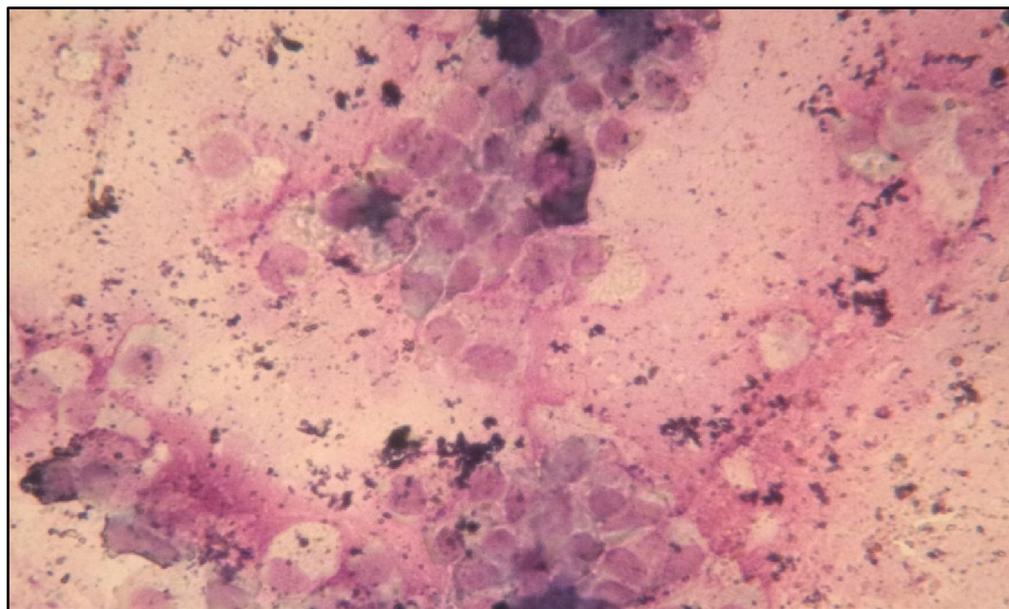
Tableau 6. Propriétés cytologique du mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé

Taux des cellules (%)	Groupes d'œstrus			P
	1 (10/25)*	2 (5/15)*	3 (5/10)*	
Cellules épithéliales	91.85 ± 0.80 ^a	93.50 ± 1.20 ^a	92.00 ± 1.51 ^a	0.58
CELV	1.3 ± 0.30 ^a	1.60 ± 0.50 ^a	1.60 ± 0.50 ^a	0.83
Neutrophiles	1.60 ± 0.33 ^a	2.00 ± 0.70 ^a	1.60 ± 0.67 ^a	0.59

()* : Nombre de vaches utilisées / nombre de vaches recrutées.

a : comparaison entre moyennes des groupes (1.2.3) avec un seuil de signification ($P < 0.05$).

L'examen microscopique des frottis que nous avons réalisé, nous a permis la mise en évidence : des cellules épithéliales à larges vacuoles, des polynucléaires neutrophiles, des lymphocytes (rarement) et les cellules épithéliales. Ces dernières étaient les plus couramment observées dans tous les groupes, elles correspondent à une exfoliation de l'épithélium superficiel.

**Figure 19. A**

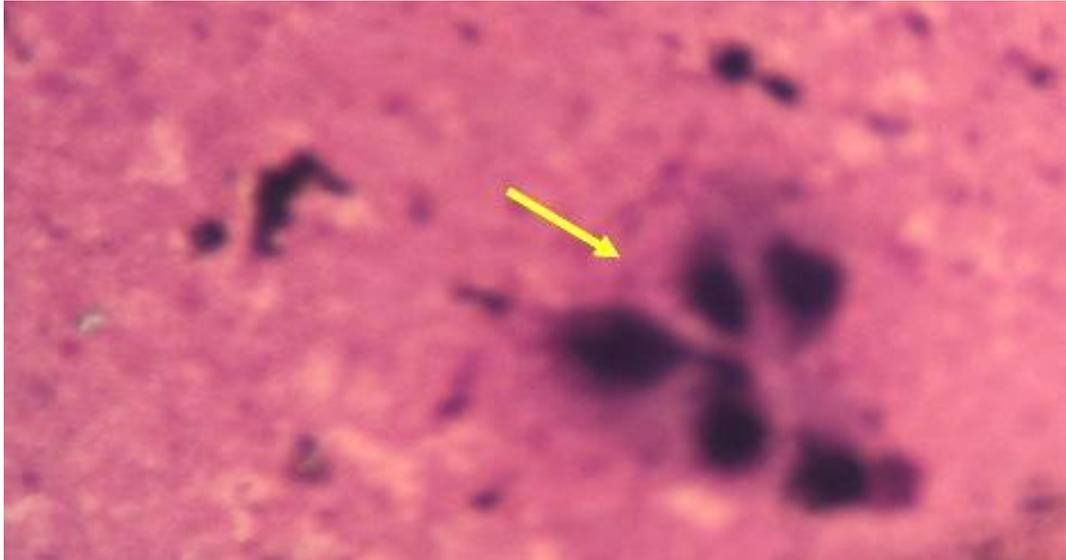


Figure 19. B

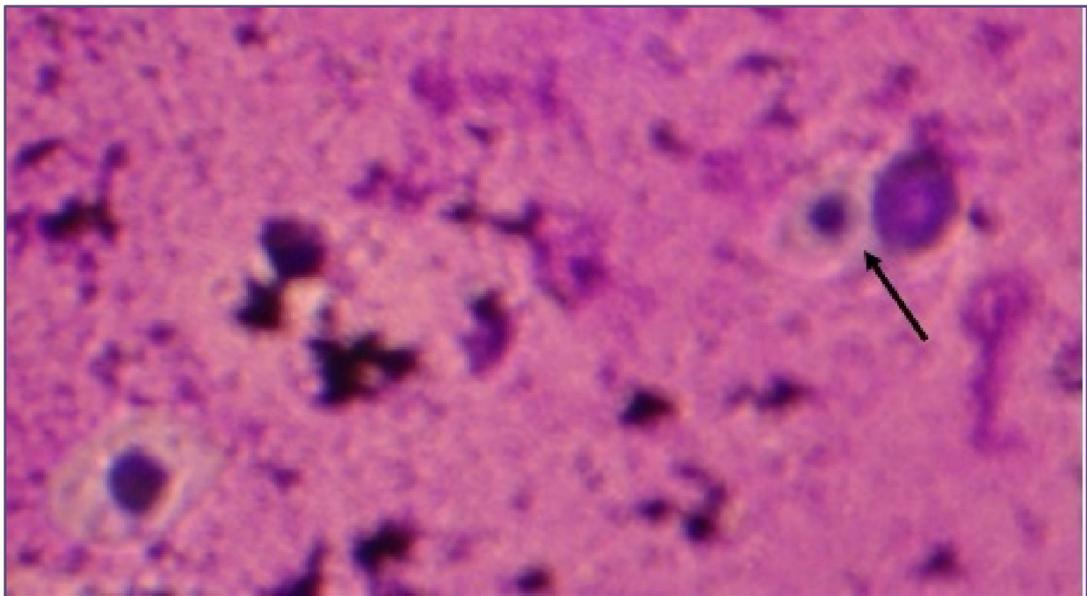


Figure 19. C

Figure 19. Examen cytologique d'un frottis cervical: (A) CE (amas des cellules épithéliales), (B) PNN (flèche jaune), (C) CELV (flèche noire) (x400)

Il a été rapporté que la présence d'un grand nombre de ces cellules dans un frottis cervical ou utérin, associée rarement à des cellules inflammatoires, témoigne d'un prélèvement cytologique normal [Couto et Hughes., 1984 ; Ahmadi *et al.*, 2006a ; Kasimanickam *et al.*, 2004].

Par contre, la mise en évidence de lymphocytes rares dans quelques frottis, nous a incité à éliminer ces cellules de l'étude. Le rôle des cellules épithéliales ou CELV est mal

connu, mais d'après **Yavari et al. (2009)** elle peut être utilisée comme un indicateur de l'environnement utérin.

D'après les résultats statistiques de notre étude, nous constatons que les traitements de synchronisation utilisés n'affectent pas la cytologie cervicale ($p > 0.05$). Ces mêmes constatations ont été signalées par **Ahmadi et al. (2006b, 2007)**.

Il a été démontré que tous les protocoles qui nécessitent un dispositif intra vaginal (PRID et CIDR) sont à l'origine d'une inflammation locale supplémentaire, responsable d'une augmentation de la teneur, principalement, des polynucléaires neutrophiles (PNN) et par conséquent l'obtention des résultats faussement positives [**Ahmadi et al., 2007**].

La phagocytose constitue le phénomène cruciale dans la défense immunitaire du tractus génitale femelle, fait appel aux populations de cellules immunitaires, principalement les PNN qui assurent 80% à 70% de la phagocytose dans l'utérus et le cervix respectivement [**Frank et al., 1983 , Ahmadi et al., 2005b**]. Quelques jours avant le part, le pourcentage de ces cellules augmentent d'une façon significative [**Ahmadi et al., 2005a**].

Récemment il a été prouvé que la dilatation du cervix au moment de la parturition, résulte principalement d'un phénomène inflammatoire par l'activation principalement des neutrophiles suite à la libération de molécules pro-inflammatoires [**Hammon et al., 2006**].

D'après le tableau 6, le taux des PNN obtenu dans le groupe 2 ($2.00 \% \pm 0.70 \%$) était légèrement élevé par rapport aux autres groupes ($1.60\% \pm 0.33\%$, $1.60\% \pm 0.67\%$ pour le premier et deuxième groupe respectivement). Cette différence peut être expliquée par l'augmentation du taux de progestérone chez les vaches de ce groupe. En effet, d'après **Ahmadi et al. 2006b, 2005a**, les variations hormonales stéroïdiennes suivant la phase du cycle œstral qui influence la migration des neutrophiles dans la muqueuse cervicale.

Il a été rapporté que des valeurs très élevées de neutrophiles durant la phase lutéale principalement pendant metoestrus dont le prélèvement étant effectué deux jours

après l'ovulation (taux de neutrophile égale à $(17.60 \pm 8.83 \%)$ avec une progestéronémie de $(0.77 \pm 0.83 \text{ ng/ml})$, au 19^{ème} jours post-œstrus (proœstrus), le taux était légèrement diminué $(4.00 \pm 1.88 \%)$ avec une progestéronémie de $(2.85 \pm 0.86 \text{ ng/ml})$ [Ahmadi *et al.* 2006b, 2005a].

Selon ces auteurs, le recrutement des neutrophiles dans la lumière cervicale résulte d'une chute de progestéronémie et l'augmentation de l'oestradiolémie. L'influence du rapport E2/P4 reste à confirmer. Plusieurs facteurs peuvent influencer la fonction de reproduction, tels que l'état corporel et le déficit énergétique, entraînant des troubles de la croissance folliculaire [Driancourt., 2001].

II. 5. Influence des propriétés biologiques de la glaire cervicale sur la fertilité

Pour étudier l'influence de quelques propriétés biologiques de la glaire cervicale bovine sur la réussite de l'insémination artificielle, nous avons regroupé les vaches du premier et troisième groupe (en raison de l'absence des différences significatives des propriétés étudiées entre ces deux groupes) dans un seul lot.

Ces vaches sont ensuite classées en deux groupes, le premier comporte les vaches ayant un nombre d'IA égale à un ($IA=1$) et le deuxième celles ayant un nombre d'IA supérieur ou égale à deux ($IA \geq 2$).

Les résultats concernant l'influence de la lactate déshydrogénase (LDH), le cholestérol, des protéines totales, des paramètres rhéologiques et physiques ainsi la cytologie du mucus cervical des vaches au cours d'un œstrus naturel et synchronisé par $PGF2\alpha$ sont représentés dans le tableau N° 7:

Tableau 7. Influence de quelques propriétés biologiques du mucus cervical sur le nombre des inséminations artificielles.

Paramètres	Nombre d'IA		
	1	≥2	P
LDH(UI/l)	2.83 ± 0.58 ^a	8.07 ± 0.51 ^b	< 0.001
Cholestérol (mmol/l)	0.004 ± 0.001 ^a	0.13 ± 0.02 ^b	<0.001
Protéines totales (µg/ml)	1004 ± 5.20 ^a	1254 ± 29.54 ^b	< 0.001
Cristallisation (0-4)	3.50 ± 0.22 ^a	1.77 ± 0.14 ^b	< 0.001
Spinbarkeit (cm)	8.30 ± 0.30 ^a	8.40 ± 0.16 ^a	0.70
Viscosité (mmH ₂ O)	24.23 ± 0.27 ^a	26.30 ± 0.30 ^b	< 0.001
CE(%)	92.25 ± 2.7 ^a	91.78 ± 1.02 ^a	0.76
CELV(%)	0.5 ± 0.22 ^a	2.33 ± 0.16 ^b	< 0.0001
Neutrophiles (%)	0.33 ± 0.21 ^a	2.44 ± 0.17 ^b	< 0.0001

()* : Nombre de vaches utilisées / nombre de vaches recrutées.

a,b: comparaison entre les moyennes des groupes avec un seuil de signification (P < 0.05).

CELV : cellules épithéliales à larges vacuoles. CE : cellules épithéliales. LDH : Lactate déshydrogénase.

L'analyse statistique de nos résultats révèle un effet hautement significatif (P<0.0001) de l'activité de la LDH sur le nombre d'insémination artificielle réalisé. En effet, les vaches qui ont montré une activité basse de cette enzyme à la fin d'œstrus (2.83 ± 0.58 UI/l) présentent un nombre d'insémination artificielle (nombre d'AI = 1). Tandis que, celles qui ont une activité plus élevée (8.07 ± 0.51 UI/l) nécessitent plusieurs inséminations artificielles (nombre d'AI ≥ 2).

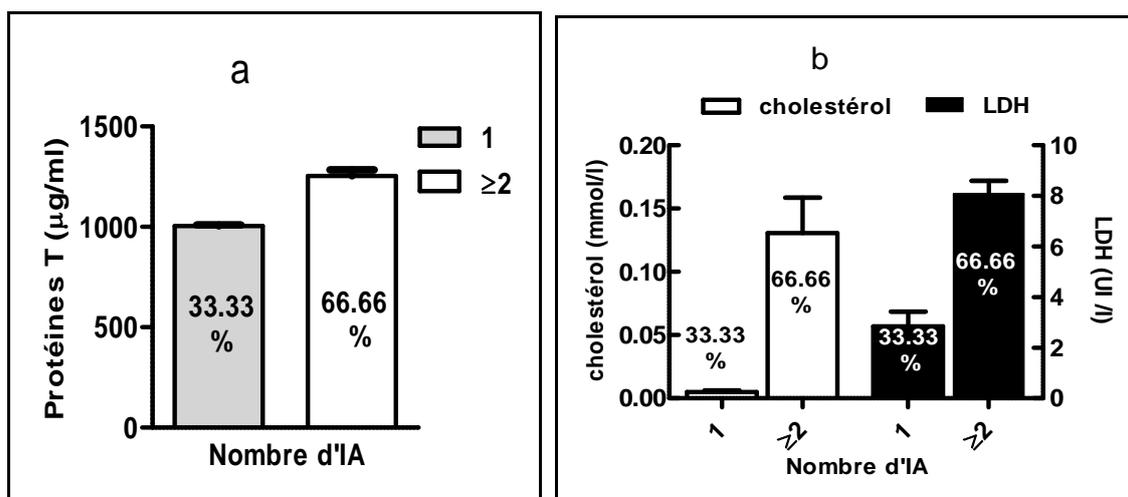


Figure 20. Effet de la concentration des protéines totales(a) et de la LDH et cholestérol (b) sur le nombre des IA.

La même constatation a été prouvée pour le cholestérol, les protéines totales, la viscosité et la cristallisation. En revanche, la teneur de la Spinnbarkeit ne présente aucun effet sur la fertilité ($p= 0.70$).

González et Evelin (2009), ont comparé l'effet des différents paramètres physiques de la glaire cervicale bovine (pH, cristallisation et Spinnbarkeit) sur le nombre d'insémination artificielle nécessaire pour une fécondation, ils ont rapporté que la spinnbarkeit n'a aucun effet sur la fertilité.

Cependant, la cristallisation et la viscosité peuvent utiliser comme un miroir pour déterminer le stade physiologique de la femelle [**Tsiligianni et al., 2000b ; Ježková et al., 2008 ; González et Evelin., 2009**]. En effet, le taux bas de conception était le plus souvent observé chez les vaches qui ont un mucus épais et plus visqueux [**Schilling et Zust., 1968**].

D'après une étude qui a été faite sur deux types de mucus cervicale de vaches l'un présente une forme typique de cristallisation (obtenu durant la phase folliculaire) et l'autre atypique (récolté pendant la phase lutéale), **Predojevic et al. (2007)**, ont prouvé que la pénétration des spermatozoïdes dans le premier type était meilleure (50 mm/15min) que celle du deuxième (30 mm/ 15min).

La viscosité du mucus cervical élevée collectée à l'œstrus induit, peut être due à la sécrétion anormale de LH et à la concentration en progestérone élevée [**Tsiligianni et al., 2000a**]. De plus, **Zaaijer et Van Der Horst., 1983** ont remarqué la présence de concentration élevée de cholestérol dans la glaire des vaches repeat breeders.

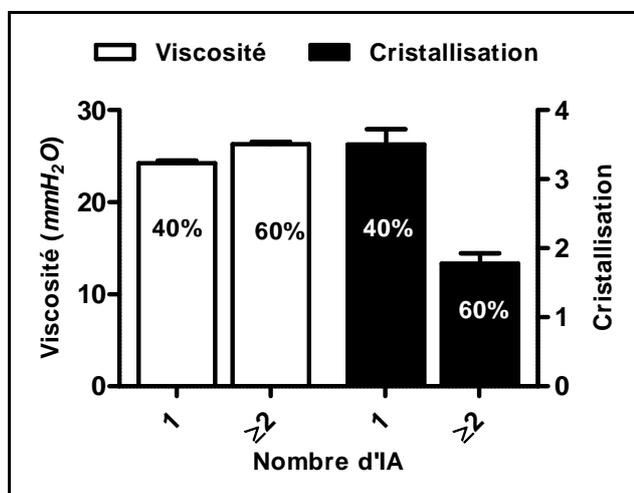


Figure 21. Effet de la viscosité et la cristallisation sur le nombre des IA

Il convient de noter que le taux de réussite en première insémination (TRAI1) (34.28%) ainsi le nombre des IA nécessaires à la fécondation (IA/IF=2.08) obtenus dans cette étude chez l'ensemble des vaches du premier et deuxième groupe est très éloigné des objectifs standards définis pour une gestion efficace de la reproduction qui sont : un nombre des IA nécessaires à la fécondation (IA/IF) inférieur à 1.6 avec un TRIA1 supérieurs à 60% [Vallet et Paccard., 1984 ; Seegers et Malher, 1996].

En effet, le taux de réussite bas pourrait provenir d'une difficulté de certains éleveurs à détecter les chaleurs et à déterminer le meilleur moment pour l'insémination. En étudiant la concentration de LDH, cholestérol, protéine totales, la viscosité, la cristallisation et la spinnbarkeit de la glaire cervicale ont prouvé que la détermination de ces paramètres au moment de l'insémination peut améliorer la fertilité des vaches au cours d'un œstrus naturel ou synchronisé [Tsiligianni *et al.*, 2000a et 2000 b, 2001, 2003].

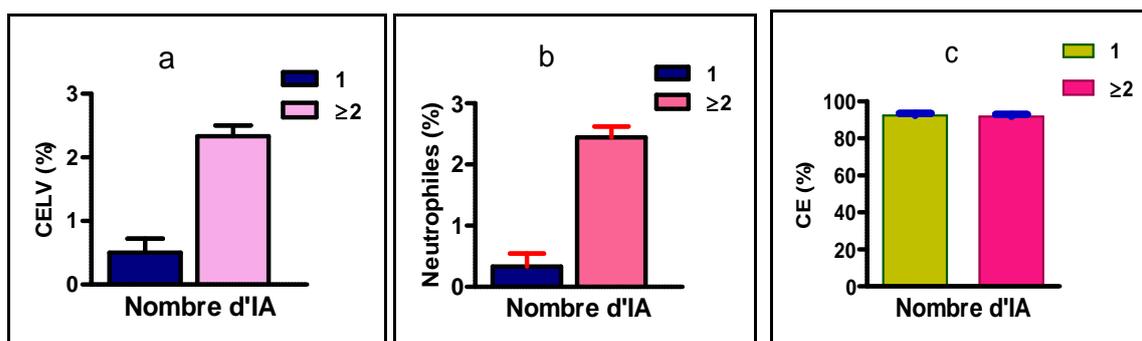


Figure 22. Influence du taux de cellules épithéliales à large vacuole (CELV) (a), des neutrophiles (b) et les cellules épithéliales (CE) (c) sur le nombre des inséminations artificielles.

D'après la figure ci-dessus, le taux des cellules épithéliales est similaire entre les deux lots ($P=0.76$). Cependant, le pourcentage des CELV et de neutrophiles présente des différences hautement significatives ($P < 0.0001$) entre les mêmes lots.

Dans notre étude, 60 % de vaches présentaient un frottis cervical avec un taux de PNN supérieur à 2%, ont montré un risque d'échec de fécondation (nombre d'IA \geq 2) significativement plus élevé ($P < 0.0001$) que celle ayant un taux bas de PNN (0.33 ± 0.21 %).

Des frottis cytologiques montrent que 22% des vaches repeat breeders présentent une inflammation utérine à plus de 5% de neutrophiles et 62% présentent une cervicite sans endométrite [Stephens *et al.*, 1996]. Ces études montrent que l'inflammation

génitale aussi bien utérine que cervicale est une des causes principales retrouvées chez des vaches cliniquement apparaissent normales.

Deguillaume (2007), a effectué des prélèvements chez des vaches entre 21 et 60 jours post partum, il a trouvé une prévalence de 20% de cervicite, avec un seuil de 5% de neutrophiles chez ces vaches. Cependant, **Gonzalez et al. (1985)**, après un examen histologique d'utérus de vaches non gestantes prélevés à l'abattoir, ont trouvé 43,8% cas de cervicites.

Une relation étroite entre l'inflammation cervicale et utérine a été établie récemment par de nombreuses études [**Ahmadi et al., 2006a, 2005b**]. En effet, les formes subcliniques des endométrites, ne s'accompagnent pas de sécrétions vaginales purulentes, ont été diagnostiquées le plus souvent par un examen cytologique, par comptage du taux de (PNN) présents sur le frottis utérin ou cervical [**Kasimanickam et al., 2004 ; Ahmadi et al., 2006a ; Yavari et al., 2009**].

Ces études montrent que la cervicite est une entité pathologique fréquente chez les vaches laitières subfertiles alors que notre travail montre plus spécifiquement qu'elle est fréquente au moment de l'insémination artificielle.

Des expériences in vitro montrent que les PNN ont un effet délétère sur les spermatozoïdes par des réactions d'oxydation qui expliqueraient une baisse de fertilité lors d'endométrite [**Mattner., 1969 ; Gilbert et Fales., 1996**].

Selon **Gilbert et Fales., 1996**, les spermatozoïdes des touraux sont riches en acides gras polyinsaturés, ce qui rend plus sensibles aux réactions d'oxydation provoquées par les PNN dont l'influx se produit chez la vache dans les heures qui suivent l'insémination [**Alghamdi et al., 2009**].

Un examen cytologique proche de l'insémination semble avoir un intérêt pour mettre en évidence une inflammation délétère à la réussite à la fécondation.

CONCLUSION

Conclusion

La présente étude a été réalisée dans des conditions de terrain, sur de vaches laitières issues de différentes races. Cette expérimentation a permis de conclure que : parmi les paramètres biochimiques, électrolytiques, rhéologiques, physiques et cytologiques qui ont été mesurés, seulement la concentration de LDH, de protéines totales, de cholestérol ainsi tous les paramètres électrolytiques, rhéologiques, physiques étaient affectés par l'utilisation de traitement de synchronisation à base des implants de progestagènes (CRESTAR®).

Des corrélations positives et négatives hautement significatives ont été constatées entre tous les électrolytes et cristallisation ainsi que la viscosité respectivement.

Toutefois, le taux de réussite en première insémination chez l'ensemble du premier et troisième groupe (TR1IA = 34.28%) reste inférieur aux objectifs recherchés dans les élevages laitiers.

Il faut noter que un faible pourcentage des vaches présentaient des concentrations basses de LDH, de protéines totales, de cholestérol, une faible viscosité, un aspect typique de cristallisation en plus des pourcentages bas des neutrophiles et les cellules épithéliales à large vacuole au moment de l'insémination, montraient un bas nombre des IA (IA = 1).

Par contre, celles qui ont montré des valeurs élevées de ces mêmes paramètres nécessitaient plusieurs IA (IA \geq 2).

D'après nos résultats, nous concluons que quelques paramètres biologiques de la glaire cités précédemment constituaient un facteur de risque de l'allongement de l'indice IA/IF et de la diminution de taux de réussite en première insémination.

Il apparaît donc que l'usage des indicateurs biochimiques (LDH, cholestérol, protéines totales), électrolytiques, la viscosité, cristallisation et la cytologie cervical (taux de neutrophiles et cellules épithéliales à large vacuole) de la glaire cervicale pour contrôler le moment de l'insémination, s'est révélé être un moyen intéressant pour

augmenter le taux de fertilité des vaches laitières en œstrus induit ou naturel. Le seul point négatif de ces méthodes reste le cout élevé de la technique et le délai nécessaire à son analyse.

Toutefois, la cytologie cervicale et la cristallisation restent des techniques fiables, rapides et non couteuses pour évaluer le statut physiologique des vaches. Sa mise en place pourrait éviter à l'éleveur des coûts d'insémination inutiles et des retards de mise à la reproduction.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

Aalseth EP and Saacke RG., 1987. Alteration of the anterior acrosome of motile bovine spermatozoa by fructose and hydrogen ion concentration. *J. Reprod. Fert.* 81, 625-634.

Adams NR., 1979. Seasonal variation in the nature of cervical mucus response to estradiol benzoate in normal and clover affected ovariectomized ewes. *Biol Reprod*;21: 1203-1207.

Adams N R and Tang BY., 1979. Changes in ovine cervical mucus in response to oestrogen treatment. *J. Reprod. Fert.* 57,261 -266.

Adeoya-Osiguwa SA and Fraser LR., 1996. Evidence for Ca(2+)-dependent ATPase activity, stimulated by decapacitation factor and calmodulin in mouse sperm. *Mol Reprod Dev*;44:111–20.

Agrawal SC and Datta IC., 1976. Sialic acid and hexosamine concentrations in cervical mucus in different breeds of cows and buffalo at oestrus. *J. Reprod. Fert.* 48, 363-364.

Agarwal SC., Pangavkar GR and Datta LC., 1978. A comparative study of the total protein and nonprotein nitrogen level in estrual cervical mucus in different breeds of cows and buffalo. *Ind. Vet. J.* 55, 756-760.

Ahmadi MR., Nazifi S., Khodakaram Tafti A., 2004. Cytological studies of uterus and uterine cervical mucosa by swab and aspiration methods in cows. *J Fac Vet Med Univ Tehran*59:360–366.

Ahmadi MR., Khodakaram Tafti A., Nazifi S., Ghaisari HR., 2005b. The comparative evaluation of uterine and cervical mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. *Comp. Clin. Pathol.*, 14, 90-94.

Ahmadi MR., Kafi M and Ghodrat M., 2005a. Crystallization and the number of neutrophils increase in the cervical mucus as parturition approaches in dairy cows. *Comp Clin Pathol (2005)* 14: 72–75.

Ahmadi MR., Nazifi S., Ghaisari HR., 2006a. Comparative cervical cytology and conception rate in post-partum dairy cows. *Veterinarski Arhiv*, 76 (4), 323-332.

Ahmadi MR and Nazifi S., 2006 b. Comparison of hormonal changes of oestrus cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp. Clin. Pathol.* 15, 94-97.

Ahmadi MR., Nazifi S., Sajedianfard J and Moattari G., 2007. Impact of estrous synchronization methods on cellular proportions in cervical mucus and serum hormone concentrations. *Theriogenology* 67 , 598–604.

Alavi-Shoushtari SM., Asri-Rezai S., Abshenas J., 2006. A study of the uterine protein variations during the estrus cycle in the cow: a comparison with the serum proteins. *Anim.Reprod.Sci.*, 96, 10-20.

Alghamdi AS., Lovaas BJ., Bird SL., Lamb GC., Rendahl AK., Taubec PC and Foster DN., 2009. Species-specific interaction of seminal plasma on sperm-neutrophil binding. *Anim. Reprod. Sci.*, **144**, 331-344.

Arienti G., Carlini E and Palmerini CA., 1997. Fusion of human sperm to prostasomes at acidic pH. *J. Membr. Biol.* 155:89–94.

Aumuller G and Riva A., 1992. Morphology and functions of the human seminal vesicle *Andrologia*, **24**, 183-196.

Bachlaus NK., Arora R., Prasad A and Pandey RS., 1979. Synchronization of oestrus in buffalo heifers with prostaglandin F-2a, its effect on plasma estrogen and progesterone levels. In *Advances in Reproduction and Regulation of Fertility*, pp. 149- 153. Ed. G. P. Talwar. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam.

Baldi E., Casana R., Falsetti C., et al.,1991. Intracellular calcium accumulation and responsiveness to progesterone in capacitating human spermatozoa. *J. Androl.*, **12**, 323–330.

Bane A and Rajakoski E., 1961. The bovine estrus cycle. *Cornell Vet*;51:77-95.

Bansil R and Turner BS., 2006. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science 11 (2006) 164 – 170.*

Banu SK., Arosh JA., Chapdelaine P and Fortier MA., 2003. Expression and regulation of prostaglandin transporter in corpus luteum and utero-ovarian plexus during the oestrous cycle and pregnancy. *Biology of Reproduction 68*,175.

Barriere P et Lopes P., 1987. Immunologie de l'endomètre. *Rec.Med.Vet.*, **163** (2), 121-126.

Barone R., 1978. Anatomie compare des mammifères domestique. Tome 3, Splanchnologie, Fascicule 2, lyon: Vigot edit,879p.

Beal WE., Chenault JR., Day ML et Corah LR., 1988. Variation in conception rates following synchronization of estrus with melengestrol acetate and prostaglandin F2 alpha. *J. Anim. Sci.*, **66**, 599-602.

Bernhard Zondek MD and et Samuel Rozin, MD., 1954. Cervical mucus arborisation. Its use in the determination of corpus luteum function. *Obstetrics and Gynecology*, **3; 5**, 463-470.

Bernheim S., Carraud A., Deletang F., Grimard B., Mialot JP., Pobel Th et Sanaa M., 1996. Synchronization des chaleurs par le PRID chez la vache allaitante charolaise: analyse des facteurs de variation des resultants. *Bull. Groupe. Tech. Vét.*, **533**, 27-33.

Berthouli J and Chrétien FC., 1997. Double sodium and potassium sulphates revealed by microprobe analysis in dried cervical mucus: a mid-cycle crystallographic index. *Human Reproduction Update 1997, Vol. 3, No. 4 pp. 347–358.*

Betche JM., 1992. Diagnostic de l'infertilité d'origine cervico-utérine chez la jument. *Rec. Méd. Vét.*, **168**, 11/12, 1011-1027.

Bhushana Rao kSP., Robert TK., Masson PL and Heremans JF., 1973. Lactoferrin, a major soluble protein of bovine oestrous cervical mucus.*J. Reprod. Fert.* **32**, 89-92.

- Bielfeld P., Jeyendran RS and Zanaveld LJD., 1991.** Human spermatozoa do not undergo the acrosome reaction during storage in the cervix. *Int. J.Fertil.*, **36**, 302–306.
- Blandau RJ and Moghissi K., 1973.** The Biology of the Cervix. *University of Chicago Press, Chicago.* 1-450.
- Bo GA., Adams GP., Caccia M., Martinez M., Pierson RA., Mapletoft RJ., 1995.** Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and oestradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.***39**, 193-204.
- Breeveld-Dwarkasing VNA., De Boer-Brouwer M., Te Koppele JM., Bank RA., Van Der Weijden GC., Taverne MAM et Van Dissel-Emiliani FMF., 2003.** Regional differences in water content, collagen content, and collagen degradation in the cervix of nonpregnant cows. *Biology of Reproduction* **69**, 1600–1607.
- Bridges PJ and Fortune JE., 2003.** Progesterone mediates gonadotrophin- induced secretion of prostaglandins E and F2a (PGE, PGF) by follicular cells from bovine preovulatory follicles. *Biology of Reproduction* **68**, 47.
- Brink JT and Kiracofe GH., 1988.** Effect of oestrus cycle stage at synchro-mate B treatment on conception and time to estrus in cattle. *Theriogenology*, **29**, 513-519.
- Brinster RL., 1973.** Lactate dehydrogenase isozymes in the preimplantation rabbit embryo. *Biochemical Genetics.* **9**,3.
- Bugalia NS and Sharma RD., 1990.** Endometrial glycogen, protein, nucleic acids and phosphatases during oestrous cycle in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Br Vet J* **1990**;146:559-62.
- Bugalia NS., Sharma RD., 2001.** Saigal RP. Histoenzymatic variations in endometrial phosphatases in buffaloes (*Bubalus bubalis*). *J Anim Sci* **2001**;71:245–7.
- Burke JM., De La Sota RL., Risco CA., Staples CR., Schmitt EJP and Thatcher WW., 1996.** Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **79**, 1385-1393.
- Burns PD., Spitzer JC., Bridges Jr WC., Henricks DM and Plyler BB., 1993.** Effects of metestrous administration of a norgestomet implant and injection of norgestomet and oestradiol valerate on luteinizing hormone release and development and function of corpora lutea in suckled beef cows. *J. Anim.Sci.*, **71**, 983-988.
- Caravaglios R and Cilotti R., 1957.** A study of the proteins in the follicular fluid of the cow. *J. Endocrinol.* **15**:273.
- Carlstedt JK and Sheehan., 1984.** Is the macromolecular architecture of cervical, respiratory and gastric mucins the same? *Biochem. Soc. Trans.* **12** (4) ;615–617.
- Carson DD., DeSouza MM., Kardon R., Zhou X., Lagow E and Julian J., 1998.** Mucin expression and function in the female reproductive tract. *Eur Soc Hum Reprod Embryol*;4:459–64.
- Castellino FJ., Fish WW and Mann KG., 1970.** Structural studies on bovine lactoferrin. *J. biol. Chem.* **245**, 4269.

Cecyre D., Des Coteaux L., Bouchard E., 2001. Évaluation d'un protocole de synchronisation de l'ovulation, avec insémination sur rendez-vous, utilisant la GnRH et la PGF2 α chez la vache laitière. *Méd. Vét. Qué.*, 31, 130-132.

Chastant-Maillard S., Balandraud J., Jegou L., Kessler T., Quinton H., Constant F., Mialot JP., 2002. Actualités dans le traitement de l'infécondité chez la vache : autour du GnRH. In : Conduite à tenir de l'animal au troupeau, du troupeau à l'animal. *Journées Nationales des Groupements Techniques Vétérinaires*, 217-224. SNGTV Ed, Paris.

Castrillon DH., Miao L., Kollipara R., Horner JW and DePinho RA., 2003. Suppression of ovarian follicle activation in mice by the transcription factor Foxo3a. *Science*, 301, 215-218.

Chemineau P., Cogni Y., Heyman Y., 1996. Maîtrise de la reproduction des mammifères d'élevage. *INRA Prod. Anim. Hors série 1996*, 5-15.

Chevallier A., Vandewinkel E., Boudjenah H., Cosquer R., Grimard B., Humblot P., 1996. Facteurs de variation des taux d'ovulation et de gestation après synchronisation de l'oestrus chez des femelles charolaises et limousines dans la région Centre-Ouest. *Elevage et insémination*, 276, 8-22.

Choi Y and Rajkovic A., 2006. Genetics of early mammalian folliculogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.*, 63, 579-590.

Chrétien FC., 1974. La glaire cervicale. II/ Propriétés physiques et chimiques - Ultrastructure. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* ; 3 : 711.

Chrétien FC and Guillon G., 1978. Evolution de l'épithélium cilio-sécréteur de l'endocol utérin au cours du cycle menstruel chez la femme. Etude au microscope électronique à balayage. *J Gynécol Obstét Biol Reprod* ; 7 : 1189.

Chrétien FC., 1980. The evolution of cervical mucus infrastructure in normal cyclic baboons (*papio anubis*) and castrated females receiving hormonal supplies. A scanning electron microscope study. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 59: 55.

Chretien FC and Dubois R.,1991. Effect of nomegestrol acetate on spinability, ferning and mesh dimension of midcycle cervical mucus. *Contraception* ; 43, 1, 55-65.

Christenson LK., Farley DB., Anderson LH and Ford SP., 1994. Luteal maintenance during early pregnancy in the pig: role for prostaglandin E2. *Prostaglandins* 47, 61-75.

Clark SW and Yochim J M., 1971. Effect of ovarian steroids on lactic dehydrogenase activity in endometrium and myometrium of rat uterus. *Endocrinology*, in press.

Cone RA., 2009. Barrier properties of mucus. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 (2009) 75-85.

Cooper TG., 1984. The onset and maintenance of hyperactivated motility of spermatozoa from the mouse. *Gamete Res*; 9:55-74.

Corbeil LB., Duncan JR., Schurig GG., Hall CE and Winter AJ., 1974. Bovine venereal vibriosis: variations in immunoglobulin class of antibodies in genital secretions and serum. *Infection and immunity*, 1084-1090.

Couto MA and Hughes JP., 1984. Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare. *J. Equine Vet. Sci.*, 4,6, 265-273.

Crowther RS., Marriott C., James SL., 1984. Cation induced changes in the rheological properties of purified mucus glycoprotein gels. *Biorheology* 21 253–263.

Cunningham FG., McDonald PC., Gant NF., 1989. The endometrium and uterine decidua. In: Cunningham et al (eds) William's obstetrics. *Appleton and Lange, USA*, pp 36–37.

DasGupta S., Mills CL and Fraser LR., 1994. A possible role for Ca^{2+} -ATPase in human sperm capacitation. *J. Reprod. Fertil.*, 102, 107–116.

Deguillaume L., 2007. Étude comparative des différentes techniques de diagnostic des métrites chroniques chez la vache, Thèse.Méd.Vet., Ecole Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort 109p.

De La Cruz EM and Pollard TD., 1996. Kinetics and thermodynamics of phalloidin binding to actin filaments from three divergent species. *Biochemistry* 35: 14054–14061.

De Lamirande E and Gagnon C., 1995. Capacitation-associated production of superoxide anion by human spermatozoa. *Free Rad. Biol. Med.* 18, 487–495.

De Lamirande E., Leclerc P and Gagnon C., 1997. Capacitation as a regulatory event that primes spermatozoa for the acrosome reaction and fertilization. *Mol Hum Reprod*; 3, 175-194.

Deletang F., 1983. Objectif et réussite de la synchronisation des chaleurs chez la vache laitière et allaitante. In : Synchronisation de l'oestrus chez les femelles domestiques, C1-C3. Ass. Etude Reprod. Anim., Lyon

De Rensis F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolongo F., Franzini S., Scaramuzzi R.J., 2002 .Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 58, 1675-168 .

DE Rensis F and SCARAMUZZI R.J., 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow. a review. *Theriogenology* 60, 1139-1151.

Dhaliwal GS., Murray RD and Woldehiwet Z., 2001. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim.Reprod.Sci.*, 67, 135-152.

Diskin MG., Sreenan JM and Roche JF., 2001. Controlled breeding systems for dairy cows. In: *Fertility in the high producing dairy cow, Occasional publication n°26, 2001, British Society of Animal Science, Edinburgh, 175-193.*

Diskin MG., Mackey DR., Roche JF and Sreenan JM., 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 78, 345-370.

Driancourt MA., 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, 55, 1211-1239.

Driancourt M.A., Gougeon A., Monniaux D., Royere D and Thibault C., 2001. Folliculogenèse et ovulation. In: La reproduction chez les mammifères et l'homme. *Thibault C., Levasseur M.C., (Eds), Ellipses, Paris, France, 316-347.*

Drion PV., Ectors PJ., Hanzen C., Houtain JY., Lonergan P et Beckers JF., 1996. Regulation de la croissance folliculaire et lutéale. *Le point vétérinaire*, Vol. 28, numéro spécial «Reproduction des ruminants».

Duchens M., Forsberg M., Edvqist LE., Gustafsson H and Rodriquez-Martinez H., 1994. Effect of induced suprabasal progesterone levels around estrus on plasma concentrations of progesterone, estradiol-17 β and LH in heifers. *Theriogenology*;42:1159-1169.

Durlinger AL., Kramer P., Karels B., de Jong FH., Uilenbroek JT., Grootegoed JA and Themmen AP., 1999. Control of primordial follicle recruitment by anti-Mullerian hormone in the mouse ovary. *Endocrinology*, 140, 5789- 5796.

Eggert-Kruse W., Botz I., Pohl S., Rohr G., Strowitzki T., 2000. Antimicrobial activity of human cervical mucus. *Hum Reprod*;15:778–784.

El-Naggar MA and Horvath EB., 1971. Sugar content of the cervico-vaginal mucus of cattle during the sexual cycle with special reference to fructose. *Acta vet. hung.* 21, 15.

Eltohamy MM., Zakaria AD and Taha NA., 1990. Changes in the contents of buffalo cervical mucus during different phases of the oestrous cycle. *Animal Reproduction Science* 22, 3, 203-211.

Elstein M and Pollard AC., 1968. Proteins of cervical mucus. *Nature*, Lond. 219, 612-613. Fertilization in Mammals. Serono Symposia, Raven Press, New York, *Gamete Res.*, 22, 443-469.

Engel W and Petzoldt U., 1973. Early Developmental Changes of the Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Pattern in Mouse, Rat, Guinea-Pig, Syrian Hamster and Rabbit. *Human Genetik* 20, 125 131 © by Springer-Verlag.

Ennuyer M., 2000. Les vagues folliculaires chez la vache : applications pratiques à la maîtrise de la reproduction. *Le point vétérinaire*, 31, 377-383.

Esterhuizen AD., lourens JGH., Lindequei HW ., Groenewald C.A., GIESTEIRA MVK and Labuschagne GEJ., 1995. The effect of α -amylase on the acrosomal membrane of human sperm. *ANDROLOGY. Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, Vol. 12, No. 4, 283-287.

Everhardt K., Dony JM., Jansen H., Lemmens WAJ and Doesburg WH., 1990. Improvement of cervical mucus viscoelasticity and sperm penetration in the presence of sodium bicarbonate douching. *Hum Reprod*;5:133–7.

Fiéni F., Tainturier D., Bruyas JF et Battu I., 1995. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. *Bull. Group. Tech. Vét.*, 4, 35-49.

Focarelli R., Rosati F and Terrana B., 1990. Sialoglycoconjugates release during in vitro capacitation of human spermatozoa. *J Androl* 11,97-104.

Fournier R., Driancourt MA et Barreteau S., 2004. Synchronisation des chaleurs et IA programmée chez les bovins. Comment maintenir une bonne fertilité avec des progestagène sans œstrogène? In : *Journées nationales des GTV, Tours, 2004. Paris : édi des GTV, 889-892.*

Fraser LR and Herod E., 1990. Expression of capacitation-dependent changes in chlortetracycline fluorescence patterns in mouse spermatozoa requires a suitable glycolysable substrate. *J Reprod Fertil*; 88:611-621.

Fraser LR and Quinn PJA., 1981. Glycolytic product is obligatory for initiation of the sperm acrosome reaction and whiplash motility required for fertilization in the mouse. *J Reprod Fertil*; 61:25-35.

Fraser LR., Umar G and Sayed S., 1993. Na⁺ requiring mechanisms modulate capacitation and acrosomal exocytosis in mouse spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.*, 97, 539–549.

Fraser L R., Abeydeera LR and Niwa K., 1995. Ca²⁺-regulating mechanisms that modulate bull sperm capacitation and acrosomal exocytosis as determined by chlortetracycline analysis. *Mol. Reprod. Dev.*, 40, 233–241.

Fuchs AR., Ivell R., Fields PA., Chang SMT and Fields MJ., 1996. Oxytocin receptors in bovine cervix: distribution and gene expression during the estrous cycle. *Biology of Reproduction* 54: 700-708.

Geary TW., Whittier JC., Downing ER., LeFever DG., Silcox RW., Holland MD., Nett TM and Niswender GD., 1998. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-B or the Ovsynch protocol. *J.Anim. Sci.*, 76, 1523-1527.

Gibbons R., Collis K and Sellwood R., 1974. Exogenous energy sources for spermatozoa in cervical mucus of the cow at oestrus. *J. Reprod. Fert.* 40, 187-189.

Gilad E., Meidan R., Berman A, Graber Y and Wolfenson D., 1993. Effect of heat stress on tonic GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. *J. Repro. Fert.* 99, 315-321.

Gilbert RO., Fales MH., 1996. The effect of bovine seminal plasma on the function and integrity of bovine neutrophils. *Theriogenology*, 46, 649-658.

Girouard J, Frenette G, Sullivan R., 2008. Seminal plasma proteins regulate the association of lipids and proteins within detergent-resistant membrane domains of bovine spermatozoa. *Biol Reprod*; 78: 921-931.

Gipoulou C., Ennuyer M., Humblot P., Remmy D., Hagen-Picard N ., Deletang F., Mayar JC., Regis R., 2003 .Gestion de la reproduction. In formation à la maîtrise de la reproduction bovine. (cd-rom), Paris: éditions AFC-CEVA-MIDATEST-OGER-CAMIA-KEREL,2003.

Godkin JD., Bazer FW and Roberts RM., 1984. Ovine trophoblast protein 1, an early-secreted blastocyst protein, binds specifically to uterine endometrium and affects protein synthesis. *Endocrinology*;114:120–30.

- Godkin JD., Lifsey BJ and Gillespie BE., 1988.** Characterization of bovine conceptus proteins produced during the peri and post attachment periods of early pregnancy. *Biol Reprod*;38:703–11.
- Gonzalez HE., Crowell Wayne A., Caudle AB., Thompson FN., 1985.** Morphometric studies of the bovine uterus: Microscopic lesions and retrospective reproductive history. *Am. J. Vet. Res.*, 48, 2588-2595.
- González A et Evelin N., 2009.** Signes physiques des chaleurs et ses relations avec la fertilité chez la vache laitière. *Mundo Pecuario*, 1, 37-63.
- Gorodeski GI., 1996.** The cervical cycle. In: *Reproductive Endocrinology, Surgery, and Technology*, edited by E. Y. Adashi, J. A. Rock, and Z. Rosenwaks. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven, 1996, p. 301–324.
- Gorodeski GI., 1998.** Estrogen increases the permeability of the cultured human cervical epithelium by modulating cell deformability. *Am J Physiol Cell Physiol* 275:888-899.
- Gorodeski G I and Pal D., 2000.** Involvement of estrogen receptors a and b in the regulation of cervical permeability. *Am J Physiol Cell Physiol* 278:C689-C696.
- Gorodeski G I., 2000a.** Estrogen increases the permeability of the cultured human cervical epithelium by modulating cell deformability. *Am J Physiol Cell Physiol* 275:888-899.
- Gorodeski GI., 2000b.** NO increases permeability of cultured human cervical epithelia by cGMP-mediated increase in G-actin. *Am J Physiol Cell Physiol* 278:C942-C952.
- Gorodeski GI., 2000c.** Calcium regulates estrogen increase in permeability of cultured CaSki epithelium by eNOS-dependent mechanism. *Am J Physiol Cell Physiol* 279:C1495-C1505.
- Gould PR., Barter RA and Papadimitriou JM., 1980.** A cytochemical profile of mucus-secreting, ciliated and subcolumnar basal cells of the human cervical mucous membrane. *Histochemistry* 70, 43 51.
- Gould K.G and Ansari A., 1981.** Electrolyte interactions in cervical mucus and their relationship to circulating hormone levels. *Contraception*.23 (5) ; 507-516 .
- Grimard B., Humblot P., Mialot JP., Ponter AA., Chastant S., 2003.** Efficacité des traitements de synchronisation des chaleurs chez les bovins. *INRA Prod. Anim.*, 16, 211-227.
- Guay P., Lamothe P., Ibrahim M and Tremblay A., 1972.** Effets de deux glucocorticoides synthétiques sur le glucose du sang et des sécrétions endométriales chez la vache. *Can. J. comp. Med.* Vol. 36 - April, 1972.
- Guay P et Lamothe P., 1969.** Étude biochimique des sécrétions génitales de femelles bovines infécondes qui présentent des cycles œstraux normaux. *Can. J. comp. Med.* 33: 93-97.
- Guayt P., 1966a.** Étude du sodium contenu dans le sang et dans les sécrétions génitales de la vache, au cours du cycle normal. *CAN. VET. JouR.*, vol. 7 (9), 199-203.
- Guayt P., 1966b.** Étude du potassium contenu dans le sang et dans les sécrétions génitales de la vache, au cours du cycle normal. *CAN. VET. JouR.*, vol. 7 (10), 219-223.
- Guayt P., 1966c.** Étude du Calcium contenu dans le sang et dans les sécrétions génitales de la vache, au cours du cycle normal *CAN. VET. JOUR.*, vol. 7, no. 8 ; 169-175.

Haas M., Askari A and Xie Z., 2000. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal transducing function of Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 275:27832–27837.

Hafez et Kanagawa., 1972. Ciliated epithelium in the uterine cervix of the macaque and rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 28, 9-14

Hafez ESE., 1973. The comparative anatomy of the mammalian cervix. In: Blandau RJ, Moghissi K (eds.), *Biology of the Cervix*. Chicago: *University of Chicago Press*; 1973:22–56.

Hafez ESE., 1993. Anatomy of female reproduction. In: Hafez ESE (ed.), *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia: *Lea and Febiger*; 1993: 20–55.

Hafez ESE and Hafez B., 2002. cycle de reproduction. In Hafez E.S.E. y Hafez B., *Reproduccion Inseminacion Artificial in Animales*. 7 Ed. Editorial McGraw- Hill Interamericana, México, D.F. pp. 56-69.

Hamana K., El-Banna., AA and Hafez., ESE., 1971. Sialic acid and some physicochemical characteristics of bovine cervical mucus. *Cornell Vet.* 61, 104.

Hammon DS., Evjen IM., Dhiman TR., Goff JP and Walters JL., 2006. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet.Immunol.Immunopathol.*, 113, 21-29.

Handrow RR., First NL., Parrish JJ., 1989. Calcium requirement and increased association with bovine sperm during capacitation by heparin. *J Exp Zool*; 252: 174-182.

Hanzen C., Lourtie O et Drion PV., 2000. Le développement folliculaire chez la vache. 1.Aspects morphologiques et cinétiques. *Ann.Méd.vét.*144,223-235.

Hanzen C., Boudry B et Drion PV., 2003. Induction et synchronisation de l'oestrus par la PGF2 α . *Point Vét.*, 236, 22-23.

Hardy SP and Valverde MA., 1994. Novel plasma membrane action of estrogen and anti estrogens revealed by their regulation of a large conductance chloride channel. *FASEB J.* 8: 760–765.

Hawk HW., 1987. Transport and fate of spermatozoa after insemination of cattle. *J Dairy Sci*;70:1487–1503.

Henderson KA et Cupps PT., 1990. Acid and alkaline phosphatase in bovine antral follicles. *J Anim Sci* 1990. 68:1363-1369.

Holmdahl TH and Mastroianni L., 1965. Continuous collection of rabbit oviduct secretions at low temperature. *Fert. Sterility* 16:587.

Holy L., 1983. Bases Biológicas de la Reproducción Bovina. Editorial Diana, S. A. México D.F. pp.47- 79.

Hoppe PC., 1976. Glucose requirement for mouse sperm capacitation in vitro. *Biol Reprod*; 15:39 45.

Huang EJ., Manova K., Packer AI., Sanchez S., Bachvarova RF., Besmer P., 1993. The murine steel panda mutation affects kit ligand expression and growth of early ovarian follicles. *Dev. Biol.*, 157, 100-109

Humblot P., Grimard B., Ribon O., Khireddine B., Dervishi V and Thibier M., 1996. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous Charolais cows treated with norgestomet implants and PMSG. *Theriogenology*, 46, 1085-1096.

Hulka JF and Omran KF., 1969. The uterine cervix as a potential local antibody secretor. *Am. J. Obstet. Gynec.* 104, 440.

Igarashi M., 1954. Studies on the cyclic changes in human cervical mucus as well as its crystallization phenomenon. *J. Jap. Obstet. Gynecological Soc.* 1: 194.

Imtiaz-Hussain SM., Fuquay JW., Younas M., 1992. Estrous cyclicity in non lactating and lactating Holsteins and Jerseys during a Pakistani summer. *J. Dairy Sci.* 75, 2968-2975.

Jacob C., Thunda T, Anzar M, and Mary M and Buhr., 2006. Na⁺/K⁺ATPase as a signaling molecule during Bovine Sperm Capacitation. *Biology of Reproduction* 75, 308–317.

Jean-Blain C., 2002. Introduction à la nutrition des animaux domestiques. E.M.Inter., Edition TEC et DOC., 424p.

Jemmeson A., 2000. Synchronising ovulation in dairy cows with either two treatments of gonadotropin-releasing hormone and one of prostaglandin, or two treatments of prostaglandins. *Aust. Vet. J.*, 78, 108-111.

Ježková A., Stádník L., Vacek M and Louda F., 2008. Factors affecting the cervical mucus crystallization, the sperm survival in cervical mucus, and pregnancy rates of holstein cows. *Journal Central European of Agriculture*;9 . 2 ,377-384.

Jonsson NN., Mc Gowan MR., Mc Guigan K., Davison TM., Hussain AM., Kafi M. and Matschoss A., 1997. Relationships among calving season, heat load, energy balance and postpartum ovulation of dairy cows in a subtropical environment. *Animal Reproduction Science* 47, 315-326.

Jovov B., Lewis SA., Crowe WE., Berg JR and Wills NK., 1994. Role of Ca⁺⁺ in modulation of tight junction resistance in A6 cells. *Am. J. Physiol.* 266 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 35): F775 F784.

Kasimanickam R., Duffield TF., Foster RA., Gartley CJ., Leslie KE., Walton JS., Johnson WH and 2004. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 62:9–23.

Kenney RM., 1973. Histoencytologic evaluation of metabolic patterns in bovine follicular oocytes. *Am. J. Vet. Res.* 34:893.

Kesler DJ., Tyson TS., Summers RN., Steckler TL and Nash TG., 1997. Effects of PGF_{2a} treatment before norgestomet and oestradiol valerate treatment on regression, formation, and function of corpora lutea in beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 47, 281-289.

Klinger F.G and De Felici M., 2002. *In vitro* development of growing oocytes from fetal mouse oocytes: stage-specific regulation by stem cell factor and granulosa cells. *Dev. Biol.*, 244, 85-95.

Kopito LE., Kosarsky HJ., Sturgis SH., Lieberman BL and Schwachman H., 1973. Water and electrolytes in human cervical mucus. *Fert. Steril.* 24, 499-506.

Kumar TR., Wang Y., Lu N., Matzuk MM., 1997. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. *Nat. Genet.*, 15, 201-204.

Kumaresan A; Prabhakaran P. P. Bujarbaruah K. M ; Pathak K. A. Bijoy Chhetri and ahmed S. K.,2009. Reproductive performance of crossbred dairy cows reared under traditional low input production system in the eastern Himalayas. *Trop Anim Health Prod* 41:71–78.

Kutteh WH., Edwards RP., Menge AC., Mestecky J., 1988. IgA immunity in female reproductive tract secretions. In: Griffin PD and Johnson PM., eds. Local immunity in reproductive tract tissues. Oxford. Oxford University Press., 1993; 13: 229-43.

Lai SK., Wang Y-Y., Wirtz D and Hanes J., 2009. Micro- and macrorheology of mucus. *Advanced Drug Delivery Reviews* 61 ; 86–100.

Lamond DR et Shanahan AG., 1969. Chemical Changes in Cervical Mucus from Normal and Ovariectomized Cows Treated with Hormones. *Biology Of Reproduction* 1, 335-343.

Lee Chi H., Wang Y., Shinb S-C., Chienc Yie W., 2002. Effects of chelating agents on the rheological property of cervical mucus. *Contraception* 65;435–440.

Lewis-Jones DL., Aird IA., Biljan MM and Kingsland CR., 1996. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Hum Reproduction* , 11 ; 11 ., 2465-2467.

Linford E., 1974. Cervical mucus: an agent or a barrier to conception?. *J Reprod Fert*;37, 239-250.

López-Gatius F., Rutlant J., López-Béjar M., Labernia J., 1994. Sperm motion and rheological behavior of the vaginal fluid of superovulated dairy heifers. *Theriogenology.* 41:1523–1531.

López-Gatius F., Labèrnia J., Santolaria P., Rutlant J., Lopez-Bejar M., 1997. The relationship of the rheological behavior of the vaginal fluid at the time of insemination to the pregnancy rate in dairy cows. *Theriogenology.*;48:865–871.

Lucy MC., Billings HJ., Butler WR., Ehnis LR., Fields MJ., Kesler DJ., et al., 2001. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF₂alpha for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 79, 982-995.

Lucy MC., Savio JD., Badinga L., De la SOTA R.L and Thatcher WW.,1992. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim. Sci* 70, 3615-3626

Madsen F., Eberth K and Smart JD., 1998. A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: the effect of mucoadhesive type and concentration. *J Controlled Release*;5 0:167–78.

Mazerbourg S., Bondy CA., Zhou J and Monget P., 2003. The insulin-like growth factor system: a key determinant role in the growth and selection of ovarian follicles? a comparative species study. *Reprod. Domest. Anim.*, 38, 247-258.

Matthews LW., Spector S., Lemm J and Potter JL., 1963. Studies on pulmonary secretions. I. The over-all chemical composition of pulmonary secretions from patients with cystic fibrosis, bronchiectasis, and laryngectomy. *Am. Rev. Respir. Dis.* 88 ; 199-204.

Mattner PE., 1969. Phagocytosis of spermatozoa by leucocytes in bovine cervical mucus in vitro. . *Reprod. Fert.* 20, 133-134.

McGeachin RL., Hargan L., Potter BA and Daus AT., 1958. Amylase in fallopian tubes. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 99, 130-131.

McGee EA and Hsueh AJ., 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine Rev.*, 21, 200-214.

Mende HE., Spitzbart H., Sieke V and Vogel C., 1990. Sodium, potassium, magnesium and calcium in vaginal content. *Zentralbl Gynakol.* 112(18):1175-80.

Mestecky J., Kutteh WH., Ladjeva I and Peterman JH., 1989. The common immune system in the human genital tract and mammary gland. In : *Billington WD.*, eds. Reproductive immunology. Amsterdam : *Elsevier*, 1989: 251-8.

Metz JHM et Mekking P., 1984. Crowding phenomena in dairy cows as related to available idling space in a cubicle housing system. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 12, 63-78.

Meyer FA and Silberberg A., 1980. The rheology and molecular organization of epithelial mucus, *Biorheology* 17; 163-168.

Mialot JP., Noel F., Puyalto C., Laumonier G., Sauveroche B., 1998. Traitement de l'anoestrus post-partum chez la vache laitière par le CIDR-E ou la prostaglandine F2 α . *Bulletin Technique des GTV*, 2, 29-38.

Mialot JP., Laumonier G., Ponsart C., Fauxpoint H., Barassin E., Ponter AA and Deletang F., 1999. Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2 α or GnRH + prostaglandins F2 α + GnRH. *Theriogenology*, 52, 901-911.

Mialot JP., Constant F., Chastant-Maillard S., Ponter AA, et Grimard B., 2001. La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications. In : Société Française de Buiatrie, , Paris 28-30 novembre 2001, 163-168.

Moghissi KS., 1966. Cyclic changes of cervical mucus in normal and progestin-treated women. *Fert. Steril.* 17, 663.

Moghissi KS., 1972. The function of the cervix in fertility. *Fertil Steril*;23:295-306.

Moghissi KS and Blandau RJ., 1972. Biology of the cervix. *J. reprod. Med.* 8, 21.

Moghissi, K. S. 1973. Composition and function of cervical secretion. In R. O. Greep (Ed.). *Handbook of Physiology*, Section 7, Vol. II. Williams and Wilkins Publishers, Baltimore, MD. p. 25.

Monniaux D., Caraty A., Clément F., Dalbiès-Tran R., Dupont J., Fabre S., Gérard N., Mermillod P., Monget P et Uzbekova S., 2009. Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères. *Inra Prod. Anim.*, 22 (2), 59-76.

Monniaux D., Huet C., Besnard N., Clément F., Bosc M., Pisselet C., Monget P., Mariana J.C., 1997. Follicular growth and ovarian dynamics in mammals. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, 51, 3-23.

Moreira F., De La Sota RL., Diaz T et Thatcher WW., 2000a . Effect of day the estrous cycle at the initiation of timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78, 1568-1576.

Moreira F., Risco C., Pires M.FA., Ambrose JD., Drost M., Delorenzo M. and Thatcher WW., 2000b. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* 53, 1305-1319.

Moricard R., Moricard F et Guerrier F., 1964. Les fonctions du col utérin. *Paris : Masson*, 163.

Murdoch RN and .White IG., 1966. The metabolism of glucose, fructose, acetate, lactate and pyruvate by ram, bull, dog and rabbit spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 12: 271-278.

Nadziejko CE., Slomiany BL and Slomiany A., 1993. Most of the lipid in purulent sputum is bound to mucus glycoprotein, *Exp. Lung Res.* 19 ; 671–684.

Nasir-ud-Din ; Daniel C. Hoessli ; Elisabeth Rungger-Brändle ; Syed Altaf Hussain and Evelyne Walker-Nasir., 2003. Role of sialic acid and sulfate groups in cervical mucus physiological functions: study of *Macaca radiata* glycoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta* 1623 ; 53– 61.

Navarette VN., Torres IH and Lee A B., 1968. Early glucose metabolic disorder and sterility. *Am. J. Obst. Gynec.* 100: 997-999.

Nelson L., 1967. Sperm motility. In *Fertilization- Comparative Morphology, Biochemistry and Immunology*, 1., 27-97. Eds C. B. Metz and A. Monroy. Academic Press, New York.

Nilsson EE and Skinner MK., 2003. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. *Biol. Reprod.*, 69, 1265-1272.

Niswender GD., Juengel JL., McGuire WJ., Belfiore CJ and Wiltbank MC., 1994 . Luteal function : the estrous cycle and early pregnancy. *Biology of reproductio* 50, 239-247.

Niswender GD., Juengel JL., Silva PJ., Rollyson, MK and McIntush EW., 2000. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiological Reviews* 80, 1–29.

Noakes DE., Parkinson TJ., England GCW and al., 2002. The oestrous cycle. In: Arthur's veterinary reproduction and obstetrics. *Saunders, London*, pp 80–81.

O'Shea JD and McCoy K., 1988. Weight, composition , mitosis, cell death, content of progesterone and DNA in the corpus luteum of pregnancy in the ewe. *Journal of Reproduction and fertility* 83, 107-119.

Odeblad E., 2002. Investigations des bases physiologiques de la perception de la fertilité. *Bulletin of the Ovulation Method Research and Reference Centre of Australia - Vol 29, No 1, 2-11.*

- Olds D and Vandemark N L., 1957.** Composition of luminal fluids of bovine female genitalia. *Fertility Sterility* 8, 345-354.
- Palmerini CA., Carlini E., Nicolucci A and al. 1999.** Increase of human spermatozoa intracellular Ca²⁺ concentration after fusion with prostasomes. *Cell Calcium* 25:291–296.
- Palmerini CA., Saccardi C., Carlini, E and al. 2003.** Fusion of prostasomes to human spermatozoa stimulates the acrosome reaction. *Fertil. Steril.* 80:1–4.
- Pangas SA., Choi Y., Ballow DJ., Zhao Y., Westphal H., Matzuk MM and Rajkovic, A., 2006.** Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators *Sohlh1* and *Lhx8*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103, 8090-8095.
- Parr MB and Parr EL., 1994.** Mucosal immunity in the female and male reproductive tracts. In: Ogra PL., Strober W., Mestecky J., Mc Ghee JR., Lamm ME., Bienenstock J., eds, Handbook of mucosal immunology. San Diego; Academic Press, Inc., 1994; 54: 677-89.
- Parrish JJ., Susko-Parrish JL and First NL., 1989.** Capacitation of bovine sperm by heparin: inhibitory effect of glucose and role of intracellular pH. *Biol Reprod*; 41:683–699.
- Perez-Vilar J., Eckhardt AE., DeLuca A and Hill RL., 1998.** Porcine submaxillary mucin forms disulfide-linked multimers through its amino-terminal D-domains. *J. Biol. Chem.* 273 ; 14442–14449.
- Perez-Vilar J and Hill RL., 1998.** The carboxyl-terminal 90 residues of porcine submaxillary mucin are sufficient for forming disulfide-bonded dimers. *J. Biol. Chem.* 273; 6982–6988.
- Petit M., M'Baye M et Palin C., 1979.** Maîtrise des cycles sexuels. *Elevage et Insémination*, 170, 7-27.
- Picard-Hagen N., Humblot P et Berthelot X., 2005.** Le point sur les protocoles actuels de synchronisation.. Le point vétérinaire, N° Spécial Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, 36, 32-36.
- Pommerenke WT., 1962.** Some biochemical aspects of the cervical secretions. *Ann. N.T. Acad. Sci.* 97,581.
- Prasad A., Bachlaus NK., Arora RC and Pandey RS., 1980.** Protein concentration, phosphatases and peroxidase in cervical mucus of buffalo heifers during oestrous cycle. *Ind. J. exp. Biol.* 18, 251-253.
- Prasad A., Kalalyan NR., Bachlaus NK., Arora RC and Pandey RS., 1981.** Biochemical changes in the cervical mucus of buffalo after induction of oestrus with prostaglandin F_{2α} and cloprostenol. *J Reprod Fertil* 62:583-587.
- Pratt SL., Spitzer JC., Burns GL and Plyler BB., 1991.** Luteal function, estrous response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. *J. Anim. Sci.*, 69, 2721-2726.
- Predojevic RM., Petrujkic T., Petrujkic T B., Predojevic MN., 2007.** Influence of the ovarian hormones on the cervical mucus (biophysical properties) and sperm transport in relation to cow's conception rates. lucrări Stiințifice Medicină Veterinară vol. XL, 91-94 , Timisoara.
- Pursley JR., Mee MO and Wiltbank MC., 1995.** Synchronisation of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, 44, 915-923.

Pursley JR., Wiltbank MC., Stevenson JS., Ottobre JS., Gaverick HA and Abderson LL., 1997. Pregnancy rate per artificial insemination for cows and heifers inseminated at synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.*, 80, 295-300.

Pursley JR., Silcox RW and Wiltbank CW., 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 81, 2139-2144.

Randel RD., Lammoglia MA., Lewis AW., Neuendorff DA and Guthrie MJ., 1996. Exogenous PGF2a enhanced GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology* 45, 643-654.

Raynal BD., Hardingham TE and Sheehan DJ., 2003. Thornton, Calcium-dependent protein interactions in MUC5B provide reversible cross-links in salivary mucus. *J. Biol. Chem.* 278, 28703-28710.

Reddy P., Liu L., Adhikari D., Jagarlamudi K., Rajareddy S., Shen Y., Du C., Tang W., Hamalainen T., Peng S.L., Lan Z.J., Cooney A.J., Huhtaniemi I., Liu K., 2008. Oocyte-specific deletion of Pten causes premature activation of the primordial follicle pool. *Science*, 319, 611-613.

Restall BJ and Wales RG., 1966. The fallopian tube of the sheep. III. The chemical composition of the fluid from the fallopian tube. *Aust. J. Biol. Sci.* 19:687.

Rexroad CEJR and Barb CR., 1977. Progestogens and intrauterine devices cervical mucus in estrous ewes after treatment with estrogen. *J Anim Sci.* 44:102-105.

Richards MW., Spicer LJ and Wettermann RP., 1995. Influence of diet and ambient temperature on bovine serum insulin-like growth factor I and thyroxine: relationships with non-esterified fatty-acids, glucose, insulin, luteinizing hormone and progesterone. *Anim. Reprod. Sci.* 37: 267- 279.

Roark DB and Herman HA., 1950. Physiological and histological phenomena of the bovine estrual cycle with special reference to vaginal-cervical secretions. *Res. Bull. Mo. agrie. Exp. Stn, No. 455.*

Roberts GP and Parker JM., 1974. Macromolecular components of the luminal fluid from the bovine uterus. *J Reprod Fert*;40:291-303.

Roberts GP., 1978. Structural Studies on the Glycoproteins from Bovine Cervical Mucus. *Biochem. J.* 173, 941-947 941.

Roche JF., 2003. Reprology: maîtriser la reproduction c'est maîtriser l'avenir, CEVA santé animale, ZI la Ballastièrre BP 126 33501 LIBOURNE Cedex.

Rodgers RJ., Vella CA., Young FM., Tian XC and Fortune JE., 1995. Concentrations of cytochrome P450 cholesterol side-chain cleavage enzyme and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase during prostaglandin F2 alpha-induced luteal regression in cattle. *Reproduction Fertility and Development* 7, 1213-1216.

Rodtian P., King G., Subrod S. et Pongpiachan P., 1996. Oestrous behaviour of Holstein cows during cooler and hotter tropical seasons. *Animal Reproduction Sci.* 45, 47-58.

- Ronchi B., Stradaoli G., Verini Supplizi A., Bernabucci U., Lacetera N., Accorsi PA., Nardone A and Seren E., 2001.** Influence of heat stress or feed restriction on plasma progesterone, oestradiol-17 β , LH, FSH, prolactin and cortisol in Holstein heifers. *Livestock Production Science* 68, 231-241.
- Rosenberger G., 1979.** Appareil génitale femelle, *Examen clinique des bovins* ed : Edition du Point Vétérinaire, Rueil-malmaison, 373-404.
- Roth, Z., meidan, R., Braw-Tal, R., Wolfenson, D.. 2000.** Immediate and delayed effects of heat stress on follicular development and its association with plasma FSH and inhibin concentration in cows. *J Reprod Fertil.* 120, 1, 83-90.
- Rutllant J., López-Gatius F., Camón J., Lopez-Plana C., Lopez-Bejar M A., 1997.** Scanning electron microscope study of the structural component of the bovine vaginal fluid at oestrus. *J. Vet. Med. A.*;44:237–241.
- Rutllant J., López-Gatius F., Camón J., Lopez-Bejar M., Lopez-Plana CA., 1999.** Structural study of the bovine vaginal fluid at estrus. *Scanning.*;21:204–211.
- Rutllant. J., López M-B., Santolaria P., Yániz J et López G., 2002.** Rheological and ultrastructural properties of bovine vaginal fluid obtained at oestrus. *J Anat. July;* 201(1): 53–60.
- Saumande J., 2000.** La détection électronique des chevauchements pour la détection des vaches en chaleur :possibilités et limites. *Revue Méd. Vét., 2000, 151, 11, 1011-1020.*
- Saint-Dizier M., 2005.** La détection des chaleurs chez la vache. *Le point vétérinaire*, N° Spécial Reproduction des ruminants : maîtrise des cycles et pathologie, 36, 22-27.
- Sakamoto K., Miwa K., Ezashi T., Okuda-Ashitaka E., Houtani T., Sugimoto T., Ito S and Hayaishi O., 1995.** Expression of Mrna encoding the prostaglandin F2 alpha receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrous cycle and pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility* 103, 99–105.
- Sato M., Nihei A., Ohta M et Masaki J., 1981.** Concentration of bovine cervical mucus during the time of estrus induced by prostaglandin F2 α analogue. *Tohoko Journal of Agricultural Research.* 32, 1.
- Schilling E and Zust J., 1968.** Diagnosis of oestrus and ovulation in cows by pH-measurements intra vaginam and by apparent viscosity of vaginal mucus. *J. Repro. Fert,*15, 307-311.
- Schoenfeld C Y., Amelar R D., Dubin L and Numeroff M., 1979.** Prolactin,fructose, and zinc levels found in human seminal plasma. *FernL Stenl,* 32,206-208.
- Schultz RH., Fahning ML and Graham EF., 1973.** A chemical study of uterine fluid and blood serum of normal cows during the oestrous cycle. *J. Repro. Fert.*27, 355-367.
- Scott TW., White IG and Annison, E. F., 1962.** Oxidation of short-chain fatty acids (C1-C8) by ram, bull, dog and fowl spermatozoa. *Biochem. J.* 83, 392.
- Seegers H et Malher X., 1996.** Analyse des résultats de reproduction d'un troupeau laitier. *Point Vét., 28, 127-135.*

Seegers H., Billon D., Bossard-Apper E., Ponsart C., Paccard P., Disenhaus C., Gatién J., Salvetti P., Grimard B., Chanvallon A et Bareille N., 2010. Evaluation rétrospective de la qualité de la détection des chaleurs en troupeau bovin laitier à partir de données déjà disponibles. *Renc. Rech. Ruminants*, 17 ; 133-136.

Sheterline P., Clayton J., and Sparrow J., 1995. *Actin. Protein Profile 2: 1–103.*

Sheth AR., Shah GV., Gadgil BA and Shanta S RAO., 1975. Cyclic changes in the metabolism of glycogen in cervical mucus of bonnet monkeys (*Macaca Radiata*). *Jou.Reprod.Fert.* 42, 133-136.

Skerlavay M., Epstein JA and Sobrero AJ., 1968. Cervical mucus amylase levels in normal menstrual cycles. *Fertil Steril*;19:726–730.

Slomiany BL., Tsukada H., Slomiany A., 1986. Cotranslational attachment of fatty acids to nascent peptides in gastric mucus glycoprotein, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 141, 387–393.

Smith DC., Hunter WB and Spadoni LR. 1970. Alkaline phosphatase concentration in cervical mucus of cattle. *Fert. Steril.* 21, 549-554.

Smith MW and Stevenson JS., 1995. Fate of dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F₂ α and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *J. Anim. Sci.*, 73, 3743-3751.

Steiner CA., Litt M., Nossal R., 1984. Effect of Ca⁺⁺ on the structure and rheology of canine tracheal mucin, *Biorheology* 21; 235–252.

Stephens IR., Slee KJ., Poulton P., Larcombe M., Kosior E., 1986. Investigation of purulent vaginal discharge in cows, with particular reference to *Haemophilus somnus*. *Aust. Vet. J.*, 63, 182-185.

Stepien A and Ziecik AJ., 2002. Second messenger systems in the action of LH and oxytocin on porcine endometrial cells in vitro. *Theriogenology* 57, 2217–2227. In: Weems, C.W., Weems Y.S. Randel, R.D., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* 171 ;206-228.

Stevenson JS., Kobayashi Y and Thomson KE., 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin F₂ alpha. *J. Dairy Sci.*, 82, 506-515.

Suga et Higaki., 1971. Studies on the uterine secretion of the cow. II. Distribution of spermatozoa and seminal plasma after intra-uterine insemination in the reproductive tract of cow during estrous stage. *Bull. raat. Inst. anim. Ind.*, (24), 4 1-4 9 .

Takehisa T., 1980. Lactate dehydrogenase in human cervical mucus: correlation with ovulation, influence of ovarian steroid hormones, and isozyme pattern. *Fertil Steril*;33:135–140.

Taverne MM., de Schwartz NC., Kankofer M., Bevers MM., Van Oord HA., Schams D., Gutjahr S., van der Weijden GC., 2001. Uterine responses to exogenous oxytocin before and after parturition luteolysis in the cow. *Reproduction Domestic Animals* 36, 267–272.

Thatcher WW., Patterson DJ., Moreira F., Pancardi M., Jordan ER., Risco CA., 2001. Current concepts for estrus synchronization and timed insemination. In : *American Association of Bovine Practitioner, AABP Ed, Vancouver*, 95-105.

Therien I., Moreau R and Manjunath P., 1999. Bovine seminal plasma phospholipid binding proteins stimulate phospholipid efflux from epididymal sperm. *Biol Reprod*; 61, 590-598.

Thibault C et Levasseur MC., 2001. La reproduction chez les mammifères et l'homme. Paris, 1991, INRA, 768p

Thibier M et Humblot P.,1981. L'utérus et le cycle sexuel. In. Constantin et Meissonnier Editeurs. *L'utérus de la vache*. Maisons-Alfort : *Société Française de Buïatrie*, 53-78.

Trakatellis A., 1986. Cholesterol metabolism. *Biochemistry*:559-576.

Travis AJ., Jorgez CJ., Merdiushev T., Jones BH., Dess DM., Diaz-Cueto L., Storey BT, Kopf GS and Moss SB., 2001. Functional relationships between capacitation-dependent cell signaling and compartmentalized metabolic pathways in murine spermatozoa. *J Biol Chem*; 276:7630–7636.

Travis AJ and Kopf GS., 2002. The spermatozoon as a machine: compartmentalized pathways bridge cellular structure and function. In: *De Jonge CJ, Barratt CL (eds.), Assisted Reproductive Technology: Accomplishments and New Horizons*. Cambridge, UK: Cambridge University Press;:26–39.

Treves C., Vincenzini MT., Vanni P., Bardazzi F., Cattaneo A and Ogier E., 1986. Changes in enzyme levels in human cervical mucus during the menstrual cycle. *Int J Fertil*;31:59–66.

Tsai SJ., Kot K., Ginther OJ and Wiltbank MC., 2001. Temporal gene expression in bovine corpora lutea after treatment with prostaglandin F2 alpha based on serial biopsies in vivo. *Reproduction* 121, 905–913.

Tsiligianni Th., Karagiannidis A., Brikas P et Saratsis Ph., 2000 a. Physical properties of bovine cervical mucus during normal and induced (progesterone and/or PGF2 α estrus. *Theriogenology* © 2001 Elsevier Science Inc.55:629-640.

Tsiligianni T., Karagiannidis A., Brikas P and Saratsis P. 2000 b. Relationship between certain physical properties of cervical mucus and fertility in cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 2000 Jan;107(1):28-31.

Tsiligianni Th., Karagiannidis A., Brikas P and Saratsis Ph., 2001. Chemical properties of bovine cervical mucus during normal estrus and estrus induced by progesterone and/or PGF2 α .. *Theriogenology*.56:41-50.

Tsiligianni T., Karagiannidis A., Roubies N., Saratsis P and Brikas P., 2002. Concentration of calcium, zinc, magnesium, potassium and sodium in the bovine cervical mucus during normal oestrus and oestrus induced by progesterone and/or PGF(2alpha). *Reprod Fertil Dev.* 14(7-8):427-31.

Tsiligianni Th., Karagiannidis A., Brikas P et Saratsis Ph., 2003. Enzyme activity in bovine cervical mucus during spontaneous and induced estrus by progesterone and/or PGF2 α . *The canadian journal of veterinary research* ; 67 : 189-193.

Twagiramungu H., Guibault LA., Proulx JG and Dufour J., 1994. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buseriline and cloprostenol. *J. Anim. Sci.*, 72, 1796- 1805.

Twagiramungu H., Guibault LA and Dufour JJ., 1995. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, 73, 3141-3151.

Ulcova-Gallova Z., 2010. Immunological and physicochemical properties of cervical ovulatory mucus. *Journal of Reproductive Immunology* 86 (2010) 115–121.

Urner F and Sakkas D., 2003. Protein phosphorylation in mammalian spermatozoa. *Reproduction*; 125:17–26.

Vallet A et Paccard P., 1984. Définition et mesures des paramètres de l'infécondité et de l'infertilité *B.T.I.A.*, 32 : 2-3.

Van Der Linden Pj, Kets M, Gimpel JA, Wiegerinck MA., 1992. Cyclic changes in the concentration of glucose and fructose in human cervical mucus. *Fertil Steril. Mar*;57(3):573-7.

Van Engelen E., 2009. Smooth Muscle Cells of the Bovine Cervical Stroma may have a Secretory, rather than a Contractile Function during Parturition. *Reproduction in Domestic Animals*. 44, 2, 303–311.

Vanlinkenberg GA., 1953. Extremely high alkaline phosphatase activity in vaginal mucus of cow. *Nature, Lond.* 172, 397-398.

Van Vliet JH et Van Eerdenburg FJCM., 1996. Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows. *Appl. Anim. Behaviour Sci.*, 50, 57-69.

Velez JS., Randel RD and Neuendorff DA., 1991. Effect of uterine manipulation on postpartum fertility and plasma 13, 14-dihydro- 15-keto prostaglandin F2a on Brahman cows and first calf heifers. *Theriogenology* 36, 987–997.

Vermeiden JPW., Bernardus RE., Ten Brug CS., Statema-Lohmeijer CH., Willemsen Brugma AM., Schoemaker J., 1989. Pregnancy rate is significantly higher in vitro fertilization procedure with spermatozoa isolated from non liquefying semen in which liquefaction is induced by α -amylase. *Fertil Steril*;51:149-152.

Visconti PE, Galantino-Homer H, Ning X, Moore GD, Valenzuela JP, Jorgez CJ, Alvarez JG, Kopf GS., 1999a. Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm. beta-cyclodextrins initiate transmembrane signaling leading to an increase in protein tyrosine phosphorylation and capacitation. *J Biol Chem*; 274: 3235-3242.

Visconti PE, Ning X, Fornes MW, Alvarez JG, Stein P, Connors SA, Kopf GS., 1999b. Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm: cholesterol release signals an increase in protein tyrosine phosphorylation during mouse sperm capacitation. *Dev Biol* 214: 429-443.

Visconti PE., Westbrook VA., Chertihin O., Demarco I., Sleight S and Diekman AB., 2002. Novel signaling pathways involved in sperm acquisition of fertilizing capacity. *J Reprod Immunol*; 53, 13-150.

Ward CR and Kopf GS., 1993. Molecular events mediating sperm activation. *Dev Biol*; 158: 9-34.

Weed JC and Carrera AE.,1970. Glucose of cervical mucus. *Fert. Steril.* 21, 866 -872.

Weems CW., Weems YS and Vincent DL., 1995. Maternal recognition of pregnancy and maintenance of gestation in sheep. In: Weems, C.W., Weems Y.S. Randel, R.D., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* 171 ;206-228.

Weems YS., Lammoglia MA., Vera-Avila H., Randel RD., Sasser RG and Weems CW., 1998. Effect of luteinizing hormone (LH), PGE₂, 8-Epi-PGE₁, 8-Epi-PGE₂, trichosanthin and pregnancy specific protein B (PSPB) on secretion of prostaglandin E (PGE) or PGF_{2a} in vitro by the corpus luteum (CL) from nonpregnant and pregnant cows. *Prostaglandins* 55, 359–376.

Weems YS., Bridges PJ., Sasser RG., Lea Master BR and Weems CW., 2002. Effects of mifepristone on pregnancy and secretion of progesterone, estradiol-17b, pregnancy specific protein B (PSPB),and prostaglandins E and F_{2a} (PGE; PGF_{2a}) in 90-day intact pregnant sheep. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators* 70,195–208.

Weems CW., Weems YS and Randel RD., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* 171 ;206–228.

Williams AC and Ford WCL., 2001. The role of glucose in supporting motility and capacitation in human spermatozoa. *J. Androl.* 22: 680-695.

Williams EJ., Fischer D., Pfeiffer DU., England GC., Noakes DE., Dobson H, Sheldon IM., 2005. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63(1), 102-117.

Wiltbank MC., Shiao TF., Bergfelt DR and Ginther OJ., 1995. Prostaglandin F₂ alpha receptors in the early bovine corpus luteum. *Biology of Reproduction* 52, 74–78.

Wise T., 1987. Biochemical analysis of bovine follicular fluid: albumin, total protein. Lysosomal enzymes, ions. steroids and ascorbic acid content in relation to follicular size. rank. Atresia clavsitication and day of the estrous cycle. *I. Anim. Sci.* 64:1153.

Yeates DB., Besseris LB GJ., 1997. Wong, Physicochemical properties of mucus and its propulsion, in: R.G. Crystal, J.B. West, E.R. Weibel, P.J. Barnes (Eds.), *The Lung: Scientific Foundations*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, , pp. 487–503.

Yavari M., Haghkhah M., Ahmadi MR., Gheisari HR and Nazifi S., 2009. Comparaisou of cervical and uterine cytology between different classification of postpartum endometritis and bacterial isolates in holstain dairy cows. *International Journal of Dairy Science* 4(1): 19-26.

Yeagle PL., 1985. Cholesterol and the cell membrane. *Biochim Biophys Acta*; 822: 267-287.

Younas M., Fuquay J.W., Smith A.E., Moore A.B., 1993. Estrous and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. *J. Dairy Sci.* 76, 430-443.

Zaaijer D, Counotte GHM, Sol J, Smidt WJ, Broadbent PJ., 1993. Changes in the composition of cervical mucus of the cow during the estrous cycle as parameters for predicting potential fertility. *Theriogenology*;39:569-580.

Zaaijer D, van der Horst CJ. 1983. Cyclic changes in hormones, carbohydrates and indole metabolism in cervical mucus of normal, fertilizing cows and the relationship with non fertility . *Cytobios.*;37 (146):113-127.

Zeng Y., Clark EN and Florman HM., 1995. Sperm membrane potential: Hyperpolarization during capacitation regulates zona pellucida-dependent acrosomal secretion. *Dev. Biol.*, **171**, 554–563.

Ziecik AJ., 2002. Old, new and the newest concepts of inhibition of luteolysis during early pregnancy in pig. *Domestic Animal Endocrinology* **23**, 265–275. In: Weems, C.W., Weems Y.S. Randel, R.D., 2006. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *The Veterinary Journal* **171** ;206-228.

Zhu, J.J., Barratt, C.L.R. and Cooke, I.D., 1992. Effect of human cervical mucus on human sperm motion and hyperactivation *in vitro*. *Hum. Reprod.* **7**, 1402–1406.

Zhu, J.J., Barratt, C.L.R., Lippes, J. et al. 1994. The sequential effect of human cervical mucus, oviductal fluid, and follicular fluid on sperm function. *Fertil. Steril.*, **61**, 1129–1135.

ÉTUDE COMPARATIVE DE LA BIOLOGIE DE LA GLAIRE CERVICALE BOVINE AU COURS D'UN ŒSTRUS INDUIT ET SPONTANÉ

Résumé

Les effets des traitements de la synchronisation des chaleurs sur quelques propriétés biologiques de la glaire cervicale collectée avant l'insémination artificielle, ainsi la relation entre ces propriétés et la fertilité ont été étudiés chez 45 vaches laitières dans la commune de Djerma, réparties sur trois groupes : le premier à œstrus naturel, le deuxième est synchronisé par un implant CRESTAR® pendant 12 jours plus une injection de (eCG) lors du retrait de l'implant, le dernier a reçu deux injections d'un analogue de la PGF2 α à 12 jours d'intervalle. Des paramètres biochimiques, électrolytiques (Ca, Na, K et Cl) et rhéologiques ont été mesurés. Par ailleurs, des frottis cervicaux ont été réalisés pour déterminer la cytologie et la cristallisation. Selon nos résultats, seulement la concentration de LDH, cholestérol, protéines totales, potassium, et la viscosité étaient significativement plus élevés ($P < 0.001$) dans le deuxième groupe. La teneur de la LDH, cholestérol, protéines totales, la viscosité et le taux de neutrophiles et les cellules épithéliales à larges vacuoles étaient significativement élevés ($P < 0.01$) chez le groupe où le nombre d'insémination nécessaire à la fécondation est élevé ($IA \geq 2$).

L'usage des indicateurs biochimiques, électrolytiques, cytologiques, la viscosité et la cristallisation pour contrôler le moment de l'insémination, s'est révélé être un moyen intéressant pour augmenter le taux de fertilité des vaches laitières en œstrus induit ou naturel.

Mots clés: Glaire cervicale, insémination artificielle; œstrus naturel; synchronisation, fertilité ; vache laitière.

Abstract

The effect of the treatments of the synchronization of estrus on some biological properties of the cervical mucus collected before the artificial insemination, thus the relation between these properties and the fertility was studied, in 45 dairy cows in the commune of Djerma. The animals were assigned to 3 groups (normal estrus, CRESTAR® for 12 days plus injection of (eCG) at the removal implant, a double im injection of PGF2, 12 days apart the biochemical properties, the electrolytes (Ca, Na, K and Cl) and the rheological parameters (viscosity and spinnbarkeit) was measured. In addition, of the cervical smears were realized to determine cytology and crystallization. The results are summarized as follows: only, the concentration of LDH, cholesterol, total proteins, potassium and viscosity were significantly higher ($P < 0.001$) in the second that in the first and the third group. The level of the LDH, cholesterol, proteins total, the viscosity, the percentages of large vacuolated epithelial cell and neutrophils was significantly higher ($P < 0.01$) in the group where the number of insemination is higher ($IA \geq 2$).

The use of the biochemical, electrolytic, rheological, physical and cytological indicators to control the moment of insemination, proved to be an interesting means to increase the fertility rate in the dairy cows during normal estrus and estrus induced.

Key words: cervical mucus; artificial insemination; estrus normal; synchronization; fertility; dairy cow.

المخلص

تم قياس علامات الشبق الفيزيائية، كالمرونة، واللزوجة وكذا معايرة تركيز بعض الشوارد (الكالسيوم، الكلور، الصوديوم والبوتاسيوم) و الخصائص البيوكيميائية، بالإضافة إلى إعداد مسحات لدراسة الخصائص الخلوية والتبلور في مخاط عنق الرحم لدى الأبقار خلال مرحلة الشبق، وذلك لمعرفة مدى تأثير توقيت الشبق الهرموني على هذه الخصائص وعلاقتها مع الخصوبة. تمت الدراسة على خمسة وأربعون بقرة حلوب، تم تقسيمها إلى ثلاث مجموعات: (مجموعتان 1) ذات شبق طبيعي، (مجموعتان 2) استقادت من زرع غرسة من البروجيستين في الأذن لمدة 12 يوما بالإضافة إلى حقن عضلي لمصل (PMSG) عند إزالة الغرسة، (مجموعتان 3) تلقت جرعتين من (PGF2 α) بفارق زمني قدره 12 يوما. جمعت عينات مخاط عنق الرحم قبل عملية التلقيح الاصطناعي بقليل. كانت نتائج هذه الدراسة على النحو التالي: ارتفاع محسوس في اللزوجة، تركيز LDH، الكوليستيرول ونسبة البروتينات الكلية المعيارية ($P < 0.001$) عند المجموعة الثانية، كما كان تركيز جميع الشوارد المعيارية باستثناء البوتاسيوم منخفضا عند نفس المجموعة. الأبقار التي أبدت انخفاضا محسوسا ($P < 0.001$) في نسبة LDH، الكوليستيرول، البروتينات الكلية، اللزوجة وكذا الخلايا المناعية والخلايا المخاطية ذات فجوة كبيرة، ودرجة تبلور عالية ($P < 0.001$) تميزت بعدد منخفض ($P < 0.010$) من التلقيحات اللازمة للخصوبة مقارنة مع المجموعة التي أظهرت عكس هذه النسب.

من خلال هذه الدراسة تبين أنه قد يكون لمعايرة الخصائص البيولوجية لمخاط عنق الرحم لدى الأبقار الحلوبة قبل التلقيح الاصطناعي دورا في رفع نسبة الخصوبة لدى هذه الأخيرة.

الكلمات المفتاحية: مخاط عنق الرحم، الخصائص البيولوجية، التلقيح الاصطناعي، الخصوبة، الأبقار.