

Détection du pic de LH pour juger l'efficacité des traitements de contrôle de l'ovulation : application à l'analyse de la subfertilité des vaches culardes

M.C. MAUREL, P. THIERY, F. MÉNISSIER*, S. ASTRUC**, B. BOUGUENNEC*, J. SAUMANDE
INRA, URA CNRS 1291, Station PRMD, 37380 NOUZILLY (France)
*INRA, SGQA, 78352 JOUY-en-JOSAS (France)
**INRA, domaine expérimental de Carmaux, 81400 (France)

RÉSUMÉ – Afin d'analyser les raisons de la faible fertilité après I.A. des vaches culardes de la lignée mâle «INRA95», le moment d'apparition du pic de LH, à la suite d'un traitement de synchronisation de l'oestrus, a été étudié. L'expérience a porté sur 99 vaches mises en reproduction par synchronisation des oestrus, et réparties sur 5 saisons consécutives. Après un traitement CRESTAR, des prises de sang ont été réalisées toutes les 4 heures, jusqu'à 72 heures après le retrait des implants. Les concentrations de LH ont été mesurées à l'aide d'un kit de dosage de la LH (Reprokit, Sanofi, Libourne).

La valeur moyenne (\pm s.d.) du moment d'apparition du pic de LH est de 43,5 heures \pm 10,7 heures après le retrait des implants. Une très grande dispersion de ce moment a été observée: de 24 heures à 68 heures après le retrait des implants; ce qui représente un écart de 2 jours entre les pics de LH «précoces» et «tardifs». Pour 11 femelles, aucun pic de LH n'a été détecté pendant la période des prélèvements.

Ces résultats suggèrent que les ovulations sont dispersées sur environ 48 heures et pourraient expliquer pourquoi, après une insémination systématique à 60 heures, la fertilité moyenne est aussi faible (39,4% de gestation sur oestrus synchronisé, dans cette expérience).

Ce travail a été réalisé avec le soutien financier de l'AIP INRA «Recherche des causes de mortalité embryonnaire chez les femelles reproductrices bovines à hypertrophie musculaire d'origine génétique».

Detection of the LH peak in order to evaluate the efficiency of synchronization treatment : application to low fertility analysis concerning double muscled cows

M.C. MAUREL, P. THIERY, F. MÉNISSIER*, S. ASTRUC**, B. BOUGUENNEC*, J. SAUMANDE

Renc. Rech. Ruminants, 1994, 1, 217 – 220

SUMMARY – In order to understand the reasons for the low fertility observed after the artificial insemination of double muscled cows, the time of occurrence of the LH peak after a progestagen treatment was studied. After the end of a CRESTAR treatment, blood samples were collected every 4 hours on 99 cows of the INRA95 sire line. The LH concentrations were measured with an ELISA kit (Reprokit, Sanofi, Libourne, France).

The LH preovulatory peak was recorded in 88 cows at 43,5 hours \pm 10,7 hours (mean \pm s.d.) after implant removal; it ranged from 24 hours to 68 hours. In 11 cows, no LH peak was detected during the bleeding period.

These results suggest that ovulations are scattered over 48 hours and could explain the low fertility observed when one artificial insemination was performed 60 hours after implant removal (39,4% in the present experiment).

1. INTRODUCTION

Il est bien établi que les vaches possédant une «hypertrophie musculaire d'origine génétique» (vaches culardes) manifestent des problèmes de fertilité notables. En dépit des progrès réalisés dans la maîtrise de la technique de synchronisation et d'induction de l'oestrus et au recours à l'Insémination Artificielle (I.A.), leur fertilité reste inférieure à celle des vaches normales (Hanset *et al.*, 1989). Les vaches culardes de la lignée mâle «INRA95» présentent après I.A. une fertilité anormalement basse, inférieure à 40%. Pour améliorer la productivité actuelle des femelles culardes (0,75 veau / vache / an), une analyse des paramètres de fécondation a été conduite. Ainsi, on a étudié la distribution du moment de l'ovulation, par rapport au moment de l'I.A., et son influence sur les résultats de fertilité post-partum des vaches inséminées après synchronisation de l'oestrus. Pour déterminer le moment de l'ovulation, un kit de dosage immunoenzymatique de la LH (Luteinizing Hormone) a été utilisé. Il permet de mesurer de façon simple et rapide, à partir du sang ou du plasma, la décharge du pic préovulatoire de LH et de prévoir le moment de l'ovulation sachant que l'intervalle «pic préovulatoire de LH - ovulation» est assez constant pour chaque espèce (22 heures chez la vache multipare - Rajamahendran *et al.*, 1989).

2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1. ANIMAUX

L'étude a porté sur un effectif total de 99 vaches. Elle a été réalisée à chacune des deux saisons de reproduction (printemps et automne) des années 1992 - 1993, et au printemps 1994. A chaque saison, le programme a porté sur un lot de 20 vaches représentatif de chacune des 2 souches du troupeau «Inra95» et de la fréquence des difficultés de vêlage. Ces vaches ont reçu un traitement progestagène (traitement CRESTAR) pour synchroniser l'oestrus.

Une détection des oestrus a été conduite toutes les 4 heures, dès le retrait des implants.

Le moment du pic préovulatoire de LH a été suivi à partir de prélèvements de sang réalisés toutes les 4 heures, de 4 h à 72 h après le retrait des implants. Pour chaque femelle, les prélèvements ont été effectués jusqu'à 24 heures après l'apparition confirmée du comportement d'oestrus. Dans le cas des femelles ayant eu un oestrus tardif, les prélèvements de sang ont été prolongés jusqu'à 72 heures après le retrait des implants (soit 12 heures après l'I.A.). Une I.A. systématique a été pratiquée 60 heures après le retrait de l'implant.

2.2. DOSAGE DU PIC PRÉOVULATOIRE DE LH

Il s'agit d'une méthode immuno-enzymatique réalisée sur plaque de microtitration et utilisant le principe de l'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Elle fait intervenir deux anticorps polyclonaux anti-LH qui captent la LH en «sandwich». Un troisième anticorps couplé à la peroxydase sert de marqueur et permet de quantifier les complexes antigène-anticorps ainsi formés en donnant une réaction colorée dont l'intensité est proportionnelle à la

concentration en LH de l'échantillon dosé. Le substrat utilisé pour la révélation enzymatique donne une couleur verte intense dans le cas d'une forte concentration en LH (cas d'un pic pré-ovulatoire) et reste très claire, voir incolore, dans le cas d'une concentration très faible (cas d'un prélèvement en dehors du pic préovulatoire). Par cette caractéristique, l'interprétation visuelle des résultats est facile, rapide et peut se faire sur le terrain sans aucun appareil de mesure. La durée de réalisation est de 3 heures. Ce dosage fait l'objet d'un brevet INRA-CNRS et est commercialisé, sous le nom de REPROKIT, par la Société SANOFI Santé Nutrition Animale (Libourne, France) qui a une licence d'exploitation exclusive et mondiale sur le brevet.

3. RESULTATS

Les résultats de fertilité sont exprimés en terme de gestation, observée par échographie et palper rectal à 90 jours. A ce jour, les résultats des gestations sont complétés par ceux des mises-bas pour les animaux traités au cours de l'année 1992 et du printemps 1993; le nombre des mises bas et celui des gestations détectées au cours du contrôle échographique sont jusqu'à présent identiques.

3.1. DISTRIBUTION DU MOMENT D'APPARITION DE L'OESTRUS

Comme l'indiquent les résultats rapportés dans la Figure 1, le moment d'apparition de l'oestrus a été enregistré de 24 heures à 64 heures après le retrait des implants. Une seule vache, restée vide, n'a pas présenté d'oestrus. La valeur moyenne (\pm s.d.) d'apparition de l'oestrus est de 41,1 heures (\pm 9,9 heures).

Une majorité des vaches (67 sur 98, soit 68,4%) sont venues en chaleurs entre 32 heures et 44 heures après retrait des implants. Dix vaches (10,2%) ont été détectées en chaleurs avant 32 heures et 21 (21,4%) après 44 heures. Ces résultats rejoignent ceux de Chupin (1982) décrivant un étalement important du moment d'apparition de l'oestrus de 12 à 60 heures après retrait des implants chez les vaches culardes comme chez les laitières: 54,7% des vaches culardes étaient détectées en oestrus entre 24 et 48 heures après retrait des implants et 50% chez les laitières.

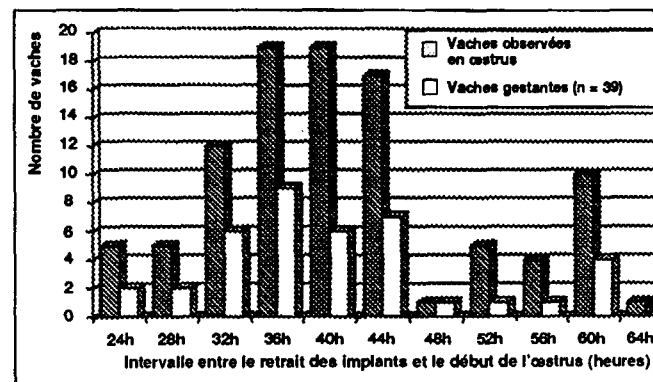


Figure 1 : Distribution des femelles selon le moment d'apparition de l'oestrus

Les taux de gestation les plus élevés ont été enregistrés chez les femelles ayant eu un début d'oestrus 32 heures

(6 gestantes sur 12, soit 50%) et 36 heures (9 gestantes sur 19, soit 47,36%) après le retrait des implants.

3.2. DISTRIBUTION DU MOMENT DU PIC PRÉOVULATOIRE DE LH

Les résultats (Figure 2) révèlent une très grande dispersion dans le moment d'apparition du pic préovulatoire, ce qui doit se traduire par une mauvaise synchronisation des ovulations. Sa valeur moyenne (\pm s.d.) est de 43,5 h (\pm 10,7 h) après le retrait des implants. Chupin (1982) décrit également une valeur moyenne de 48,2 heures entre le retrait et le pic de LH en se référant à la valeur maximale du pic; ce qui explique l'écart de 5 h entre les deux résultats.

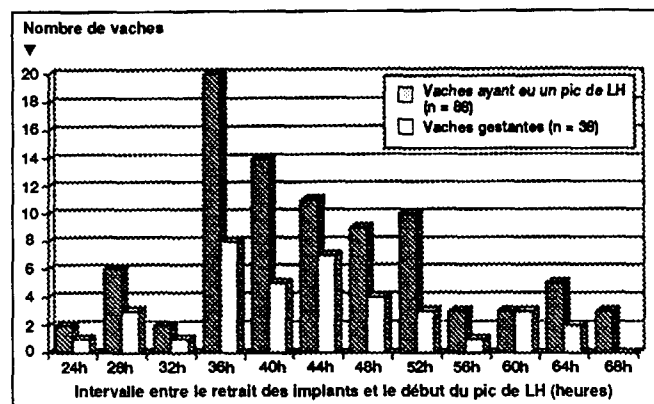


Figure 2 : Distribution des femelles selon le moment d'apparition du pic de LH

Les pics préovulatoires ont été enregistrés de 24 heures à 68 heures après retrait des implants, ce qui représente un écart de 2 jours entre les pics de LH «précoces» et «tardifs». La synchronisation des pics de LH est moindre que celle des oestrus puisque, comparativement aux 67 vaches observées en oestrus, 47 ont eu un pic de LH entre 32 et 44 heures après le retrait des implants. L' I.A. étant pratiquée 60 h après le retrait des implants, les pics préovulatoires ont eu lieu de 36 heures avant à 8 heures après l' I.A. Pour 11 vaches (11%), il n'a pas été détecté de pic préovulatoire; parmi elles, 10 ont été observées en oestrus dont 1 a été

gestante. Les taux de gestation les plus élevés ont été obtenus chez les femelles dont le pic de LH est apparu 44 heures (7 gestantes sur 11, soit 63,6%) et 48 h (4 gestantes sur 9, soit 44,4%) après le retrait des implants, donc inséminées 16 et 12 heures respectivement après le début du pic préovulatoire de LH.

3.3. COMPARAISON DES RÉSULTATS ET DISCUSSION

L' intervalle de temps «début de l'oestrus-début du pic de LH» est très variable: les débuts d' oestrus ont été observés de 24 heures avant le début du pic de LH jusqu'à 7 heures après celui-ci. Pour 67 femelles sur 88 (76%), le début de l'oestrus a eu lieu de 4 heures à 12 heures avant le pic de LH. Bernard *et al.* (1983) ont observé également une apparition des pics de LH de 8 heures avant l'oestrus à 9 heures après. Parmi les vaches observées en oestrus, 10% n'ont pas eu de pic de LH et sont non gestantes. Si elles n'avaient pas été inséminées, ce que l' utilisation du kit rendrait possible, le taux de gestation serait passé de 39,8% (39/98) à 43,2% (38/88). Le recours à une seule I.A. étant fondé sur une synchronisation relativement efficace des oestrus (contrairement à ce qu' on a observé ici), l'analyse du moment d'apparition du pic de LH tendrait à montrer la nécessité d'une double I.A. Cependant, des travaux non publiés avaient indiqué que la pratique d'une I.A. à 56h ou de deux I.A. à 48 h et 72 h après le retrait des implants, entraînait peu de différence dans le taux de gestation obtenu. Nos résultats montrant une majorité des pics de LH entre 36 et 52 h, une deuxième I.A. pratiquée à 72 h semble trop tardive si l' on considère qu' une I.A. doit être réalisée entre 7 et 10 h avant l'ovulation (Maurel *et al.*, 1994). La pratique d'une 2ème I.A. à 64 h serait plus adaptée.

4. CONCLUSION

Le kit de détection du pic de LH semble être un outil intéressant, d'une part, pour mieux cibler l' I.A. par rapport au moment de l'ovulation (dans le cas d'une I.A. «à la carte»), et, d'autre part, pour optimiser le protocole d'insémination avec une ou deux I.A. systématiques.

RÉFÉRENCES

BERNARD C., VALET J.P., BÉLAND R., LAMBERT D., 1983. J. Reprod. Fert., 68, 425-430

RAJAMAHEDRAN R., ROBINSON J., DESBOTTES S., WALTON J. 1989. Theriogenology, 31, 1173-1176

CHUPIN D., 1982. in «Muscle hypertrophy of genetic origin and its use to improve beef production», J.W.B. KING and F. MENISSIER (ED.), M. NIJHOFF publ. (The Hague), 575-587.

MAUREL M.C., THIERRY P., MENISSIER F, ASTRUC S., BOUGUENNEC B., COUPET H., SAUMANDE J., 1994, 10^{ème} colloque de l'AETE, 216.

HANSET R., MICHAUX C., DETAL G., 1989. Livest. Prod. Sci., 23, 79-86.

