

GESTION HORMONALE DE LA REPRODUCTION BOVINE

Optimisation des résultats du protocole GPG

Le statut physiologique des animaux au moment de la mise en place d'un protocole de synchronisation de l'œstrus de type GPG (GnRH-PgF_{2α}-GnRH) a une influence non négligeable sur les performances de reproduction.

Résumé

Les facteurs susceptibles d'influencer les performances de reproduction permises par le protocole GPG sont multiples. L'apparition de l'œstrus et sa durée, la fréquence de l'ovulation, la croissance folliculaire, tout comme la progestéronémie, sont susceptibles d'être influencés par le stade du cycle auquel le protocole est mis en place. Le taux de gestation est d'autant plus élevé que la proportion d'animaux en œnestrus dans le troupeau est faible. Ceci explique sans doute en partie pourquoi la fertilité se trouve améliorée lorsque l'insémination suivant le traitement est effectuée après le 75^e jour de lactation. De même, des résultats préliminaires confirment l'application potentielle du protocole au traitement des kystes ovariens.



par Christian Hanzen

et Benjamin Boudry

Service d'obstétrique et de pathologie de la reproduction des ruminants, équidés et porcs, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, B42 Sart Tilman, B-4000 Liège (Belgique)

Le recours à des inséminations systématiques et non plus sur chaleurs observées libère l'éleveur des contingences liées à la détection des chaleurs. Pour ce faire, divers protocoles hormonaux de gestion de la reproduction ont été proposés, associant ou non l'injection d'une gonadolibérine (GnRH) à celle de la prostaglandine F_{2α} (PgF_{2α}). Les principes de base relatifs à l'induction et/ou à la synchronisation de l'œstrus chez la vache au moyen de la PgF_{2α} ont été présentés dans un premier article⁽¹⁾. Un deuxième a mis l'accent sur les effets physiologiques folliculaires et lutéaux du protocole GPG (GnRH-PgF_{2α}-GnRH)⁽²⁾ et un troisième a quantifié les résultats potentiels de ce protocole sur les performances de reproduction⁽³⁾. Compte tenu de l'importante variation des résultats observés et de la multiplicité des facteurs d'influence potentiels, il est intéressant d'en préciser l'importance relative.

Deux catégories de facteurs peuvent avoir une influence sur les résultats de synchronisation et/ou de fécondation obtenus à la suite de l'application d'un protocole GPG :

❶ La première concerne des facteurs qui relèvent plus spécifiquement de la reproduction. Au nombre de ceux-ci figure le statut physiologique de l'animal au moment de la mise en place du protocole, à savoir le stade du cycle, l'état d'œnestrus, le stade du post-partum ou la présence d'un kyste ovarien. Leur influence est détaillée dans cet article.

De même, la mise en place ou non d'un traitement dit de présynchronisation avant le protocole GPG, la nature et le moment de la deuxième injection de GnRH par rapport à l'injection de la PgF_{2α}, la taille du follicule en fin de traitement, le moment de l'insémination par rapport à la seconde injection de GnRH, voire les traitements complémentaires à base d'œstrogènes ou d'hCG, sont également de nature à influencer les performances de reproduction. L'influence de ces facteurs fera l'objet d'un prochain article.

❷ La seconde rassemble des facteurs plus généraux comme l'espèce, le niveau de production laitière et le recours éventuel à la somatotropine, l'état corporel, l'âge de l'animal et les effets environnementaux dont la température. Un dernier article fera le point sur l'influence de ces facteurs généraux.

Quelle est l'influence du stade du cycle ?

Le stade du cycle auquel le protocole GPG est mis en place exerce une influence sur la fertilité. Ainsi, le taux de gestation est significativement plus élevé et les pertes embryonnaires moins fréquentes si le protocole est mis en place entre le 5^e et le 12^e jour du cycle plutôt qu'avant ou après ce stade (41 % contre 28 à 35 % [97] et 43 % contre 25 % [14]). Les mécanismes potentiels de cet effet sur la fertilité sont de nature diverse.

1. Influence sur l'apparition et sur le délai d'apparition de l'œstrus

En pratique, le protocole GPG est mis en place sans connaître précisément le stade du cycle auquel l'animal se trouve. Il peut en résulter une disparité importante de la réponse au traitement en termes d'apparition ou de délai d'apparition de l'œstrus ainsi induit et, par conséquent, de la fertilité. Le degré de synchronisation augmente de 11 points (91 contre 80 %) selon que le protocole est mis en place entre le 1^{er} et le 12^e jour du cycle ou entre le 13^e et le 22^e jour du cycle [97]. De même, 10 % environ des vaches présentent des chaleurs au moment de l'injection de la prostaglandine, voire dans les 36 heures suivantes. Il est probable que ces animaux se trouvaient, au moment de la première injection de GnRH, aux 14^e et 15^e jours de leur cycle et qu'ils n'aient donc pas réagi au traitement. Leur cycle s'est alors poursuivi normalement [73]. Le cas échéant, ces animaux doivent être inséminés [71]. À l'inverse, compte tenu d'une plus grande fréquence d'ovulation du follicule dominant au cours de la première moitié du cycle que de la seconde, un traitement mis en place à ce moment s'accompagne d'une meilleure synchronisation lors de l'injection de la prostaglandine et de la deuxième injection de GnRH [32, 72, 91].

2. Influence sur l'ovulation

Chez la génisse, des suivis échographiques et progestéroniques ont permis de préciser le mécanisme d'effet du stade du cycle sur la réponse de l'animal, en terme d'ovulation, à un protocole de type GPG mis en place au 2^e, 5^e, 10^e, 15^e ou 18^e jour du cycle [61]. Une ovulation a été observée dans 58,3 % des cas suite à la

première injection de GnRH. L'ovulation est significativement moins fréquemment observée lorsque cette injection est réalisée aux 2^e (0 %) et 10^e (25 %) jours du cycle, en comparaison avec les 5^e (100 %), 15^e (60 %) ou 18^e (100 %) jours. Ces résultats confirment d'autres observations réalisées après injection de GnRH [85] ou d'hCG [24]. L'effet négatif sur l'ovulation d'une progestéronémie élevée ne s'observe prioritairement qu'en l'absence d'un follicule dominant, comme cela semble avoir été le cas lorsque l'injection est réalisée au 10^e jour plutôt qu'au 15^e jour du cycle. Dans le cas contraire, une ovulation peut être observée même si la progestéronémie est élevée.

3. Influence au travers de la croissance folliculaire

L'effet du stade du cycle se manifeste également au travers du processus de la croissance folliculaire entre les deux injections de GnRH. Ainsi, lors d'une injection au 2^e jour du cycle, l'émergence d'un follicule dominant apparaît plus rapidement que si l'injection est réalisée aux autres jours du cycle (1 jour contre 2,2 à 3 jours). Il en résulte qu'au moment de l'injection de la PgF_{2α}, le follicule dominant a un diamètre supérieur (13,8 mm contre 10,8 à 11,7 mm). De même, l'intervalle entre le moment d'apparition du follicule dominant et l'insémination est plus long dans le premier cas (6,4 jours) que dans le second cas (4,6 à 5,5 jours). Il peut en résulter l'expulsion d'un ovocyte de moindre qualité, compte tenu qu'à ce moment le follicule est peut-être déjà entré en phase d'atresie. Il en résulte également qu'une ovulation est moins fréquemment observée lorsque le protocole est initié au 2^e ou 5^e jour du cycle plutôt qu'aux autres jours (80 % contre 100 %) pour un taux d'ovulation moyen après la deuxième injection de GnRH de 90,4 %.

4. Influence au travers de la progestéronémie

Le stade du cycle auquel le protocole GPG est initié exerce également une influence au travers de la progestéronémie observée lors de l'injection de la PgF_{2α}, mais aussi lors de la seconde injection de GnRH 48 heures plus tard, soit 24 heures avant l'insémination. Elle s'exerce également au travers de la durée de la phase d'imprégnation progestéronique préalable à l'injection de la prostaglandine.

Une étude récente a démontré que 36 % des vaches présentaient une progestéronémie inférieure à 1 ng/ml lors de l'injection de la PgF_{2α} [19]. De même, 7 et 14 % des vaches présentaient une progestéronémie respectivement supérieure à 2 et à 1 ng/ml 48 heures après l'injection d'une PgF_{2α} [19, 62]. Ces deux types de bilan hormonal sont pratiquement incompatibles avec la possibilité d'une gestation. Il est intéressant d'en analyser les causes possibles. La présence d'une progestéronémie élevée au moment de la seconde injection de GnRH peut succéder au développement d'un corps jaune accessoire [96, 100] sur lequel la PgF_{2α} injectée sept jours plus tard aura une activité lutéolytique moindre. Ce corps jaune accessoire s'observe en

cas d'injection de la GnRH pendant le métoestrus. La GnRH agit sur un follicule de diamètre moindre qui n'a pas encore acquis sa compétence ovulatoire. Il en résulte un développement lutéal moindre et un manque de récepteurs à la PgF_{2α}, l'action n'étant par ailleurs pas modifiée sur le corps jaune principal, qui s'est normalement développé en cas d'injection de la GnRH pendant le métoestrus. La mise en place d'un protocole GPG en fin de diestrus, soit entre les 15^e et 17^e jours du cycle, n'empêche pas une régression lutéale physiologique quelques jours plus tard et l'apparition plus fréquente d'un œstrus et d'une ovulation avant la fin du protocole chez ces animaux par rapport à ceux qui sont traités à d'autres moments du cycle. Cette possibilité a été envisagée pour les animaux qui présentent deux vagues de croissance folliculaire. Tel ne serait pas le cas si les animaux présentent trois vagues de croissance folliculaire⁽⁴⁾.

La présence d'une progestéronémie faible au moment de la seconde injection de GnRH s'observe dans 88 % des cas [19]. Elle concerne bien sûr les animaux non cyclés en début de traitement, mais aussi les animaux dont la progestéronémie était également basse lors de l'injection de la PgF_{2α}. Une situation semblable se rencontre lorsque la première injection de GnRH effectuée en fin de diestrus, voire en proestrus, ne s'accompagne pas de l'ovulation du follicule présent, situation déjà évoquée à l'égard des vaches ou génisses présentant trois vagues de croissance folliculaire. Il s'avère donc que la présence d'une progestéronémie élevée au moment de l'injection de la prostaglandine et basse lors de la seconde injection de GnRH constitue un prérequis indispensable à l'obtention d'une fertilité normale [19, 63].

Compte tenu de l'importance qualitative et quantitative de l'imprégnation progestéronique avant l'injection de la PgF_{2α} sur la fertilité [25, 29, 30, 78, 103], certains auteurs ont proposé l'utilisation combinée de GnRH, de progestagènes et de PgF_{2α} [102]. Une spirale vaginale (dosée à 1,9 g de progestérone) est insérée le jour de l'injection de la GnRH. La prostaglandine est injectée sept jours après la GnRH, soit 24 heures avant le retrait de la spirale mise en place pendant huit jours (protocole 1) ou au moment du retrait de la spirale mise en place pendant sept jours (protocole 2). Ces deux protocoles induisent le même pourcentage d'œstrus au cours des huit jours qui suivent le retrait de la spirale (92,8 % contre 92,2 %), mais leur distribution apparaît différente selon les protocoles. Avec le protocole 1, 55,7 et 27,8 % d'œstrus apparaissent respectivement au 2^e et 3^e jour suivant le retrait. Dans le cas du protocole 2, ces pourcentages sont respectivement de 21,5 et 47,1. La cause peut en être la présence, au moment du retrait de la spirale, d'un follicule dominant plus développé dans le premier cas que dans le second. Le taux de gestation en première insémination apparaît légèrement inférieur dans le premier que dans le second groupe (56,5 % contre 64,6 %) et dans l'un et l'autre cas inférieur à celui observé chez des animaux inséminés sur chaleurs naturelles (62,7 % et 63,3 %).

(1) Hanzen C, Boudry B, Drion PV. Induction et synchronisation de l'œstrus par la PgF_{2α}. Point Vét. 2003;34(236):22-23.

(2) Hanzen C, Boudry B, Drion PV. Effets du protocole GPG sur l'activité ovarienne. Point Vét. 2003;34(237):26-30.

(3) Hanzen C, Boudry B, Bouchard E. Protocole GPG et performances de reproduction. Point Vét. 2003;34(238):50-54.

(4) Chez les animaux qui présentent trois vagues de croissance folliculaire au lieu de deux, la première injection de GnRH effectuée entre les 15^e et 17^e jours agirait sur le follicule de la troisième vague, qui n'a pas encore acquis sa capacité ovulatoire, et ne pourrait plus agir sur le follicule de la deuxième vague, lequel aurait déjà perdu cette capacité [80]. Ce facteur (fréquence de trois ou de deux vagues de croissance folliculaire) a été évoqué pour expliquer des différences de résultats observées dans des troupeaux néo-zélandais [7].

Points forts

► Les facteurs susceptibles d'avoir une influence sur les performances de reproduction obtenus après mise en place d'un protocole GPG sont très nombreux.

► La mise en place du protocole après le 12^e jour du cycle exerce une influence favorable majeure.

► La mise en place du protocole, de manière pour qu'il permette de réaliser une insémination au-delà du 75^e jour post-partum, a également un effet favorable.

► Une fréquence réduite d'œstrus post-partum dans le troupeau optimise les résultats obtenus avec le protocole GPG.

► Le protocole GPG constitue une alternative intéressante pour le traitement des kystes ovariens.



Protocole GPG et traitement des kystes ovariens

► L'application du système GPG au traitement des vaches kystiques a été envisagé [5, 34, 53]. Il se traduit par des taux de gestation compris entre 23,6 et 36,8 % [5, 34]. Ce pourcentage est légèrement supérieur à celui observé après traitement des animaux par un protocole plus classique, à savoir l'injection d'une GnRH suivie sept jours plus tard d'une $PgF_{2\alpha}$ accompagnée d'une insémination sur chaleurs observées (18 %) [5]. Il est cependant inférieur à celui observé chez des vaches dites normales traitées au moyen du protocole GPG (48,8 %) [34]. Un suivi échographique de vaches traitées au moyen du protocole GPG a déterminé la présence d'un follicule kystique après la deuxième injection de GnRH dans 11 % des cas (26/237). Dans 19 cas sur 26, la présence de ce kyste n'a pas empêché l'ovulation d'un autre follicule [34].

► Une publication récente fait état d'observations différentes, n'enregistrant que 3 % de gestation par rapport au protocole associant une GnRH et une $PgF_{2\alpha}$ le jour du diagnostic suivies quatorze jours plus tard d'une seconde injection de $PgF_{2\alpha}$ accompagnée d'une seconde injection de GnRH 32 heures plus tard (28 %) [53]. Une des raisons de cette différence serait imputable aux différents stades du postpartum rencontrés. Aussi le protocole GPG serait-il plus efficace en cas de kyste lutéinisé que de kyste folliculaire, c'est-à-dire à un stade plus avancé du postpartum. Un allongement de l'intervalle entre l'injection de la GnRH et celle de la $PgF_{2\alpha}$ semble également devoir être recommandé [65] pour permettre une vascularisation et une lutéinisation suffisante du kyste folliculaire [51].

► Le protocole GPG a également été appliqué au traitement des follicules persistants. Les résultats obtenus sont significativement moins bons que ceux obtenus au moyen de protocoles utilisant la spirale vaginale [54].

Quelle est l'influence d'un état d'anœstrus ?

A priori, la mise en place d'un protocole de type GPG présuppose la cyclicité des animaux. Les résultats potentiels dépendront de leur proportion d'animaux cyclés dans le troupeau. La quantification exacte des animaux cyclés ou non suppose de déterminer leur progestéronémie. Ainsi, la proportion d'animaux cyclés est éminemment variable d'une étude ou d'un troupeau à l'autre : 83 % à 65 jours postpartum [13], 83,8 % de 47 à 67 jours postpartum et 85,4 % entre 50 et 70 jours [14, 15], 92,7 % de 63 à 70 jours postpartum [63], 82,8 à 86, 50 à 290 jours en moyenne postpartum [19], 97 % de 56 à 70 jours postpartum [90], 91,1 % à 63 jours postpartum [64]. L'impact de la note d'état sur la cyclicité est réel. Le pourcentage de cyclicité augmente de 9,3 % par point d'augmentation de la note d'état entre 1,25 et 3,5. Il s'accroît de 6,1 % par 10 jours d'augmentation du stade du postpartum de l'animal entre 57 et 77 jours [14].

Le protocole GPG s'accompagne d'une augmentation de 24 % du pourcentage de synchronisation chez les vaches cyclées par rapport aux vaches non cyclées (71 % contre 47 %) [14]. Ce facteur est sans doute à l'origine des résultats supérieurs observés dans plusieurs études [1, 11, 58]. L'influence de ce facteur se trouve également démontrée par le fait que les animaux qui répondent à un prétraitement au moyen d'une prostaglandine quatorze jours avant la mise en place d'un protocole GPG présentent une meilleure fertilité que les autres (39,6 % contre 23,9 % [48]).

Divers essais cliniques relatifs à l'injection d'une GnRH 7 à 34 jours après le vêlage associée ou non à une injection de prostaglandine 9 à 14 jours plus tard ont été effectués mais se sont dans l'ensemble révélés peu concluants [40]. L'identification des animaux en anœstrus par l'évaluation hebdomadaire de la progestéronémie permet d'observer que ces derniers présentent un pourcentage de gestation nettement inférieur à celui des animaux cyclés⁽⁵⁾. Par ailleurs, le pourcentage de vaches dont la progestéronémie est élevée au moment de l'injection de la prostaglandine du protocole GPG est nettement plus élevée (plus de 90 %) chez les vaches fécondées [14]. De même, le pourcentage de gestation est significativement moindre si les vaches présentent au moment de l'injection de la prostaglandine une progestéronémie inférieure à 1 ng/ml (8 à 12,6 % contre 27,8 à 38,4 % [63]).

Il n'est cependant pas impossible de penser que le protocole GPG soit de nature à induire, chez un certain nombre d'animaux en anœstrus, une ovulation et la formation subséquente d'un corps jaune qui ne régresserait pas complète-

ment après l'injection de la prostaglandine. Il en résulterait, tant chez la vache *Bos indicus* que *Bos taurus*, une réduction des manifestations œstrales [95].

L'effet d'une progestéronémie faible au moment de l'injection de la GnRH et/ou de la prostaglandine s'exerce également à moyen terme sur le risque de mortalité embryonnaire. En effet, les animaux dont la progestéronémie est faible présentent un taux de mortalité embryonnaire tardive (J27 à J45) significativement supérieur (39,5 à 77,6 %) à ceux dont la concentration en progestérone est supérieure à 1 ng/ml au moment de l'injection de la prostaglandine (12,1 à 33,5 %) [63].

Une double injection de GnRH, comme ce qui est prévu dans le cadre d'un protocole GPG, augmente davantage la possibilité d'obtenir une ovulation qu'une reprise précoce de l'activité ovarienne. Ainsi, 75 % des vaches en anœstrus ovulent soit après la première soit après la seconde injection de GnRH. La raison pourrait en être la suivante. Il a été démontré que de nombreux cas d'anœstrus se traduisent par la présence de follicules dont la concentration en œstrogènes est insuffisante pour induire une libération préovulatoire de LH [6]. La fertilité observée lors de l'insémination qui suit celle qui est systématiquement réalisée à la fin du protocole est normale. Il en résulte que chez les animaux en anœstrus, le protocole GPG se traduit par une amélioration plus conséquente de la fécondité que de la fertilité [64].

Le stade du post-partum a-t-il un impact ?

Selon les essais effectués, les intervalles entre le vêlage et la première insémination ont été compris entre 42 à 167 jours [41]. Des études plus spécifiques ont été consacrées à l'effet du stade de lactation. Il semblerait que le taux de gestation soit plus élevé si le traitement GPG est mis en place de manière telle que la première insémination soit réalisée après le 75^e jour de lactation (43,4 %) plutôt qu'entre le 60^e et le 75^e jour (43,4 %) [74, 75]. Semblables différences n'ont pas été observées en cas d'insémination sur chaleurs détectées et induites au moyen de prostaglandines (respectivement 38,8 % et 39,4 % pour les mêmes périodes d'insémination) [75]. La raison n'en est pas connue. Il se pourrait cependant que l'allongement du délai de mise en place du traitement contribue à augmenter le nombre de vaches cyclées, qui sont donc plus susceptibles de répondre favorablement [74, 75]. Il serait également de nature à augmenter le nombre d'œstrus présenté par l'animal avant la mise en place d'un protocole de synchronisation, facteur connu pour augmenter la fertilité [48]. ■

(5) 22,4 % contre 41,7 % [62] ; 15 à 19 % contre 44,9 à 47,7% [27], 26 % contre 39 % de gestation à J28 et J17 contre 29 % de gestations de J38 à J58 [14] ; 26 % de gestations à J27-J30 contre 24 % [15], 8 % de gestations à J27 contre 38,4% et 3,5 % de gestations à J45 contre 26,9 % [63].

