

Utilisation de la semence congelée

Quel est le nombre critique de spermatozoïdes congelés par dose d'insémination (nombre au dessus duquel la fertilité n'augmente plus) ? Un consensus s'oriente vers 250 millions de spermatozoïdes mobiles progressifs, ce qui, compte tenu de la qualité moyenne du sperme congelé, correspond à environ 750 millions de spermatozoïdes totaux. Cette dose peut être apportée pour chaque cycle en une seule insémination proche de l'ovulation, ou en 2 inséminations à 24h d'intervalle, la seconde au plus tard 24h avant l'ovulation (recommandation classique française). Les études américaines utilisent souvent un nombre plus élevé de spermatozoïdes, et un rythme d'insémination légèrement différent : 2 inséminations de chacune 800 millions de spermatozoïdes, 24 et 40 post hCG (Barbacini et coll).

Insémination artificielle (IA) profonde, utilisation de petites doses

Avec une dose classique de semence congelée (2 IA de 400 millions de spermatozoïdes à 24h d'intervalle, la 2^e environ 12h avant l'ovulation), l'utilisation de l'insémination dite « profonde », en fond, de corne à l'aide d'une sonde guidée par voie transrectale, ne fait pas augmenter la fertilité (59%, contre 63% lors d'IA dans le corps utérin, 27 cycles par lot) (Clément et coll, Haras nationaux / INRA). La diminution de la dose (une seule IA avec 50 millions de spermatozoïdes, au lieu de 400 millions) entraîne une diminution de la fertilité (26% contre 46%), non compensée par le dépôt de la semence en fond de corne (25% de fertilité avec IA en fond de corne, contre 26% avec IA dans le corps utérin, 39 cycles par lot).

Le fractionnement de la dose de semence congelée en 4 inséminations de 100 millions de spermatozoïdes chacune, réparties sur les 24 heures précédant

l'ovulation (7h, 21h, 27h et 31h post hCG), provoque une diminution de la fertilité (34%, contre 57% avec 1 IAC (IA congelée) de 400 millions de spermatozoïdes 24h post hCG) (Clément et coll).

Devant l'évolution de la commercialisation de la semence congelée (vente à la dose, etc...), M. Vidament propose un système de codification de l'offre commerciale de semence congelée, avec information du client sur les points importants susceptibles d'affecter la fertilité : nombre de spermatozoïdes fournis, mobilité, taux de glycérol. ■

Isabelle BARRIER BATTUT

Pour en savoir plus :

Cf. le texte

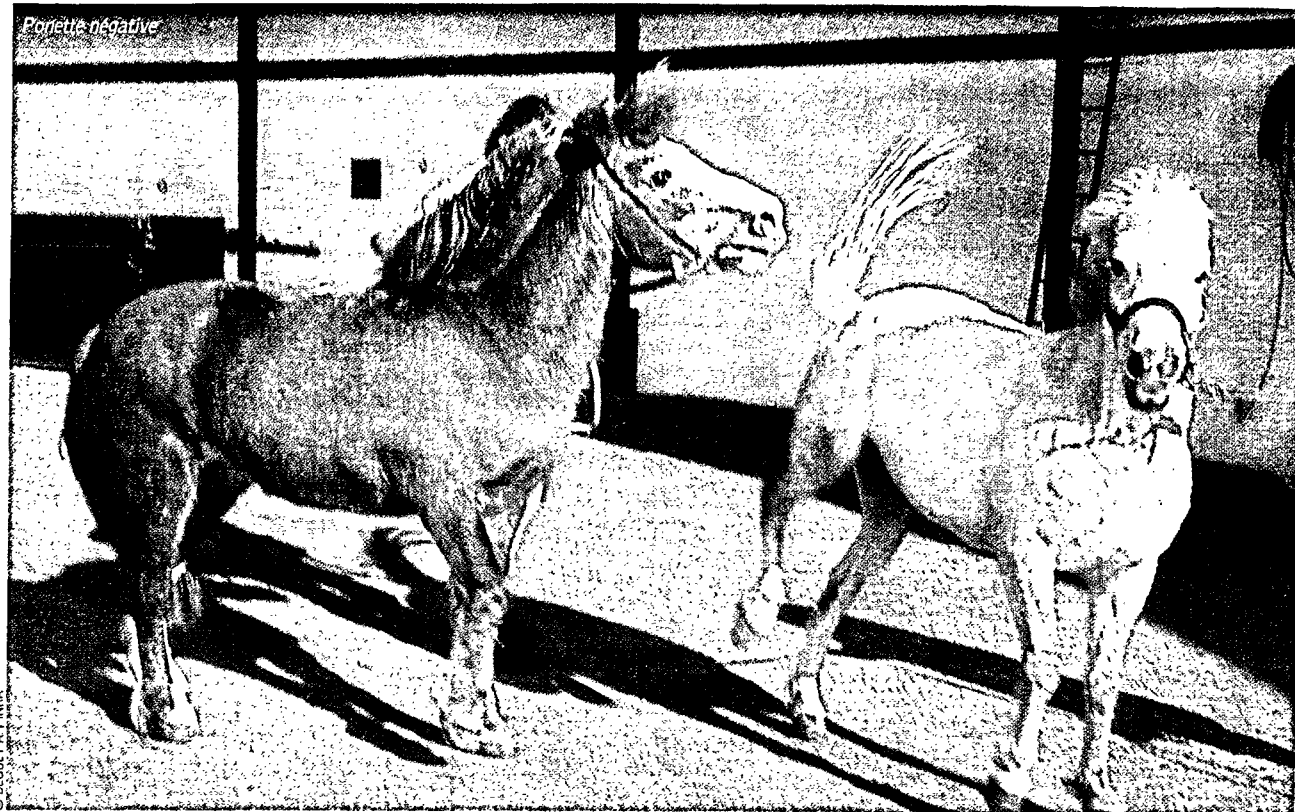
« Savoir bien acheter et utiliser le sperme congelé » consultable sur le site Internet des Haras nationaux <http://www.haras-nationaux.fr>

Le passage à la barre pour la détection des chaleurs : quelques précisions pour faciliter son interprétation

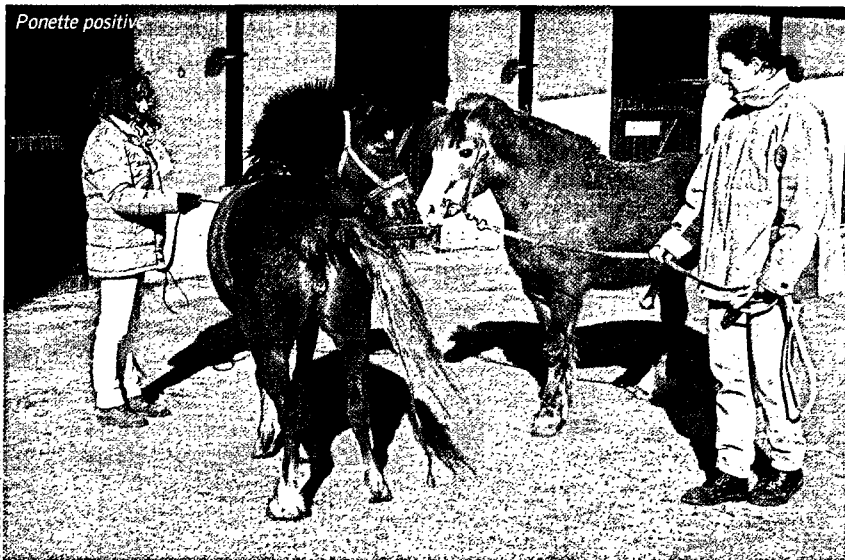
Récemment, les Haras nationaux ont sollicité des recherches afin de faciliter et optimiser la détection des chaleurs des juments et éventuellement de trouver, à terme, des alternatives à l'utilisation de l'étalon souffleur. Une étude menée à la jumenterie du Pin sur 16 juments avait pour objectif de caractériser les résultats du test de passage à la barre par rapport à la proximité de l'ovulation et à l'évolution des taux des hormones hypophysaires et ovariennes. Dans cette étude, 62 % des juments ont des cycles tout à fait conformes aux références bibliographiques, à la fois pour l'évolution du comportement à la barre, l'ovulation et les concentrations hormonales. Les autres juments ont des profils atypiques, correspondant à des anomalies ovariennes ou à des perturbations du comportement sexuel. Enfin, la latence de réponse de la jument lors du passage à la barre est apparue comme un critère pouvant avantageusement compléter les informations données par ce test.



test de passage à la barre



© BEGUEY A. / INRA



© BEGUEY A. / INRA

Contact avec l'étalon souffleur. Le comportement sexuel est plus net lors du contact direct que lors du passage à la barre

▷ MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a utilisé 16 juments cycliques de races selle français, trotteur français, anglo-arabe. Entre avril et juin, à partir de la détection d'une première ovulation, les juments ont été suivies jusqu'à l'ovulation suivante et n'ont reçu pendant cette période aucun traitement. Les critères examinés ont été :

- la croissance folliculaire par échographie transrectale,
 - la réceptivité sexuelle par passage à la barre et
 - l'évolution des taux plasmatiques d'hormones hypophysaires (LH) et ovariennes (progestérone et oestrogènes totaux) par prélèvements sanguins quotidiens.
- Le test de passage à la barre a été effectué pour toutes les juments, 3 fois par

semaine (lundi, mercredi, vendredi). Pour chaque test, chaque jument était individuellement sortie du paddock collectif et amenée dans la barre, la personne tenant l'étalon souffleur restant à une distance de 20 à 30 m de la barre. La jument étant installée dans la barre, l'étalon était amené à son contact, ce qui correspondait au déclenchement du chronomètre destiné à mesurer la latence de la réponse.

Les résultats du test de passage à la barre ont été établis en terme d'intensité et de latence de la réponse. L'intensité de la réponse correspond au test habituellement réalisé sur le terrain. Sa mesure a été codifiée de la façon suivante :

- 1 : refus très net :** attaque, cherche à fuir, botte, tape ;
- 2 : refus net :** queue collée, baisse les oreilles ;
- 3 : aucune réaction ;**
- 4 : acceptation (immobile, lève la queue, clignote) ;**
- 5 : acceptation très nette (clignote, urine, campée).**

Les juments ayant une note de 4 ou 5 sont dites positives à la barre, celles ayant une note de 1 ou 2, négatives et celles ayant la note 3 non déterminables.

La latence de la réponse a été définie comme le temps écoulé, en secondes (s), entre le moment du contact avec l'étalon et le moment de réponse de la jument. Le temps d'observation a été fixé à 90 s au maximum. Un temps de 0 s a été attribué quand la jument présentait des signes évidents de chaleurs, dès sa sortie du paddock, c'est-à-dire dès la vue de l'étalon avant même son entrée dans la barre.

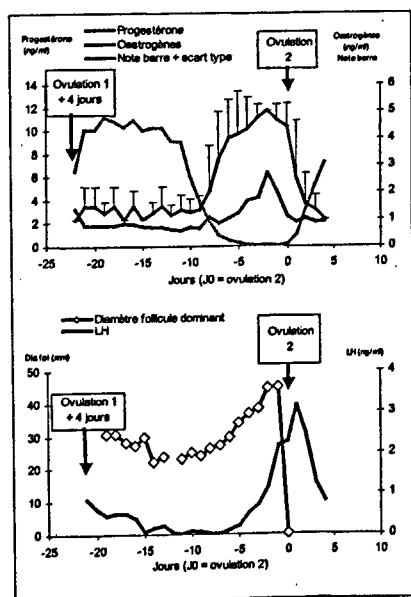
RÉSULTATS ET DISCUSSION

Sur les 16 juments étudiées au cours d'un cycle :

- 10 juments présentent une évolution du comportement à la barre typique correspondant parfaitement au cycle ovarien ;
- 4 juments montrent un comportement atypique associé à des anomalies du cycle ovarien et
- 2 juments expriment un comportement de refus permanent.

10 juments représentatives

Le comportement lors du passage à la barre exprime une période de refus suivie d'une période de réceptivité d'intensité maximale (note 5) correspondant à la période préovulatoire. L'évolution de cette réceptivité sexuelle correspond à une évolution de la croissance folliculaire et des taux hormonaux représentatifs d'un cycle ovarien caractéristique.



MOYENNES DE 10 JUMENTS AVEC ÉVOLUTION TYPIQUE DE LA RÉCEPTIVITÉ SEXUELLE CORRESPONDANT À UN CYCLE OVARIEN CARACTÉRISTIQUE

Les données présentées sur les graphiques correspondent à la période comprise entre « 4 jours après l'ovulation 1 / 4 jours après l'ovulation 2 », le jour 0 (J0) étant le jour de l'ovulation 2. La durée moyenne des cycles (entre les 2 ovulations) est de $23,8 \pm 1,5$ jours (moyenne \pm écart type).

Quatre jours après l'ovulation 1, les juments présentent lors du passage à la barre une période de refus pendant environ 10 jours. Cette période correspond à la phase lutéale, pendant laquelle le corps jaune actif sécrète la progestérone. Les taux de LH sont bas et aucune vague folliculaire n'a initié sa phase de croissance terminale, la taille moyenne du plus gros follicule restant proche de 20 mm. Comme aucun follicule n'évolue vers le stade préovulatoire, les taux d'oestrogènes (hormones sécrétées par les follicules en croissance terminale) sont bas. Le comportement de refus lors du passage à la barre résulte de l'effet bloquant de la progestérone associé à des taux bas d'oestrogènes, principale hormone induisant le comportement d'oestrus.

Quinze jours environ après l'ovulation 1 (soit 10 jours avant l'ovulation 2), la réceptivité sexuelle des juments augmente progressivement, pour être maximale 2 jours avant l'ovulation 2. A cette période, la régression du corps jaune provoque une baisse des taux de progestérone qui atteignent des valeurs nulles. La levée de l'inhibition de la LH permet alors le démarrage d'une nouvelle vague folliculaire, représentée par un follicule dominant qui croît et atteint progressivement la taille préovulatoire d'environ 40 mm. La croissance du follicule dominant produit une augmentation des taux d'oestrogènes qui présentent un pic, quand celui-ci atteint la taille maximale. L'expression du comportement d'oestrus, en réponse au mâle, est permise par l'association de la levée de l'effet bloquant de la progestérone et de l'effet de stimulation croissant des oestrogènes. Pour l'instant, il n'est pas possible de savoir si une des modalités sensorielles, vision, audition ou olfaction est prédominante et si le mâle pourrait être remplacé par ce stimulus seul.

La réceptivité maximale observée 2 jours avant l'ovulation, quand toutes les juments obtiennent la note 5, correspond au pic d'oestrogènes associé à des taux de progestérone nuls. L'augmenta-

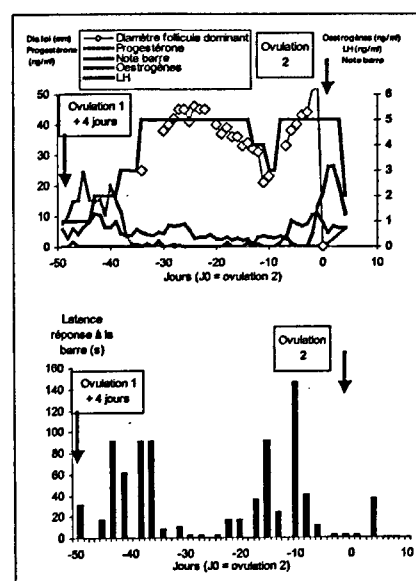
tion des oestrogènes est également responsable de l'induction du pic de LH, commençant 5 jours avant l'ovulation 2, qui va provoquer l'ovulation.

Enfin, sur ces 10 juments, la latence de réponse, lors du passage à la barre, dès lors que la jument est positive, tend à diminuer lorsque l'on se rapproche de l'ovulation. Toutefois ce critère n'est significatif que lorsque l'analyse est effectuée sur les 14 juments qui ont un comportement de chaleurs. Ce critère est présenté ci-dessous dans un paragraphe spécifique pour les 14 juments.

4 juments avec comportement atypique associé à des anomalies du cycle ovarien

2 juments présentent une période de refus suivie d'une période d'acceptation, mais la durée d'une des périodes est anormalement longue

La durée moyenne du cycle de ces 2 juments est de $47,5 \pm 7,8$ jours.



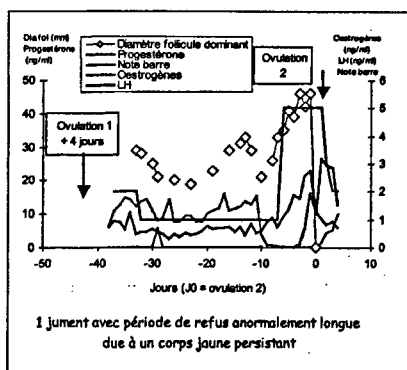
1 JUMENT AVEC PÉRIODE D'ACCEPTATION ANORMALEMENT LONGUE DUE À 2 VAGUES FOLLICULAIRES

Pour cette jument, après une période de refus d'une quinzaine de jours, correspondant à la phase lutéale, la jument obtient comme attendu une note de 5 lors du passage à la barre. Mais cette période de réceptivité maximale persiste pendant plus de 20 jours. La baisse de progestérone, correspondant à la régression du corps jaune a bien permis la croissance d'un follicule atteignant la taille

▷ préovulatoire et qui sécrète des œstrogènes. Mais, peut être du fait de taux de LH restant très bas, ou d'un problème de maturation, le follicule dominant n'ovule pas et régresse très progressivement. Pendant toute cette période, la présence d'œstrogènes sans progestérone induit donc un comportement de chaleurs. Lorsque ce premier gros follicule devient atrétique, la jument redevient négative à la barre. Puis un nouveau follicule préovulatoire apparaît, la jument est à nouveau réceptive lorsque ce follicule atteint 30 mm et ovule sous l'effet du pic de LH endogène.

Enfin, pour cette jument, il est intéressant de remarquer qu'au cours de chacune des deux périodes de réceptivité maximale, correspondant à la présence d'un follicule en croissance de 40 mm, la latence de la réponse à la barre est très faible (cf. paragraphe spécifique). Ce critère permet donc, même pour cette jument, d'identifier la période préovulatoire.

Dans le cas de chaleurs d'intensité maximale qui persistent en présence d'un gros follicule, l'administration d'un traitement à effet LH (hCG) peut permettre l'ovulation de ce follicule. Cependant la capacité de fécondation de l'ovocyte ne peut être assurée si la régression du follicule était due à un défaut de sa qualité.



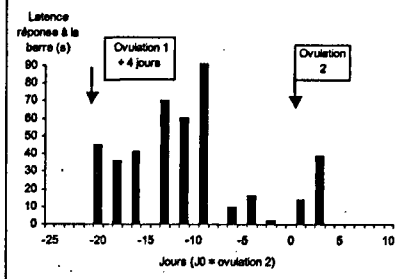
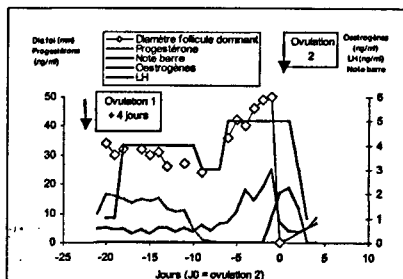
Quinze jours après la première ovulation, cette jument est toujours négative lors du passage à la barre. Cette période de refus persiste pendant près de 30 jours. En fait, le corps jaune n'a pas régressé au moment attendu et continue à sécréter de la progestérone. Malgré la présence

de progestérone, un follicule atteint bien la taille préovulatoire de plus de 30 mm, mais la qualité de sa maturation ne semble pas satisfaisante (peu d'œstrogènes) et il régresse. Chez certaines juments, ces follicules croissant pendant la phase lutéale sont capables d'ovuler (ovulations de diestrus). Lorsque, plus de 30 jours après la première ovulation, le corps jaune régresse spontanément, un nouveau follicule initie immédiatement sa croissance terminale, atteint la taille préovulatoire (pic d'œstrogènes), la jument entre en chaleurs et l'ovulation se produit normalement (pic de LH).

L'observation de corps jaunes persistants est rapportée dans 4 à 25 % des cycles. Ils sont attribués à un défaut de libération des prostaglandines F2 qui induisent la lyse naturelle du corps jaune. Certains cas ont été reliés à la présence d'endométrites, pour lesquelles les lésions de la paroi utérine induisent une libération de prostaglandines insuffisante ou retardée.

Dans le cas de période de refus allongée, si la jument est cyclique, la présence d'un corps jaune persistant doit être suspectée. L'administration d'un traitement de prostaglandine permet la lyse du corps jaune et donc la croissance d'un nouveau follicule dominant sain et le retour en chaleurs.

1 jument présente une période d'acceptation trop précoce



1 JUMENT AVEC PÉRIODE D'ACCEPTATION SUIVANT IMMÉDIATEMENT LA PREMIÈRE OVULATION

Dès 7 jours après la première ovulation, la jument obtient une note de 4 lors du passage à la barre. En absence d'autres données, deux cas peuvent être suspectés :

- soit l'expression de chaleurs pendant la phase lutéale,
- soit l'interruption précoce de phase lutéale, du fait d'une métrite par exemple.

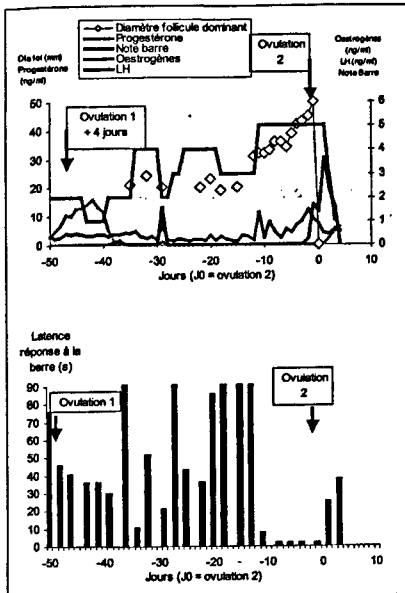
Dans le cas présent, les données endocrines montrent que les chaleurs surviennent sous sécrétion de progestérone mais en présence d'un gros follicule, en cours de régression, produisant encore des œstrogènes. Pour cette jument, il est possible que l'effet bloquant de la progestérone sur le comportement de chaleurs soit limité par l'effet stimulant des œstrogènes. Ensuite, lorsque le corps jaune régresse spontanément, 15 jours après la première ovulation, un nouveau follicule préovulatoire apparaît, accompagné de chaleurs d'intensité maximale cette fois (note 5).

En l'absence de données endocrines, ce cas peut être difficile à interpréter. Cependant 2 critères doivent être mis en évidence :

- les chaleurs de phase lutéale sont moins intenses (note 4) que celles de fin de phase folliculaire (note 5),
- la latence de la réponse à la barre, quand la jument est positive, est plus longue pendant la phase lutéale (entre 30 et 90 s) que pendant la période préovulatoire (entre 0 et 10 s).

1 jument présente des périodes d'acceptation et de refus alternées et de courte durée

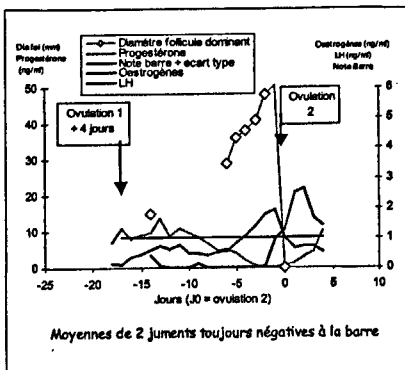
Comme attendu, 15 jours environ après la première ovulation, la jument devient positive lors du passage à la barre (note 4). Puis, cette note fluctue entre 2 et 4 pendant 25 jours. Pendant cette période, la progestérone est effectivement basse, mais aucun follicule préovulatoire n'est identifié et les œstrogènes sont bas. Le comportement à la barre n'est pas compatible avec les données folliculaires et endocriniennes sous-jacentes. Pour cette jument, il est possible que la levée de l'effet bloquant de la progestérone ait suffit pour qu'elle n'ait pas une attitude de refus.



1 JUMENT AVEC PÉRIODE D'ACCEPTATION ET DE REFUS ALTERNÉES ET DE COURTE DURÉE

Toutefois, comme pour la jument précédente, pendant la période où les comportements de refus et d'acceptation sont alternés, lorsque la jument est positive à la barre (note 4), la latence de la réponse est élevée (au moins 90 s). Au contraire, pendant la période préovulatoire qui suit, l'intensité des chaleurs est maximale (note 5) et la latence de la réponse plus basse (moins de 10 s). Dans ces 2 cas précis, l'intensité et la latence de réponse sont utiles pour interpréter le test.

2 juments toujours négatives lors du passage à la barre

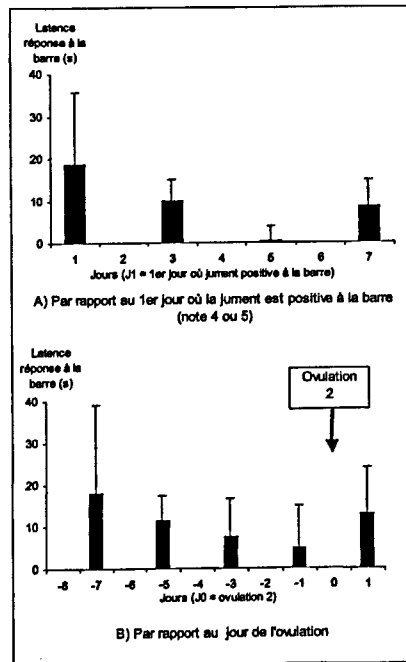


MOYENNES DE 2 JUMENTS TOUJOURS NÉGATIVES À LA BARRE

Ces juments qui ont un comportement de refus permanent au cours de la pré-

sente expérience (note 1) ne sont pas des jeunes juments « naïves ». Elles sont connues pour répéter cette attitude quelles que soient les conditions du test et l'étalon utilisé. Cependant, les paramètres de croissance folliculaire et hormonaux sont tout à fait normaux. Ces juments sont fertiles. Dans la bibliographie, ces cycles avec oestrus silencieux sont rapportés pour 6 à 7,5 % des juments. Ce comportement est répétable d'un cycle à l'autre pour une jument donnée. Pour ces juments, seule l'échographie est utilisable pour détecter la période préovulatoire.

Pour toutes les juments (excepté celles toujours négatives à la barre), la latence de la réponse lors du test de passage à la barre diminue lorsque l'on se rapproche de l'ovulation.



MÉDIANES (+Q3 - Q1) DE 14 JUMENTS : LATENCE DE LA RÉPONSE AU TEST DE PASSAGE À LA BARRE

A partir du moment où la jument est positive au test de passage à la barre (note 4 ou 5), pendant la période préovulatoire, la latence de réponse à ce test diminue progressivement (test non paramétrique de Page) :

- à partir du premier jour où la jument

est positive pour être proche de 0s, 5 jours plus tard ($p = 0,001$) (figure A)

- pour être minimale dans les 4 jours qui précèdent l'ovulation ($p = 0,03$) (figure B)
- puis après ovulation (le jour 7 figure 7A et le jour 1 figure 7B), la latence de la réponse tend à re-augmenter ($p = 0,06$)
- cependant, l'effet de la jument est important ($p = 0,005$).

Le paramètre latence de réponse à la barre peut donc permettre de mieux cerner la période préovulatoire. En pratique, en présence d'une jument pour laquelle l'intensité du comportement de chaleurs est maximale, la saillie ou l'insémination pourrait être effectuée le premier jour où la latence de la réponse diminue. Ce paramètre peut aussi contribuer à la prise de décision pour les juments dont le comportement est difficile à interpréter, comme ci-dessus.

En conclusion, dans cette étude, la majorité de juments a présenté une évolution du comportement à la barre tout à fait conforme au profil physiologique de référence, permettant donc de prédire la proximité de l'ovulation. Plusieurs cas particuliers ont également été observés. Certains sont facilement reconnaissables et peuvent être solutionnés par administration d'un traitement simple. D'autres, au contraire, montrent que le comportement de chaleurs ne répond pas aux seules hormones stéroïdes classiquement citées. Dans ce contexte, le temps de latence de la réponse à la barre est apparu comme un critère permettant de mieux cerner la période préovulatoire et peut être d'interpréter les résultats pour certaines juments. Les conditions d'utilisation de ce critère sur le terrain restent, bien sûr, à définir et il serait intéressant de le tester sur un plus grand nombre de juments.

C. BRIANT, M. OTTOGALLI,
D. GUILLAUME, C. FABRE-NYS, P. ECOT
et A. MARGAT

Pour en savoir plus :

Ginther OJ 1992, *Reproductive biology of the mare basic and applied aspects*, Library of Congress Catalog, Cross plains: Equiservices Publishing.