

PARTENAIRE Repro

MAGAZINE D'INFORMATION
EN REPRODUCTION BOVINE DE MSD SANTÉ ANIMALE

MAG

Numéro 17

Au sommaire :

- **Un marqueur précoce de durée de vie productive ?**
- **70 ans d'IA bovine en France**

DOSSIER

**INFLAMMATION
PERIPARTUM :
AMIE ET ENNEMIE
DE LA VACHE**



SOMMAIRE

03 **ÉDITO**

04 **PHYSIOLOGIE - RECHERCHE**
UN MARQUEUR PRÉCOCE
DE DURÉE DE VIE PRODUCTIVE ?

16 **DOSSIER**
L'INFLAMMATION
PERIPARTUM :
AMIE ET ENNEMIE
DE LA VACHE

24 **EN 2016, L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE**
FÊTE SES 70 ANS EN FRANCE

28 **LE SAVIEZ-VOUS ?**
QUELQUES CHIFFRES



L'AVENIR EST RADIEUX !

Jours difficiles en élevage, temps de grands doutes et d'inquiétudes.

Pourtant au quotidien, nous rencontrons des éleveurs qui, malgré les circonstances adverses, ne perdent pas leur motivation et continuent à faire un excellent travail. Ces éleveurs sont une réalité, pas un mythe ; ils existent et éclairent nos journées en contribuant à nos plus belles satisfactions professionnelles. Bon nombre d'entre eux aspirent à un nouveau type de partenariat avec les vétérinaires : comme nous, ils souhaitent **une relation individualisée avec une meilleure prise en compte de leurs particularités.**

Nous ne pouvons certes pas maîtriser les raisons des difficultés conjoncturelles de la filière ; mais nous pouvons par contre contribuer au maintien du moral et à la réussite de nos clients. Pour cela, une grande dose d'empathie et beaucoup de motivation sont nécessaires.

Restons positifs ! En ces temps difficiles, continuer de communiquer de manière positive attire l'attention et nous donne l'**opportunité de montrer nos compétences et notre capacité à assurer un service "sur mesure" pour chacun de nos clients.** Cette approche implique un changement parfois important de sa vie professionnelle et/mais s'avère très formatrice : elle nous apprend à être un partenaire privilégié de nos clients, à faire preuve de disponibilité, à être toujours vigilant face à la tentation de la surestime de soi, à identifier et travailler nos insuffisances de compétence. Alors que nous imaginions peut-être atteindre notre "pleine compétence" au bout de 15 à 20 ans de carrière et d'expérience professionnelle, nous découvrons avec passion des domaines restés jusque-là hors de notre vue et qu'il nous reste à maîtriser.

Pour ma part, le début de cette adaptation s'est concrétisé au travers de la reproduction bovine : c'est à mon sens l'activité la plus simple et la plus adaptée pour nous positionner en tant que conseillers en élevage. C'est en effet un domaine dont la bonne gestion s'avère plurifactorielle ; notre curiosité nous donne envie de comprendre tous les critères de réussite (nutrition, bâtiment, gestion de la période sèche,...) dont la maîtrise amènera une bonne fécondité du troupeau.

Cette approche 'transversale' est source de satisfaction et de reconnaissance de la part de nos clients ; l'image qu'ils ont de nous en est changée et ils sont davantage enclins à nous solliciter pour des conseils globaux. A fortiori en ces temps d'incertitudes en élevage, ils recherchent des conseillers à qui faire confiance. En tant que vétérinaires, nous bénéficions toujours d'une grande considération de leur part. Il faut profiter pleinement de cette nouvelle situation : investir son temps dans l'étude, le partage des connaissances, nous montrer disponibles. La reproduction constitue une porte d'entrée 'opportune', le moteur est la motivation.

Nous avons des objectifs communs avec nos éleveurs : ne plus subir les facteurs extérieurs, maîtriser notre environnement, nous épanouir et au final réussir. C'est notre rôle d'aujourd'hui, et c'est ce qui assurera notre salut demain.

Dr Luca Fabozzi,
Vétérinaire à Parthenay (79)



UN MARQUEUR PRÉCOCE DE DURÉE DE VIE PRODUCTIVE CHEZ LES VACHES LAITIÈRES ?

Une publication récente (JIMENEZ-KRASSEL & al., 2015) montre que les génisses, dont les concentrations sanguines en AMH (anti-Müllerian hormone) sont les plus élevées à 1 an d'âge, sont celles dont la carrière productive sera la plus longue. Ce résultat, même s'il mérite encore d'être confirmé, est particulièrement important à l'heure où la quantité de lait produit par jour de vie est considérée comme l'un des indicateurs les plus pertinents en production laitière, à la fois en terme de rentabilité mais aussi de bien-être animal. Prolonger la carrière des vaches participe grandement à l'amélioration de ce critère, concomitamment à l'augmentation individuelle de la production par lactation. En effet, l'allongement de la durée de vie productive entraîne mathématiquement une augmentation du rapport entre jours productifs (femelles en lactation) et jours improductifs (élevage des génisses jusqu'au premier vêlage et périodes sèches).

L'hormone anti-Müllérienne n'est pas totalement inconnue du "thériogénologue", en particulier en reproduction bovine. Ainsi, dans le domaine de la transplantation embryonnaire, il est déjà établi que les vaches présentant des concentrations élevées en AMH sont des candidates intéressantes pour servir de donneuses, car elles possèdent une plus forte réserve ovarienne de follicules ; de ce fait, elles sont donc susceptibles de produire davantage d'embryons en réponse au traitement de superovulation.

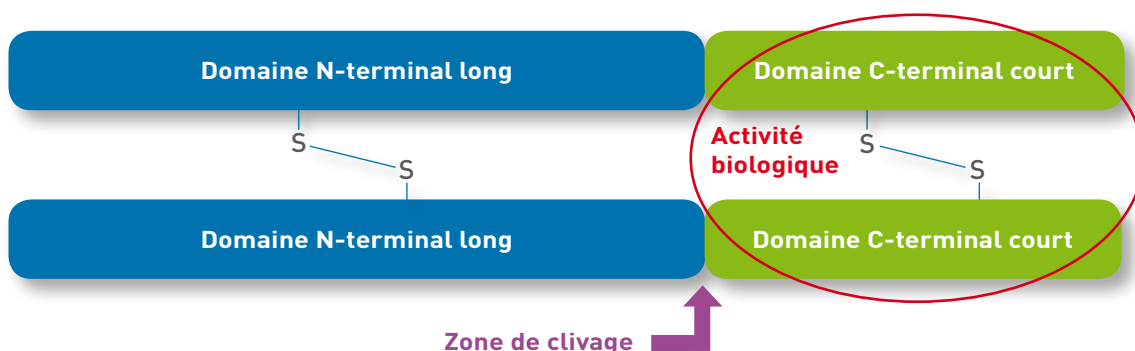
Mais l'essai de JIMENEZ-KRASSEL & al. est le premier à démontrer l'intérêt de mesurer l'AMH en dehors du cadre strict de la reproduction bovine. Ces données nouvelles sont l'occasion de faire une synthèse des informations scientifiques sur l'AMH et son dosage, son utilisation en reproduction, et ses applications potentielles pour repérer précocement (et ne garder que ?) les femelles les plus à même d'avoir une longue vie productive.

L'AMH, marqueur biologique de la réserve ovarienne de follicules

Données générales sur l'AMH

L'AMH est une hormone glycoprotéique appartenant à la famille des facteurs de croissance TGF- β (Transforming Growth Factor). Elle est sécrétée exclusivement par les gonades sous forme d'un précurseur inactif, la pro-AMH. L'AMH, obtenue à partir de la pro-AMH, est un homodimère dont les 2 entités sont stabilisées par 2 ponts disulfure (schéma 1). Une zone de clivage existe sur chaque monomère entre le fragment C-terminal court, qui est à l'origine de l'activité biologique, et le fragment N-terminal long. Le fragment court est constitué de 109 acides aminés et le fragment long en comporte 426.

Schéma 1 : Structure schématique de l'AMH





L'AMH tire son appellation du fait que, pendant l'embryogenèse des mammifères, elle est responsable de la régression des canaux de Müller qui sont les structures embryonnaires à l'origine de l'utérus et des oviductes. L'AMH est donc impliquée dans le développement du fœtus mâle. Elle est aussi connue sous la dénomination MIS (Müllerian Inhibiting Substance). L'AMH est impliquée dans le phénomène de free-martinisme, indiquant que pendant la vie fœtale l'hormone n'inhibe pas seulement le développement des "canaux" génitaux mais peut également s'attaquer à l'ovaire. Ainsi, en cas de gémellité, si 2 fœtus de sexes opposés sont reliés par des anastomoses placentaires, l'AMH sécrétée par les testicules du fœtus mâle passe dans la circulation de la femelle et provoque une atrophie ovarienne, suivie éventuellement par une masculinisation de la gonade (JOSSO & al. 1987).

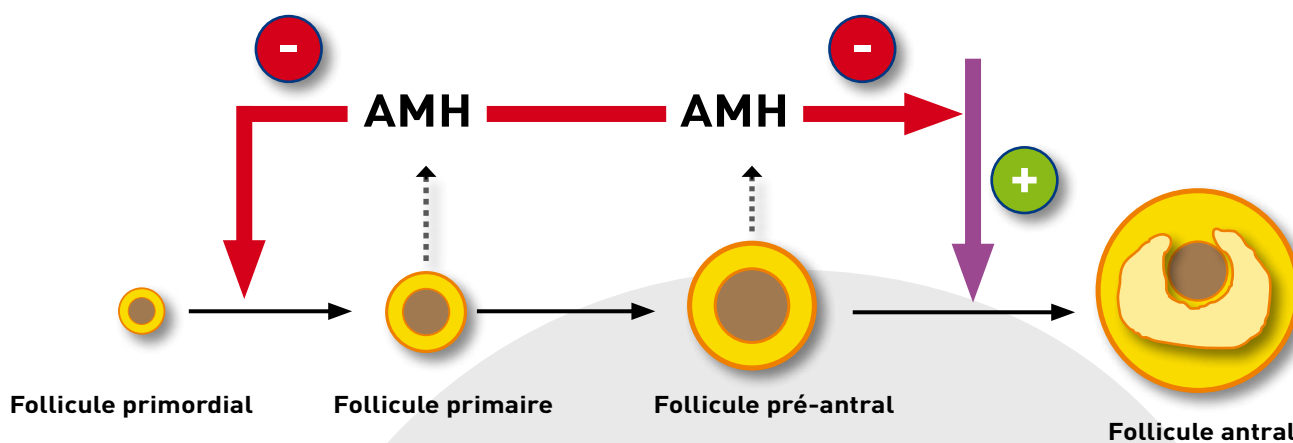
Chez le mâle, l'hormone est produite d'abord par les testicules fœtaux. Sa sécrétion par les cellules de Sertoli se poursuit ensuite jusque la puberté. L'AMH est un très bon marqueur du fonctionnement testiculaire pré-pubertaire.

Chez la femelle, l'AMH est produite par les cellules de la granulosa des follicules en développement, au cours de la folliculogénèse. Elle cesse donc d'être produite à la ménopause chez la femme.

La bibliographie fait état de concentrations variables en AMH chez l'humain. Celles-ci sont plus fortes chez l'homme que chez la femme tout au long de l'existence. Les valeurs usuelles se situent entre 10 et 200 ng/ml chez le garçon nouveau-né jusqu'au stade pré-pubère (valeurs 10 à 100 fois supérieures par rapport aux filles) ; elles diminuent fortement ensuite (entre 3 et 20 ng/ml environ). Chez la femme, les concentrations sont faibles jusqu'à la puberté, maximales pendant la période de cyclicité (entre 2,5 et 6 ng/ml en général), et deviennent indétectables après la ménopause (LA MARCA & al. 2006, DEFFIEUX 2003, JOSSO & al. 2014, document Biomnis 2012).

Chez la femelle des mammifères, l'AMH produite par les follicules en croissance inhibe la croissance des follicules primordiaux, contribuant à la régulation du nombre de follicules sortant de la réserve ovarienne. L'AMH réduit également la sensibilité à la FSH des follicules plus développés, influençant le processus de sélection (schéma 2).

Schéma 2 : Mode d'action sur la croissance folliculaire de l'hormone anti-Müllérienne (AMH) chez la souris et la femme (d'après Visser & Themmen, 2005)

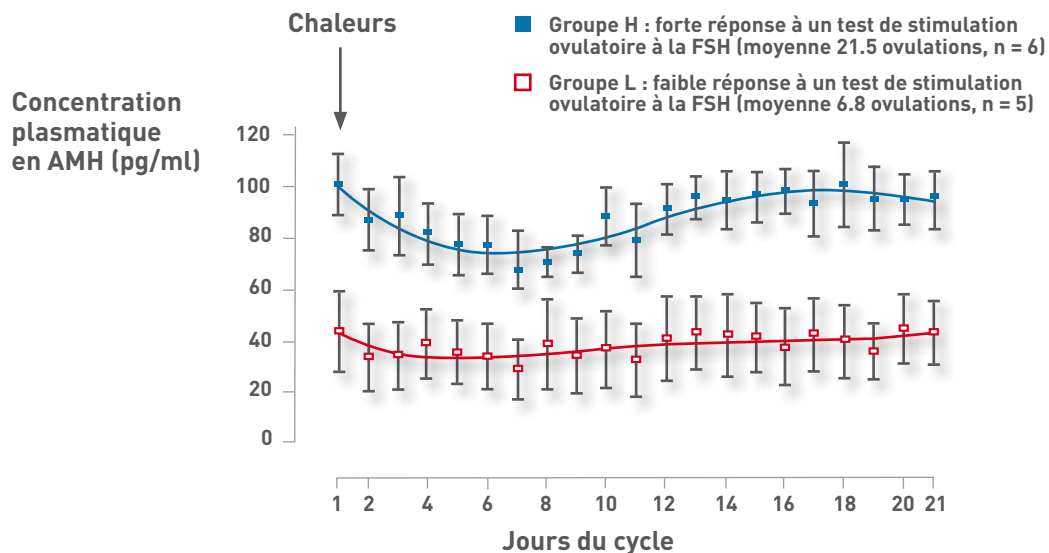




L'AMH chez les bovins

Les concentrations en AMH mesurées chez les vaches et les génisses sont très variables, pouvant varier d'un facteur 10 entre animaux. Par contre, elles sont stables dans le temps pour un même animal. Il existe des variations de concentration au cours du cycle, assez modérées, avec des valeurs minimales entre les 4^{ème} et 8^{ème} jours (J1 = Jour des chaleurs, figure 1 ; MONNIAUX 2012). Du fait de ces variations, il est conseillé de prélever, afin de doser l'AMH chez la vache, soit le jour des chaleurs, soit le 12^{ème} jour du cycle.

Figure 1 : Concentration plasmatique en hormone anti-Müllérienne (AMH) au cours du cycle œstral chez 11 vaches, classées selon leur réponse à la superovulation (MONNIAUX 2012, d'après RICO & al., 2011)



Chez les bovins, les valeurs des concentrations circulantes sont plus faibles que chez l'Homme (LA MARCA & al., 2006). Mais comme les résultats sont actuellement obtenus avec des méthodes utilisant des anticorps anti-AMH d'origine humaine, les plus faibles valeurs s'expliquent par les réactions croisées limitées de l'AMH bovine dans ce dosage d'AMH humaine (voir plus loin dans le paragraphe spécifique consacré aux kits AMH pour la reproduction bovine). Aussi, un nouveau test en développement (le BOC-ELISA), fondé sur l'usage d'anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre l'AMH bovine et d'AMH bovine recombinante, donne des valeurs de concentration plasmatique en AMH bovine 44 fois plus élevées que celles fournies par un test utilisant des anticorps d'origine humaine (ELISA Active MIS/AMH ; AROUCHE & al., 2015).

L'effet de l'AMH sur l'activité folliculaire des bovins est biphasique :

- les concentrations en AMH sont plus élevées dans les follicules de 3 à 7 mm de diamètre (follicules peu différenciés, avec peu de récepteurs à la LH et d'aromatase), en comparaison à ceux de 8 à 16 mm,
- l'AMH inhibant la réponse folliculaire à la FSH, l'effondrement de son expression dans les gros follicules (d'un diamètre de 8 à 16 mm) permet à la FSH d'exercer ses effets stimulants sur leur différenciation ainsi que sur la production d'œstrogènes (suite à l'augmentation de la quantité/activité de l'aromatase, enzyme qui catalyse la transformation des androgènes en œstrogènes).

Des différences existent pour le mode d'action de l'AMH entre les bovins et la femme ; ainsi, des concentrations intra-folliculaires élevées d'AMH sont retrouvées dans les kystes chez la femme, et pas chez la vache (MONNIAUX & al., 2010).



Quel dosage pour l'AMH ?

Les kits pour la médecine humaine

Différentes techniques ELISA ont été utilisées pour mesurer l'AMH dans les fluides biologiques. Le premier kit commercial était destiné au dosage de l'hormone chez le garçon pré-pubère, en particulier pour rechercher les états intersexués. Ultérieurement des tests plus sensibles ont été développés pour être utilisés chez la femme.

Les premiers tests ELISA à avoir été commercialisés sont les kits DSL Active MIS/AMH de la société Diagnostics Systems Laboratory (DSL) et le kit ELISA de la société Immunotech (IOT). Les 2 kits, n'utilisant pas les mêmes anticorps monoclonaux humains, donnaient des résultats différents, et des concentrations plus faibles pour l'ELISA DSL. Quand la société BECKMAN COULTER a racheté les 2 sociétés DSL et IOT, elle a décidé de développer un nouveau kit unique sur la base des 2 anciens tests : l'AMH Gen II. Celui-ci reprend les anticorps monoclonaux de l'ELISA DSL Active MIS/AMH, mais avec une calibration correspondant au kit IOT. De ce fait, le nouveau kit AMH Gen II, fournit des valeurs absolues plus élevées d'environ 40% en comparaison à l'ancien kit DSL (WALLACE & al., 2011).

D'autres kits existent pour le dosage de l'AMH humaine ; en 2016, PIGNY & al. recensaient 3 kits ELISA et 2 techniques automatisées de dosage immunologique ; leurs performances sont comparables mais des seuils différents doivent être utilisés pour l'interprétation des résultats obtenus en ELISA ou par les méthodes automatisées, ces dernières aboutissant à des valeurs plus faibles.

Les kits pour la reproduction bovine

Pour le diagnostic vétérinaire, les premiers tests ont employé des anticorps monoclonaux spécifiques de l'AMH bovine (bAMH) permettant le dosage de l'AMH bovine mais aussi ovine et caprine (CAZORLA & al. 1998, ROTA & al. 2002, cités par AROUCHE & al. 2015).

Quand la bAMH native est devenue indisponible, c'est le test ELISA DSL Active MIS/AMH, développé pour un usage humain, qui a été repris pour le dosage chez les bovins (KEVENAR & al. 2006, cité par AROUCHE & al. 2015). En effet, les anticorps monoclonaux dirigés contre l'AMH d'origine humaine ne sont pas strictement spécifiques de l'espèce ; ils permettent aussi la reconnaissance de l'AMH bovine, avec cependant une moindre affinité. L'utilisation du test ELISA DSL Active MIS/AMH a été validée pour les bovins (IRELAND et al. 2008 ; MONNIAUX et al. 2008). La spécificité du dosage a été montrée par KEVENAR & al. (2006) ; l'ELISA DSL Active MIS/AMH ne croise pas avec les autres membres de la famille des TGF- β (inhibine, activine, ...). Ce test utilisé sur sang de bovin aboutit à des plus faibles concentrations d'AMH (en comparaison à celles obtenues chez l'Homme) ; de ce fait, il a été proposé d'adapter la technique en doublant le volume de sérum bovin analysé (40 μ l ou 50 μ l au lieu de 20 μ l). Le kit DSL n'est actuellement plus commercialisé, il a été remplacé par le kit AMH GenII (Beckman) qui présente des caractéristiques similaires de spécificité et de sensibilité pour la reconnaissance de l'AMH bovine dans le plasma.

Une nouvelle méthode d'analyse vient d'être mise au point à partir d'AMH bovine recombinante et d'anticorps monoclonaux spécifiques de l'AMHb. Ce test (BOC-ELISA) se caractérise par des performances très encourageantes en termes de précision, sensibilité et spécificité. Les valeurs absolues obtenues pour les concentrations en AMH bovine sont beaucoup plus élevées que celles données par le test fondé sur l'AMH humaine (ELISA DSL Active MIS/AMH) : en moyenne 7,07 ng/ml mesuré sur le plasma de 40 vaches, contre 0,17 ng/ml avec l'ancienne méthode (AROUCHE & al., 2015) ! Le BOC-ELISA est encore au stade du prototype aujourd'hui et n'est pas commercialisé.

Le prix de revient individuel minimal de l'analyse avec le test à l'AMH humaine est de 10€. Ce coût est estimé sur la base du prix de la plaque de 96 puits ELISA ; il ne prend pas en compte les frais de main d'œuvre et est calculé pour un nombre élevé d'échantillons (chaque analyse requiert la réalisation d'une gamme étalon, le coût individuel diminue donc avec l'augmentation du nombre d'échantillons testés en même temps).

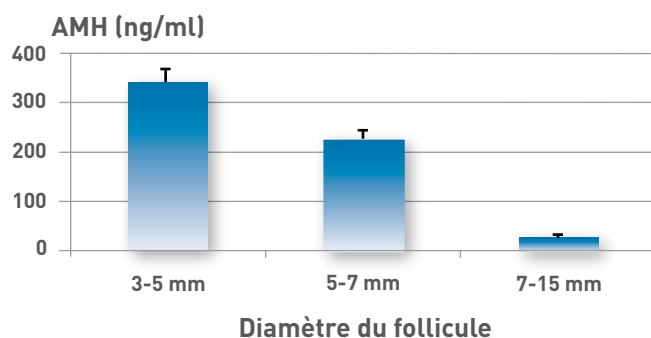
En pratique aujourd'hui, il n'existe **pas de kit ELISA spécifique commercialisé pour le dosage de l'AMH bovine**. Les kits ELISA développés pour l'usage en médecine humaine sont utilisés pour le dosage chez les bovins uniquement dans un cadre expérimental.



Intérêt de l'AMH en reproduction bovine

L'AMH est synthétisée chez la vache essentiellement par les petits follicules d'un diamètre de 3 à 7 mm, avant que ceux-ci ne débutent leur développement terminal et ne produisent de l'œstradiol (figure 2, MONNIAUX & al, 2010b).

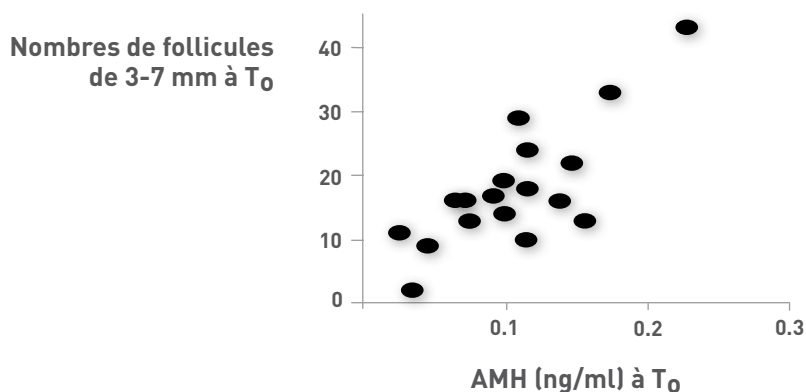
Figure 2 : Concentration en hormone anti-Müllérienne (AMH), mesurée dans le liquide folliculaire, de follicules sains chez la vache (MONNIAUX & al. 2010, d'après RICO & al. 2009)



La concentration plasmatique en AMH de la vache est fortement corrélée au nombre de follicules en développement (nombre moyen de follicules d'un diamètre $\geq 2-3$ mm) et à la taille de la réserve ovarienne (respectivement $r = 0,88$ et $r = 0,90$; IRELAND & al. 2008). De ce fait les niveaux en AMH permettent de prévoir le nombre d'embryons collectés chez les femelles donneuses traitées recevant un traitement de super-ovulation à la FSH.

Dans le cadre d'un traitement de superovulation, il existe une forte corrélation ($r = 0,79$, $p < 0,001$) entre les concentrations plasmatiques en AMH et le nombre de follicules de 3 à 7 mm observés sur les ovaires par échographie (figure 3, MONNIAUX & al. 2010). La répétabilité individuelle dans le temps des concentrations en AMH est à mettre en parallèle avec la faible variabilité individuelle du nombre de follicules antraux présents au cours des vagues successives de croissance folliculaire.

Figure 3 : Relation entre la concentration plasmatique en hormone anti-Müllérienne (AMH), mesurée avant traitement de superovulation (T_0) et le nombre de follicules 3-7 mm chez 18 vaches Prim' Holstein (MONNIAUX & al., 2010)



L'AMH est aujourd'hui considérée comme le meilleur marqueur endocrinien pour la réponse ovarienne à la stimulation par les gonadotrophines. Etant donné la stabilité individuelle dans le temps des niveaux circulants, un seul dosage de l'AMH chez la génisse suffit pour prévoir la taille de la réserve ovarienne et le nombre de follicules de plus de 3 mm de chaque vague folliculaire. Néanmoins, compte tenu de la sécrétion par les follicules de 3 mm et plus, il est important de standardiser le moment du dosage par rapport aux vagues folliculaires (Jour des chaleurs et J12). Le dosage de l'AMH pourrait constituer une alternative au dénombrement par examen échographique (tableau 1).



Tableau 1 : Avantages et inconvénients d'un test AMH ou d'un comptage des follicules de 3 mm et plus à l'échographie pour identifier le potentiel individuel de femelles à répondre à une superovulation

Critère	Test AMH	Echographie ovarienne
Exactitude	Bonne	Bonne
Complexité de mise en œuvre (stade du cycle précis lors du test)	Oui (J0 et J12)	Idéalement à J3 ou J12*. Eviter les stades où il y a un gros follicule, masquant les plus petits
Précocité de mise en œuvre (possibilité de test avant la puberté ?)	Pas testé	Possible, mais la corrélation prépubère - adulte reste à établir
Réponse immédiate (« au cul de la vache ») ?	Non, échantillon de sang à envoyer au labo	Oui
Facilité d'inclusion dans une stimulation ovarienne	Doit être réalisé en amont de la mise en place du protocole de superovulation	Excellente. L'échographie peut être réalisée juste avant l'injection de la première injection de FSH
Coût	+++ (test et envoi)	+

* des follicules en développement sont présents à J3 et J12, que la vache suive un fonctionnement à 2 ou 3 vagues folliculaires

Les concentrations plasmatiques en AMH sont également utiles pour prévoir très tôt la production d'embryons de bonne qualité dans le cadre du transfert d'embryons (TE). Ainsi, des vaches considérées comme de "bonnes donneuses" (ayant produit plus de 10 embryons sur au moins une collecte) ont présenté, plusieurs mois avant la mise en place du protocole de T. E., des concentrations plasmatiques moyennes en AMH 2 fois plus fortes que les "mauvaises donneuses" (MONNIAUX & al., 2010).

De plus, plusieurs auteurs ont suggéré ou démontré que la fertilité de la vache (par insémination artificielle, en dehors de toute superovulation) est d'autant meilleure que son nombre de follicules antraux est élevé (MARTINEZ & al., 2016 ; ERICKSON 1966 ; tableau 2).

Tableau 2 : Performances de reproduction de vaches laitières (insémination artificielle, sans superovulation) en fonction du nombre de follicules antraux (MARTINEZ & al. 2016)

Paramètres	Nombre de follicules d'un diamètre ≥ 2 mm			Significativité
	Faible (≤ 20)	Intermédiaire (21 à 29)	Élevé (≥ 30)	
Nombre de vaches	200	137	104	
Comptage folliculaire moyen	14,4 ^a	24,4 ^b	38,5 ^c	p < 0,0001
Intervalle moyen Vêlage -IA1 (jours)	80,7	80,9	79,8	NS
Réussite en IA1 (%)	45,3 ^a	45,0 ^a	68,1 ^b	p = 0,0013
Taux de gestation à 6 semaines (%)*	67,3 ^a	56,4 ^a	81,9 ^b	p = 0,0011
Taux de gestation à 12 semaines (%)*	79,7 ^a	75,6 ^a	91,3 ^b	p = 0,0058

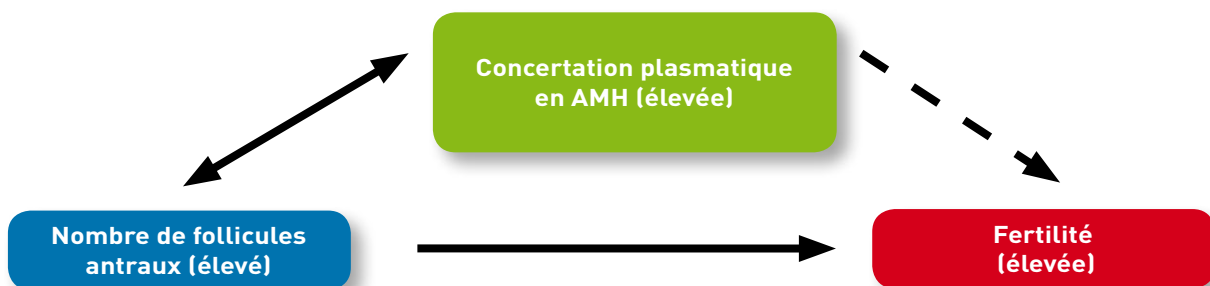
*après de début de la saison de mise à la reproduction

a, b, c : sur une même ligne, les valeurs avec une lettre différente en exposant sont significativement différentes (p < 0,05)



De ce fait, l'AMH pourrait constituer un indicateur global précieux des performances de reproduction chez la vache (schéma 3). D'après JIMENEZ-KRASSEL & al. (2015), environ 25% des vaches laitières se caractérisent par des valeurs (trop) basses en AMH.

Schéma 3 : Les liens (potentiels) entre concentration en hormone anti-Müllérienne (AMH) et fertilité chez la vache

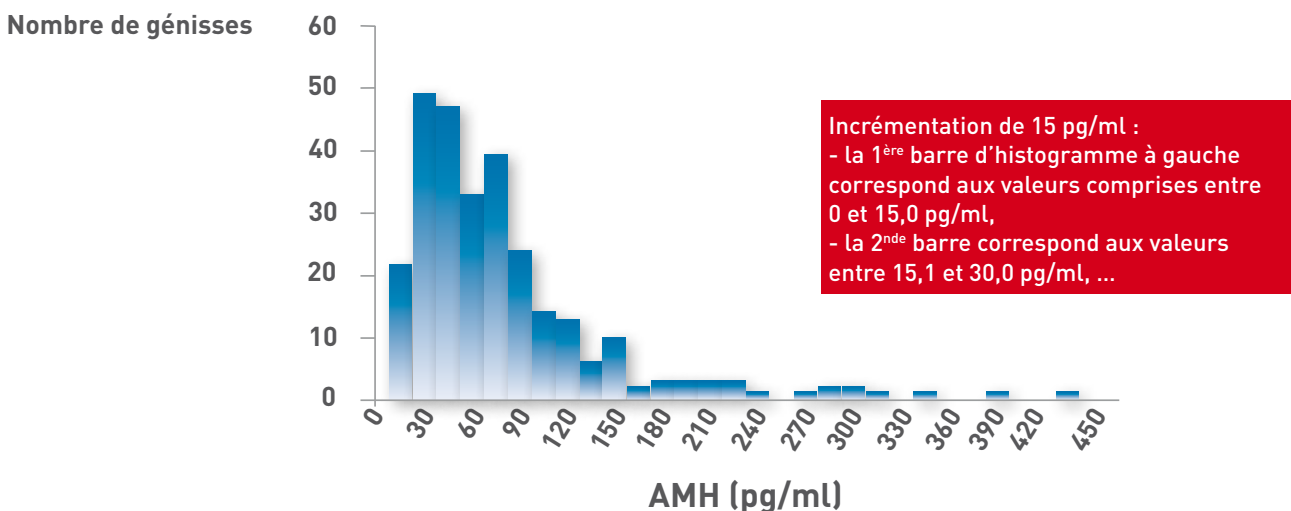


AMH et durée de vie productive chez la vache

Une vache dont les performances de reproduction sont correctes voit logiquement son risque d'être réformée pour infécondité réduit. De ce constat mathématique, toutes choses étant égales par ailleurs, il peut être déduit que ses chances d'être conservée dans le troupeau sont donc plus importantes que celles d'une femelle infertile. Les niveaux les plus élevés en AMH étant associés à une fertilité supérieure, il est alors pertinent de s'interroger sur les relations potentielles entre concentration plasmatique élevée en AMH et durée de vie productive chez la vache. Cette hypothèse a été testée à grande échelle aux USA par JIMENEZ-KRASSEL & al (2015). La concentration individuelle en AMH étant très répétable, les mesures ont été réalisées sur 245 génisses Holstein âgées de 11 à 15 mois. Les concentrations en AMH varient pendant le cycle œstral, le dosage a été effectué chez toutes les femelles 4 jours après un protocole de synchronisation à l'aide de 2 injections de prostaglandine F2 α espacées de 11 jours.

Les résultats obtenus (dosage sur le plasma avec le kit AMH Gen II de BECKMAN COULTER) ont confirmé la grande variabilité des concentrations en AMH entre individus, les valeurs s'étalant de 6 pg/ml à 440 pg/ml (figure 4).

Figure 4 : Distribution des concentrations en hormone anti-Müllérienne (AMH) chez 245 génisses Holstein âgées de 11 à 15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)





À la suite du dosage unique de l'AMH, les données concernant ces femelles ont été enregistrées pour la reproduction, la production de lait, la santé et les réformes sur 3 lactations, jusqu'à un âge approximatif de 5 ans pour les animaux encore présents.

Les femelles ont été classées en 4 groupes correspondant à la répartition en quartiles des valeurs initiales d'AMH. Les performances de production et de reproduction ainsi que les taux de réforme enregistrés ont été analysés et comparés entre ces 4 groupes (Tableau 3).

Tableau 3 : Nombre de lactations et durée de carrière productive selon la concentration en hormone anti-Müllérienne (AMH) à l'âge de 11 à 15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)

Paramètres	1 ^{er} quartile		2 ^{ème} quartile		3 ^{ème} quartile		4 ^{ème} quartile		p
	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne	
AMH (pg/ml)	62	19	59	41,8	58	68,9	66	153,2	
Lactations débutées	62	1,9	59	2,2	58	2,3	66	2,2	NS
Lactations terminées	62	1,2 ^a	59	1,5 ^a	58	1,7 ^b	66	1,5 ^a	0,03
Carrière productive* (jours)	59	578 ^a	53	771 ^b	56	778 ^b	62	702 ^c	0,01

*Femelles suivies jusqu'en début de 3^{ème} lactation, calcul à partir du 1^{er} vêlage

a, b, c : sur une même ligne, les valeurs avec une lettre différente en exposant sont significativement différentes ($p < 0.05$) ; NS : non significatif

Les génisses présentant les plus faibles valeurs initiales en AMH (premier quartile) ont eu des durées de carrière productive réduites, de 124 à 200 jours plus courtes que celles aux concentrations en AMH plus élevées.

Ces résultats rejoignent ceux de MOSSA & al. [2012], montrant que les vaches laitières avec les plus faibles populations de follicules d'un diamètre ≥ 3 mm à l'examen échographique (a priori celles aux plus faibles concentrations en AMH) font moins de lactations en comparaison à leurs congénères (1,9 lactation contre 2,6 lactations).

À la fin de la période d'observation dans l'essai de JIMENEZ-KRASSEL & al. [2015], il ne restait que 24% des génisses du lot "1^{er} quartile" contre 32% à 43% dans les autres lots (tableau 4).

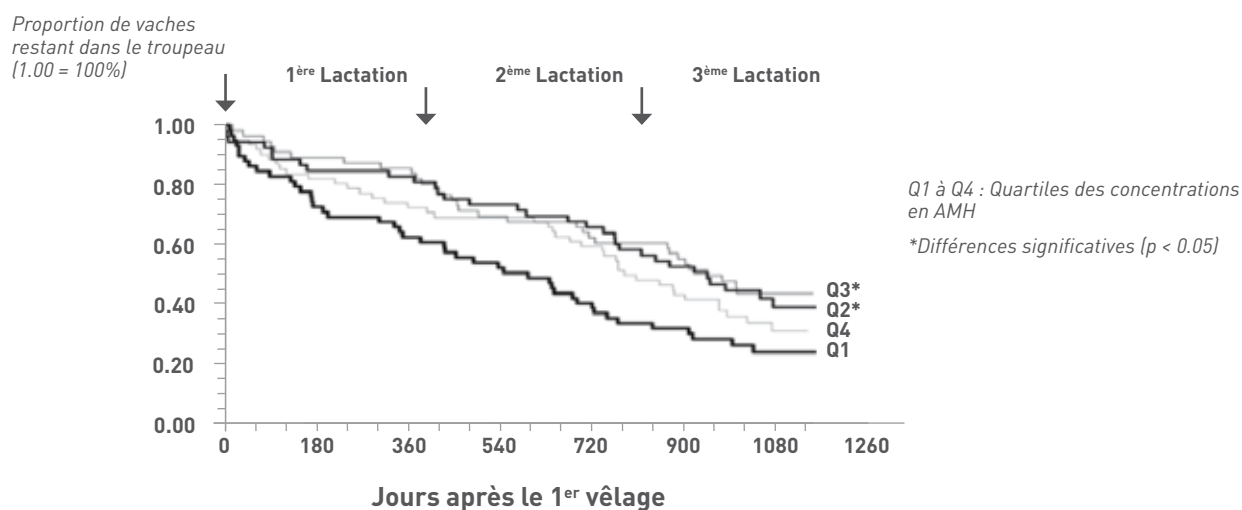
Tableau 4 : Nombre et âge (en jours) des femelles présentes à différentes échéances selon la classe de concentration en hormone anti-Müllérienne à l'âge de 11-15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)

Echéances	1 ^{er} quartile		2 ^{ème} quartile		3 ^{ème} quartile		4 ^{ème} quartile	
	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne
1 ^{ère} prostaglandine	62	421	59	421	58	419	66	422
1 ^{ère} insémination (génisses)	60	473	57	471	58	478	65	473
Fécondation (génisses)	60	506	56	507	57	505	65	508
1 ^{er} vêlage	59	785	53	788	56	789	62	789
2 ^{ème} vêlage	34	1183	41	1179	41	1184	46	1186
3 ^{ème} vêlage	22	1608	32	1603	35	1592	29	1559
Fin de l'étude	15 (24%)		22 (37%)		25 (43%)		21 (32%)	



Les courbes de survie des femelles de chacun des 4 lots encore présentes à différentes échéances sont présentées dans la figure 5. Après le 1^{er} vêlage, la probabilité d'être réformé dans le lot 'Quartile 2' (Hazard Ratio : HR = 0,57, p < 0,02) et dans le lot 'Quartile 3' (HR = 0,54, p < 0,01) est plus faible que dans le lot 'Quartile 1' ; elle tend à l'être aussi dans le lot 'Quartile 4' (HR = 0,72, p = 0,13). En d'autres termes, par exemple, le risque d'être réformé au cours des 3 premières lactations est réduit de 46% dans le lot 'Quartile 3' en comparaison aux femelles du lot 'Quartile 1'.

Figure 5 : Courbes de survie de femelles présentes sur l'exploitation selon la classe de concentration en hormone anti-Müllérienne (AMH) à l'âge de 11-15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)



L'étude des causes de réforme dans chacun des lots (infertilité, production insuffisante, mauvaise conformation, mammite, boiterie, mort, ...) a montré que le taux de réforme pour mauvaises performances de reproduction était significativement plus fort dans le lot 'Quartile 1', en comparaison aux 3 autres lots cumulés (36% contre 27%, p < 0,05 ; tableau 5).

Tableau 5 : Taux et motifs de réforme au cours des 3 premières lactations selon la concentration initiale en hormone anti-Müllérienne (AMH) à l'âge de 11-15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)

	1 ^{er} quartile		2 ^{ème} quartile		3 ^{ème} quartile		4 ^{ème} quartile	
	nombre	%	nombre	%	nombre	%	nombre	%
Nombre initial	62	100%	59	100%	58	100%	66	100%
Nombre final	15	24%	22	37%	25	43%	21	32%
Nombre de réformes	47	76%	37	63%	33	57%	45	68%
<i>dont dues à la reproduction</i>	22	36%	16	27%	11	19%	22	33%
<i>dont mortalité</i>	11	17%	11	19%	11	19%	10	15%
<i>dont santé générale</i>	5	8%	6	10%	4	7%	5	8%
<i>dont volontaire</i>	6	10%	3	5%	6	10%	5	8%
<i>autres</i>	3	5%	1	2%	1	2%	3	5%



L'étude détaillée des performances de reproduction sur la période de l'étude confirme la moindre fertilité et fécondité numériques dans le lot 'Quartile 1', la significativité statistique n'étant toutefois atteinte que pour le taux de gestation global (tableau 6).

Tableau 6 : Performances de reproduction au cours des 3 premières lactations selon la concentration initiale en hormone anti-Müllérienne (AMH) à l'âge de 11-15 mois (JIMENEZ-KRASSEL & al. 2015)

	1 ^{er} quartile		2 ^{ème} quartile		3 ^{ème} quartile		4 ^{ème} quartile	
	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne	nombre	moyenne
Intervalle entre vêlages (jours)	34	401	41	405	41	397	46	393
Intervalle Vêlage -IA1ère (jours)	59	143	53	136	56	135	62	138
Nombre d'IA par IA fécon-dante	49	2,8	49	2,6	51	2,7	53	2,5
Taux de gestation sur l'IA 1ère	49	28%	49	35%	51	33%	53	39%
Taux de gestation global	49	71% ^a	40	85% ^b	51	89% ^b	53	79% ^{ab}

a, b : sur une même ligne, les valeurs avec une lettre différente en exposant sont significativement différentes (p < 0,05)

Dans cet essai, les génisses d'1 an avec les concentrations en AMH les plus basses (1^{er} quartile) sont restées présentes en moyenne 6 mois de moins sur l'exploitation. Aux USA, le bénéfice d'un mois de longévité est chiffré entre 26 et 37€ environ (24 à 35 dollars, VanRADEN & COLE 2014). Remplacer dans l'étude de JIMENEZ-KRASSEL & al. (2015) une génisse du 1^{er} quartile par une génisse des quartiles 2 à 4 améliorerait de 172 jours la carrière productive, soit un gain de 147 à 214€.





CONCLUSION

Comme chez la femme, **l'AMH est aujourd'hui considérée chez les femelles de l'espèce bovine comme un excellent marqueur endocrinien de la réponse ovarienne à la stimulation par les gonadotrophines**. Les fortes variations de sa concentration entre animaux témoignent des différences importantes de leur potentiel à se reproduire naturellement (fertilité) ou en reproduction assistée (superovulation). En transplantation embryonnaire, l'AMH constitue un indicateur qui permet de **prévoir efficacement le nombre d'embryons de bonne qualité**, transférables sur des receveuses ou pouvant être congelés.

Plus généralement, il semble que l'AMH soit aussi un **indicateur des performances générales de reproduction**. De ce fait, les animaux aux plus faibles concentrations présenteraient un risque accru d'être réformés prématurément pour infécondité, comme en témoigne l'étude récente de JIMENEZ-KRASSEL (2015). Environ 25% des génisses présenteraient des valeurs en AMH trop faibles, incompatibles avec une bonne rentabilité.

Si ces résultats venaient à être confirmés, le dosage de l'AMH constituerait un moyen simple et précoce de prévoir la longévité des femelles laitières. La détermination de la durée de la carrière productive d'une vache avant même sa première mise à la reproduction en tant que génisse constituerait une information précieuse pour l'éleveur, avec des implications économiques importantes. Mais pour cela, il faudra disposer **d'une technique de dosage de l'AMH validée dans l'espèce bovine**.

En l'absence aujourd'hui d'une méthode d'analyse accessible pour l'AMH bovine, le dénombrement de la population de follicules d'un diamètre ≥ 3 mm au cours des vagues de croissance folliculaire peut constituer une alternative intéressante. Facile à mettre en œuvre grâce à l'échographie, son résultat donne une bonne indication de la taille de la réserve ovarienne de follicules et permet indirectement de prédire les performances de reproduction.

Même si cette sélection des génisses, par dosage de l'AMH ou dénombrement de la population de follicules d'un diamètre ≥ 3 mm, intervient avant le début de la carrière productive, elle ne peut être réalisée que sur des femelles pubères. Les données publiées manquent sur les femelles prépubères. Il serait intéressant d'étudier les corrélations des concentrations en AMH entre femelles prépubères et pubères, afin de savoir si une identification précoce des femelles d'"élite" (en termes de reproduction) est envisageable.

Que faire dans ces conditions des génisses identifiées pour leurs moindres performances ultérieures ? Les engraisser, faire du croisement industriel, les vendre à un tiers (ce qui peut être considéré comme éthiquement discutable sachant qu'elles sont présumées moins profitables), ... ? De plus, la mise à l'écart de certaines génisses jugées improductives nécessite de garder davantage de femelles pour l'élevage (ce qui est envisageable avec le développement du recours à la semence sexée).

L'idéal serait de pouvoir déterminer ce "statut productif" très tôt. La recherche et l'identification par génotypage de gènes associés à de plus fortes concentrations en AMH pourrait constituer une piste intéressante. En termes de sélection, alors que l'héritabilité des paramètres de reproduction est faible en général, celle du nombre de follicules d'un diamètre ≥ 3 mm, fortement corrélée à la concentration en AMH, est un caractère d'héritabilité intermédiaire (0,25 chez la génisse, 0,31 chez la vache pour WALSH & al., 2014). Il serait donc envisageable d'intégrer ce critère dans le calcul de l'index femelle.

Remerciements

Merci à Nathalie DI CLEMENTE (INSERM U1133, Paris 13^e) et Daniëlle MONNIAUX (INRA UMR85, Nouzilly) pour les informations fournies sur le dosage de l'AMH chez les bovins. Merci aussi pour leurs corrections et améliorations, ainsi qu'à Marc-Antoine DRIANCOURT (ASTEK consultants, Chateaufort sur Sarthe) et Sylvie CHASTANT-MAILLARD (Ecole nationale vétérinaire de Toulouse).



L'INFLAMMATION PERIPARTUM : AMIE ET ENNEMIE DE LA VACHE

Bien que pointée du doigt dans la plupart des maladies (en « -ite »), l'inflammation est pourtant une réponse normale - et au départ salutaire - de l'organisme face à l'invasion par un pathogène. Partie essentielle de l'immunité innée, cette réponse biologique a deux fonctions principales : d'abord éliminer le pathogène et ensuite initier la cicatrisation, la réparation des tissus endommagés. Néanmoins les cascades biologiques mises en œuvre lors de l'inflammation peuvent devenir délétères : l'inflammation fait intervenir la libération de facteurs solubles nommés cytokines qui provoquent l'activation des cellules blanches libérant des produits toxiques initialement destinés à détruire le pathogène, mais qui en grandes quantités peuvent léser les tissus de l'hôte. Les perturbations systémiques peuvent être à ce point importantes qu'on parle d'orage cytokinique.

L'immunité, en tant que système global, doit donc maintenir un savant équilibre entre une activité suffisante pour éliminer l'agresseur et un contrôle de la réponse afin de limiter les dégâts aux tissus de l'hôte. Une réponse inflammatoire efficace permettra l'élimination rapide du pathogène sans effet délétère pour l'hôte ; inversement, une réaction exagérée deviendra elle-même la maladie. Un bon exemple de réaction inflammatoire exagérée et devenant délétère par elle-même est la mammite coliforme.



Sylvie CHASTANT-MAILLARD
Unité de Reproduction
Ecole Nationale Vétérinaire
de Toulouse

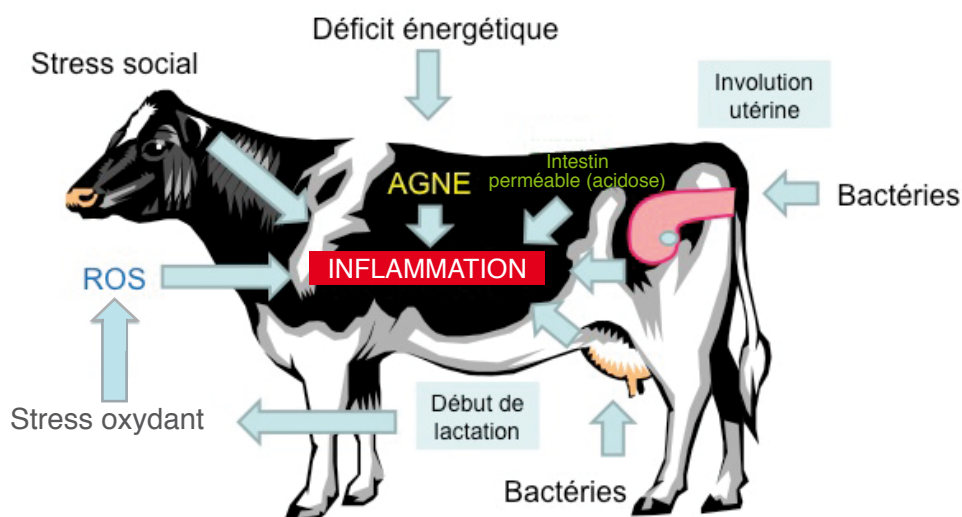


Photo 1. L'inflammation est un phénomène physiologique et nécessaire autour du vêlage.

La période post-partum n'est pas favorable à l'équilibre des systèmes pro- at anti-inflammatoires en raison d'un contexte physiologique très particulier. En effet, au cours des trois semaines avant le vêlage et jusqu'à trois semaines après (au cours de cette période nommée *période de transition*), les vaches laitières font face à des changements métaboliques importants : principalement un déficit énergétique et un stress oxydatif, souvent compliqués d'une acidose digestive et de stress social (figure 1). Ces facteurs placent la vache dans une situation pro-inflammatoire, avec un risque d'inflammation excessive en intensité et persistant dans le temps. En parallèle, l'inflammation reste quand même nécessaire à ce stade physiologique : elle est indispensable au déroulement du vêlage, à l'expulsion du placenta puis au contrôle des populations bactériennes qui viennent physiologiquement coloniser l'utérus après le vêlage et éventuellement la mamelle en ce début de lactation (photo 1). La difficulté pour la vache va donc être de laisser s'installer une inflammation nécessaire, tout en contrôlant son intensité et sa durée.



Figure 1 : Plusieurs facteurs du contexte peripartum placent la vache dans une situation pro-inflammatoire, voire induisent une inflammation systémique à plus ou moins bas bruit



Un contexte peripartum compliqué

Les deux principaux éléments de dérégulation de l'inflammation peripartum sont le déficit énergétique et le stress oxydant.

Le déficit énergétique est consécutif à l'augmentation des besoins en fin de croissance fœtale et lors de la mise en route de la lactogénèse alors qu'en parallèle, la quantité de matière sèche ingérée diminue. Le déficit énergétique est encore aggravé pour l'organisme de la vache par la priorisation du transfert de nutriments vers la glande mammaire : environ 85% du glucose disponible dans l'organisme est ainsi dirigé vers la mamelle et n'est donc plus disponible pour le métabolisme global. De même, une vache qui produit 30 litres par jour a besoin de 3 fois plus de protéines qu'une vache en fin de gestation ; cette augmentation du besoin en acides aminés est encore aggravée par leur utilisation par le foie comme substrats pour la néoglucogénèse. Le tissu adipeux est alors mobilisé comme source de dérivés énergétiques, entraînant une augmentation du taux circulant d'acides gras non estérifiés (AGNE). Ces AGNE et les corps cétoniques sont au départ des sources d'énergie importantes, qui viennent en compensation du glucose, presque totalement redirigé vers une utilisation mammaire.

Pour faire face à l'augmentation des besoins postpartum, la ration est souvent enrichie en amidon. La modification de la flore intestinale et ruminale associée s'accompagne d'une acidose plus ou moins marquée, responsable d'une augmentation de la perméabilité digestive (on parle de « leaky gut », ou intestin qui fuit). Le LipoPolySaccharide des parois des bactéries Gram négatif passe alors en plus grande quantité dans la circulation générale, où il est (logiquement, s'agissant d'un produit bactérien) à l'origine d'une inflammation systémique à bas bruit.

En parallèle, la mise en route de la lactation s'accompagne d'une augmentation du métabolisme cellulaire aérobie dans de nombreux organes (mamelle et foie en premier lieu) ; des dérivés réactifs de l'oxygène (ROS en anglais pour *Reactive Oxygen Species* : ions oxygène, radicaux libres, hydroperoxydes de lipides) sont libérés en grandes quantités. Or les défenses anti-oxydantes sont physiologiquement diminuées en période peripartum : les ROS accumulés sont alors susceptibles de causer des dégâts cellulaires et tissulaires, à l'origine d'une affection nommée « stress oxydatif ». Déficit énergétique (AGNE) et stress oxydatif (ROS) vont alors perturber l'immunité de la vache et exacerber les réactions inflammatoires.

AGNE et inflammation

Le lien entre taux d'AGNE circulants et maladie inflammatoire systémique est bien connu dans l'espèce humaine, en cas d'obésité ou de diabète de type 2 par exemple. Chez la vache, sur les 240 gènes différentiellement exprimés dans l'utérus selon que les vaches subissent un déficit énergétique élevé ou modéré, la moitié d'entre eux sont associés à des voies inflammatoires et immunitaires. L'association forte entre déficit énergétique et inflammation/infection existe donc également chez la vache.

Plusieurs mécanismes sont proposés pour expliquer comment les AGNE peuvent interférer avec la réponse inflammatoire, mais ils ne sont cependant pas encore élucidés. Ils affectent plus particulièrement la fonction de deux types cellulaires, celle des leucocytes et celle des cellules endothéliales par l'activation de la voie NFκB et la production de médiateurs pro-inflammatoire (encadré 1). La lipomobilisation produit ainsi des signaux pro-inflammatoires (tels que les cytokines *Tumor Necrosis Factor* TNFα et interleukine IL6) et un cercle vicieux s'installe : TNFα et IL6 renforcent la résistance à l'insuline, empêchant l'utilisation du glucose par les tissus, et exacerbant encore la lipolyse et la libération d'AGNE. L'induction expérimentale d'une inflammation chronique (par des infusions répétées de cytokines par des pompes) est associée à une diminution de la glycémie, et à des signes biologiques de lipolyse (augmentation du taux circulant de bêtahydroxybutyrate et d'AGNE, avec accumulation de lipides hépatiques) : les AGNE sont donc à la fois cause et conséquence de l'inflammation.

En parallèle, les AGNE sont également responsables d'une baisse de compétence des cellules blanches. Ces effets sont propres aux AGNE et ne sont pas partagés par le bêta-hydroxybutyrate, dont la concentration est également élevée dans le sang circulant en période peripartum. Les capacités fonctionnelles des neutrophiles du sang périphérique sont amoindries par les AGNE dès 2 à 3 semaines avant le vêlage, donc au cours de la période sèche (15 jours avant terme). Le taux d'AGNE circulant mérite d'être dosé pour évaluer la qualité de la ration et prédire le risque d'inflammation post-partum. Un taux circulant élevé en AGNE est un facteur de risque de mammite et d'infections utérines, avec un seuil d'alerte habituellement admis à 0,4 mmol/l entre 7-10 jours post-partum (photo 2).

La faible disponibilité en glucose, typique du peripartum, contribue encore à affaiblir les capacités des cellules blanches car macrophages et neutrophiles requièrent un apport considérable en énergie.



Photo 2. Le dosage des Acides Gras Non Estérifiés sur le sang en fin de tarissement permet d'évaluer la gestion du tarissement et de prédire le risque de survenue d'affections inflammatoires après le vêlage



ECHOGRAPHIE

par Sylvie CHASTANT MAILLARD, Reproduction, ENVT

Bibliographie

JIMENEZ-KRASSEL & al. J. Dairy Sci. 2015, 98 : 3036-3045

IRELAND & al. Biol. Reprod. 2008, 79 : 1219-1225

JOSSO & al. Médecine/Sciences 1987, 3 : 444-452 (http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/3717/MS_1987_8_444.pdf?sequence=1)

MONNIAUX. Colloque annuel de l'AETE, Saint Malo, 7 & 8 septembre 2012. Proceedings pp 7-40

MONNIAUX & al. Gynécologie Obstétrique & Fertilité 2010b, 38 : 465-470

AROUCHE & al. Theriogenology 2015, 84 : 1397-1404

LA MARCA & al. Human Reproduction 2006, Vol. 21, N°12 : 3103-3107

JOSSO & al. in : Genetic steroid disorders. Academic Press (Elsevier) 2014

Anonyme 2012 : www.biomnis.com/referentiel/lien-doc/precis/HORMONE_ANTI-MULLERIENNE.pdf

VISSER & THEMEN. Mol. Cell. Endocrinol. 2005, 234 : 81-86

KEVENAR & al. Endocrinology 2006, 147 : 3228-3234

WALLACE & al. Annals of Clinical Biochemistry 2011, 48 : 370-373

RICO & al. Biol. Reprod. 2011, 84 : 560-571

RICO & al. Biol. Reprod. 2009, 80 : 50-59

ERIKSON. J. Anim. Sci. 1966, 25 : 800-805

MARTINEZ & al. Theriogenology 2016, 85 : 466-475

PIGNY & al. Fertility and Sterility 2016, 105 (N°4) : 1063-1069

MOSSA & al. J. Dairy Sci. 2012, 95 : 2355-2361

VanRADEN & COLE. Animal Improvement Programs Laboratory, ARS-USDA 2014.

WALSH & al. J. Dairy Sci. 2014, 97 : 4503-4511

Une vache Rouge Flamande n'a pas été revue en chaleurs depuis son vêlage, il y a 110 jours. Elle est donc présentée pour induction des chaleurs. L'échographie utérine à l'aide d'une sonde linéaire par voie transrectale donne l'image ci-dessous. La taille des différents éléments se déduit de la comparaison avec l'échelle sur le côté droit de l'image (en centimètres).



(Unité de Reproduction, ENVT. Echographe MyLabOne, ESAOTE France).

Aucune zone anéchogène évocatrice de liquide n'est visible. Au contraire, on distingue clairement des lignes hyperéchogènes, de plusieurs millimètres d'épaisseur et de 1 à 3 centimètres de longueur. Ces lignes sont nettement délimitées et sont entourées de zones d'échogénicité tissulaire. **Il s'agit d'une momie**, un fœtus déjà ossifié, souvent vers 4 mois de gestation, mort in utero sans contamination bactérienne. Les liquides fœtaux ont été résorbés, une partie des tissus fœtaux se sont autolysés. Les zones hyperéchogènes correspondent à des rayons osseux du fœtus, qui eux ne peuvent être digérés et résorbés. Au contraire de l'image présentée ici, la plupart des momies provoquent une réflexion totale des ultrasons dès après leur traversée de la paroi utérine : rien n'est donc visible dans la cavité utérine.

La vache était donc porteuse de jumeaux et l'un d'entre eux est mort in utero sans perturber la suite de la gestation de son jumeau, qui a réussi à arriver à terme. La momie n'a pas été expulsée lors du vêlage. L'absence de cyclicité est liée à la présence de corps étrangers (os) dans l'utérus et aucun corps jaune n'est présent (anœstrus anovulatoire). Aucun traitement n'est envisageable. Une exploration de l'utérus en post partum immédiat aurait peut-être pu permettre d'identifier la momie et de l'extraire.

Signalons néanmoins que dans le cas de cette vache, la palpation transrectale suffisait à établir un diagnostic : une masse dure de consistance osseuse, non mobile dans la cavité utérine, était parfaitement identifiable dans la corne gauche.





Encadré 1

AGNE et inflammation : mécanismes potentiels

Activation de la voie NFκB

Dans les leucocytes et les cellules endothéliales, les AGNE peuvent activer le récepteur TLR4 (*Toll-like receptor 4*), qui reconnaît habituellement le LPS des bactéries Gram négatives. Cette fixation déclenche la réponse inflammatoire via la voie NFκB. Ils perturbent également la voie anti-inflammatoire faisant intervenir les récepteurs intracellulaires PPARγ (*Peroxisome Proliferator Activated Receptors gamma*) dans les monocytes.

Production de médiateurs pro-inflammatoires (eicosanoïdes)

Une autre voie par laquelle les AG peuvent interférer avec la réaction inflammatoire et immune est la biosynthèse des médiateurs lipidiques que sont les eicosanoïdes : prostaglandines, prostacyclines, leucotriènes, lipoxines et thromboxanes. Or les eicosanoïdes sont des modulateurs, positifs ou négatifs selon les molécules, des réactions inflammatoires. Les AGNE sont donc non seulement des substrats, mais également des modulateurs de la biosynthèse des eicoasanoïdes. Ainsi les AG saturés induisent l'expression de COX2 dans les leucocytes, alors que les omega 3 l'inhibent. Au cours de la période de transition, la proportion d'AG saturés augmentant et celle d'omega 3 diminuant, l'activité de COX2 se trouve augmentée, à la fois dans le sang circulant, la glande mammaire et l'utérus. En présence de fortes concentrations d'AGNE avec des profils typiques du peripartum (augmentation des AG saturés, diminution des omega 3), la production de cytokines proinflammatoires par les cellules vasculaires endothéliales augmente.

Diminution de l'activité phagocytaire et bactéricide des neutrophiles

Chez les vaches laitières, l'augmentation de la concentration circulante en AGNE au cours de la période peripartum cause des modifications notables à la fois dans le profil des AG plasmatiques, mais aussi dans le contenu en phospholipides des membranes cellulaires dans différents organes dont le foie et le tissu adipeux, et probablement comme c'est le cas chez la femme, dans les membranes des cellules blanches. La fonction de ces cellules s'en trouve alors affectée.

Stress oxydatif et inflammation

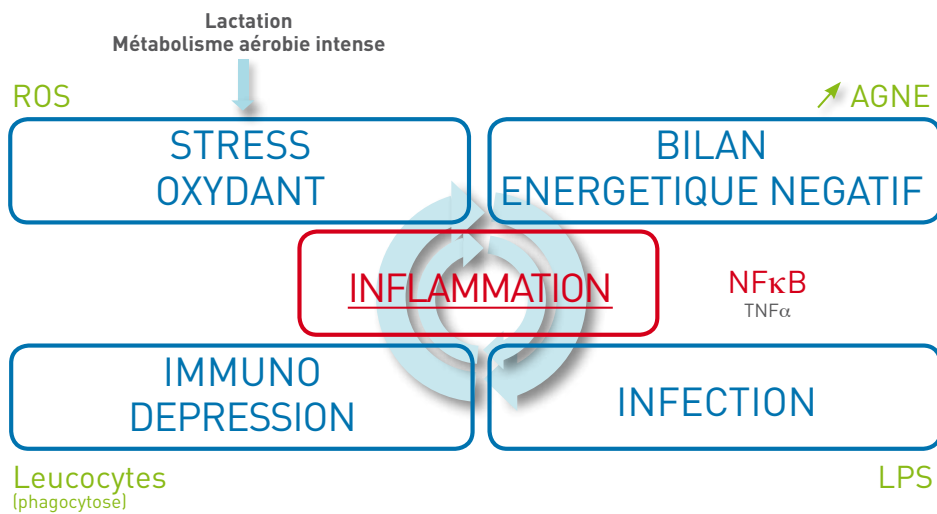
Le stress oxydatif contribue également au dysfonctionnement des réponses immunes et inflammatoires chez les vaches « métaboliquement stressées » au cours de la période peripartum. Les ROS activent le facteur de transcription NFκB, augmentant l'expression de plusieurs cytokines pro-inflammatoires (TNFα, interleukines IL1β, IL6 et IL8) et de molécules vasculaires d'adhésion (ICAM-1 - *Intercellular Adhesion Molecule 1* ; VCAM-1 - *Vascular Cell Adhesion Protein 1*) dans des populations immunes variées et par les cellules endothéliales chez la vache. Toutes ces molécules interviennent dans la réponse inflammatoire. Par exemple, VACM est essentiel pour la migration trans-épithéliale des leucocytes vers le site d'infection. Une forte activation de ces molécules d'adhésion peut donc provoquer des réactions inflammatoires excessives. Le stress oxydatif contribue ainsi à aggraver des signes cliniques, lors de mammite par exemple.

En plus du démarrage de la lactation, certaines situations aggravent le stress oxydatif. Par exemple, les vaches obèses (déjà à risque de lipolyse intense) ont de moindres réserves en antioxydants et sont donc plus susceptibles de développer un stress oxydatif et de présenter des signes inflammatoires importants. Toute situation infectieuse à bactérie Gram négatif, par la stimulation de TLR4, va augmenter la production de ROS. Outre leur effet propre, les AGNE activent la production de ROS par les leucocytes et les cellules endothéliales ; en retour, les concentrations élevées de ROS diminuent la fonction leucocytaire. Enfin, l'inflammation intense peut augmenter le métabolisme cellulaire et en retour exacerber le stress oxydatif.



Déficit énergétique et stress oxydant agissent donc en synergie pour aggraver l'état pro-inflammatoire de la vache peripartum, avec installation d'un cycle vicieux (figure 3). En pratique, le diagnostic puis la prise en charge du déficit énergétique dès le tarissement sont des moyens efficaces pour l'enrayer et diminuer l'incidence ou au moins la gravité des inflammations post partum. En France, environ 20 à 25% des vaches passent par un épisode de cétose subclinique au cours des trois premières semaines post partum.

Figure 3 : En période peripartum, un cercle vicieux s'installe entre déficit énergétique, stress oxydant, moindre compétence des cellules blanches et colonisation bactérienne



Si le contexte métabolique joue donc un rôle majeur dans la dérégulation de l'inflammation, interviennent également les stress sociaux (importants lors des changements de lot et de bâtiment en période de transition) et le fond génétique. Certaines lignées de vaches développent des réactions inflammatoires plus ou moins intenses et il est même possible de sélectionner les vaches selon leur aptitude à mobiliser leur immunité humorale ou cellulaire. Au total, la période post partum est une période à haut risque pour la vache, en particulier laitière, pour les maladies à composante inflammatoire : la moitié de la morbidité observée dans les troupeaux chez les bovins adultes l'est au cours des deux premières semaines post partum et la prévalence des maladies inflammatoires est élevée. Entre 5 et 20% des vaches développent une métrite, 35% des vaches une mammite, 30% une boiterie. En ce qui concerne l'appareil génital, entre 5 et 25% des vaches développent une endométrite clinique (4-5 semaines post partum), partie émergée des 30 à 50% atteintes d'endométrite/cervicite cytologique (4-8 semaines post partum).



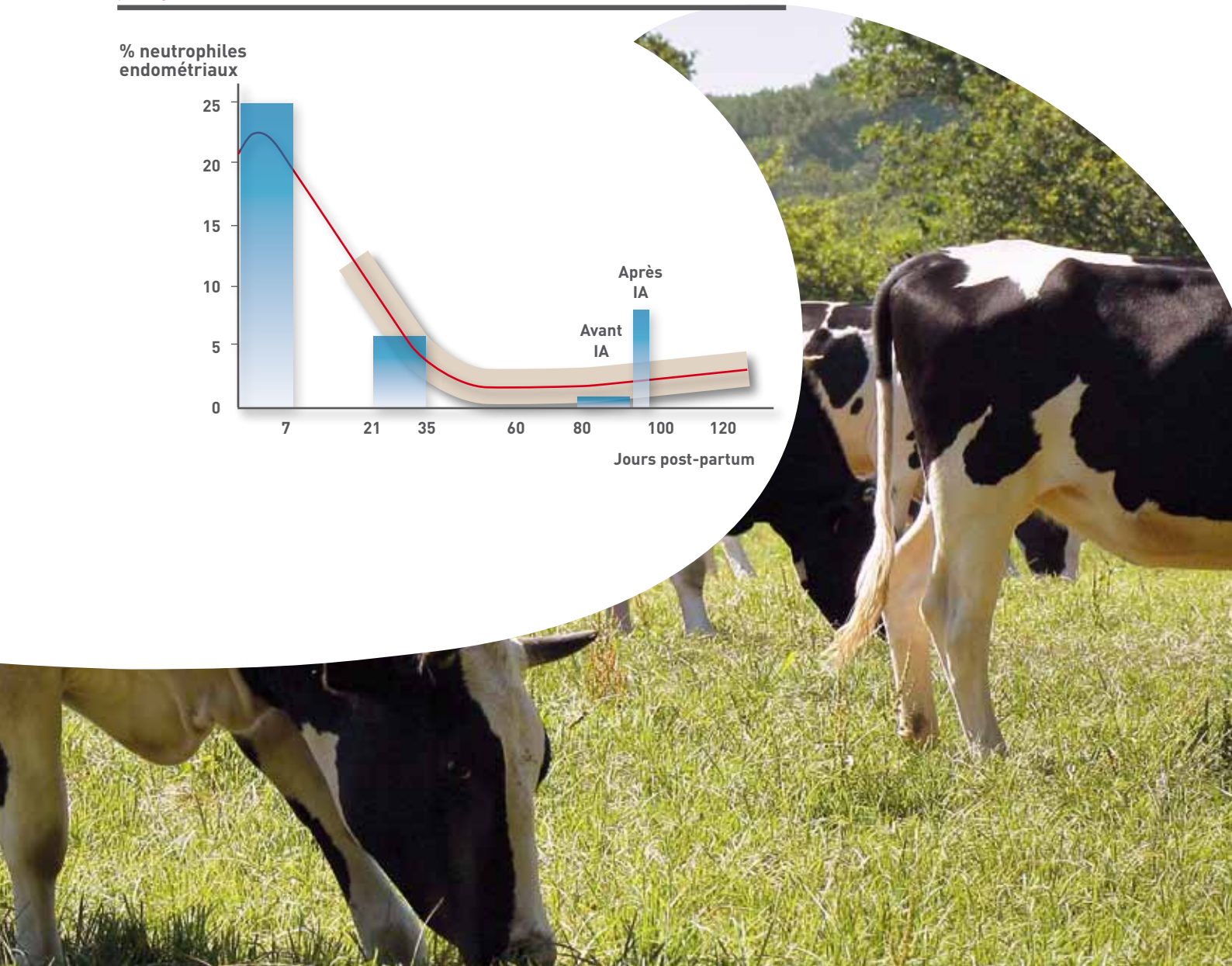
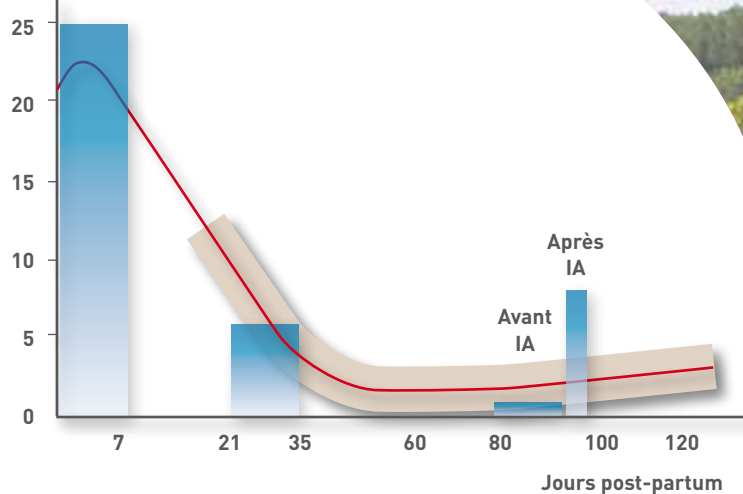


Santé génitale : inflammation positive ou négative ?

Malgré l'importance du contexte métabolique et environnemental dans leur régulation, le point de départ des inflammations du post partum est bien une invasion bactérienne. Immédiatement après le vêlage, la cavité utérine est envahie par des bactéries d'origine environnementale. Leur identification par des récepteurs TLR portés par l'endomètre induit une réaction inflammatoire utérine : plus le recrutement de neutrophiles est intense dès la première semaine postpartum (plus de 40% de neutrophiles sur un frottis endométrial), meilleures seront ensuite les performances de reproduction. Il est intéressant néanmoins de constater que même suite à une mobilisation cellulaire massive et efficace, l'utérus bovin ne redevient jamais stérile : plus de 1000 espèces bactériennes sont retrouvées dans des utérus sains, non inflammés. Si cette présence bactérienne n'empêche pas l'établissement d'une gestation, il est capital que l'inflammation ait disparu. Entre 21 et 35 jours postpartum, l'inflammation doit avoir diminué en dessous de 5% de neutrophiles sur un frottis endométrial, jusqu'à devenir nulle au moment où l'on souhaite inséminer la vache (figure 4).

Figure 4 : L'inflammation utérine doit devenir nulle vers 45 jours post partum. Elle doit être finement régulée : intense dès immédiatement après le vêlage, nulle avant l'insémination, elle doit être transitoirement réactivée après l'insémination pour garantir un bon taux de réussite de l'insémination

% neutrophiles endométriaux





Or chez plus de 50% des femelles, une inflammation persiste encore au moment de l'insémination, ce qui conduit à penser que l'inflammation est un des facteurs limitants majeurs de la réussite de l'insémination. Les produits de l'inflammation à eux seuls, indépendamment de toute bactérie, perturbent la fécondation et le développement de l'embryon. Inversement, après l'insémination, une inflammation, dite « post coïtale » a lieu de façon physiologique (dans toutes les espèces) : les taux de gestation sont meilleurs quand elle a lieu, mais pourvu qu'elle reste modérée.

L'inflammation génitale doit donc être finement régulée pour garantir les meilleures performances de reproduction : intense au cours de la première semaine post partum, elle doit être quasiment éteinte vers J21-35 puis totalement vers J60-90, pour être transitoirement et modérément réactivée après l'insémination. La santé génitale nécessite donc un fin pilotage des systèmes pro- et anti-inflammatoires, dont on a vu plus haut la précarité dans le contexte particulier du post partum. L'instabilité de cet équilibre s'illustre bien au travers des suivis de frottis endométriaux : certaines vaches qui avaient résolu leur inflammation dès 40 jours postpartum voient le pourcentage de neutrophiles endométriaux brutalement et massivement augmenté (jusqu'à 40%) ultérieurement (figure 5). Cette réactivation de l'inflammation post-partum témoigne probablement d'une rupture d'équilibre entre les deux systèmes régulateurs de l'inflammation. Elle explique aussi les cas où la vache a été déclarée saine lors de l'examen génital à J30 et pourtant se révèle « sale » lors de l'insémination (photo 3). Prendre en charge la santé génitale passe donc non seulement par un dépistage systématique de l'endométrite après J21, mais aussi par l'analyse de la ration et du rationnement dès le tarissement de façon à minimiser le déficit énergétique.

Figure 5 : Réactivation de l'inflammation post partum. Une vache saine vers J45 peut subir des épisodes d'inflammation génitale brutaux autour de la mise à la reproduction.

% neutrophiles endométriaux

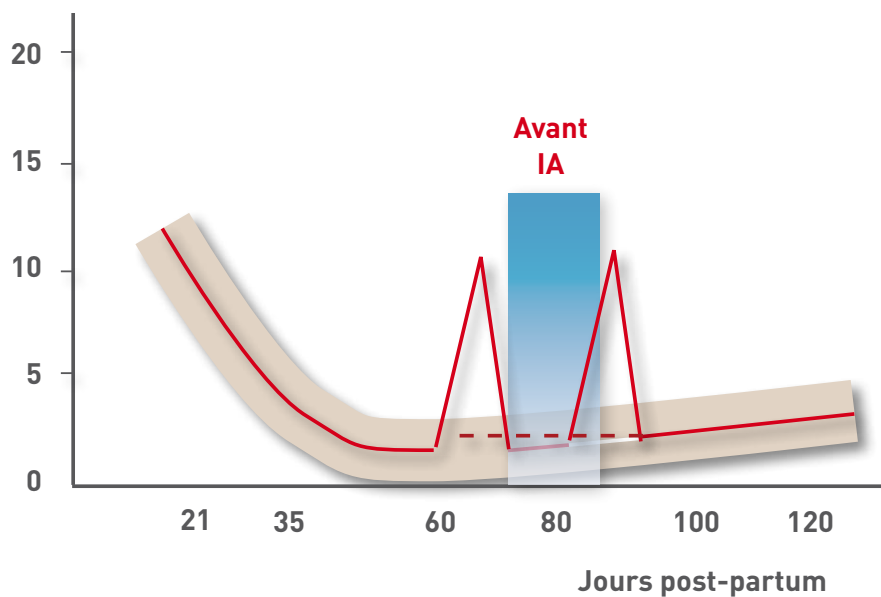




Photo 3. En raison des réactivations possibles, il est important d'effectuer un examen vaginal chez toute vache en période de mise à la reproduction pour rechercher une inflammation génitale.

«... l'inflammation
génitale doit donc
être finement régulée
pour garantir les meil-
leures performances
de reproduction ...»

Bibliographie

- Bradford BJ, Yuan K, Farney JK, Mamedova LK, Carpenter AJ. Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *J. Dairy Sci.* 98:6631-6650
- Contreras GA, Sordillo LM Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2011;34(3):281-289
- LeBlanc S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev.* 2010;56 Suppl:S29-35
- LeBlanc S. J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. *Animal* (2014), 8:s1, pp 54-63
- Leroy JL, Vanholder T, Van Kneysel AT, Garcia-Ispuerto I, Bols PE. Nutrient prioritization in dairy cows early postpartum: mismatch between metabolism and fertility? *Reprod Domest Anim.* 2008;43 Suppl 2:96-103
- Ospina PA, Overton TR, Nydam DV, Using Nonesterified Fatty Acids and b-Hydroxybutyrate Concentrations During the Transition Period for Herd-Level Monitoring of Increased Risk of Disease and Decreased Reproductive and Milking Performance. *Vet Clin Food Anim* 29 (2013) 387-412
- Sordillo LM 2005 Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science* 98:89-99
- Sordillo LM, Aitken SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;128(1-3):104-9
- Sordillo LM, Raphael W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization and inflammation on transition cow disorders. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2013;29(2):267-78
- Sordillo LM, Contreras GA, Aitken SL. 2009 Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Animal Health Research Reviews* 10(1):53-63
- Wathes DC, Cheng Z, Chowdhury W, Fenwick MA, Fitzpatrick R, Morris DG, Patton J, Murphy JJ. Negative energy balance alters global gene expression and immune responses in the uterus of postpartum dairy cows. *Physiol Genomics.* 2009;39(1):1-13

EN 2016, L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE FÊTE SES 70 ANS EN FRANCE



Archives de la Bergerie Nationale - Ecole d'insémination

Insémination artificielle avec un cathéter en verre

C'est suite aux travaux de LAPLAUD et CASSOU, à la Bergerie nationale de Rambouillet pendant la seconde guerre mondiale, que la technique d'insémination est mise au point pour les bovins. Les premiers veaux issus d'IA naissent en 1946.

L'insémination bovine a donc 70 ans en France. C'est l'occasion d'un rappel historique des principales dates des technologies de la reproduction, mises en œuvre chez la vache mais aussi dans les autres espèces. Nous y avons ajouté un tableau synthétique sur l'évolution des performances et des paramètres de reproduction des bovins au cours des 4 dernières décennies.

Remerciements

Un grand merci à Thierry POLLET pour la mise à disposition des photos "d'époque" et de son support de présentation lors de la journée commémorant les 70 ans de l'IA en France (Bergerie Nationale de Rambouillet, 14 octobre 2016).



LES GRANDES DATES DE L'INSÉMINATION ET DES TECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION DANS LES DIFFÉRENTES ESPÈCES

- 14^{ème} siècle** : insémination chez la jument pratiquée par les Arabes (?)
- 1780** : 1^{ère} insémination chez la chienne (SPALLANZANI, moine de son état, en Italie)
- 1789** : 1^{ère} grossesse issue d'une insémination intra-conjugale dans l'espèce humaine (HUNTER en Ecosse)
- 1884** : 1^{ère} insémination réussie issue d'un donneur chez la femme (PANCOAST aux USA)
- 1887** : 1^{ère} insémination sur jument en France, le sperme de l'étalon avait été collecté avec une éponge vaginale (REPIQUET)
- 1890** : premier transfert d'embryon, chez la lapine (HEAPE)
- 1900** : naissance suite à insémination artificielle de 3 poulains futurs "cracks" au Haras du Pin (LETARD & HELLO)
- 20^{ème} siècle (début)** : mise au point de la technique de "fécondation artificielle des animaux domestiques" en Russie (publication par IVANOV en 1907 puis mise en application par MILOVANOV chez les bovins à partir de 1920)
- 1935** : adoption de la technique d'IA bovine au Danemark
- 1938** : début de l'utilisation de l'insémination artificielle bovine aux USA ; 6282 centres d'insémination en URSS, plus d'un million de vaches déjà inséminées
- 1944** : premiers agneaux nés d'IA (LAPLAUD et CASSOU, Bergerie nationale de Rambouillet)
- 1945-1946 en France** : utilisation de l'IA chez les bovins, premières naissances de veaux après insémination artificielle (LAPLAUD et CASSOU) ; création de l'Ecole nationale d'insémination (Rambouillet), création du premier Centre d'insémination artificielle (à La Loupe, en Eure-et-Loir)
- 1954** : première fécondation in vitro en France, chez la lapine (DAUZIER & al.)
- 1978** : naissance de Louise BROWN, premier enfant conçu par fécondation in vitro (FIV) ; transfert embryonnaire dans l'utérus maternel (EDWARDS & STEPTOE)
- 1982** : naissance d'Amandine, premier bébé issu de FIV en France (FRYDMAN)
- 1996** : naissance de la brebis Dolly, premier mammifère issu de clonage de cellules somatiques adultes (WILMUT & CAMPBELL)

LES GRANDES DATES DE L'INSÉMINATION ET DES (BIO)TECHNOLOGIES DE LA REPRODUCTION BOVINE EN FRANCE

- 1944** : 1^{ère} collecte d'un taureau au vagin artificiel
- 1946** : 1^{er} veau issu d'IA
- 1949** : 1^{ères} paillettes plastiques pour remplacer les ampoules en verre (CASSOU)
- 1951** : collecte d'embryons
- 1961** : cryoconservation du sperme
- 1973** : cryoconservation des embryons
- 1981** : 1^{er} veau issu de Fécondation in vitro (FIV), mise au point des méthodes de maîtrise des cycles, superovulation
- 1988** : 1^{ère} OPU-FIV (OPU pour Ovum Pick Up = ponction transvaginale échoguidée d'ovocytes), sexage de l'embryon, échographie bovine (1^{ère} thèse vétérinaire : P. PARCOLLET 1990)
- 1990**
- 1992** : transfert d'embryon (après congélation/décongélation)
- 1995** : première publication sur le protocole "GPG", méthode synchronisation des chaleurs (Ovsynch, PURSLEY & al. 1995)
- 2004** : évaluation de la technique d'insémination profonde (jonction utéro-tubaire, VAN SOOM & VERBERCKMOES, Gand)
- 2008** : génotypage haut débit
- 2009** : début de l'utilisation de la semence sexée (suite à la mise au point de la technique de sexage des spermatozoïdes par JOHNSON au cours des années 1980)
- 2011** : génotypage des embryons
- 2016** : pistolet d'insémination-caméra (Alphavision®, IMV Technologies), pistolet d'IA profonde (Xtrem IA®, Elexinn)

Collecte d'un taureau
à la Bergerie nationale
de Rambouillet





Quelles évolutions des performances de reproduction des bovins au cours des 40 dernières années?

Tableau 1 : Evolution de quelques paramètres de reproduction au cours des 40 dernières années (adapté et complété à partir de CHASTANT-MAILLARD 2013)

	Il y a # 40 ans (1970-1982)	Aujourd'hui (2004-2016)	Source
Première ovulation après vêlage	vers 20 jours pp	28-33 jours	WILTBANK & al. 2006
Intervalle moyen entre 2 chaleurs	21 jours	22 jours	ROYAL & al. 2000, Le meilleur du ReproMag 2014
Inactivité ovarienne après 50 jours pp (anoestrus) (%)	5-10%	10-15%	DISENHAUS 2004
Cycles anormaux à 50-80 jours pp (toutes raisons) (%)	32%	44-52%	ROYAL & al. 2000, LEDOUX & al. 2011, CUTULLIC & al. 2012
Durée des chaleurs	18-24 heures	4-10 heures	DIESENHAUS & al. 2010
Acceptation du chevauchement pendant l'oestrus (%)	élevée (> 90% ?)	58-63%	ROELOFS & al. 2005, PONSART & al. 2006
Acceptations du chevauchement /oestrus	56	≤ 10	HURNIK & al. 1975, ROELOFS & al. 2005
Chaleurs silencieuses (%)	faible (< 5% ?)	14%	KERBRAT & DISENHAUS 2004
Ovulations décalées (%)	faible (< 5% ?)	8-22%	BLOCH & al. 2006, ROELOFS & al. 2005
Moment idéal d'insémination	entre 8 et 24 h*	entre 2 et 18 h*	ROELOFS & al. 2006, ...
Réussite à l'insémination (vaches Holstein)	44-48%** (1995)	33-40%**	HUMBLLOT & DRUET 2005, LE MEZEC 2014
Réussite à l'insémination (génisses laitières)	63-65% (1995)	55%	HUMBLLOT & DRUET 2005, LE MEZEC 2014
Non fécondation (%)	5%	5%	d'après CHASTANT-MAILLARD 2013
Mortalité embryonnaire précoce (%)	30%	43-45%	DISKIN & MORRIS 2008
Intervalle entre vêlages (Holstein)	375 jours	422 jours	HUMBLLOT & DRUET 2005, LE MEZEC 2014

* après le début de l'acceptation du chevauchement ; ** lactations 1 à 3

Bibliographie sélective

POLLET. Présentation dans le cadre de la journée « Innovations scientifiques et technologiques de la filière insémination, Rambouillet, 14 octobre 2016.

AUBRY. A propos d'une visite au Centre d'insémination artificielle de Rennes, NOROIS 1970, 68 (1) : 567-573

THIBIER. Rev. Sci. tech. Off. int. Epiz. 1993, 12(3) : 757-772 (<http://www.oie.int/doc/ged/D8749.PDF>)

HUMBLLOT & DRUET. Elevage et Insémination 2005, 330 : 23-27

JUSSIAU al. L'élevage en France : 10.000 ans d'histoire, Editions Educa-gri 1999, p368 (https://books.google.com/books?id=jEL_SFJKP6EC&pg=PA368&lpg=PA368&dq=insemination+artificielle+France+1946&source=bl&ots=xo-tsMy46c&sig=7Op3rLP7wiYNQ-3N9h6lO7wTYLM&hl=fr&sa=X&ved=0ahUKewino-SuvvjPAhXM2SYKHf1bDr0Q6AEIMzAA#v=onepag e&q&f=false)

CHASTANT-MAILLARD. 1973-2013 : 40 ans de reproduction bovine. Le Point Vétérinaire, nov. 2013, 340 : 56-59

PARCOLLET. Utilisation de l'échotomographie en gynécologie bovine. Thèse 90 - TOU3 - 4111 Ecole Nationale vétérinaire de TOULOUSE 1990, 156 p.

ROYAL & al. Animal Science 2000, 70 : 487-501

Wikipédia ; Insémination artificielle (https://fr.wikipedia.org/wiki/Ins%C3%A9mination_artificielle#Historique)

LE SAVIEZ-VOUS ?



0,19%

C'est le pourcentage de **taureaux porteurs testiculaires "chroniques" du virus BVDV en France**, observé sur 1033 taureaux séropositifs en 2006. Chez ces taureaux porteurs testiculaires, le virus BVDV peut persister plusieurs mois dans la semence, alors qu'il a disparu dans le sang et a provoqué une séroconversion.

POZZI & al, *Epidémiol. et santé anim.* 2008, 54 : 99-107

13%

C'est la prévalence de l'**endométrite subclinique chez des vaches "repeat breeders"**. Ce résultat provient d'une étude conduite en Autriche sur 121 vaches laitières (de race Simmental pour 78%) ayant fait l'objet de 3 inséminations ou plus sans succès. Le seuil de cellules neutrophiles utilisé pour qualifier le statut inflammatoire de l'endomètre était de 5% (les vaches présentant plus de 5% de cellules inflammatoires sur frottis endométrial étaient considérées atteintes).

Cet essai est le second à confirmer le rôle potentiel de l'endométrite subclinique en cas d'échec répétée de l'IA ; une étude conduite en 2010 sur 77 vaches Holstein fortes productrices, déjà inséminées 3,9 fois en moyenne, avait montré une prévalence de l'endométrite subclinique de 53% (au seuil de 3% de cellules polynucléaires).

POTHMANN & al. *Theriogenology* 2015, 83 : 1249-1253

SALASEL & al. *Theriogenology* 2010, 74 : 1271-1278

55%

C'est le pourcentage de **génisses parmi les veaux de race Montbéliarde nés en France en 2015**. Cette déviation du sex-ratio vers un excès de femelles est consécutive à l'expansion du recours à la semence sexée, en particulier dans cette race (28,2% des IA premières en 2014).

Avant le recours à la semence sexée, il naissait en moyenne 49% de femelles Montbéliardes.

LE MEZEC, Le point sur l'utilisation de la semence sexée en 2014, document Institut de l'Elevage (http://www.geniatest.com/assets/files/Sexage/IA2014_semsex_web.pdf)

LE MEZEC, Jusqu'où déviara le sex-ratio des naissances ?, document Institut de l'Elevage (<http://idele.fr/reseaux-et-partenariats/carbon-dairy-le-plan-carbone-de-la-production-laitiere/publication/idele-solr/recommends/le-point-sur-linsemination-en-semence-sexee-en-2015.html>)

230 000

C'est le nombre de **femelles laitières indexées en génomique en France au 1^{er} janvier 2016**. Grâce au génotypage, ces femelles disposent dès leur plus jeune âge d'index complets et précis utilisables pour la sélection.

Document Institut de l'Elevage 'Activités R&D en production Bovins lait', mars 2016, 10p.