
Existe-t-il des alternatives médicamenteuses équivalentes à l'hCG (human chorionic gonadotropin) pour induire l'ovulation chez la jument en Belgique ?

Auteur : Callebaut, Marie

Promoteur(s) : Deleuze, Stefan

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/20542>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.



**Existe-t-il des alternatives médicamenteuses équivalentes à
l'hCG (human chorionic gonadotropin) pour induire
l'ovulation chez la jument en Belgique ?**

**Are there any drug alternatives equivalent to hCG (human
chorionic gonadotropin) to induce ovulation in a mare in
Belgium?**

Marie Callebaut

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

ANNÉE ACADÉMIQUE 2023/2024

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur



**Existe-t-il des alternatives médicamenteuses équivalentes à
l'hCG (human chorionic gonadotropin) pour induire
l'ovulation chez la jument en Belgique ?**

**Are there any drug alternatives equivalent to hCG (human
chorionic gonadotropin) to induce ovulation in a mare in
Belgium?**

Marie Callebaut

Tuteur : Stefan Deleuze

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

Année académique 2023-2024

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Existe-t-il des alternatives médicamenteuses équivalentes à l'hCG (human chorionic gonadotropin) pour induire l'ovulation chez la jument en Belgique ?

Ce travail tente de présenter les problèmes associés à l'utilisation d'hCG dans l'induction de l'ovulation et les alternatives existantes pour un vétérinaire en Belgique en 2024.

Résumé :

Deux molécules sont disponibles pour induire l'ovulation en Belgique : l'hCG et la buséréline. L'hCG suscite l'attention des scientifiques car l'administration de cette molécule engendre la formation d'anticorps anti-hCG. Ce phénomène est très souvent cité lors de la suggestion de l'utilisation d'autres molécules. Les travaux de recherches qui existent et qui tentent de mettre en lien cette immunisation avec une diminution de l'efficacité du médicament concluent que ces deux événements ne sont pas corrélés. D'un autre côté, une diminution de l'efficacité au fur et à mesure des injections est mesurée. Différentes études s'accordent sur le fait qu'au-delà de deux injections successives d'hCG au cours d'une même saison de reproduction, son efficacité à induire l'ovulation diminue. Son efficacité peut cependant être corrélée à l'âge et à la saison. D'un autre côté, la buséréline peut également induire l'ovulation chez la jument. Le bémol est que la quantité de principe actif contenue dans un flacon est de 0,004mg/ml. Les études démontrent que l'utilisation de telles concentrations nécessite en moyenne 4 injections à 12 heures d'intervalles afin d'induire l'ovulation avec la même efficacité qu'une seule injection d'hCG. D'autre part, des travaux de recherches ont été réalisés afin de déterminer si une injection unique de buséréline en sous cutané pouvait induire l'ovulation et c'était le cas lorsque la solution injectée contenait entre 6mg et 0,125mg de buséréline. Cependant, avec les concentrations disponibles il n'est malheureusement pas possible d'atteindre de telles doses à moins d'injecter 31,5 ml à la jument. D'autres molécules peuvent être utilisées mais ne sont pas disponibles en Belgique. Par exemple, des implants d'acétate de desloréline (agoniste GnRH) sont commercialisés en Australie et aux USA afin d'induire l'ovulation chez la jument. Ils nécessitent d'être retirés 48h après la pose mais induisent l'ovulation avec la même efficacité que l'hCG. Ensuite, la triptoréline (agoniste GnRH) est disponible pour induire l'ovulation chez la truie mais sous forme de gel à administrer en intravaginal. Ce mode d'administration n'est pas efficace pour induire l'ovulation chez la jument mais une injection unique de 0,1mg de triptorelin l'est tout autant qu'une injection d'hCG. Pour finir, des recherches sont en cours sur d'éventuelles nouvelles molécules comme le kisspeptine (neuropeptide) et la reLH (LH recombinante équine).

Are there equivalent drug alternatives to hCG (human chorionic gonadotropin) to induce ovulation in mares in Belgium?

This work attempts to present the issues associated with the use of hCG in ovulation induction and the existing alternatives for a veterinarian in Belgium in 2024.

Abstract:

Two molecules are available to induce ovulation in Belgium: hCG and buserelin. hCG attracts the attention of scientists because the administration of this molecule leads to the formation of anti-hCG antibodies. This phenomenon is often mentioned when suggesting the use of other molecules. Existing research that attempts to link this immunization with a decrease in the drug's efficacy concludes that these two events are not correlated. On the other hand, a decrease in efficacy with successive injections has been measured. Various studies agree that beyond two successive injections of hCG during the same breeding season, its effectiveness in inducing ovulation decreases. Its efficacy can, however, be correlated with age and season. On the other hand, buserelin can also induce ovulation in mares. The downside is that the amount of active ingredient contained in a vial is 0.004 mg/ml. Studies show that using such concentrations requires an average of four injections at 12-hour intervals to induce ovulation with the same effectiveness as a single hCG injection. Furthermore, research has been conducted to determine if a single subcutaneous injection of buserelin could induce ovulation, and it was the case when the injected solution contained between 6 mg and 0.125 mg of buserelin. However, with the available concentrations, it is unfortunately not possible to reach such doses unless 31.5 ml is injected into the mare. Other molecules can be used but are not available in Belgium. For example, deslorelin acetate implants (GnRH agonist) are marketed in Australia and the USA to induce ovulation in mares. They need to be removed 48 hours after placement but induce ovulation with the same efficacy as hCG. Then, triptorelin (GnRH agonist) is available to induce ovulation in sows but in the form of a gel to be administered intravaginally. This mode of administration is not effective for inducing ovulation in mares, but a single injection of 0.1 mg of triptorelin is just as effective as an hCG injection. Finally, research is underway on possible new molecules such as kisspeptin (neuropeptide) and rLH (recombinant equine LH).

Remerciements :

Je remercie mon promoteur Stefan Deleuze de m'avoir guidée dans la réalisation de ce travail.

Je remercie également Patrick De Smedt de m'avoir introduite à ce sujet.

Merci aussi à Michèle Boelen, Charlotte Callebaut, Maxim Groeteclaes, Emeline Lemaire, Henri Pouillon et Hadrien Woods pour leurs corrections.

Table des matières

1. INTRODUCTION	7
1.1 Qu'est ce qui justifie l'utilisation d'un médicament induisant l'ovulation ?	7
1.2 Rappel de la physiologie de l'ovulation	9
1.3. Molécules qui induisent l'ovulation	10
2. LITTÉRATURE	12
2.1. Molécules disponibles pour induire l'ovulation en Belgique	12
2.1.1. HCG Human Chorionic Gonadotrophine	12
2.1.2. Buséréline	21
2.2. Autres alternatives pour induire l'ovulation chez la jument	27
2.2.1. Desloréline	27
2.2.2. La triptoréline	28
2.2.3. Recombinant LH équin	29
2.2.4. Neurotransmetteurs : Kisspeptine	29
3. DISCUSSION	31
4. CONCLUSION	35
Bibliographie	36

1. INTRODUCTION

1.1 Qu'est ce qui justifie l'utilisation d'un médicament induisant l'ovulation ?

Le domaine de la reproduction en médecine équine est très fortement étudié et le rôle du vétérinaire y est crucial. La plupart des juments étant inséminées artificiellement, il incombe au praticien de déterminer le moment opportun pour réaliser l'insémination afin d'assurer une fécondation et une gestation. Une des pratiques couramment utilisées en médecine équine est celle de l'induction de l'ovulation afin de pouvoir contrer les incertitudes liées à la prédiction du moment où la jument ovule. Plusieurs phénomènes sont à l'origine du caractère imprévisible de l'ovulation, notamment des particularités propres à la physiologie de la jument.

Tout d'abord, la jument est une espèce poly-oestrienne saisonnière, cela signifie que celle-ci va avoir plusieurs cycles ovariens au cours d'une même saison de reproduction. Ces cycles surviennent lorsque la luminosité a atteint un niveau suffisant, cela engendre une cascade de phénomènes physiologiques qui vont avoir une action sur la libération des hormones responsables des cycles de la jument. La saison va donc s'étendre de mi-mars à mi-septembre. En dehors de cette période, la jument entre en anœstrus saisonnier, phase où elle ne présente aucun cycle ovarien. De plus, il existe des périodes de transition telles que février et octobre, pendant lesquelles la jument peut présenter des cycles, mais ceux-ci sont souvent irréguliers et ne conduisent pas toujours à une ovulation (McKinnon et al., 2011).

Ensuite, si l'on veut justifier l'utilisation de médicaments induisant l'ovulation, il est nécessaire de comprendre les difficultés liées à la prédiction de son occurrence. Afin de mieux comprendre le schéma ci-dessous, rappelons les différentes phases d'un cycle ovarien (McKinnon et al., 2011):

- a) L'anœstrus : période sans activité ovarienne/ pas de cycle
- b) Le pro-œstrus : période où la femelle est en chaleur mais n'accepte pas la saillie
- c) L'œstrus : période où la femelle accepte l'accouplement
- d) Le metœstrus : période d'installation du corps jaune
- e) Le diœstrus : période de maintien du corps jaune et de production de progestérone afin de soutenir une éventuelle gestation

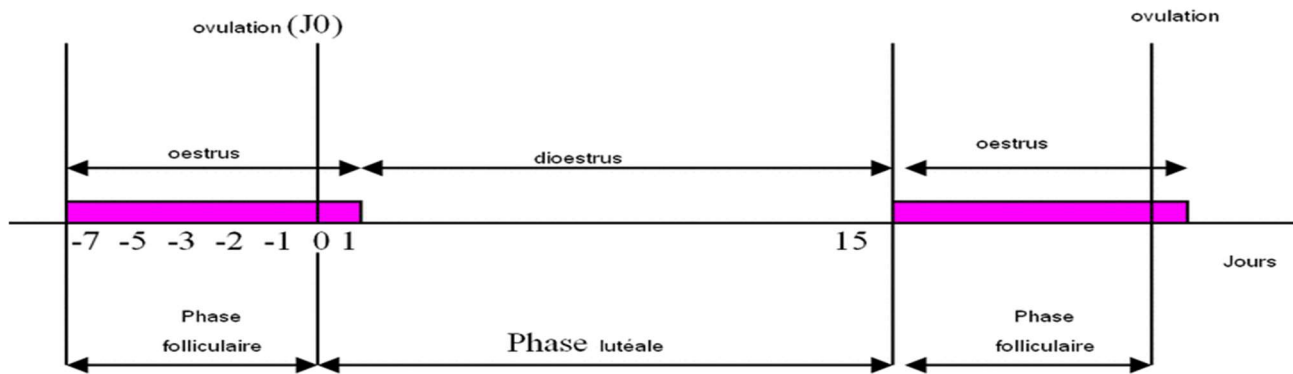


Figure 1 <https://equipedia.ifce.fr/elevage-et-entretien/elevage/jument/gestion-de-la-jument-reproductrice> Consulté le 15/05/2024

Comme on le voit sur ce schéma, les juments présentent une particularité dans l'identification des phases de leur cycle. Il y a donc une phase d'œstrus qui dure en moyenne 7 jours et au cours de laquelle a lieu l'ovulation et ensuite une phase de diœstrus qui elle dure en moyenne 15 jours (McKinnon et al., 2011). En effet, seules ces deux phases sont considérées car le pro-œstrus est très court et difficile à mettre en évidence chez la jument. Quant à la phase du met-œstrus, elle commence dès l'ovulation, c'est-à-dire 24 à 48 heures avant la fin de l'œstrus (McKinnon et al., 2011).

Lorsque la jument ovule, l'ovocyte est expulsé en métaphase II ce qui le rend donc immédiatement fécondable. Cependant, sa durée de fécondabilité n'est que de 12h à 24h (McKinnon et al., 2011). Le vétérinaire dispose donc d'une fenêtre d'intervention assez courte et doit agir avec précision pour inséminer la jument ou la mettre en contact avec l'étalon au moment optimal. Cela est rendu difficile à cause de plusieurs facteurs qui compliquent la prédiction de l'ovulation.

Tout d'abord, comme illustré dans la figure 1 ci-dessus, la durée de la phase folliculaire est généralement considérée comme étant de 7 jours, mais cette période peut varier d'un animal à l'autre. En effet, elle peut s'étendre de 2 à 14 jours, avec une moyenne de 7,6 jours (Allen and Wilsher, 2018). Cela signifie que l'on va avoir des grandes différences en fonction des juments concernant le jour où le moment est optimal pour les inséminer. En effet, une telle variabilité ne permet pas de pouvoir anticiper la fin de la phase folliculaire.

Une autre approche qui permet d'anticiper le moment de l'ovulation est de mesurer le follicule pré-ovulatoire grâce à un examen échographique transrectal. Cependant, il y a également une variabilité au niveau de la taille du follicule pré-ovulatoire qui peut aller de 35 mm à 60 mm avec une moyenne de 48mm (pouvant atteindre jusqu'à 80mm). L'aspect piriforme du follicule, sa consistance molle à la palpation et l'observation d'une paroi qui l'entoure sont également des critères d'anticipation de

l'ovulation (McKinnon et al., 2011). Toutefois, leur présence n'est pas absolue et il arrive que ces évènements ne soient pas observés.

Ces différents éléments mettent en évidence la difficulté pour le vétérinaire de prédire l'ovulation et donc le moment opportun pour la reproduction. Ceci va poser problèmes principalement lors des inséminations artificielles à cause de la longévité du sperme utilisé qui peut être frais (48h-72h), réfrigéré (24h-48h) ou congelé (12h-24h) (McKinnon et al., 2011).

On comprend bien qu'avec l'utilisation de sperme congelé la fenêtre d'action du vétérinaire est fortement réduite et que ces cas nécessitent un moyen de pouvoir agir sur le moment de l'ovulation afin d'augmenter les chances de fécondation. Or le sperme sous cette forme est très souvent utilisé dans le monde équin.

Evidemment, chaque cycle qui passe où la jument n'est pas gestante représente un coût pour le propriétaire étant donné les interventions du vétérinaire qui va devoir revenir et recommencer le protocole. A ces coûts s'ajoutent en fonction du sperme choisi, le transport, la récolte du sperme, la pipette, etc. Pour le vétérinaire également, les périodes de reproduction sont des périodes chargées en termes de quantité de travail. Il est donc intéressant pour les deux partis de limiter le nombre d'interventions afin d'avoir une jument gestante. De plus, dans certains domaines sportifs du monde équin, avoir un poulain né en fin de saison représente un gros désavantage étant donné que ceux-ci sont classés par catégories d'âges. Par conséquent, un poulain né en février (donc jument inséminée en mars) aura de gros avantages sur un poulain né en septembre (donc jument inséminée en octobre).

Tous les facteurs cités ci-dessus justifient l'utilisation par le vétérinaire d'un médicament qui permettrait d'induire l'ovulation.

1.2 Rappel de la physiologie de l'ovulation

Afin de pouvoir comprendre les subtilités des informations qui vont suivre, voici un rappel de la physiologie de l'ovulation.

L'ovulation est un phénomène physiologique en cascade. Tout d'abord, l'hypothalamus va produire de la GnRH (gonadotropine releasing hormone), qui est une gonadolibérine. La GnRH est un petit peptide de 10 acides aminés qui est commun à toutes les espèces. Lors de sa libération, cette molécule va aller se fixer sur des récepteurs présents sur l'hypophyse. Cette fixation va engendrer la production de différentes hormones dont la LH et la FSH. La libération de GnRH se fait sous formes de pulses et

en fonction de la fréquence de ces pulses on aura soit une production de LH (fréquence élevée), soit une libération principale de FSH (fréquence faible)(McKinnon et al., 2011).

La LH (hormone lutéinisante) et la FSH (hormone folliculostimulante) sont produites par l'hypophyse antérieure et agissent au niveau des gonades, ce sont des gonadotropines. La FSH va induire la croissance folliculaire et la sélection d'un follicule pré-ovulatoire. Elle engendre également une augmentation de la production d'œstrogène qui exerce un retro contrôle positif sur la LH. Les pulses de GnRH augmentent au fur et à mesure du cycle et engendrent une stimulation plus importante de l'hypophyse qui va à son tour libérer la LH sous forme d'un pic. Une des particularités chez la jument dont on ne connaît pas bien la raison, est que la concentration maximale atteinte par ce pic de LH a lieu après l'ovulation. La LH va induire l'ovulation, la maturation de l'ovocyte, la mise en place du corps jaune et la production de progestérone. (McKinnon et al., 2011)

1.3. Molécules qui induisent l'ovulation

L'induction de l'ovulation peut donc se dérouler grâce à deux types de molécules différentes :

- Les molécules de type gonadolibérine qui sont donc des molécules qui vont stimuler la libération de gonadotropes par l'hypophyse (McKinnon et al., 2011). La GnRH et la busérelène, desloréline, gonadoreline qui sont des dérivés synthétiques ("VetCompendium - Gonadotropines et médicaments agissant sur leur libération HSR," n.d.).

- Les molécules de type gonadotrophines qui vont agir au niveau des gonades c'est-à-dire l'hormone lutéinisante LH et l'hormone folliculostimulante FSH (McKinnon et al., 2011). L'eCG (equine chorionic gonadotropin) et l'hCG (human Chorionic Gonadotropin) sont également des gonadotropines mais d'origine placentaires ("VetCompendium - Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération HSR," n.d.).

Les seules molécules disponibles induisant l'ovulation chez la jument cyclée pour un vétérinaire belge sont l'hCG et la busérelène ("VetCompendium - Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération HSR," n.d.). Un médicament contenant de la gonadoreline et disponible pour les chevaux est présent sur le marché mais il n'est pas indiqué pour induire l'ovulation ("VetCompendium - GONAVET VEYX 50 mcg/ml sol inj bovins, porcs, chevaux," n.d.).

L'hCG comme énoncé, est l'human chorionic gonadotropin. C'est une hormone produite par le placenta de femmes enceintes et qui est récupérée à partir d'urines filtrées et purifiées (Panić-Janković and Mitulović, 2019). Lorsqu'elle est injectée à la jument elle se fixe sur les récepteurs à LH dû au fait qu'elle ait une structure similaire et induit l'ovulation. Cette molécule est utilisée à ces fins depuis plus

de 50 ans. Le médicament générique, Chorulon® (INTERVET), possède une autorisation de mise sur le marché depuis le premier janvier 1971 (“VetCompendium - CHORULON,” n.d.). Comme il le sera décrit plus tard, cette molécule est considérée comme controversée car elle entraîne la formation d’anticorps chez la jument ce qui en diminuerait l’efficacité selon les scientifiques promouvant l’utilisation d’autres molécules ((Levy and Duchamp, 2007; Newcombe and Cuervo-Arango, 2017). D’un autre côté, la seule autre molécule disponible à cet effet, la buséréline, rencontre également des détracteurs car sa capacité à induire l’ovulation avec les doses présentes sur le marché nécessite d’injecter la jument plusieurs fois (Harrison et al., 1991).

Le premier objectif de ce travail est de rendre compte de la littérature concernant ces deux molécules en analysant leur efficacité et les reproches qui leur sont faits. Nous aborderons dans un premier temps les raisons qui justifient l’utilisation d’une autre molécule que l’hCG en présentant la littérature rendant compte de son efficacité et de l’impact de l’immunisation des animaux sur celle-ci. Ensuite, nous verrons la littérature concernant l’efficacité de la buséréline en fonction des protocoles d’administration (injections multiples/ injection unique) et nous comparerons les résultats obtenus avec ceux de l’hCG lorsque cela est disponible. Pour finir, nous passerons en revue d’autres molécules qui sont capables ou pourraient prochainement induire l’ovulation chez la jument cyclée mais qui ne sont soit pas disponibles en Belgique, soit en phase de recherche.

2. LITTÉRATURE

2.1. Molécules disponibles pour induire l'ovulation en Belgique

Lors de la volonté pour un vétérinaire Belge d'induire l'ovulation chez une jument cyclée, deux options s'offrent à lui. Il peut soit administrer de l'hCG, soit de la buséreline. La littérature qui suit rassemble les travaux de recherches concernant chacune de ces molécules et met en lumière leurs points forts et leurs points faibles.

2.1.1. HCG Human Chorionic Gonadotrophine

- Utilisation de l'hCG

Une étude réalisée en 2017 demandant à des vétérinaires praticiens européens (n= 46) de répondre à une enquête concernant notamment le choix préférentiel de molécule induisant l'ovulation chez la jument cyclée a mis en évidence ceci (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017) :

TABLEAU 1 (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017)

Type of drug selected as a first (most frequently used) or second choice for induction of ovulation.

Drug	hCG ^a	Deslorelin Implant ^b	Deslorelin Injectable ^c	Buserelin Single Tx ^d	Buserelin Multiple Tx ^e
1st choice	91.3	4.3	0.0	4.3	0.0
2nd choice	11.8	64.7	17.6	0.0	5.9

Abbreviation: hCG, human chorionic gonadotropin.

The percentages were obtained from a total of 46 responses from veterinary surgeons practising in Europe.

^a Human chorionic gonadotrophin administered as a single dose of 1,500 IU (53.8%), 2,500 IU (38.4%), or 3,000 IU (7.7%).

^b 2.1 mg subcutaneous implant of deslorelin (Ovuplant, Dechra).

^c Deslorelin injectable imported from overseas (not specified dose or commercial brand).

^d 0.5–1 mg of injectable buserelin (Suprefact, Sanofi-Aventis) as single treatment (Tx).

^e 20 µg injectable buserelin (Receptal, MSD Animal Health) administered four times every 12 hours; 26.1% of surveyed veterinary surgeons did not use any drug as second choice.

Comme on peut lire sur ce tableau (**TABLEAU 1**), le premier choix le plus utilisé pour induire l'ovulation était l'hCG à 91,3%. Cette information nous permet de nous rendre compte de l'importance de cette molécule dans le domaine de la reproduction en médecine équine. Une autre question posée dans cette étude demandait à ces mêmes vétérinaires de donner un avis sur l'efficacité du médicament choisi en premier choix pour induire l'ovulation dans les 48 heures. Les vétérinaires utilisant l'hCG en première intention ont estimé l'efficacité comme étant excellente (5,5%), bonne (67%), juste (22%) ou mauvaise (5,5%).(Newcombe and Cuervo-Arango, 2017).

Le résumé des caractéristiques du produit indique qu'une injection de 1500 à 3000 UI du produit en intra veineuse du Chorulon® (INTERVET INT). Un flacon contient 5ml et 1500 UI d'hCG et permet l'induction de l'ovulation chez la jument. Il est conseillé de réaliser l'administration avant la saillie. Il

n'est pas précisé dans quel intervalle de temps ce phénomène se produit. Les effets négatifs indiquent une possible réaction anaphylactique en raison de la nature protéique de l'hCG. ("VetCompendium - CHORULON," n.d.).

- Origine de la controverse concernant l'efficacité de l'hCG à la suite d'injections répétées

En effet, l'utilisation de l'hCG suscite beaucoup d'attention car une controverse existe quant à l'efficacité de cette molécule à la suite d'injections répétées. En lisant les études sur d'éventuelles alternatives à l'hCG pour induire l'ovulation chez la jument cyclée, on constate que la plupart de ces recherches sont justifiées par des travaux antérieurs ayant mis en évidence une irrégularité dans la réponse à ce traitement après plusieurs utilisations étant donné la présence d'anticorps.

"However, it is known that after repeated administration of hCG, some mares develop antibodies that significantly reduce the efficacy of hCG (Roser et al 1979; Sidiqui et al 2008)" (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017).

"However, it has been reported on several occasions that repeated hCG administration during a breeding season reduces the efficacy of inducing ovulation (McCue et al. 2004). It has also been demonstrated that mares with high levels of anti-hCG antibodies do not ovulate at the expected time after hCG injection (Duchamp et al. 1987)." (Levy and Duchamp, 2007).

Comme cela a été exprimé dans l'introduction, l'hCG est utilisée depuis près de 50 ans pour induire l'ovulation ("VetCompendium - CHORULON," n.d.). Les études concernant son efficacité sont donc principalement datées des années 1960-2000. Ce sont tout de même celles-ci qui sont référencées lors de l'expression de l'inefficacité du médicament dans les travaux qui suggèrent l'utilisation d'autres molécules.

La première étude rapportant une inefficacité date de 1973 et fut réalisée par Sullivan et compagnie (Sullivan et al., 1973). Elle ne m'a pas été disponible à la lecture mais est citée comme ceci dans d'autres travaux de recherche : « Sullivan et al. was the first to report that the efficacy of hCG was reduced when administered more than twice during a single breeding season. In that study, ovulation did not occur within a precise time interval after the third administration of hCG, and the mean duration of estrus was lengthened." (McCue et al., 2004).

Cependant, et fort heureusement, cette découverte a été approfondie par d'autres chercheurs qui ont tenté de mettre à nouveau cela en évidence et d'en identifier les causes. Effectivement, des chercheurs ont confirmé que lors de traitements consécutifs à l'hCG sur trois cycles, les juments traitées présentaient un œstrus plus long et ovulaient plus tard (Voss et al., 1975). Ils ont tout de même conclu

que le nombre d'inséminations par cycle pour avoir une gestation était moins élevé chez les juments traitées que chez le groupe contrôle. En 1979, toujours motivés par la compréhension du phénomène qui expliquerait les résultats des chercheurs précédents, une nouvelle étude souligne le fait que les juments injectées avec de l'hCG possèdent des anticorps anti-hCG. Ce sont eux qui sont donc à l'origine de cette découverte très souvent mise en évidence par les détracteurs de l'hCG (Roser et al., 1979). Cet article n'est pas libre d'accès et il ne m'a pas été permis d'accéder à son contenu. Cependant, un autre article de revue scientifique résume les éléments qui ont été constatés dans cette étude (Yoon, 2012). En effet, il explique que Roser et ses collaborateurs (2009) ont découvert la présence d'anticorps anti-hCG après en avoir injecté et suivi 12 juments au cours de deux saisons de reproduction. Ces anticorps étaient présents dès la première saison de reproduction chez 5 des 12 juments après 2 à 5 injections. Toutefois, les scientifiques n'ont pas pu établir de lien entre la présence de ces anticorps et la diminution de l'efficacité de l'hCG après plusieurs injections au cours d'une même saison (Roser et al., 1979; Yoon, 2012).

- *Efficacité de l'hCG à la suite d'injections répétées et de l'avancement de la saison*

Toutes ces découvertes ont poussé de nombreux chercheurs à réaliser un travail de recherche qui mettrait en lien la présence d'anticorps avec le dit allongement de l'œstrus et du temps mis par la jument pour ovuler post injection d'hCG (Sullivan et al., 1973; Voss et al., 1975). Ce fut le cas de chercheurs américains qui, à partir de 30 juments reproductrices, vont tenter de mettre en évidence la diminution de la réponse au traitement à l'hCG lors d'injections répétées (Wilson et al., 1990). Ces chercheurs ont injecté (2500 IU hCG) 14 juments durant plusieurs cycles au cours de deux saisons différentes (1987 et 1988) dès qu'un follicule de 35mm était mesuré à l'échographie transrectale. Ensuite, à la fin de la seconde saison celles-ci ont été saillies. Les juments restantes (16) ont servi de groupe contrôle (Wilson et al., 1990).

Premièrement, ils ont tenté de mettre en évidence l'allongement de l'œstrus mentionné précédemment. Comme on peut le remarquer sur le **TABLEAU 2**, durant les trois premiers cycles de chaque saison, les juments traitées présentaient un œstrus significativement ($p < 0,1$) plus court que le groupe contrôle. Cependant, durant les 4^{ème} et 5^{ème} cycle, en 1987 et 1988 il n'y avait pas de différence significative concernant la durée de l'œstrus entre les deux groupes. De plus, les chercheurs ont observé une augmentation de la durée de l'œstrus significative au cours de la période de traitement durant les 4^{ème} et 5^{ème} cycles de 1987 (Wilson et al., 1990).

TABLEAU 2 : Mean duration of œstrus and standard errors in HCG treated mares and untreated control mares. (Wilson et al. 1990)

Cycles	Mares		
	Treated 1987 (days)	Treated 1988 (days)	Controls 1987,1988 (days)
1	^{a,b} 4.1±0.3 n=14	^a 4.2±0.4 n=14	5.0±0.3 n=16
2	^{a,b} 4.5±0.3 n=14	^a 4.5±0.3 n=14	5.1±0.2 n=14
3	^{a,b} 4.0±0.3 n=14	^a 3.8±0.4 n=5	5.4±0.5 n=10
4	^b 3.9±0.3 n=14	4.8±0.9 n=4	4.5±0.4 n=4
5	^b 5.2±0.3 n=14	5.0±0.5 n=3	5.0±0.0 n=1

^aIndicates treated mare values which tended to differ from controls ($P < 0.10$).
^bIndicates treated mare values which tended to increase over time from cycle 1 to 5 ($P < 0.10$).

Ensuite, les chercheurs ont voulu observer l'évolution du temps mis par la jument pour ovuler après plusieurs injections d'hCG au cours d'un même cycle. De façon générale, 75,5% des juments traitées ovulaient en moins de 48h. Ils ont également analysé le temps d'ovulation mis par les juments non traitées lorsque celles-ci présentaient un follicule de 35mm et 40% ovulaient en moins de 48h. Celles-ci sont donc des ovulations dites spontanées. Par ailleurs, une augmentation significative du temps mis pour ovuler a été observée au cours du traitement des 5 cycles de 1987 (**TABLEAU 3**). En 1988, le temps mis pour ovuler était significativement plus court chez les juments traitées par rapport aux contrôles mais seulement durant les deux premiers cycles. Aucune augmentation du temps d'ovulation n'a eu lieu ni en 1988, ni sur la période globale entre 1987 et 1988 (Wilson et al., 1990).

TABLEAU 3 : Mean duration of ovulation times (35mm follicle to ovulation) and standard errors in hCG treated mares and untreated control mare. (Wilson et al., 1990)

Cycles	Mares		
	Treated 1987 (hours)	Treated 1988 (hours)	Controls 1987, 1988 (hours)
1	^{a,b} 44.6±2.2 n=14	^a 53.1±7.3 n=14	75.0±9.0 n=16
2	^{a,b} 49.7±3.7 n=14	^a 59.1±8.8 n=14	90.1±10.0 n=14
3	^{a,b} 51.4±5.9 n=14	62.4±14.6 n=5	76.8±10.6 n=10
4	^{a,b} 54.9±8.2 n=14	63.0±17.7 n=4	76.0±5.2 n=4
5	^{a,b} 75.4±9.0 n=14	88.0±17.3 n=3	96.0±0.0 n=1

^aIndicates treated mare values which differed from controls ($P < 0.01$).
^bIndicates treated mare values which increased over time from cycle 1 to 5 ($P < 0.01$).

Pour résumer, ce travail met en évidence qu'il n'y a pas d'augmentation du temps mis pour ovuler lors de traitement sur deux saisons consécutives et que la réponse au traitement peut varier à partir de la troisième injection successive. En conclusion, les scientifiques estiment que l'administration d'une seule dose d'hCG est plus efficace que lorsque l'on en administre de manière consécutive, et conseillent de limiter à deux par saison. Toutefois, d'un point de vue global, 75,5 % des juments traitées ont tout de même ovulé dans les 48 heures suivant l'injection d'hCG (Wilson et al., 1990).

Ces résultats concordent avec ceux obtenus 10 ans plus tard par une autre équipe de chercheurs ayant réalisé une étude rétrospective en analysant des données de 559 juments entre 1994 et 1999 (Barbacini et al., 2000). Le but était d'analyser la réponse au traitement à l'injection de 2000 UI d'hCG i.v. dans l'induction de l'ovulation lorsqu'un follicule de 35mm ou plus était observé. Durant toute l'étude, le nombre d'injection moyen administré par jument était de 1,87. Ils ont démontré que le traitement donnait des résultats fiables puisque plus de 90% des ovulations se sont produites dans les 48h suivant l'injection dont 75% dans l'intervalle de 24 à 48h. En revanche, au cours de l'avancement de la saison, ils n'observent pas d'augmentation significative du pourcentage d'ovulation ayant lieu >48 heures post-injection ($p>0,5$). C'est une analyse intéressante qui permet d'associer le fait que lorsque l'on injecte les juments sur plusieurs cycles consécutifs, la saison avance également. Dans le cadre de cette étude, il est important de souligner qu'il n'est pas précisé quelle était la réponse des juments au bout d'injections consécutives. Ils ont divisé l'étude en fonction des mois et ont observé les variations. D'ailleurs, le nombre de jument injectées en février (début de saison) est de 50 contre 119 en juin. Ils ont remarqué une augmentation significative des juments ovulant dans les premières 24h à la fin de la saison (mai, juin, juillet). Ils ont déterminé que cette augmentation du taux d'ovulation dans les premières 24 heures est due à la saison car ils estiment que le nombre d'injections moyennes d'hCG (1,87) est trop faible pour entraîner des conséquences. Aucune données concernant la proportion de juments ayant été induites plusieurs fois ne sont disponibles. Ils concluent que tous les chercheurs devraient prendre en compte le facteur de la saison dans les études de ce type car ils considèrent qu'elle joue un rôle important. Pour finir, ils encouragent les praticiens à utiliser l'hCG, estimant que les résultats obtenus lors de cette étude sont satisfaisants et à inclure l'effet de la saison dans leur management (Barbacini et al., 2000).

D'autres chercheurs ont obtenu des résultats relativement similaires en effectuant un travail de recherche sur la réponse au traitement à l'hCG (McCue et al., 2004). En effet, les juments ont reçu en moyenne 1,66 injections de 2500 IU d'hCG i.v. au cours de l'étude (1321 administrations sur 707 juments). Les taux d'ovulation dans les 48h post injection étaient de 78,4% et entre 24 et 48h de 59,9%. Ils ont également injecté certaines juments sur 5 cycles consécutifs et estiment qu'il est clair que le fait que l'ovulation n'ai pas lieu dans un intervalle de temps précis est relié à la répétition d'administration. Ils conseillent tout comme Wilson et al., (1990) de limiter le nombre d'injections à 2 par saison. D'un autre côté, ils ont remarqué que le nombre de juments ovulant dans les premières 24h post-injection était significativement plus élevé à partir de la 3^{ème} injection consécutive. Selon eux, il n'est pas possible de déterminer si cela est dû à la saison ou à la conséquence que les juments aient été traitées

plusieurs fois. Toutefois, ils estiment possible que la saison augmente le pourcentage de juments ovulantes spontanément (McCue et al., 2004).

- Relation entre l'immunisation et l'efficacité de l'hCG

Nous avons donc vu au travers de ces différents travaux de recherches que l'hCG est efficace pour induire l'ovulation dans les 48 heures suivant l'injection. Néanmoins, certains travaux observent une diminution de l'efficacité après l'administration répétée d'hCG sur plus de deux cycles consécutifs au cours d'une même saison. Cependant, aucune de ces informations ne permettent de pouvoir établir un lien entre la présence de ces anticorps et la réponse au traitement car les études citées précédemment n'ont pas effectué de recherche visant à quantifier cette réponse immune.

Un des seuls travaux de recherche tentant d'établir un lien de causalité entre cette diminution de l'efficacité de l'hCG et des anticorps mesuré est celui de Wilson et ses collaborateurs (1990) cité ci-dessus. Pour rappel ceux-ci avaient effectué une étude sur 14 juments qui recevaient de l'hCG durant 5 cycles consécutifs au cours de deux saisons (1987 et 1988). Ceux-ci ont également mesuré les taux d'anticorps présents après 1 à 4 injections d'hCG au cours du premier cycle de la première saison. 100% des juments présentaient des taux d'anticorps significatifs. Les scientifiques ont spécifié qu'ils ne connaissent pas le passé médicamenteux de toutes les juments et qu'il est possible qu'elles aient déjà été en contact avec de l'hCG. Ces anticorps n'étaient plus détectables entre 24 et 135 jours après la dernière injection ce qui signifierait que les anticorps mesurés sont dus aux injections de la saison durant laquelle on les mesure. Un point primordial qui a été abordé par ces chercheurs concerne la vérification du lien de causalité entre l'importance de la réponse immune avec le temps mis pour ovuler et les taux de gestations. Voici quelques chiffres qui permettent d'illustrer le fait que ces événements ne sont pas corrélés (Wilson et al., 1990) :

- 1) Durant les deux saisons, 33,7% des ovulations <48h ont eu lieu chez des juments chez qui on mesurait des niveaux très élevés d'anticorps.
- 2) 44,5% des ovulations >48h avaient des niveaux insignifiants d'anticorps.
- 3) En 1988, 84,6% des ovulations retardées se sont produites quand les anticorps mesurés étaient en dessous des niveaux significatifs.
- 4) 40 jours post saillie, 83,4% des juments gestantes avaient des niveaux significatifs d'anticorps.

Les scientifiques ont également tenté de voir si les anticorps anti-hCG pouvaient avoir une réaction croisée avec la LH équine ou l'eCG (equine chorionic gonadotropin) et donc avoir un effet sur la

fertilité de la jument mais il a été prouvé que ce n'était pas le cas. Il n'y a donc pas de risques concernant une réaction à la suite d'injections d'hCG (Wilson et al., 1990).

Ce travail de recherche présente également plusieurs cas individuels non développés ici, qui permettent à nouveau d'illustrer le fait que la présence d'anticorps n'a pas de lien avec la réponse au traitement. Par ailleurs, toutes les gestations qui présentaient des taux d'anticorps élevés ont tout de même délivré des poulains vivants et normaux. D'un autre côté, ils n'ont pas observé de différences en termes de taux de gestation entre les juments traitées (12/14 ; 85,7%) et les non traitées (5/6 ; 83,3%) (Wilson et al., 1990).

En résumé, ce travail permet d'avancer que la présence de ces anticorps ne peut pas être associée à la réponse de la jument au traitement c'est-à-dire à une augmentation du temps de l'œstrus et du temps mis pour ovuler. Cependant, les conséquences de leur présence restent à être élucidées et cette étude ne peut exclure une interaction entre ceux-ci et l'activité de l'hCG (Wilson et al., 1990).

Afin d'avoir une perspective différente sur ces informations, des chercheurs turcs ont tenté d'aborder l'immunisation des juments à l'hCG sous un autre point de vue. Ceux-ci ont voulu comparer les effets d'une injection à l'hCG sur le flux vasculaire du follicule pré-ovulatoire chez des juments chez qui l'on trouvait des anticorps comparés à des juments chez qui l'on n'en trouvait pas (Siddiqui et al., 2008). En effet, des recherches ont été menées en médecine humaine lors de protocoles de transfert d'embryons qui suggèrent qu'il y ait une tendance à ce qu'un follicule avec une grande vascularité soit associé à un meilleur taux de gestation mais aussi une meilleure qualité de l'embryon et de l'ovocyte (Chui et al., 1997; Bhal et al., 1999; Vural et al., 2016). L'hypothèse suggère qu'une plus grande vascularisation signifie une augmentation de l'apport de nutriments et d'oxygène et que cela donnerait une meilleure qualité de follicule. Une autre étude a été réalisée précédemment à celle de Siddiqui et al. (2008) afin d'analyser le flux sanguin du follicule pré-ovulatoire chez des juments après une injection d'hCG et la possible relation avec une gestation. Ils ont mis en évidence que les juments qui ont été

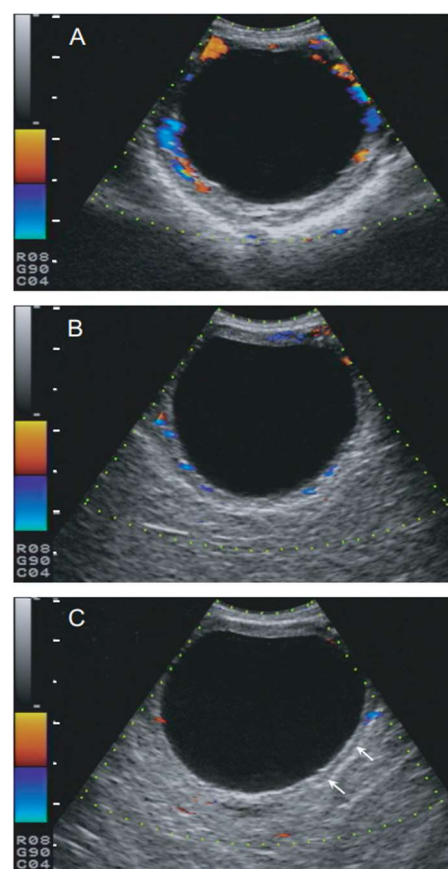


IMAGE 1 « Color-Doppler sonograms illustrating blood-flow signals in the wall of preovulatory follicles of a mare (A) that became pregnant and a mare (two images in different planes; B,C) that did not become pregnant. Images were taken 30 hours after hCG treatment and show high (A) and low (B,C) percentages of follicular wall with blood-flow signals. A portion of an anechoic band is shown (arrows, C). Distance between graduation marks is 10 mm (left margin). » Silva et al., 2006

gestantes présentaient 30h après une injection d'hCG, un flux vasculaire au niveau du follicule plus important que celles qui ne l'ont pas été (Silva et al., 2006).

Les chercheurs turcs cherchaient à savoir si la présence d'anticorps anti-hCG pouvait avoir un impact sur ce phénomène (Siddiqui et al., 2008). Ils ont mesuré les taux d'anticorps présent chez les juments afin de les diviser en un groupe d'anticorps positif (16 juments) et un négatif (44 juments). Ces juments se sont toutes faites injecter 2500 UI d'hCG en iv et 30 heures plus tard, le flux vasculaire de la paroi folliculaire fut analysé. Les scientifiques ont donc analysé, grâce aux signaux Doppler, le flux sanguin des follicules chez chaque jument et ont conclu à une différence significativement ($p < 0,005$) plus basse de vascularisation dans le groupe positif aux anticorps (Siddiqui et al., 2008).

Ce n'est pas tout, ces mêmes chercheurs ont également mesuré le taux d'hCG présent dans le plasma des juments 30h après les avoir injectées et celui-ci n'était plus détectable chez les 16 juments testées positives aux anticorps tandis qu'il l'était bien chez les 44 autres. Ils ne sont cependant pas en mesure de savoir après combien de temps l'hCG ait été neutralisé, mais cela prouve que ces anticorps sont bel et bien actifs. Ils suggéraient que d'autres études soient faites à ce niveau afin d'en apprendre davantage sur l'immunisation des juments à l'hCG (Siddiqui et al., 2008).

- Relation entre l'efficacité de l'hCG et l'âge

Deux études citées plus haut, celle de Barbacini et al., (2000) et McCue et al., (2004) ont tenté de déterminer s'il y avait une réponse différente en fonction de l'âge des juments.

L'étude de Barbaccini (2000) et ses collaborateurs met en évidence le fait que le pourcentage des équidés réagissant mal au traitement par hCG (ovulent >48h post injection) augmente significativement avec l'âge. Effectivement, les juments de plus de 16 ans dans cette étude ne présentaient pas de réponse significative au traitement malgré le fait que ce groupe ai reçu en moyenne 1,64 injections (Barbacini et al., 2000).

McCue et ses collaborateurs (2004) ont confirmé que l'efficacité de l'hCG pour induire l'ovulation diminue significativement avec l'âge. En effet, après la première administration de la saison, les taux d'ovulation dans les 48 heures suivant le traitement étaient le plus bas chez les juments âgées de >20 ans. Les chiffres sont de 92,4% d'ovulation <48h chez les juments âgées de moins de 5 ans contre 73,8% pour les juments de >20ans (McCue et al., 2004).

Ces deux études ont donc globalement des résultats qui sont similaires mais l'interprétation des résultats diffère. Barbaccini et al., (2000) associent la diminution de réponse en fonction de l'âge à d'autres facteurs associés à l'augmentation de l'âge car ils estimaient que le nombre moyen d'injection

n'était pas suffisant pour induire une réponse immune. McCue et al., (2004) disent qu'il ne faut pas exclure que ça soit dû à l'immunisation ou dans tous les cas à une exposition répétée à l'hCG. Cependant, aucune de ces études n'a mesuré le taux d'anticorps ou utilisé de groupe contrôle. De plus, le passé médicamenteux des juments n'est pas connu.

- Relation entre l'efficacité de l'hCG et la dose administrée

Comme il a déjà été mentionné, le résumé des caractéristiques du produit suggère d'administrer une dose entre 1500 et 3000 IU d'hCG qui assurent l'efficacité du traitement. Le flacon du Chorulon® (INTERVET) contient 5mL et 1500 IU d'hCG ce qui fait que le produit peut être administré en injection unique ("VetCompendium - CHORULON," n.d.). Une étude rétrospective de 2007 menée par des vétérinaires au Royaume-Uni a tenté de déterminer quelle dose d'hCG apportait de meilleurs résultats en termes d'ovulation dans les 48h suivant l'injection (Davies Morel and Newcombe, 2008). L'étude a été réalisée avec les données de 1094 juments, une partie étant traitées avec 750 UI d'hCG s.c. et l'autre avec 1500 UI d'hCG s.c.. Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes, les deux doses apportent donc une réaction équivalente (Davies Morel and Newcombe, 2008).

- Impact d'un traitement à l'hCG sur les taux de gestation obtenus.

Plusieurs études citées précédemment évoquent les taux de gestation obtenus après avoir induit l'ovulation avec l'hCG. Wilson et ses collaborateurs (1990) n'ont pas observé de différences entre les taux de gestation des juments traitées (12/14 ; 85,7%) et des non traitées (5/6 ; 83,3%). L'étude de Barbaccini et ses associés (2000) n'ont pas utilisé de groupe contrôle mais ont obtenu un taux de gestation de 77% (429/559 juments). L'étude de Davies Morel et Newcombe (2008) a également analysé les suivis de reproduction de 1239 juments pendant une période de 3 ans. Une partie des juments était traitée à l'hCG (536) et une partie servait de groupe contrôle (703). Les résultats obtenus mettent en évidence qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes concernant les taux de gestations avec respectivement 65,1% et 65,6% pour les juments traitées et non traitées. Il y a donc une similarité dans les taux de gestation parmi ces différents travaux mais également entre les juments qui sont traitées et celles qui ne le sont pas (Davies Morel and Newcombe, 2008). Davies Morel et Newcombe (2008) justifient cela par le fait que les juments, quel que soit le groupe auquel elles aient été attribuées, étaient suivies avec intensité. Le développement des follicules était surveillé étroitement via un examen échographique transrectal afin de mieux anticiper le moment de l'ovulation et ainsi optimiser l'accouplement. En effet, les scientifiques soulignent l'importance du rôle du

vétérinaire dans la gestion du suivi la jument et l'impact que cela a sur les taux de gestation (Davies Morel and Newcombe, 2008).

2.1.2. Buséreléline

- Analogue de la GnRH

La seconde molécule disponible en Belgique afin d'induire l'ovulation chez la jument cyclée est la buséreléline. Cette molécule est un analogue synthétique de la gonadotropin releasing hormone (GnRH).

Comme énoncé précédemment, la GnRH est une séquence de 10 acides aminés commune à tous les mammifères. En effet, en 1971, des scientifiques ont réussi à déchiffrer la séquence en acide aminés de la GnRH porcine (Matsuo et al., 1971) ce qui a permis, après la réalisation d'autres travaux de recherches, de réaliser qu'elle était identique chez tous les mammifères.

Séquence en a.a. de la GnRH commune à toutes les espèces : Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂

Cette particularité a permis aux chercheurs de s'intéresser au développement d'un analogue de la GnRH dont la séquence ou la structure serait modifiée afin d'en augmenter la puissance. Selon une étude ressassant les données récoltées sur les analogues de la GnRH, entre la découverte de la similitude inter-espèce et la réalisation de ce travail de recherche en 1986, 2000 différents analogues ont été synthétisés (Karten and Rivier, 1986). En effet, les études se sont orientées vers la fabrication d'un dérivé qui aurait une capacité de liaison et d'activation du récepteur augmentée. D'autres analogues possédant des propriétés qui retardent leur dégradation et leur élimination ont également été produits, leur conférant des effets anti-fertilité contrairement à ce qui est intuitivement attendu (Karten and Rivier, 1986). Par exemple, ce principe est utilisé en médecine vétérinaire des petits animaux pour rendre les chiens mâles infertiles à partir d'implants d'acétate de desloréline.

Toutes les molécules suivantes : desloréline ; triptoréline ; buséreléline sont des analogues de la GnRH capables d'induire l'ovulation chez la jument. Ces agonistes induisent la libération de LH en se fixant sur les récepteurs à la GnRH présents sur l'hypophyse. Malheureusement, pour le moment, une seule la buséreléline est disponible à l'utilisation pour le vétérinaire Belge ("VetCompendium - Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération HSR," n.d.).

- Médicaments à usage vétérinaire contenant de la buséreléline et possédant une AMM en Belgique

Les médicaments existants sont au nombre de quatre : Veterelin® (LAB CALIER), Busol® (T.P. WHELEHAN SON & CO), Fertigest® (VETFARMA AH) et Receptal® (INTERVET VIA MSD

AH). Tous contiennent une concentration similaire en principe actif : 0,004 mg de buséréline par ml (“VetCompendium - Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération HSR,” n.d.).

Le problème principal rencontré lors de l’emploi de cette molécule concerne le protocole d’administration. Tous ces médicaments possèdent un résumé des caractéristiques du produit dans lesquels la posologie et la méthode d’utilisation est précisée afin d’assurer l’efficacité du traitement. Cependant, chacun des médicaments cités ci-dessus suggère de procéder d’une façon différente.

A) Veterelin® (0,004 mg/ml buséréline, LAB CALIER)

Le RCP indique simplement que l’injection de 40µg (10ml) soit faite en i.m, il n’est pas précisé à quel moment et s’il est possible ou conseillé de réaliser plusieurs injections (“VetCompendium - VETERELIN 0,004 mg/ml,” n.d.).

B) Busol® (0,004 mg/ml buséréline, T.P. WHELEHAN SON & CO)

Le RCP stipule que l’injection de 20µg ou 40µg (5 ou 10ml) doit se faire en période d’oestrus et doit être répétée toutes les 12 heures. Il n’est pas précisé combien de fois sont nécessaires (“VetCompendium - BUSOL 0,004 mg/ml,” n.d.).

C) Fertgiest® (0,004 mg/ml buséréline, VETFARMA AH)

Le RCP de ce médicament suggère qu’une administration de 10 ml (40µg de buséréline) soit réalisée lorsque le follicule pré-ovulatoire a atteint sa taille maximale. Ensuite, cela doit être répété 6 heures avant la saillie. Il est conseillé de faire saillir la jument à nouveau le matin suivant si la jument est toujours en oestrus. Ensuite, si 24 heures plus tard cela n’a toujours pas fonctionné, il faut répéter l’injection (“VetCompendium - FERTIGEST,” n.d.).

D) Receptal® (0,004 mg/ml buséréline, INTERVET VIA MSD AH)

Pour terminer, ce RCP conseille qu’une injection de 10ml (40µg de buséréline) soit réalisée au moment présumé de l’ovulation (qui varie si la jument a des chaleurs courtes ou longues) mais précise que si ce médicament est administré trop tôt, cela ne fonctionnera pas. La jument devrait ovuler dans les 24 à 36 heures suivant l’administration et il est proposé de ré-injecter la jument si cela n’est pas le cas (“VetCompendium - RECEPTAL,” n.d.).

En conclusion, les protocoles d’administrations suggérés varient tandis que la concentration en principe actif, elle, ne change pas. C’est la préoccupation principale concernant l’utilisation de ce produit pour remplacer l’hCG.

- Injections multiples de buséréline et efficacité

Lors des premières expérimentations visant à identifier des potentiels traitements alternatifs à l'hCG pour induire l'ovulation, les scientifiques ont déterminé que plusieurs injections de buséréline successives étaient nécessaires (Harrison et al., 1991).

En effet, afin d'induire l'ovulation chez la jument avec de la buséréline, une équipe de chercheurs a tenté d'administrer 40µg de l'analogue de GnRH en IM toutes les 12h jusqu'à ovulation, et de comparer le temps mis par ces juments pour ovuler avec un groupe contrôle et un groupe ayant reçu de l'hCG (3300 UI) (Harrison et al., 1991). Les résultats montrent que l'hCG et la buséréline ont tous deux réduits significativement ($p < 0,05$) le temps mis pour ovuler et leur réponse était similaire. Cependant, le nombre d'injection moyenne de buséréline (40µg) qui était nécessaire afin d'obtenir l'induction de l'ovulation était de 3,8. Cette caractéristique est la raison principale qui explique que ce produit soit moins attractif lorsqu'il est comparé à l'hCG (Harrison et al., 1991).

En 2001, d'autres scientifiques ont réalisé d'autres expériences à partir de buséréline (Receptal®, 0,004mg/ml de buséréline INTERVET VIA MHD AH) afin de voir si des doses inférieures ou une diminution du nombre d'injections à des intervalles plus courtes pouvaient tout de même induire l'ovulation. Ils ont également comparé les résultats obtenus avec l'administration d'hCG (Barrier-Battut et al., 2001).

Plusieurs expériences ont été produites, la première consistait à comparer un groupe contrôle qui recevait 4 injections salines (placebo, NaCl 0,9% 10 ml i.v.) contre un groupe qui recevait 4 injections de buséréline toutes les 12h (40µg 10 ml i. v.). Les observations démontrent une diminution significative du temps mis pour ovuler chez les juments ayant reçu la buséréline. L'ovulation dans les 48h après traitement fut de 61% pour la buséréline et 22% pour le placebo (Barrier-Battut et al., 2001).

La deuxième expérience consistait à administrer 4 doses à 12h d'intervalle de buséréline 40µg (10 ml i. v.) comparé à 20µg. Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas différence significative entre ces deux traitements (43 +/- 10 h pour 40µg vs 40 +/- 6.5 h pour 20µg i. v.) (Barrier-Battut et al., 2001).

La troisième expérience consistait à comparer l'administration de 4 fois à 12h d'intervalles 20µg de buséréline i. v. à une seule administration d'hCG 2500UI i. v.. Les taux d'ovulation ne différaient pas et il n'y avait pas de différences significatives concernant la période entre le traitement et le moment de l'ovulation (Barrier-Battut et al., 2001).

Dernièrement, ils ont administré 3 fois à 6 heures d'intervalles 13,3µg de buséréline i. v. et l'ont comparé à 2500 UI d'hCG i. v.. Le nombre de juments ayant ovulé dans l'intervalle de 0 à 48h était

significativement supérieur lors du traitement à l'hCG (87% contre 60%). Cependant si l'on considère les juments ayant ovulé entre 24 et 48h après le traitement, il n'y a pas de différences significatives (67% pour l'hCG contre 60%) (Barrier-Battut et al., 2001).

Les chercheurs ont donc conclu que la buséréline administrée à 4 reprises 20µg fonctionnait mieux que le placebo et de façon équivalente à l'hCG. Ils suggèrent qu'il serait préférable de considérer le taux de succès aux ovulations ayant lieu entre 24 et 48 heures post traitement car cela permettrait d'éliminer les ovulations spontanées. En partant de ce principe, le traitement de buséréline administré 3 fois 13,3µg fonctionne aussi bien que l'hCG. Les chercheurs ont conclu que les protocoles utilisés dans cette étude pour induire l'ovulation à partir de la buséréline sont équivalents à une injection i. v. de 2500 UI d'hCG (Barrier-Battut et al., 2001).

En conclusion, on remarque que malgré le fait qu'il soit possible de diminuer les doses de buséréline à 20µg tout en gardant une efficacité semblable à celle d'une seule injection d'hCG, il est tout de même nécessaire de réaliser 4 injections (Barrier-Battut et al., 2001).

- Injection unique de buséréline et efficacité

À la suite des résultats précédents, nombreux sont les chercheurs à avoir tenté d'induire l'ovulation avec de la buséréline à partir d'une seule injection. Cependant, les doses en injections uniques sont largement supérieures à ce qui est décrit auparavant.

Cela a été réalisé par des chercheurs qui ont administré une seule injection sous cutanée de 6mL SUPREFACT® (1,05mg buséréline/ml, SANOFI), qui est un médicament utilisé en médecine humaine. La dose contenue dans ce médicament correspond à une dose 150 fois supérieure aux 40µg contenus dans un flacon commercialisé en médecine vétérinaire (Levy and Duchamp, 2007).

Ils ont comparé le temps mis pour ovuler après une injection à partir d'un follicule de 30mm. En considérant l'intervalle de temps utilisée par les chercheurs (entre 24 et 48h après injection), 89% des juments traitées ont ovulé ce qui est significativement ($p < 0,0001$) plus élevé que le groupe contrôle (27%). Les juments traitées l'ont été pendant plus de trois cycles consécutifs pour certaines et il n'y avait aucun retard d'ovulation ($>48h$). Ensuite, ils ont également injecté un groupe de juments avec de l'hCG 1500 UI IV et un groupe de juments avec de la buséréline (6mg, s.c.) afin de comparer l'efficacité des deux molécules dans l'induction de l'ovulation et le taux de gestation. 49 juments ont donc été suivies et se sont fait injecter une de ces molécules tout au long d'une saison avec un total de 120 cycles analysés. Elles étaient donc injectées plusieurs fois au cours d'une même année. Les chercheurs n'ont pas noté de différences dans la réponse à chacun des traitements au cours des mois.

De plus, il n'y avait pas de différence significative concernant le nombre de juments ovulant dans le temps attendu (24-48h post injection) entre les deux traitements. Les chercheurs concluent donc qu'une administration d'une seule dose importante de buséréline peut induire l'ovulation à même titre que l'hCG. Ils ont également analysé la réponse à la buséréline en fonction de l'âge et ne notaient pas de différence de réponse au traitement (Levy and Duchamp, 2007).

Plus récemment, en 2020, une équipe de chercheurs a tenté de déterminer si les doses de buséréline administrées en injection unique pouvaient être moins élevées et induire l'ovulation avec la même efficacité (Dordas-Perpinyà et al., 2020). Pour réaliser cela, l'étude a été divisée en trois expérimentations.

La première avait pour but de comparer une injection de 6mg de buséréline en sous cutanée avec 1500 UI de hCG en intraveineuse. Il n'y avait pas de différence significative dans la réponse au traitement entre ces deux molécules, 90% des juments ont ovulé entre 24h à 48h post injection avec la buséréline contre 78,1% avec l'hCG (Dordas-Perpinyà et al., 2020).

Lors de la seconde expérience les chercheurs ont comparé l'administration de 3mg de buséréline à 6mg. À nouveau, aucunes différences significatives n'ont été mises en évidence. En effet, les taux de réponse au traitement étaient similaires (78% des juments ovulent entre 24 et 48 heures post traitement avec 6mg contre 78,2% avec 3mg ; 14% et 14,1% respectivement entre 0 et 24h) (Dordas-Perpinyà et al., 2020).

Pour finir, la troisième partie de l'étude comparait trois doses différentes de buséréline (3, 2 et 1 mg), 0,1 mg de triptoréline (autre analogue de GnRH) avec un groupe témoin qui recevait 1500 UI d'hCG. Les taux de succès de l'induction de l'ovulation dans les 24 à 48 heures post injection ne présentaient pas de différence statistiquement significative parmi les cinq groupes traités : ils étaient respectivement de 87 % (92/106) après l'injection de hCG, de 87 % (47/54), 83 % (86/104) et 85 % (116/137) après les injections de 1, 2 ou 3 mg de buséréline, et de 85 % (61/72) après l'injection de 0,1 mg de triptoréline. Cette dernière est une molécule de synthèse, agoniste à la GnRH sur laquelle nous reviendrons plus tard, car nous voyons qu'une faible dose assure une grande efficacité (Dordas-Perpinyà et al., 2020).

Précédemment citée, l'étude de Newcombe et Cuervo-Arango, 2017, est le seul travail de recherche qui ait réalisé des injections avec des doses de busérelines descendant jusqu'à 0,125mg. En effet, ces chercheurs ont tenté de comparer l'efficacité pour l'induction de l'ovulation chez 4 groupes de juments à l'aide de 0,125 mg, 0,25 mg, 0,5 mg et 1 mg de buséréline (Suprefact ® 1mg/ml buséréline,

SANOFIL). Un autre groupe de juments était traité à l'hCG afin d'y comparer la réponse (1500 UI s.c.). Les résultats démontrent qu'il n'existe pas d'influence entre la dose de busérelina et la réponse au traitement c'est-à-dire que 84,8% des juments traitées avec 0,125 mg de busérelina ont ovulé entre 32 et 48h post injection, 87,9% avec 0,25mg, 88,5% avec 0,5mg et 90,0% avec 1,0mg. Ces résultats excluent les juments ayant ovulé dans les 32h suivant l'injection car les scientifiques ont considéré que les ovulations ayant eu lieu dans cet intervalle de temps étaient spontanées et n'avaient pas pu être causées par l'action du médicament. De par ce principe, le pourcentage de juments présentes dans cette étude et ayant ovulé entre 32 et 48h après une injection de 1500 UI d'hCG sous cutanée n'était que de 25,6%. Les chercheurs ont donc conclu à une différence significative dans la réponse au traitement entre les deux molécules. Globalement, l'intervalle de temps moyen entre l'injection et l'ovulation sur la période de l'étude était plus long dans les cycles traités à l'hCG (70.2 ± 5.1 heures) par rapport à la busérelina (44.7 ± 1.2 heures). Cette étude présente donc des résultats beaucoup plus extrêmes que celles analysées précédemment concernant les résultats de l'hCG. En effet, si l'on se base uniquement sur ce travail de recherche il est évident que la busérelina soit plus efficace que l'hCG, même à des doses relativement faibles (Davies Morel and Newcombe, 2008). Cependant, il est important de préciser que plus de 50% des juments du groupe ayant été traitées avec de l'hCG avaient plus de 15 ans, ce qui est relativement âgé. Et comme il avait été décrit avant (page 19), il a déjà été démontré qu'il existait un lien entre l'âge de la jument traitée à l'hCG et sa réponse (Barbacini et al., 2000; McCue et al., 2004). Les juments plus âgées y répondant moins bien. Concernant l'impact de l'âge sur l'efficacité de la busérelina rien n'a été recherché lors de cette étude (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017).

Finalement, cette étude et la précédente concluent donc à une efficacité de la busérelina équivalente à celle de l'hCG en injection unique. Les chercheurs affirment qu'une dose de 1 mg de busérelina en sous cutanée est suffisante pour induire l'ovulation entre 24 et 48 heures post injection (Dordas-Perpinya et al., 2020). Si l'on considère l'intervalle de temps entre 32 et 48 heures, 0,125mg de busérelina en injection unique peuvent également suffire (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017).

- Efficacité de la busérelina lors d'injections répétées dans plusieurs cycles consécutifs

Toujours dans la même étude, la réponse ovulatoire à la busérelina chez les juments cycliques ne variait pas en fonction du nombre de traitement consécutifs reçus (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017).

2.2. Autres alternatives pour induire l'ovulation chez la jument

Cette section de la littérature propose d'autres alternatives à l'hCG qui sont utilisées dans d'autres pays, ont été testées ou sont en cours de développement mais ne sont pas disponibles pour un vétérinaire belge à l'heure actuelle.

2.2.1. Desloréline

La desloreline est un autre analogue de la GnRH mais qui n'est pas commercialisé pour l'utilisation chez les équidés. Malgré cela, cette molécule est disponible en Belgique pour d'autres espèces. Comme énoncé précédemment, elle est utilisée en médecine vétérinaire des petits animaux sous forme d'implants. Effectivement, ce dispositif libère la molécule en continuité durant des mois ce qui permet d'instaurer l'infertilité chez le chien mâle pour une période de 6 mois à partir de 6 semaines de traitement (Suprerolin® 4,7mg desloréline, VIRBAC)(“VetCompendium - SUPRELORIN 4,7 mg implant chiens, chats,” n.d.). La desloréline administrée de façon chronique entraîne une baisse de la sensibilité de l'hypophyse à la GnRH via la diminution de récepteurs présents sur la glande pituitaire (Junaidi et al., 2007). Par ailleurs, des chercheurs se sont récemment mis à explorer l'utilisation de tels dispositifs afin d'interrompre les cycles des juments. En effet, plusieurs études ont démontré que le fait de laisser des implants de Desloreline (McCue et al., 2002; Joonè and Cavalieri, 2023) ou d'en injecter tous les jours durant minimum 30 jours (Montovan et al., 1990) perturbait le cycle des juments en augmentant l'intervalle entre deux ovulations. Toutefois, ceci est un traitement qui nécessite des recherches supplémentaires. Ces informations mettent en évidence la dualité de traitements pouvant être réalisé à base de certains analogues de GnRH. Ceux-ci permettant à la fois avoir un effet anti-fertilité et pro-fertilité en fonction des doses administrées et de la longueur du traitement.

D'autre part, la desloréline est largement utilisée en Australie et aux USA (disponible en France) pour induire l'ovulation chez la jument. En effet, elle y est commercialisée sous forme d'implant (OVUPLANT® 2,1mg desloreline, DECHRA) qui est posé dès l'observation d'un follicule de 35mm lors de l'examen échographique transrectal (“Med’Vet - OVUPLANT® 2,1 mg Comprimés pour implantation pour chevaux (juments),” n.d.). Il y est laissé pour une durée de 48 heures avant d'être retiré. Cela induit l'ovulation dans les 48 heures chez 84,3% des juments et dans les 72 heures chez 90,9% (Farquhar et al., 2000). Les scientifiques ayant réalisé ce travail de recherche ont également analysé les variations dans la réponse à ce traitement en fonction de l'âge des juments traitées. Les résultats montrent que les juments âgées de plus de 20 sont celles dont le taux d'ovulation est le plus faible (83,8%) mais ce n'est pas significatif statistiquement (Farquhar et al., 2000). Cela diffère des résultats présentés précédemment concernant l'utilisation d'hCG chez les juments plus âgées, chez qui

on relevait une baisse significative de l'efficacité lorsque l'âge augmentait (Barbacini et al., 2000; McCue et al., 2004).

Certains scientifiques ont également comparé l'utilisation d'hCG (2500 ui i. v.) à celle des implants de desloréline (OVUPLANT®, 2,1 mg de desloréline, DECHRA) durant les premières chaleurs de juments venant de mettre bas (Blanchard et al., 2002). Les résultats ne montrent pas de différence concernant le taux d'ovulation et de gestation. Néanmoins, les chercheurs ont mesuré un intervalle interoestrus augmenté lors de l'utilisation de desloréline par rapport à l'hCG (40 +- et 20+- 4 jours respectivement). Il n'est pas précisé dans l'étude si l'implant a été retiré ni dans quel intervalle de temps (Blanchard et al., 2002). En 2002 également, une autre équipe de chercheurs ont comparé la durée entre deux ovulations chez des juments induites à l'hCG (2500 UI i. v.) versus à la desloréline (OVUPLANT ©, 2,1mg desloreline s. c.) et constatent également une augmentation significative de cet intervalle lors de l'utilisation de la desloréline (McCue et al., 2002). Attention, ils précisent que cela arrive seulement lorsque l'implant est laissé plus de 48 heures. Lorsque celui est retiré dans cet intervalle de temps, il n'y pas de différence significative de l'intervalle inter-ovulation lorsqu'on le compare à l'hCG (McCue et al., 2002). Cela coïncide avec les explications précédentes sur l'inhibition de la réponse hypophysaire lors d'une exposition longue à la desloréline.

Pour résumer, il est donc possible pour un vétérinaire d'induire les juments à l'aide d'implants de desloréline. Toutefois, il est primordial de ne laisser ce dispositif que durant 48 heures afin de ne pas avoir les effets inhibiteurs que peuvent engendrer ces analogues de GnRH. N'étant pas disponible partout en Europe (dont la Belgique), l'utilisation de cette méthode était privilégiée par les vétérinaires en second choix (après l'hCG) pour induire l'ovulation lors du questionnaire mentionné précédemment (Newcombe and Cuervo-Arango, 2017). Ils justifiaient cela par le fait que ce médicament soit cher et difficile à se procurer.

2.2.2. La triptoréline

La triptoréline est également un analogue de la GnRH qui avait été rapidement abordée précédemment (page 24). Effectivement, des chercheurs ont comparé l'administration de 0,1 mg de cette molécule en injection sous cutanée (Decapeptyl® 0,1 mg triptoréline, IPSEN) à l'administration de 1500 UI d'hCG (Chorulon® INTERVET) et de 3,2 et 1 mg de busérelina (Suprefact® SANOFI-AVENTIS) dans l'induction de l'ovulation (Dordas-Perpinyà et al., 2020). Les résultats avaient montré une efficacité similaire de tous ces traitements. Ces scientifiques étaient les premiers à tester cette molécule en injection dans ce but chez la jument et le justifiaient par le fait que la production de Suprefact® (6mg busérelina, SANOFI-AVENTIS) ait été arrêtée en France en 2016. Ce travail de recherche étant

relativement récent (2020), il n'y a pas d'autres données disponibles relatant l'utilisation de la triptoréline en injection chez le cheval (Dordas-Perpinya et al., 2020).

D'un autre côté, l'Ovugel® (0,1 mg/ml d'acétate de triptorelin, VETOQUINOL) est un gel contenant de l'acétate de triptoréline disponible pour les porcs dans l'union européenne depuis 2020. Ce gel est administré dans le vagin des truies sevrées afin de synchroniser leur moment d'ovulation. Lorsque les truies reçoivent 200µg de gel de triptorelin, 81% d'entre elles ovulent dans les 48 heures (Knox et al., 2014). En 2017, une autre équipe de chercheurs s'est posé la question de savoir si un gel intravaginal à base de triptoréline pouvait induire l'ovulation chez la jument (Sinclair et al., 2017). Deux expériences comparant un groupe contrôle à une administration intravaginale de différentes doses de gel de triptoréline ont été réalisées. Globalement, durant ces deux expériences 68,8% des juments traitées avec 5mL de gel de triptoreline (500µg d'acétate de triptoréline) ont ovulé dans les 48 heures suivant l'administration. L'expérience a consisté en l'administration en intravaginal de soit 0,5 mg ou de 1 mg de triptorelin sous forme de gel, soit 5mL de gel d'une solution placebo (groupe contrôle) à partir du moment où un follicule de 35 mm était observé. Les résultats obtenus n'ont pas montré de différences significatives entre les trois traitements. Les scientifiques ont estimé que cette méthode n'était pas suffisamment efficace comparée aux résultats obtenus par d'autres études sur des molécules avec la même indication par exemple l'hCG. De plus, ils ont considéré le mode d'administration comme étant chronophage comparé à une seule injection. Pour finir, ils ont encouragé la réalisation d'autres travaux de recherches où notamment la triptoréline serait administrée sous forme d'injection (Sinclair et al., 2017).

2.2.3. Recombinant LH équin

Le reLH est une version recombinante de la LH équine c'est-à-dire que l'hormone lutéinisante naturellement présente chez les juments a été modifiée par PCR afin d'en faire la reLH composée d'une seule chaîne (Jablonka-Shariff et al., 2007). Une étude réalisée en 2007 (n=84) a démontré que l'injection de 0,75mg i.v. ou de 0,90mg de reLH induisait l'ovulation chez 90 et 80% des juments traitées, moins de 48 heures après avoir été injecté. Ils ont également injecté un groupe de juments avec de l'hCG (2500 IU) et ont obtenus 85,7% d'ovulation en moins de 48h. Cette méthode nécessite encore d'être étudiée mais semble aussi efficace que l'hCG (Yoon et al., 2007).

2.2.4. Neurotransmetteurs : Kisspeptine

Une option que les scientifiques sont en train d'envisager afin d'induire l'ovulation est d'arriver à agir sur la reproduction via un contrôle neuroendocrinien. En effet, des travaux sont réalisés afin de déterminer le rôle de certains neurotransmetteurs dans la libération d'hormones sexuelles dont le

kisspeptine (Magee et al., 2009, 2012, 2020; Simonneaux et al., 2009). Les mécanismes impliqués dans ce phénomène sont complexes mais l'hypothèse était que le neuropeptide KISS stimule la libération de gonadotrophines au niveau du neurone de GnRH de façon à induire l'ovulation (Magee et al., 2009). Dans une étude plus récente de Magee et al. (2020), les chercheurs suggèrent que le kisspeptine agisse également directement sur la synthèse et la sécrétion des gonadotrophines sans passer par la GnRH. Les mécanismes impliqués dans la régulation neuroendocrinienne de la reproduction sont encore mal connus et nécessitent plus de travaux de recherche.

3. DISCUSSION

« Existe-t-il une alternative médicamenteuse équivalente à l'hCG pour induire l'ovulation chez a jument »

Premièrement, pour répondre à cette question en termes d'efficacité, il est primordial d'introduire le fait que tous les travaux ayant été réalisés relatent une bonne efficacité concernant l'induction de l'ovulation lorsqu'une injection d'hCG est réalisée (après l'observation d'un follicule de 35mm). On ne peut le nier, cette méthode est efficace lorsqu'on lit les résultats de nombreuses études. De fait, dans les 48 heures suivant l'administration d'hCG, l'ovulation est induite dans plus de 75% des cas (75,5% selon Wilson et al.(1990) ; 91% selon Barbaccini et al. (2000) ; 78,4% selon McCue et al. (2004)). Cependant, de nombreux travaux de recherches réalisés qui étudient la réponse après plusieurs injections au cours d'un même cycle, mettent en évidence une diminution de l'efficacité (Sullivan et al., 1973; Voss et al., 1975; Wilson et al., 1990; McCue et al., 2004). Cela se reflète par le fait qu'il y ait un allongement de la durée de l'œstrus et de la période entre l'injection et l'ovulation. Parmi ces travaux de recherche, plusieurs ont déterminé que cette diminution de l'efficacité était observée à partir de la troisième injection d'hCG au cours d'une même saison de reproduction (Sullivan et al., 1973; Voss et al., 1975; Wilson et al., 1990). Wilson et son équipe de chercheurs (1990) suggèrent donc de limiter son usage à deux injections au cours de la même saison afin d'en garantir une action correcte. Lorsque cela est respecté, il est tout à fait légitime d'induire les juments à l'aide de ce médicament car son efficacité est prouvée. Les doses utilisées varient mais il semble que 750 I.U. soient aussi efficace que 1500 I.U. (Davies Morel and Newcombe, 2008), beaucoup de travaux utilisaient des doses entre 2000 I.U. et 2500 U.I. d'hCG.

Comme il a été précisé dans la littérature, la saison semble avoir un effet sur la réponse de l'animal au traitement, avec une augmentation du taux de juments ovulant dans les premières 24 heures (Barbacini et al., 2000). Même si McCue et ses collaborateurs (2004) avaient également observés cette augmentation, ceux-ci n'osaient pas affirmer avec certitude que cela ne soit pas dû au fait que les animaux aient reçu des injections successives d'hCG. Toutefois, les cycles de la jument sont dictés par la saison (polyoestrienne saisonnière), la production de GnRH étant liée à la production de mélatonine, l'augmentation de la durée d'ensoleillement entre février et juin pourrait expliquer que Barbacini et al. (2000) aient noté une augmentation significative du taux d'ovulation entre 0 et 24 heures en mai, juin et juillet. D'un autre côté, le fait que McCue et al. (2004) avancent que cela puisse être dû à l'administration répétée d'hCG ne colle pas avec la diminution d'efficacité rapportée par les scientifiques. Il serait donc intéressant pour le vétérinaire d'adapter son management des juments

induites à l'hCG en fonction de la saison, en prenant en compte que la proportion de juments ovulantes en moins de 24 heures puisse varier.

Ensuite, la présence d'anticorps anti-hCG suscite une controverse quant à l'utilisation de cette molécule. En effet, c'est l'un des arguments principaux lors de la suggestion de l'utilisation d'autres médicaments. Cependant, des scientifiques ont démontré que la présence de ces anticorps n'avait pas d'impact sur la réponse au traitement de l'animal (Wilson et al. 1990). Bien qu'ils n'aient pas pu se prononcer sur les effets liés à l'immunisation de la jument, ils ont pu prouver qu'il n'y avait pas de corrélation entre ce phénomène et l'efficacité de l'hCG à induire l'ovulation ou sur la capacité de ces juments à mener à terme une gestation (Wilson et al., 1990). Tout de fois, cela n'est pas parce qu'aucun travail de recherche n'a su associer la présence de ces anticorps avec une diminution de la performance du traitement que ceux-ci n'ont pas une incidence sur la réponse biologique, de quelque manière que ce soit. Ils suggéraient que d'autres études soient faites afin de pouvoir mieux comprendre l'impact de la présence de ces anticorps sur le fonctionnement de l'hCG (Wilson et al., 1990). Cela a été fait par une autre équipe de chercheurs 28 ans plus tard (Siddiqui et al. 2008). En effet, ceux-ci ont mis en évidence deux faits : ces anticorps sont bien capables de neutraliser l'hCG circulant et leur présence pourrait avoir une incidence sur la diminution de la vascularisation du follicule pré-ovulatoire (Siddiqui et al., 2008). C'est un phénomène qui est peu connu et dont on ne peut tirer de conclusions concrètes mais cela remet en perspective le fait que nous ne sachions pas tout sur les conséquences des anticorps anti-HCG et que ce n'est pas parce que l'on ne mesure pas de différence dans les taux d'ovulation que ceux-ci n'agissent pas d'une façon ou d'une autre. En d'autres termes, des nouveaux travaux de recherches sont nécessaires au développement des connaissances que nous avons sur la conséquence de l'immunisation, mais en attendant, l'efficacité de cette molécule ne semble pas être déterminée par le degré d'immunisation de l'animal à son égard. De plus, cela n'influencera pas la gestation donc il n'y a pas d'inquiétudes à avoir concernant ce phénomène lorsqu'un vétérinaire pense à utiliser l'hCG.

D'un autre côté, la littérature a permis de relever une diminution de l'efficacité de l'hCG à induire l'ovulation avec l'âge (Barbaccini et al. 2000 ; McCue et al. 2004). Cependant, aucun groupe contrôle n'a permis de comparer la variation du taux d'ovulation en fonction de l'âge des juments si celles-ci ne recevaient pas de traitement, il est donc difficile d'en tirer des conclusions. L'hypothèse de Barbacini (2000) qui associe ces résultats avec le fait que l'âge peut entraîner une dégénérescence de l'hypothalamus, l'hypophyse et des ovaires semble plus pertinente que celle de McCue qui estime que cela soit dû à une exposition répétée. En effet, les premiers estiment que leur moyenne d'injection <2 est insuffisante pour induire des réactions si drastiques (Barbaccini et al., 2000). D'autre part, les

seconds ne connaissent pas le passé médicamenteux des sujets de leur expérience (McCue et al., 2004). Quoiqu'il en soit, le vétérinaire souhaitant induire une jument âgée peut évidemment utiliser l'hCG mais doit tenir compte que l'efficacité puisse être diminuée dans ce groupe de population.

Pour conclure, malgré la présence d'anticorps, une injection d'hCG est efficace pour induire l'ovulation chez la jument cyclée à condition d'en limiter l'usage à deux fois par saison de reproduction. Une fois ce nombre d'injections dépassées, une diminution de l'efficacité peut être attendue.

Deuxièmement, il est possible pour un vétérinaire belge d'utiliser la buséréline pour induire l'ovulation chez la jument cyclée. Nous avons vu dans la première partie de la littérature sur la buséréline que les protocoles d'administration de chaque médicament variaient fortement. En effet, il est étonnant de constater que la même concentration de ce décapeptide soit administré de manière différente en fonction de la firme dont il provient. Il est compréhensible qu'un vétérinaire, en ne lisant que le résumé des caractéristiques du produit, utilise cette molécule de façon inadéquate, ne lui permettant pas d'assurer son efficacité.

En effet, les 40 μ g de buséréline contenus dans un flacon vendu en médecine vétérinaire nécessitent des protocoles d'administration chargés si l'on se base sur les travaux de recherches existants. Les études réalisées qui portaient de concentrations aussi faibles ont estimé que 3,8 injections en i.m. toutes les 12 heures étaient nécessaires pour induire l'ovulation au même titre qu'une injection de 2500 UI d'hCG i.v. (Harrison et al., 1991). D'autres scientifiques ont réussi à réduire les concentrations à 20 μ g de buséréline mais le protocole d'administration reste identique (4 injections à 12h d'intervalle) si l'on veut atteindre une efficacité comparable à celle de l'hCG (Barrier-Battut et al., 2001). Ce sont bien sûr des méthodes qui sont très difficilement réalisables pour un vétérinaire de terrain. Il est évident qu'une seule injection d'hCG soit favorisée à ce type de traitement lors de l'induction de l'ovulation si l'on estime que leur efficacité est équivalente. En ce qui concerne les injections uniques de buséréline : 6mg, 3mg, 2 mg, 1mg, 0.5mg, 0.25mg, et 0.125 mg ont été jugées comme efficaces pour induire l'ovulation dans les 48 heures suivant l'injection (Newcombe et al., 2016 ; Dordas-Perpenya et al., 2020). Tout de fois, cela n'est pas atteignable avec les concentrations des médicaments contenant de la buséréline présents actuellement sur le marché belge pour la jument. En effet, ceux disponibles en médecine vétérinaire contiennent 0,004mg de buséréline/ml. Si l'on prend l'exemple du Veterelin® (0,004mg/ml buséréline, LAB CALIER), il faudrait injecter 31,25 ml en une seule injection pour atteindre la concentration de 0,125mg de buséréline et induire l'ovulation. Il faudrait injecter 1 500 ml

(1,5 L) pour atteindre les 6mg. Et ce afin d'avoir des résultats que l'on peut atteindre avec une injection unique d'hCG.

En résumé, l'utilisation de cette molécule est fortement chronophage et cela est dû au fait que les concentrations disponibles sur le marché ne soient pas adaptées à des injections uniques. De fait, un vétérinaire de terrain en pleine saison de reproduction aurait difficile à se rendre 4 fois à 12 heures d'intervalle chez un client afin d'induire l'ovulation de celle-ci. On pourrait tout de fois penser à l'utiliser si les résultats lors de l'administration de l'hCG ne sont pas satisfaisants. En effet, l'utilisation de buséréline présente l'avantage qu'aucune baisse de l'efficacité n'ait été mise en évidence lors de l'administration multiple de cette molécule au cours d'une même saison de reproduction.

Troisièmement, nous avons vu qu'il existe d'autres alternatives à l'hCG pour induire l'ovulation mais que ces options ne sont pour le moment pas envisageables pour un vétérinaire Belge.

Tout d'abord, la desloréline, très utilisée en Australie, aux USA et en France sous forme d'implant, n'est pas disponible en Belgique. Comme il a été présenté dans la littérature, ces implants doivent impérativement être retirés après 48 heures sans quoi l'intervalle inter-œstrus peut augmenter. Ils sont cependant très efficaces et il peut être intéressant de surveiller si une autorisation de mise sur le marché lui sera accordée en Belgique.

Après cela, nous avons passé en revue la triptoréline, agoniste de la GnRH qui semble fonctionner aussi bien que l'hCG et à des doses relativement faibles (0,1mg) en injection unique (Dordas-Perpenyá et al., 2020). Cette découverte semble prometteuse néanmoins c'est la seule étude ayant été réalisée sur l'injection de cette molécule afin d'induire l'ovulation chez la jument. Cela mériterait d'autres investigations.

Pour finir, d'autres molécules comme le rLH (LH recombinant équin) et le kisspeptine sont étudiées actuellement et deviendront peut-être les médicaments du futur.

Il est intéressant d'incorporer dans cette discussion une perspective amenée par plusieurs travaux de recherche concernant les taux de gestation obtenus lors de la comparaison de l'utilisation d'hCG et l'absence de traitement. En effet deux études ont déclaré avoir obtenu des taux de gestation similaires, que les juments soient induites ou non (Wilson et al., 1990; Davies Morel and Newcombe, 2008). Les scientifiques britanniques Morel et Newcombe (2008) expliquent que cela est dû à la qualité du suivi réalisé sur les juments ne recevant pas de traitement. En effet, il est important de mentionner que la gestion du monitoring des chevaux réalisée par le vétérinaire à un rôle crucial et peut radicalement influencer les taux de gestations que celui-ci va obtenir. Avec ou sans inducteur de l'ovulation.

4. CONCLUSION

D'un point de vue factuel, étant donné les options disponibles pour un vétérinaire belge, malgré l'existence d'alternatives à l'hCG, il n'existe pas d'alternative équivalente. En effet, lorsque le praticien est dans une situation où il estime que l'induction de l'ovulation est nécessaire, une seule injection suffit et est assurée une efficacité en moins de 48 heures dans plus de 75% des cas. Toutefois, il est préférable d'en limiter son utilisation à deux injections par saison afin d'assurer des résultats optimaux. Même s'il ne semble pas y avoir de lien entre l'immunisation et les taux d'ovulation obtenus, c'est au vétérinaire de mesurer la réponse au traitement de la jument et de le changer s'il estime que celle-ci n'y répond pas correctement. Par ailleurs, elle peut être moins bonne chez les animaux d'un âge avancé (>16 ans). De plus, une surveillance supplémentaire est suggérée lors des mois de mai, juin, juillet car il est possible que l'incidence des taux d'ovulation en moins de 24 heures post-injection augmente. D'un autre côté, la busérelina ne peut être administrée en Belgique si l'on désire le faire en injection unique car les concentrations disponibles ne sont pas suffisantes. Si un vétérinaire Belge souhaite tout de même l'employer, 4 administrations à 12h d'intervalle doivent être réalisées (20µg ou 40µg de busérelina administré à chaque fois).

Pour conclure, toutes les études s'accordent sur le fait que c'est au vétérinaire de déterminer si l'animal réagit bien ou non au médicament et d'adapter son traitement, mais en première intention chez une jument cyclée c'est l'hCG qui est à privilégier. Aucune alternative équivalente en termes d'efficacité et de protocole d'administration n'est disponible pour le moment pour les équidés en Belgique.

Bibliographie

- Allen, W.R., Wilsher, S., 2018. Half a century of equine reproduction research and application: A veterinary tour de force. *Equine Vet. J.* 50, 10–21. doi:10.1111/evj.12762
- Barbacini, S., Zavaglia, G., Gulden, P., Marchi, V., Necchi, D., 2000. Retrospective study on the efficacy of hCG in an equine artificial insemination programme using frozen semen. *Equine Vet. Educ.* 12, 312–317. doi:10.1111/j.2042-3292.2000.tb00067.x
- Barrier-Battut, I., Le Poutre, N., Trocherie, E., Hecht, S., Grandchamp des Raux, A., Nicaise, J.L., Vérin, X., Bertrand, J., Fiéni, F., Hoier, R., Renault, A., Egron, L., Tainturier, D., Bruyas, J.F., 2001. Use of buserelin to induce ovulation in the cyclic mare. *Theriogenology* 55, 1679–1695. doi:10.1016/S0093-691X(01)00512-X
- Bhal, P.S., Pugh, N.D., Chui, D.K., Gregory, L., Walker, S.M., Shaw, R.W., 1999. The use of transvaginal power Doppler ultrasonography to evaluate the relationship between perifollicular vascularity and outcome in in-vitro fertilization treatment cycles. *Hum. Reprod.* 14, 939–945. doi:10.1093/humrep/14.4.939
- Blanchard, T.L., Brinsko, S.P., Rigby, S.L., 2002. Effects of deslorelin or hCG administration on reproductive performance in first postpartum estrus mares. *Theriogenology* 58, 165–169. doi:10.1016/S0093-691X(02)00912-3
- Chui, D.K., Pugh, N.D., Walker, S.M., Gregory, L., Shaw, R.W., 1997. Follicular vascularity--the predictive value of transvaginal power Doppler ultrasonography in an in-vitro fertilization programme: a preliminary study. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 12, 191–196. doi:10.1093/humrep/12.1.191
- Davies Morel, M.C.G., Newcombe, J.R., 2008. The efficacy of different hCG dose rates and the effect of hCG treatment on ovarian activity: Ovulation, multiple ovulation, pregnancy, multiple pregnancy, synchrony of multiple ovulation; in the mare. *Anim. Reprod. Sci.* 109, 189–199. doi:10.1016/j.anireprosci.2007.10.005
- Dordas-Perpinyà, M., Normandin, L., Dhier, T., Terris, H., Cochard, A., Frilley, C., Huiban, F., Bruyas, J.-F., 2020. Single injection of triptorelin or buserelin acetate in saline solution induces ovulation in mares the same as a single injection of hCG. *Reprod. Domest. Anim. Zuchthyg.* 55, 374–383. doi:10.1111/rda.13632
- Farquhar, V.J., M. McCue, P., Vanderwall, D.K., Squires, E.L., 2000. Efficacy of the GnRH agonist deslorelin acetate for inducing ovulation in mares relative to age of mare and season. *J. Equine Vet. Sci.* 20, 722–725. doi:10.1016/S0737-0806(00)80183-5
- Harrison, L.A., Squires, E.L., McKinnon, A.O., 1991. Comparison of HCG, buserelin and luprostitol for induction of ovulation in cycling mares. *J. Equine Vet. Sci.* 11, 163–166. doi:10.1016/S0737-0806(07)80039-6
- Jablonka-Shariff, A., Roser, J.F., Bousfield, G.R., Wolfe, M.W., Sibley, L.E., Colgin, M., Boime, I., 2007. Expression and bioactivity of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH). *Theriogenology* 67, 311–320. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.06.013
- Joonè, C., Cavalieri, J., 2023. Sustained-release deslorelin acetate implants disrupt oestrous cyclicity in the mare. *Aust. Vet. J.* 101, 275–278. doi:10.1111/avj.13244
- Junaidi, A., Williamson, P.E., Martin, G.B., Stanton, P.G., Blackberry, M.A., Cummins, J.M., Trigg, T.E., 2007. Pituitary and testicular endocrine responses to exogenous gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and luteinising hormone in male dogs treated with GnRH agonist implants. *Reprod. Fertil. Dev.* 19, 891–898. doi:10.1071/RD07088

- Karten, M.J., Rivier, J.E., 1986. Gonadotropin-Releasing Hormone Analog Design. Structure-Function Studies Toward the Development of Agonists and Antagonists: Rationale and Perspective. *Endocr. Rev.* 7, 44–66. doi:10.1210/edrv-7-1-44
- Knox, R.V., Taibl, J.N., Breen, S.M., Swanson, M.E., Webel, S.K., 2014. Effects of altering the dose and timing of triptorelin when given as an intravaginal gel for advancing and synchronizing ovulation in weaned sows. *Theriogenology* 82, 379–386. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.04.020
- Levy, I., Duchamp, G., 2007. A Single Subcutaneous Administration of Buserelin Induces Ovulation in the Mare: Field Data. *Reprod. Domest. Anim.* 42, 550–554. doi:10.1111/j.1439-0531.2006.00822.x
- Magee, C., Bruemmer, J.E., Kirkley, K.S., Sylvester, L.A., Runyan, B., Nett, T.M., Squires, E.L., Clay, C.M., 2020. Kisspeptin has an independent and direct effect on the pituitary gland in the mare. *Theriogenology* 157, 199–209. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.07.031
- Magee, C., Bruemmer, J.E., Nett, T.M., Squires, E.L., Clay, C.M., 2012. Kisspeptide in the estrous mare: Is it an appropriate ovulation-inducing agent? *Theriogenology* 78, 1987–1996. doi:10.1016/j.theriogenology.2012.07.012
- Magee, C., Foradori, C.D., Bruemmer, J.E., Arreguin-Arevalo, J.A., McCue, P.M., Handa, R.J., Squires, E.L., Clay, C.M., 2009. Biological and anatomical evidence for kisspeptin regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of estrous horse mares. *Endocrinology* 150, 2813–2821. doi:10.1210/en.2008-1698
- Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R.M.G., Arimura, A., Schally, A.V., 1971. Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 1334–1339. doi:10.1016/S0006-291X(71)80019-0
- McCue, P., Hudson, J.J., Bruemmer, J., Squires, ed, 2004. Efficacy of hCG at inducing ovulation: A new look at an old issue. *50th Ann Conv Am Assoc Equ Pr.* 510–513.
- McCue, P.M., Farquhar, V.J., Carnevale, E.M., Squires, E.L., 2002. Removal of deslorelin (Ovuplant™) implant 48 h after administration results in normal interovulatory intervals in mares. *Theriogenology* 58, 865–870. doi:10.1016/S0093-691X(02)00923-8
- McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, W.E., Varner, D.D., 2011. *Equine Reproduction*. John Wiley & Sons.
- Med’Vet - OVUPLANT® 2,1 mg Comprimés pour implantation pour chevaux (juments) [WWW Document], n.d. URL <https://med-vet.fr/produits/medicament/ovuplant-2-1-mg-comprimésimplantationchevaux-juments/ed2adaf0-5350-4679-a17c-fbda34404ff5> (accessed 6.10.24).
- Montovan, S.M., Daels, P.P., Rivier, J., Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H., Lasley, B.L., 1990. The effect of a potent GnRH agonist on gonadal and sexual activity in the horse. *Theriogenology* 33, 1305–1321. doi:10.1016/0093-691X(90)90049-Y
- Newcombe, J.R., Cuervo-Arango, J., 2017. What Are the Options for Induction of Ovulation in the Mare in Europe? Buserelin as an Alternative to Human Chorionic Gonadotropin. *J. Equine Vet. Sci.* 51, 8–17. doi:10.1016/j.jevs.2016.12.006
- Panić-Janković, T., Mitulović, G., 2019. Human chorionic gonadotrophin pharmaceutical formulations of urinary origin display high levels of contaminant proteins—A label-free quantitation proteomics study. *Electrophoresis* 40, 1622–1629. doi:10.1002/elps.201900087
- Roser, J.F., Kiefer, B.L., Evans, J.W., Neely, D.P., Pacheco, D.A., 1979. The development of antibodies to human chorionic gonadotrophin following its repeated injection in the cyclic mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 173–179.
- Siddiqui, M., Gastal, E., Gastal, M., Beg, M., Ginther, O., 2008. Effect of hCG in the Presence of hCG Antibodies on the Follicle, Hormone Concentrations, and Oocyte in Mares. *Reprod. Domest. Anim. Zuchthyg.* 44, 474–9. doi:10.1111/j.1439-0531.2008.01133.x

- Silva, L., Gastal, E., Gastal, M., Beg, M., Ginther, O., 2006. Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. *Anim Reprod* 3, 339–346.
- Simonneaux, V., Revel, F.G., Ansel, L., 2009. La régulation de la reproduction saisonnière par la mélatonine nécessite un Kiss – Melatonin control of seasonal reproduction requires a Kiss. *Corresp. En Métabolismes Horm. Diabète Nutr.* 6.
- Sinclair, C.D., Webel, S.K., Douthit, T.L., Murray, L.W., Jager, A.L., Grieger, D.M., Kouba, J.M., 2017. Evaluation of an intravaginal triptorelin acetate gel for inducing ovulation in mares¹. *J. Anim. Sci.* 95, 3631–3638. doi:10.2527/jas.2017.1373
- Sullivan, J.J., Parker, W.G., Larson, L.L., 1973. Duration of estrus and ovulation time in nonlactating mares given human chorionic gonadotropin during three successive estrous periods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 162, 895–898.
- VetCompendium - BUSOL 0,004 mg/ml [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/5291> (accessed 6.11.24).
- VetCompendium - CHORULON [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/3797> (accessed 4.11.24).
- VetCompendium - FERTIGEST [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/5276> (accessed 6.11.24).
- VetCompendium - Gonadotrophines et médicaments agissant sur leur libération HSR [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/3506> (accessed 6.13.24).
- VetCompendium - GONAVET VEYX 50 mcg/ml sol inj bovins, porcs, chevaux [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/4882> (accessed 6.11.24).
- VetCompendium - RECEPTAL [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/4068> (accessed 6.11.24).
- VetCompendium - SUPRELORIN 4,7 mg implant chiens, chats [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/4285> (accessed 6.10.24).
- VetCompendium - VETERELIN 0,004 mg/ml [WWW Document], n.d. URL <https://www.vetcompendium.be/fr/node/4506> (accessed 6.11.24).
- Voss, J.L., Sullivan, J.J., Pickett, B.W., Parker, W.G., Burwash, L.D., Larson, L.L., 1975. The effect of HCG on duration of oestrus, ovulation time and fertility in mares. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 297–301.
- Vural, F., Vural, B., Doğer, E., Çakıroğlu, Y., Çekmen, M., 2016. Perifollicular blood flow and its relationship with endometrial vascularity, follicular fluid EG-VEGF, IGF-1, and inhibin-a levels and IVF outcomes. *J. Assist. Reprod. Genet.* 33, 1355–1362. doi:10.1007/s10815-016-0780-7
- Wilson, C.G., Downie, C.R., Hughes, J.P., Roser, J.F., 1990. Effects of repeated hCG injections on reproductive efficiency in mares. *J. Equine Vet. Sci.* 10, 301–308. doi:10.1016/S0737-0806(06)80015-8
- Yoon, M., 2012. The Estrous Cycle and Induction of Ovulation in Mares. *J. Anim. Sci. Technol.* 54. doi:10.5187/JAST.2012.54.3.165
- Yoon, M.J., Boime, I., Colgin, M., Niswender, K.D., King, S.S., Alvarenga, M., Jablonka-Shariff, A., Pearl, C.A., Roser, J.F., 2007. The efficacy of a single chain recombinant equine luteinizing hormone (reLH) in mares: Induction of ovulation, hormone profiles, and inter-ovulatory intervals. *Domest. Anim. Endocrinol.* 33, 470–479. doi:10.1016/j.domaniend.2007.06.001