



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



(11) **EP 1 709 942 A1**

(12) **DEMANDE DE BREVET EUROPEEN**  
publiée en application de l'article 158, paragraphe 3 de la CBE

(43) Date de publication:  
**11.10.2006 Bulletin 2006/41**

(51) Int Cl.:  
**A61D 19/00 (2006.01)**

(21) Numéro de dépôt: **04805119.7**

(86) Numéro de dépôt international:  
**PCT/ES2004/000576**

(22) Date de dépôt: **23.12.2004**

(87) Numéro de publication internationale:  
**WO 2005/063145 (14.07.2005 Gazette 2005/28)**

(84) Etats contractants désignés:  
**FR**

(30) Priorité: **26.12.2003 ES 200303053**

(71) Demandeur: **Instituto Nacional de Investigacion y Tecnologia..**  
**E-28040 Madrid (ES)**

(72) Inventeurs:  
• **LOPEZ SEBASTIAN, Antonio**  
**E-28040 Madrid (ES)**  
• **CARRIZOSA DURAN, Juan**  
**E-28040 Madrid (ES)**  
• **URRUTIA LÓPEZ, Baltasar**  
**E-28040 Madrid (ES)**  
• **GÓMEZ BRUNET, Amelia**  
**E-28040 Madrid (ES)**

- **GONZALEZ DE BULNES, Antonio**  
**E-28040 Madrid (ES)**
- **DIAZ DELFA, Celia**  
**E-28040 Madrid (ES)**
- **MICHEO PUIG, Juan Manuel**  
**E-28040 Madrid (ES)**
- **FALAGÁN PRIETO, Adolfo**  
**E-28040 Madrid (ES)**
- **DEL CAMPO VECINO, Ana Maria**  
**E-28040 Madrid (ES)**
- **LOBERA LOSSELL, Juan**  
**E-28040 Madrid (ES)**

(74) Mandataire: **Gonzalez Palmero, Fé**  
**Calle Sagasta, 4**  
**28004 Madrid (ES)**

(54) **METHODE D'INDUCTION ET DE SYNCHRONISATION DE L'OVULATION EN VUE D'UNE INSEMINATION ARTIFICIELLE SYSTEMATIQUE DE CAPRIN SAUVAGE**

(57) Il s'agit d'une méthode basée sur l'induction de l'ovulation par l'introduction des mâles, concrètement sur la capacité de stimulation ovarienne provoquée par la présence des mâles après une période d'isolement des mâles et des femelles (effet mâle) ; par ailleurs le traitement comprend l'administration à la femelle de proges-

térone et de prostaglandine F2 $\alpha$ , par voie intramusculaire, avec laquelle on obtient la synchronisation des chaleurs et de l'ovulation, qui permet l'insémination artificielle systématique selon les méthodes habituelles.

EP 1 709 942 A1

## Description

### OBJET DE L'INVENTION

**[0001]** La présente invention concerne une méthode de contrôle de l'ovulation pour la reproduction chez les caprins. Plus concrètement, il s'agit d'un système d'induction et de synchronisation de l'ovulation chez les femelles, pour procéder à l'insémination artificielle systématique, sans détection préalable des chaleurs.

**[0002]** L'objet de l'invention est de proposer une méthode efficace, basée sur la capacité de stimulation ovarienne des femelles, provoquée par la présence des mâles (effet mâle) associée à l'effet lutéolytique des analogues de la prostaglandine F2 $\alpha$  en tant qu'agent lutéolytique, méthode applicable dans le secteur de l'élevage pour la reproduction des caprins.

### ANTÉCÉDENTS DE L'INVENTION

**[0003]** Chez les caprins le développement de l'insémination artificielle est lié à l'utilisation de méthodologies d'induction et de synchronisation des chaleurs et de l'ovulation, au moyen de traitements hormonaux qui permettent un haut degré de synchronisation des chaleurs dans les groupes de femelles traitées, ce qui permet ensuite le recours à l'insémination artificielle systématique sans détection préalable des chaleurs.

**[0004]** Ces systèmes présentent de nombreux avantages sur un plan pratique, tels que la possibilité de réaliser l'insémination simultanée de grands groupes de femelles, en très peu de temps, en gardant la qualité du sperme et l'uniformité de l'insémination.

**[0005]** Ces méthodes impliquent l'utilisation d'un progestatif, généralement sur un support en mousse de polyuréthane par voie vaginale, qui est gardé pendant 11 jours. 9 jours après l'insertion, on injecte, par voie intramusculaire 100  $\mu$ g d'un analogue de la prostaglandine F2 $\alpha$ , avec une dose, elle aussi intramusculaire, d'environ 300 UI de gonadotrophine chorionique équine (eCG).

**[0006]** Le 11<sup>ème</sup> jour on ôte les éponges vaginales et les chaleurs commencent à apparaître au bout de 24 heures, la plus grande concentration de chaleurs survenant au bout de 30 heures environ, les ovulations ayant lieu au bout de 48 à 60 heures.

**[0007]** Toutes les femelles traitées sont inséminées dans les 46 - 47 heures après le retrait des éponges vaginales, avec du sperme réfrigéré à 5°C, par voie cervicale, avec les cathéters habituels d'insémination pour cette espèce.

**[0008]** Avec ces traitements, les pourcentages de fertilité moyens de ces chaleurs induites sont d'environ cinquante pour cent.

**[0009]** Face à l'avantage que présentent ces méthodes, qui rendent possible l'insémination de grands groupes de femelles simultanément, avec des chaleurs synchronisées, on note aussi divers inconvénients. Les plus grands sont ceux qui sont en rapport avec les caracté-

ristiques des composés hormonaux utilisés, principalement les progestatifs, étant donné que les résidus, surtout dans le lait, contraignent à des périodes de suppression durant le traitement et jusqu'à 14 jours après le traitement.

**[0010]** Par ailleurs, c'est une chose connue, en fonction du jour du cycle, et par conséquent de l'âge du corps jaune, la synchronisation dans l'apparition des chaleurs est très variable après l'application de traitements avec des analogues de la prostaglandine F2 $\alpha$  en tant qu'agent lutéolytique.

**[0011]** Les autres inconvénients sont ceux qui concernent l'utilisation de la gonadotrophine chorionique équine, car s'agissant d'une protéine de haut poids moléculaire, d'origine équine, elle provoque des taux élevés d'anticorps et le défaut de réponse qui s'ensuit à partir du deuxième ou troisième traitement.

**[0012]** Ces traitements hormonaux ne sont pas non plus d'une efficacité totale sur le pourcentage de femelles dont les chaleurs sont induites, qui en général n'atteint pas la moyenne de 90% des femelles traitées, ainsi que sur le pourcentage des femelles ovulant et sur le degré de synchronisation des ovulations qui varie sur une plage de 24 heures au minimum.

**[0013]** En tenant compte des limitations que présente ce type de traitements, on s'est intéressé à la recherche de méthodes qui sont des alternatives aux méthodes hormonales classiques, qui permettent un système d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour réaliser l'insémination artificielle systématique.

### DESCRIPTION DE L'INVENTION

**[0014]** La méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour la reproduction et l'insémination artificielle systématique chez les caprins que l'invention propose, résout de manière pleinement satisfaisante la problématique exposée précédemment. Cette méthode est basée sur la capacité de stimulation ovarienne provoquée par la présence des mâles après une période d'isolement des mâles et des femelles (effet mâle).

La stimulation est déterminée par l'effet des phéromones du mâle, qui par les bulbes olfactifs atteignent l'hypothalamus et sont capables de stimuler la pulsativité de la GnRH, induisant l'ovulation. Dans le cas des caprins, les chaleurs et les ovulations induites par la présence des mâles se produisent entre le 7<sup>ème</sup> et le 9<sup>ème</sup> jour après l'introduction des mâles.

**[0015]** Une fois induites les chaleurs et l'ovulation des femelles, leur synchronisation est importante, afin de pouvoir réaliser l'insémination artificielle systématique sur tout le groupe de femelles. Pour la méthode de synchronisation de l'ovulation induite par la présence des mâles ainsi que pour la réduction de l'intervalle entre l'introduction des mâles et l'ovulation, on utilise une injection huileuse par voie intramusculaire de 25 mg de progestérone au moment de l'introduction des mâles. La progestérone est une hormone naturelle, produite par le

corps jaune ovarien, et qui administrée au moment de l'introduction des mâles, synchronise les premières chaleurs et ovulation environ 72 heures après son administration.

**[0016]** Parmi les grands avantages de la méthode proposée dans la présente invention, il faut souligner les possibilités qu'offre la lutéolyse induite du corps jaune généré après l'ovulation, suite à l'introduction des mâles, de sorte que, quand on induit la lyse du corps jaune de façon précoce, 6 jours après les chaleurs, on constate un haut degré de réponse en termes de femelles qui ovulent, et avec un haut niveau de synchronisation.

**[0017]** Une fois réalisé tout le processus d'induction et de synchronisation des chaleurs et de l'ovulation décrit précédemment, le moment le plus approprié pour l'insémination artificielle systématique se situe à 50 heures après le traitement avec la prostaglandine, par lequel on obtient des résultats de fertilité moyens de 60% des femelles traitées.

**[0018]** Par conséquent, la méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation chez les caprins, comprend les étapes décrites ci-dessous :

1°.- Séparation des femelles et des mâles, en évitant les contacts par la vue et l'odorat durant au moins un mois.

2°.- Introduction des mâles, au minimum dans une proportion de 1/20 ; et administration de 25 mg de progestérone dans un véhicule huileux par voie intramusculaire.

3°.- Au bout de 9 jours, on applique le traitement par voie intramusculaire avec 100 µg d'un analogue de la prostaglandine F2α.

4°.- Enfin, 50 heures après le traitement avec la prostaglandine F2α, on procède à l'insémination artificielle systématique selon les méthodes habituelles.

**[0019]** Cette méthodologie, et en raison des variations saisonnières de l'activité cyclique des femelles, sera employée entre le mois de mars et le mois de juin, époque de l'anoestrus saisonnier. Le reste de l'année, quand il existe des pourcentages plus ou moins élevés de femelles cycliques, le traitement sera le même mais il comportera en plus, une injection de l'analogue de la prostaglandine F2α au moment de l'introduction des mâles, pour synchroniser les chaleurs des femelles cycliques potentielles.

#### EXEMPLE DE RÉALISATION DE L'INVENTION

**[0020]** La présente invention est en outre illustrée par l'exemple suivant, qui ne prétend en aucun cas restreindre l'étendue de la protection.

**[0021]** On a réalisé des inséminations artificielles systématiques sur des femelles de caprins réparties en lots

expérimentaux, dans lesquels on traite la moitié de l'effectif avec le traitement classique (progestatif et eCG) et le reste avec le traitement objet de l'invention.

**[0022]** Dans le groupe qui a été soumis au traitement présentement décrit, on a procédé à la séparation des femelles et des mâles, en les privant de vision et d'odorat durant au moins un mois. Cette période écoulée, les mâles sont introduits, dans la proportion d'un mâle pour 20 femelles et on administre à chaque femelle 25 mg de progestérone dans un véhicule huileux par voie intramusculaire.

**[0023]** Au bout de neuf jours, on applique un traitement par voie intramusculaire avec 100 µg d'un analogue de la prostaglandine F2α.

**[0024]** Enfin, 50 heures après on procède à l'insémination artificielle systématique selon n'importe laquelle des méthodes habituelles.

**[0025]** Les résultats sur un total de 600 femelles inséminées ont fait état d'une fertilité des chaleurs induites de 47% pour les femelles traitées selon la méthode classique, et de 60% pour la méthode exposée précédemment.

#### Revendications

1. Méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour l'insémination artificielle systématique chez les caprins, **caractérisée en ce qu'elle** comprend les étapes suivantes :

- Séparation des femelles et des mâles, en évitant les contacts par la vue et l'odorat durant au moins un mois ;
- Introduction des mâles et administration aux femelles de progestérone dans un véhicule huileux par voie intramusculaire ;
- Au bout de 9 jours, on applique le traitement par voie intramusculaire d'un analogue de la prostaglandine F2α ;
- Enfin, 50 heures après le traitement avec la prostaglandine F2α, on procède à l'insémination artificielle systématique selon les méthodes habituelles.

2. Méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour l'insémination artificielle systématique chez les caprins, selon la revendication 1, **caractérisée en ce que** les mâles sont introduits dans une proportion minimale de 1/20.

3. Méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour l'insémination artificielle systématique chez les caprins, selon la revendication 1, **caractérisée en ce que** la dose de progestérone administrée à chaque femelle est de 25 mg.

4. Méthode d'induction et de synchronisation de l'ovu-

lation pour l'insémination artificielle systématique chez les caprins, selon la revendication 1, **caractérisée en ce que** la dose administrée de l'analogue de la prostaglandine F2 $\alpha$  est de 100  $\mu$ g.

5

5. Méthode d'induction et de synchronisation de l'ovulation pour l'insémination artificielle systématique chez les caprins, selon les revendications précédentes, **caractérisée en ce que** durant la période de l'année qui ne sera pas comprise entre mars et juin, le traitement sera le même que celui décrit dans les revendications précédentes, mais il inclura l'injection aux femelles d'une dose de l'analogue de la prostaglandine F2 $\alpha$ , au moment de l'introduction des mâles.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/ ES 2004/000576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<b>IPC<sup>7</sup> A61D 19/00</b> According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
<b>IPC<sup>7</sup> A61D</b>		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>CIBEPAT, EPODOC, BIOSIS</b>		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	<p>Díaz Delfa et al. Inducción y sincronización de ovulaciones en cabras de la raza murciano-granadina, mediante la utilización del "efecto macho" y progesterona. XXVII congreso de la SEOC. Valencia 2002. [en línea], [recuperado el 2005-15-03]. Recuperado en Internet. &lt;URL: <a href="http://www.carm.es/imida/Publicaciones/pub16.htm">http://www.carm.es/imida/Publicaciones/pub16.htm</a></p> <p>Ruiz et al. Evaluación de diferentes tratamientos hormonales para la sincronización del estro en cabras criollas serranas durante el verano. Zootecnia tropical. 2002, vol. 20, n° 4, pp. 473-482. [en línea], [recuperado el 2005-15-03]. Recuperado en Internet. &lt;URL: <a href="http://www.ceniap.gov.ve/bdigenal/zt2004/texto/riuz.htm">http://www.ceniap.gov.ve/bdigenal/zt2004/texto/riuz.htm</a></p> <p>Lassoued et al. Effect of progesterone on ovulation rate and oestrus cycle length induced by the male effect in the Barbarine ewe and Tunisian local goat. Reproduction Nutrition Development. 1995, vol. 35, n° 4, pp. 415-426, ISSN 0926-5287.</p>	
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
<b>31 March 2005 (31. 03. 2005)</b>		<b>07 April 2005 (07. 04. 2005)</b>
Name and mailing address of the ISA/		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)