

VALUTAZIONE DELL'EFFICIENZA DI UN TRATTAMENTO A BASE DI PROGESTINICO E DI PROGESTINICO ASSOCIATO A GONADOTROPINE SULLE SCROFETTE PUBERI

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF TREATMENT WITH PROGESTINIC VERSUS PROGESTINIC-GONADOTROPIN ASSOCIATION IN PREPUBERTAL GILTS

SCOLLO A.¹, CATELLI E., CASAPPA P.², AMORICO A.¹, MAZZONI C.¹

¹ Medico Veterinario Suivet; ² Ceva Salute Animale

Parole chiave: scrofetta, gonadotropine, estro, progestinico

Key words: gilt, gonadotropin, estrus, progestin

Riassunto: Nell'allevamento suinicolo moderno, la gestione e l'introduzione della scrofetta nella carriera riproduttiva ricoprono un ruolo fondamentale, in quanto da questo animale dipende il futuro produttivo dell'azienda. Lo scopo del presente lavoro è quello di determinare l'efficacia della sincronizzazione degli estri sulle performance zootecniche di un gruppo di scrofette puberi sottoposte a trattamento farmacologico con solo progestinico (4mg/ml di Altrenogest), o con progestinico associato a successiva somministrazione di gonadotropine (eCG 80UI/ml e hCG 40UI/ml). I risultati suggeriscono che la somministrazione di eCG ed hCG in associazione 24 ore dopo la fine del trattamento con Altrenogest nelle scrofette, garantisce maggiore omogeneità tra la fine di quest'ultimo e la venuta in estro degli animali, consentendo un'ottimizzazione del management delle fecondazioni.

Abstract: In modern pig breeding, the management and the introduction of the gilt in the reproductive career play a key role, as from this depends the reproductive future of the herd. The aim of this work was to determine the effectiveness of synchronization of oestrus on the reproductive performances of a group of pubertal gilts subjected to pharmacological treatment with progestin-only (4mg/ml of Altrenogest), or with progestin associated with subsequent administration of gonadotropins (eCG 80UI/ml and hCG 40UI/ml). The results suggest that the administration of eCG and hCG in combination 24 hours after the end of treatment with Altrenogest in gilts, ensures greater uniformity between the end of the latter and the coming of the animals in estrus, allowing optimization of insemination management.

INTRODUZIONE

Nell'allevamento suinicolo, la scrofetta richiede attenzioni estremamente particolari in quanto dalla sua delicata gestione dipende il futuro riproduttivo dell'intera azienda. Ricoprendo un ruolo cardine, i costi ad essa legati non sono trascurabili, ed un calo di efficienza può rapidamente tradursi in una tangibile perdita economica (1). Nella realtà zootecnica, ogni anno vengono riformate dal 30 al 50% delle scrofe per essere rimontate dalle scrofette (2); il successo di questa introduzione rappresenta una vera e propria sfida per il management dell'azienda. Sfortunatamente però, non è facile ottenere un numero sufficiente di scrofette pronte a garantire il tasso di rimonta, ed il successo dell'intera operazione passa necessariamente attraverso un'ottimizzazione dei flussi di questi animali. L'opportunità di poter decidere in che momento sincronizzare gli estri delle scrofette, ma soprattutto di poterli avere concentrati in un breve lasso di tempo, può rappresentare un punto di grande utilità per l'azienda. I risvolti positivi,

tanto sulla gestione del seme, certamente ottimizzato soprattutto qualora acquistato, quanto sulla gestione dei parti, a loro volta più concentrati nell'unità di tempo, possono veramente fare la differenza. Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della somministrazione per via orale dei progestinici nella sincronizzazione dell'estro in scrofette puberi, anche in una fase del ciclo estrale sconosciuta (2). Tuttavia, anche l'insorgenza del calore in animali sincronizzati con progestinici può avvenire in un arco di tempo non del tutto prevedibile e distribuirsi nell'arco di una settimana. Questo inconveniente è per la maggior parte attribuibile ad un insufficiente sviluppo follicolare. Con lo scopo di stimolare questo sviluppo e ottenere un maggiore effetto sincronizzante, negli ultimi anni la ricerca ha indirizzato la propria attenzione verso protocolli di sincronizzazione dell'estro che prevedano l'utilizzo di gonadotropine al termine del trattamento col progestinico (3). Diversi studi sono stati già condotti sugli effetti dell'associazione di queste due categorie di farmaci nella fisiologia delle scrofette (4, 5, 6), ma l'aspetto zootecnico delle performance seguenti alla sincronizzazione è stato investigato in misura minore. Lo scopo del presente lavoro è quello di determinare le performance zootecniche di scrofette puberi sottoposte a trattamento farmacologico con solo progestinico (4mg/ml di Altrenogest), o con progestinico associato a successiva somministrazione di gonadotropine (eCG 80UI/ml e hCG 40UI/ml).

MATERIALI E METODI

Animali e management

Lo studio è stato condotto in un allevamento suinicolo commerciale a ciclo aperto, osservando le norme minime sulla protezione dei suini indicate dalla legislazione vigente (7). Per la prova sono state considerate 66 scrofette puberi in fase estrale sconosciuta, tutte di genetica ibrida commerciale Large White × Landrace. L'età media della pubertà era di circa 180 giorni di vita con un peso stimato intorno ai 100kg. L'ultima fase di selezione prima dell'introduzione nel reparto di gestazione è avvenuta valutando l'integrità degli appiombi, le dimensioni dei genitali esterni e la condizione corporea (BCS) (8). Il periodo di osservazione è iniziato in Marzo, concomitantemente al trasferimento delle scrofette nelle gabbie gestazione (attorno ai 7 mesi di vita e ad un peso di 120kg), ed è terminato in Maggio. Gli animali erano all'interno di un capannone a ventilazione forzata con pavimentazione in grigliato, mantenendo 8 ore di luce al giorno all'intensità di 300 lux. L'alimentazione era somministrata con sistemi automatizzati due volte al giorno (alle ore 07:00 e alle ore 16:00) secondo una formulazione standard, ed in ragione di 1,80 kg/capo/die di alimento. L'acqua era a disposizione ad libitum tramite un abbeveratoio a spillo. A tutte le scrofette è stato somministrato individualmente l'Altrenogest (4 mg/ml, Altresyn®, Ceva) al dosaggio di 20 mg (5 ml) per via orale, quotidianamente per 18 giorni in associazione al pasto della mattina. Il diciannovesimo giorno di trattamento (24 ore dopo l'ultima somministrazione di Altrenogest), 36 scrofette hanno ricevuto una somministrazione per via intramuscolare di 5 ml contenenti 400 UI di eCG e 200 UI di hCG (Gn) (Fertipig®, Ceva). Le rimanenti 30 scrofette hanno invece ricevuto 5 ml di soluzione placebo con le stesse modalità. Dal giorno 19 in poi è stata effettuata la ricerca degli estri con il verro due volte al giorno (alle ore 08:00 e alle ore 16:00); la registrazione della venuta in calore è stata effettuata alla manifestazione del riflesso dell'immobilità da parte dell'animale e delle tipiche caratteristiche dell'estro descritte da Signoret (9). Alla manifestazione del calore, le scrofette sono state fecondate alla presenza del verro, con inseminazione artificiale convenzionale, con cateteri a spugna e buste monodose da 90 ml per $2,6 \times 10^6$ spermatozoi vivi e vitali in extender a lunga conservazione. Il seme refrigerato, utilizzato entro le 24 ore dal prelievo, è stato depositato nelle vie genitali femminili con una prima dose al rilevamento dell'estro, ed a distanza di 24 ore

con una seconda dose secondo il protocollo suggerito da Almeida et al. (10). Gli animali sono stati dunque monitorati per l'intera gravidanza e gli eventuali ritorni in calori o aborti annotati. Oltre all'intervallo tra la fine del trattamento con Altrenogest e l'insorgenza del calore (per semplicità indicato nel testo come ISE-pt), sono stati calcolati i principali parametri riproduttivi degli animali, quali la fertilità ecografica, la portata al parto e la percentuale di calori entro l'ottavo giorno post trattamento. Inoltre, sono stati raccolti al parto i dati relativi al numero di nati totali, nati vivi, nati morti e mummificati per ciascuna scrofetta.

Analisi statistica

Le percentuali di portata al parto dei due gruppi sono state confrontate tramite l'analisi del chi-quadro, mentre per le percentuali di scrofette in calore entro gli 8 giorni dalla fine del trattamento è stato utilizzato il Fisher's exact test. Per l'ISE-pt, il numero di nati totali, nati vivi, nati morti e mummificati invece è stato utilizzato il t-test. La variabile ISE-pt è stata successivamente analizzata anche con il test chi-quadro per il confronto tra due distribuzioni di dati. Un ulteriore z-test è stato effettuato per il confronto tra frequenze di dati entro ciascun giorno di venuta in calore.

RISULTATI

Sono emerse differenze significative tra i due gruppi di trattamento ($P < 0,05$) per l'ISE-pt, la cui durata è risultata di 5,6 giorni per le scrofette trattate con Altrenogest e Gn e di 6,3 giorni per il gruppo trattato solamente con Altrenogest. Tale differenza è stata confermata anche nell'analisi della distribuzione dei dati nei due gruppi ($P < 0,05$); l'indice di Kurtosis calcolato ha evidenziato una distribuzione con curva molto più appuntita nel gruppo delle scrofette con doppio trattamento piuttosto che nel gruppo con solo Altrenogest (3,03 vs 0,24), descrivendo la minore variabilità della venuta in estro dopo la somministrazione di gonadotropine (Grafico 1). Infatti, il 57% delle scrofette trattate con entrambi i farmaci ha manifestato il calore il giorno 5 dalla fine del trattamento con Altrenogest, con un complessivo 83% tra il giorno 5 e 6. Tra le scrofette senza la somministrazione di Gn invece, solo il 41% ha manifestato il calore concomitantemente al giorno 6, mentre le restanti si sono distribuite nei giorni precedenti e seguenti (10% il giorno 5; 17% sia il giorno 7 che il giorno 8). Nel confronto tra frequenze percentuali per ciascun giorno di venuta in calore si è evidenziata forte differenza significativa ($P < 0,001$) al giorno 5 (Grafico 2). I risultati non significativi degli altri parametri indagati sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1. Dati produttivi delle scrofette dei due gruppi di trattamento

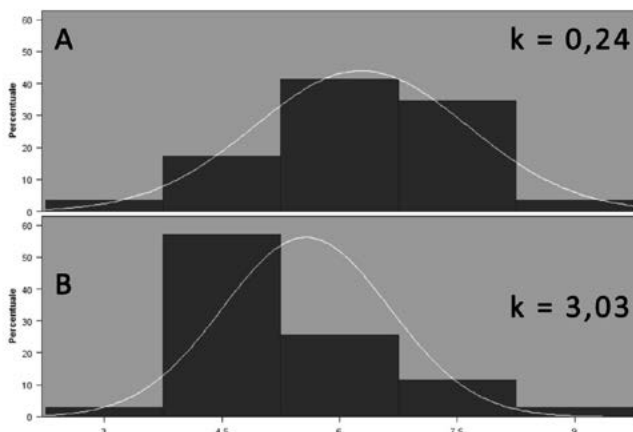
Table 1. Productive data of gilts per treatment group

Variabile	Altrenogest	Altrenogest + Gn	P-value
Scrofette (n°)	30	36	
Calori entro 8 giorni (%)	96,6	97,2	> 0,05
ISE-pt, media (giorni)	6,3 ± 1,4 ^a	5,6 ± 1,1 ^b	< 0,05
Fertilità ecografica %	90	83,3	> 0,05
Portata al parto (%)	83,3	77,8	> 0,05
Nati totali, media (n°)*	14,8 ± 2,7	13,2 ± 3,5	> 0,05
Nati vivi, media (n°)*	12,6 ± 3,1	11,5 ± 4,1	> 0,05
Nati morti, media (n°)*	1,5 ± 2,2	1,0 ± 1,3	> 0,05
Mummificati, media (n°)*	0,7 ± 1,4	0,7 ± 2,3	> 0,05

*Dati calcolati escludendo i parti delle scrofette tornate in calore dopo la fecondazione.

Grafico 1. Analisi della distribuzione degli intervalli tra l'ultima somministrazione di Altrenogest ed il calore.

Graph 1. Distribution analysis of time intervals between the last Altrenogest administration and the heat.



A: scrofette trattate solo con Altrenogest;

B: scrofette trattate sia con Altrenogest che con Gn;

k = indice di Kurtosis.

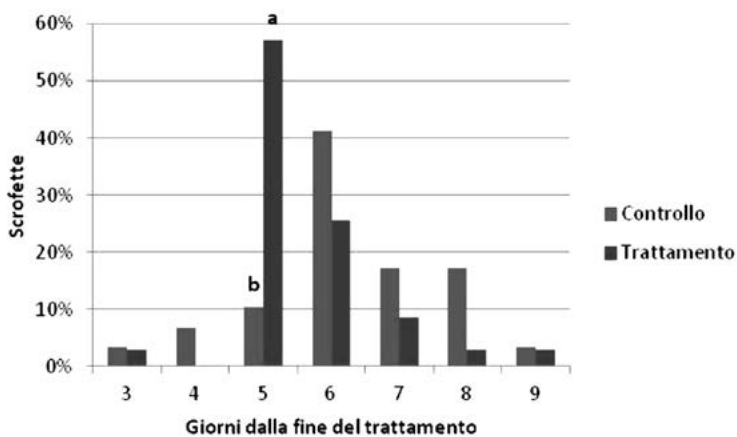


Grafico 2. Frequenze percentuali del giorno di insorgenza dei calori nelle scrofette appartenenti ai due gruppi di trattamento (analisi della distribuzione dei dati: $P < 0,05$).

Graph 2. Percentage frequency of day in which heat was observed in gilts belonging to experimental groups (analysis of the data distribution: $P < 0,05$).

^{a,b}: lettere differenti indicano differenza significativa tra le frequenze nei due gruppi di trattamento ($P < 0,001$).

DISCUSSIONE

Alla luce della ormai consolidata difficoltà di individuare il momento ideale della fecondazione sia nelle scrofe ed ancor più nelle scrofette, il controllo dell'estro è l'unico approccio per avvicinarsi al minore intervallo possibile tra il momento stesso dell'ovulazione e la fecondazione artificiale. A tale scopo, l'efficacia dell'Altrenogest nel sincronizzare l'estro in scrofette puberi è ampiamente documentato (revisioni: 2, 11, 12). Riassumendo i risultati della bibliografia, Estienne et al. (5) descrivono che la sincronizzazione con l'utilizzo di Altrenogest per 18 giorni garantisce l'estro approssimativamente nel 90% delle scrofette trattate. I risultati del presente lavoro hanno superato queste aspettative in entrambi i gruppi di trattamento, raggiungendo entro l'ottavo giorno dall'ultima somministrazione di Altrenogest il 96,6% ed il 97,2% rispettivamente per le scrofette senza gonadotropine e per quelle trattate anche con il Gn. L'elevata percentuale di scrofette in calore entro l'ottavo giorno dalla fine del trattamento conferma dunque l'efficacia dell'Altrenogest nella sincronizzazione dell'estro a prescindere dall'utilizzo di gonadotropine. Come già osservato da de Jong et al. (13) nel suo recentissimo lavoro, le differenze nelle performance zootecniche dei due gruppi possono infatti essere esigue. Tuttavia, a differenza del presente lavoro, l'autore ha utilizzato le sole eCG per la stimolazione dello sviluppo follicolare. Sebbene infatti le gonadotropine corioniche di cavalla siano spesso utilizzate da sole, la loro associazione con le hCG rappresenta uno tra i protocolli di induzione dell'estro più diffusi sia per la sua efficacia nella stimolazione dell'ovulazione (14) che per la minore mortalità embrionale che ne deriva (15). Nel presente lavoro, utilizzando una associazione tra eCG ed hCG, è emersa una differenza significativa ($P < 0,05$) per l'ISE-pt, che nel sopraccitato studio si era manifestata solo con una lieve tendenza senza piena significatività statistica ($P = 0,07$). Le scrofette trattate con il Gn invece hanno manifestato il calore 5,6 giorni dopo la fine del trattamento, rispetto ai 6,3 giorni degli animali trattati solo con Altrenogest. Risultati simili erano stati riportati precedentemente in bibliografia da Horsley et al. (6), anche in questo caso a seguito dell'associazione di hCG e eCG. Ancora, una riduzione dell'ISE-pt nelle scrofette è stata osservata anche da Engl et al. (16) con il GnRH e da Martinat-Bottè et al. (17) con le eCG associate ad un agonista del GnRH. Al contrario, Kaeoket (18), che ha utilizzato le sole hCG dopo l'Altrenogest, afferma invece che l'intervallo tra la fine del trattamento e l'estro non sia tra i parametri influenzati dalla somministrazione di gonadotropine. Malgrado i risultati contrastanti, è da sottolineare il differente utilizzo che i diversi autori hanno fatto delle gonadotropine, facendo emergere una apparente minore efficacia per i protocolli che prevedano dopo il progestinico solo una delle gonadotropine in esame (eCG o hCG) e non una associazione tra loro o con GnRH. Sebbene non si possano paragonare i diversi lavori perché condotti in condizioni sperimentali differenti, l'effetto positivo sulla venuta in estro dopo il trattamento riscontrato nel presente lavoro potrebbe essere attribuibile proprio all'associazione di eCG e hCG. È probabile infatti che la riduzione dell'intervallo ISE-pt sia avvenuta grazie alla sinergia nell'attività LH- ed FSH-simile delle due gonadotropine; Driancourt et al. (19) afferma infatti che l'LH stimoli la crescita follicolare dai 4mm fino alle dimensioni preovulatorie, e che questo si traduca in accorciamento della fase follicolare e nella conseguente riduzione dell'ISE-pt (13, 20). Inoltre, l'efficacia del protocollo terapeutico utilizzato conferma anche la correttezza delle tempistiche di somministrazione delle gonadotropine dopo l'ultima dose di Altrenogest (24 ore): Kaeoket (18) infatti, che non aveva registrato alcuna efficacia nel proprio protocollo, suggeriva come il timing da lui utilizzato (3 giorni dopo l'ultima dose di Altrenogest) potesse essere improprio e responsabile di uno squilibrio ormonale che potesse aver portato al mancato aumento preovulatorio di LH, alla precoce produzione di progesterone per luteinizzazione dei follicoli, e a conseguenti interferenze nel processo di ovulazione.

Gli altri parametri rilevati nel presente lavoro non hanno mostrato differenze significative tra i due gruppi di trattamento. Sebbene le stesse conclusioni abbiano suscitato alcune perplessità in altri autori (17) sui reali effetti benefici dell'aggiunta di gonadotropine all'Altrenogest, è utile sottolineare come da un'indagine più approfondita sull'ISE-pt si possano avere risvolti estremamente interessanti per l'ottimizzazione della successiva fase di inseminazione della scroffetta. Infatti l'analisi del parametro ha evidenziato anche una maggiore concentrazione dei calori in due giorni nel gruppo con Gn piuttosto che in quattro. Engl et al. (16) suggeriscono il potenziale tornaconto ottenibile dalla concentrazione delle inseminazioni in un arco di tempo minore. Come suggerito da Degenstein et al. (21), l'ottenimento di calori ravvicinati permetterebbe di focalizzarvi maggiore attenzione zootecnica e valutare con maggior precisione il momento delle ovulazioni, conseguentemente anch'esse più ravvicinate, ottimizzando al massimo il management di questa delicata fase. L'adozione di un protocollo di inseminazione artificiale con scarso margine di errore rappresenta infatti il valore aggiunto dell'efficacia dell'induzione dell'estro; il fine ultimo delle ricerche in questo campo, empiricamente, è l'ulteriore restringimento di questo intervallo per l'utilizzo di una singola dose di seme (21).

In conclusione, la somministrazione di eCG e hCG in associazione 24 ore dopo la fine del trattamento con Altrenogest nelle scroffette, garantisce un migliore intervallo tra quest'ultimo e la venuta in estro degli animali. Il più ristretto range di insorgenza dello stesso consente di ottimizzare il management delle inseminazioni nella scroffetta, facilitando così la delicata gestione di questo animale dal ruolo chiave nell'azienda suinicola moderna.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Davis, D.L., Using Regumate to control estrus in swine, Conference paper of the Swine Day, 2004. <http://krex.k-state.edu/dspace/bitstream/handle/2097/1975/Using%20Regumate%20to%20Control%20Estrus%20in%20Swine-%20Swine%20Day%202004.pdf?sequence=1>
- (2) Gordon, I., Controlled Reproduction in Pigs, CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 1997.
- (3) Brüssow, K.P., Wähner, M., Biological and technological background of estrus synchronization and fixed-time ovulation induction in the pig, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27, 533-545, 2011.
- (4) Knox, R.V., Tudor, K.W., Rodriguez-Zas, S.L., Robb, J.A., Effect of subcutaneous vs intramuscular administration of P.G. 600 on estrual and ovulatory responses of prepubertal gilts, *Journal of Animal Science*, 78, 1732-1737, 2000.
- (5) Estienne, M.J., Harper, A.F., Horsley, B.R., Estienne, C.E., Knight, J.W., Effects of P.G. 600 on the onset of estrus and ovulation rate in gilts treated with Regumate, *Journal of Animal Science*, 79, 2757-2761, 2001.
- (6) Horsley, B.R., Estienne, M.J., Harper, A.F., Purcell, S.H., Baitis, H.K., Beal, W.E., Knight, J.W., Effect of P.G. 600 on the timing of ovulation in gilts treated with altrenogest, *Journal of Animal Science*, 7, 1690-1695, 2005.
- (7) Consiglio dell'Unione Europea, Consiglio Direttivo 2008/120/EC del 18 dicembre 2008 che stabilisce le norme minime sulla protezione dei suini, *Official Journal* 316, 36-38, 2008.

- (8) Stalder, K.J., Johnson, C., Miller, D.P., Baas, T.J., Berry, N., Christian, A.E., Serenius, T.V., The replacement gilt evaluation guide, National Pork Board, Des Moines, IA USA, 2009.
- (9) Signoret, J.P., Reproductive behavior of pigs. *Journal of Reproduction and Fertility*, 11, 105-107, 1970.
- (10) Almeida, F., R.C.L., Novak, S., Foxcroft, G.R., The time of ovulation in relation to estrus duration in gilts, *Theriogenology*, 7, 1389–1396, 2000.
- (11) Webel, S.K., Day, B.N., The control of ovulation, *Control of pig reproduction*, D.J.A. Cole, G.R. Foxcroft, ed. Butterworths, London, UK, 1982.
- (12) Day, B.N., Estrous cycle regulation, *Proceedings of 10^o International Congress on Animal reproduction and Artificial Insemination*, Urbana, IL, 1984.
- (13) De Jong, E., Kauffol, J., Engl, S., Jourquin, J., Maes, D., Effect of a GnRH analogue (Mapeelin) on the reproductive performance of gilts and sows, *Theriogenology*, 8, 870–877, 2013.
- (14) Brüssow, K.P., Schneider, F., Tuchscherer, A., Kanitz, W., Influence of synthetic lamprey GnRH-III on gonadotropin release and steroid hormone levels in gilts, *Theriogenology*, 74, 1570-1578, 2010.
- (15) Tilton, J.E., Schmidt, A.E., Weigl, R.M., Ziecik, A.J., Ovarian steroid secretion changes after hCG stimulation in early pregnant pigs, *Theriogenology*, 32, 623–631, 1989.
- (16) Engl, S., Bischoff, R., Zaremba, W., Use of a new GnRH to control reproduction in gilts, *Proceedings of the 21th IPVS Congress*, Vancouver, Canada, P778.
- (17) Martinat-Botté, F., Venturi, E., Guillouet, P., Driancourt, M.A., Terqui, M., Induction and synchronization of ovulations of nulliparous and multiparous sows with an injection of gonadotropin-releasing hormone agonist (Receptal), *Theriogenology*, 73, 332–342, 2010.
- (18) Kaeoket, K., Study on the oestrous synchronization in gilts by using progestin altrenogest and hCG: its effects on the follicular development, ovulation time and subsequent reproductive performance, *Reproduction of domestic animals*, 43, 127-129, 2008.
- (19) Driancourt, M.A., Terqui, M., Follicular growth and maturation in hyperprolific and large white sows, *Journal of animal science*, 74, 2231-2238, 1996.
- (20) Cassar, G., Hormonal control of pig reproduction, *London Swine Conference, Tools of the Trade*, 137-139, 2009.
- (21) Degenstein, K.L., O'Donoghue, R., Patterson, J.L., Beltranena, E., Ambrose, D.J., Foxcroft, G.R., Dyck, M.K., Synchronization of ovulation in cyclic gilts with porcine luteinizing hormone (pLH) and its effects on reproductive function, *Theriogenology*, 70, 1075-1085, 2008.