

ABREVIATIONS.....	5
INDEX DES FIGURES	6
INDEX DES TABLEAUX.....	8
INDEX DES PHOTOS	9
1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	13
1.1. CYCLICITE ET OVULATION CHEZ LA CHATTE	15
1.1.1. <i>Rappels d'anatomie.....</i>	15
1.1.1.1. Les ovaires.....	15
1.1.1.2. Les oviductes.....	15
1.1.1.3. L'utérus	15
1.1.1.4. Le vagin et le vestibule.	18
1.1.1.5. La vulve et le clitoris.....	18
1.1.2. <i>Rappels de physiologie.....</i>	19
1.1.2.1. Caractéristiques générales du cycle oestral et cycle anovulatoire	19
1.1.2.1.1. Variabilité du cycle	19
1.1.2.1.2. Les différentes phases du cycle anovulatoire.....	20
1.1.2.2. Maturation folliculaire et cycle ovulatoire chez la chatte	22
1.1.2.2.1. Maturation folliculaire	22
1.1.2.2.2. Les différentes phases du cycle ovulatoire.....	22
1.1.2.3. Modifications hormonales survenant au cours du cycle	24
1.1.2.3.1. Les hormones hypophysaires	24
1.1.2.3.2. Les hormones stéroïdiennes	25
1.1.3. <i>Les différentes méthodes de suivi de l'œstrus chez la chatte</i>	28
1.1.3.1. Méthodes cliniques.....	28
1.1.3.1.1. Comportement.....	28
1.1.3.1.2. Mise en présence d'un mâle	29
1.1.3.2. Méthodes paracliniques.....	29
1.1.3.2.1. Frottis vaginaux	29
1.1.3.2.2. Echographie ovarienne.....	36
1.1.4. <i>Déclenchement de l'ovulation.....</i>	41
1.1.4.1. Utilisation de mâle vasectomisé.....	41
1.1.4.2. Stimulation mécanique des récepteurs vaginaux	42
1.1.4.3. Déclenchement hormonal.....	43
1.1.4.3.1. Traitement à base de hCG	43
1.1.4.3.2. Traitement à base de GnRH	44
1.1.5. <i>Détermination du moment de l'ovulation</i>	44
1.1.5.1. Par dosage hormonaux	44
1.1.5.1.1. Dosage de la LH.....	44
1.1.5.1.2. Dosage de la progestérone	46
1.1.5.2. Détermination de l'ovulation par examen direct des ovaires.....	46
1.1.5.3. Utilisation de l'échographie pour le suivi de l'ovulation dans d'autres espèces	47
1.2. RECOLTE ET EXAMEN DU SPERME CHEZ LE CHAT	48

1.2.1.	<i>Rappels d'anatomie</i>	48
1.2.1.1.	Testicules, enveloppes testiculaires, épидidymes et conduits déférents...	48
1.2.1.2.	Urètre.....	50
1.2.1.3.	Glandes annexes	50
1.2.1.4.	Pénis	50
1.2.1.5.	Innervation	51
1.2.2.	<i>Rappels de physiologie</i>	53
1.2.2.1.	Erection	53
1.2.2.1.1.	Mécanisme	53
1.2.2.1.2.	Déterminisme	54
1.2.2.2.	Ejaculation.....	55
1.2.2.2.1.	Mécanisme	56
1.2.2.2.2.	Déterminisme	56
1.2.2.3.	Puberté et saison sexuelle.....	58
1.2.3.	<i>Techniques de récolte de la semence</i>	58
1.2.3.1.	Vagin artificiel	58
1.2.3.2.	Electroéjaculation.....	60
1.2.3.2.1.	Anesthésie	60
1.2.3.2.2.	Techniques de prélèvement.....	61
1.2.3.2.3.	Ejaculation rétrograde	63
1.2.3.3.	Dissection de l'épididyme	63
1.2.4.	<i>Analyse de la semence</i>	64
1.2.4.1.	Etude macroscopique : volume et couleur de la semence	64
1.2.4.2.	Caractères physico-chimiques de la semence	64
1.2.4.3.	Etude microscopique	65
1.2.4.3.1.	Mobilité.....	65
1.2.4.3.2.	Nombre de spermatozoïdes	65
1.2.4.3.3.	Vitalité des spermatozoïdes.....	67
1.2.4.3.4.	Morphologie des spermatozoïdes.....	67
1.2.4.3.5.	Anomalies : le spermocytogramme	68
1.2.4.4.	Tests fonctionnels.....	72
1.2.4.4.1.	Intégrité de l'acrosome.....	72
1.2.4.4.2.	Condensation de la chromatine	73
1.2.4.4.3.	Hemizona test.....	74
1.2.4.4.4.	Pénétration de la zone pellucide.....	74
1.2.4.4.5.	Fécondation <i>in vitro</i>	74
1.2.4.5.	Anomalies de la semence	74
1.3.	TECHNIQUES D'INSEMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LA CHATTE.....	75
1.3.1.	<i>Insémination artificielle intra-vaginale chez la chatte</i>	75
1.3.1.1.	Déclenchement de l'ovulation.....	75
1.3.1.2.	Matériel utilisé	75
1.3.1.3.	Lieu d'insémination.....	76
1.3.1.4.	Doses inséminantes	76
1.3.1.5.	Résultats	77
1.3.2.	<i>Insémination artificielle intra-utérine chez la chatte</i>	78
1.3.2.1.	Voies d'abord	78
1.3.2.1.1.	Par cathétérisation du col utérin.....	78
1.3.2.1.2.	Par laparotomie	81
1.3.2.1.3.	Par laparoscopie	82
1.3.2.2.	Déclenchement de l'ovulation.....	83
1.3.2.3.	Doses inséminantes	83
1.3.2.4.	Résultats	84

1.3.3.	<i>Insémination artificielle dans les trompes utérines</i>	84
1.3.3.1.	Déclenchement de l'ovulation.....	85
1.3.3.2.	Matériel et méthode.....	85
1.3.3.3.	Doses inséminantes	85
1.3.3.4.	Résultats	85
2. ETUDE EXPERIMENTALE.....	87	
2.1. MATERIELS ET METHODES	89	
2.1.1.	<i>Les animaux</i>	89
2.1.1.1.	La sélection et les critères d'inclusion des animaux	89
2.1.1.1.1.	Les chattes.....	89
2.1.1.1.2.	Les mâles.....	89
2.1.1.1.3.	Critères d'inclusions	90
2.1.1.2.	La maintenance des animaux	90
2.1.1.3.	Détection des chaleurs.....	91
2.1.2.	<i>Suivi échographique de la maturation folliculaire</i>	91
2.1.2.1.	Préparation de la séance d'échographie	91
2.1.2.1.1.	Réglage de l'échographe.....	91
2.1.2.1.2.	Préparation de l'animal	92
2.1.2.2.	Suivi échographique des follicules.....	92
2.1.2.2.1.	Critères de choix pour définir l'aspect échographique d'un follicule.....	92
2.1.2.2.2.	Mesure du diamètre des follicules ovariens	93
2.1.3.	<i>Déclenchement de l'ovulation</i>	93
2.1.4.	<i>Prélèvements de la semence</i>	94
2.1.5.	<i>Examen de la qualité de la semence</i>	95
2.1.6.	<i>Insémination artificielle intra-vaginale</i>	95
2.1.7.	<i>Contrôle échographique de l'ovulation</i>	97
2.1.8.	<i>Dosages hormonaux</i>	99
2.1.9.	<i>Diagnostic de gestation</i>	99
2.1.10.	<i>Comptage des chatons à la naissance</i>	99
2.2. RESULTATS	99	
2.2.1.	<i>Résultats par chatte</i>	99
2.2.1.1.	Cycle n°1 : Aby	99
2.2.1.2.	Cycle n°2 : Happy	102
2.2.1.3.	Cycle n°3 : Beth	105
2.2.1.4.	Cycle n°4 : Sissi	108
2.2.1.5.	Cycle n°5 : Aby, 2 ^{ème} cycle.....	111
2.2.1.6.	Cycle n°6 : Yseult	114
2.2.1.7.	Cycle n°7 : Beth, 2 ^{ème} cycle.....	117
2.2.1.8.	Cycle n°8 : Aby, 3 ^{ème} cycle.....	120
2.2.1.9.	Cycle n°9 : Chagasse	122
2.2.1.10.	Cycle n°10 : Noumène, 1 ^{er} cycle.....	124
2.2.1.11.	Cycle n°11 : Noumène, 2 ^{ème} cycle	127
2.2.1.12.	Cycle n°12 : Pussy	129
2.2.2.	<i>Synthèse des résultats</i>	132
2.2.2.1.	Suivi de la maturation folliculaire.....	132
2.2.2.1.1.	Maturation folliculaire	132
2.2.2.1.2.	Jours de déclenchement de l'ovulation	132

2.2.2.2. Déclenchement de l'ovulation	133
2.2.2.2.1. Appréciation de la réponse post-coïtale	133
2.2.2.2.2. Ovulation.....	133
2.2.2.3. Caractéristiques de la semence récoltée	134
2.2.2.4. Insémination artificielle	135
2.2.2.4.1. Heure d'insémination.....	135
2.2.2.4.2. Lieu d'insémination.....	136
2.2.2.4.3. Nombre de spermatozoïdes inséminés	137
2.2.2.4.4. Taux de gestation	137
2.2.2.4.5. Nombre de petits par portée	137
2.2.2.4.6. <i>Sex ratio</i>	137
2.2.3. <i>Discussion</i>	138
2.2.3.1. Intérêt du suivi des chaleurs et de la maturation folliculaire	138
2.2.3.2. Intérêt du déclenchement de l'ovulation par stimulation mécanique	138
2.2.3.3. Suivi échographique de l'ovulation	139
2.2.3.4. Qualité de la semence inséminée et fertilité obtenue	141
2.2.3.5. Lieu de dépôt de la semence	142
2.2.3.6. Moment de réalisation de l'insémination.....	142
2.2.3.7. Efficacité de la technique d'insémination artificielle utilisée.....	142
2.2.3.8. Nombre de petits par portée obtenu avec cette méthode.....	143
2.2.3.9. Perspectives.....	144
CONCLUSION.....	145
ANNEXE 1	147
ANNEXE 2	149
ANNEXE 3	151
BIBLIOGRAPHIE.....	153

ABREVIATIONS

ELISA : Enzyme linked immunosorbant assay

ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

FSH : Follicle Stimulating Hormone

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone

IA : Insémination artificielle

LH : Luteinizing Hormone

ng/mL : nanogramme par millilitre

FSHp : Follicle Stimulating Hormone porcine

Pg : progestérone

pg/mL : picogramme par millilitre

UI : Unité Internationale

VIP : Vaso Intestinal Peptide

Zygote : œuf fécondé produit de l'union des gamètes

µl : microlitre

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Appareil génital de la chatte (d'après Smith (89))	17
Figure 2 : Schéma de l'anatomie vaginale de la chatte en coupe longitudinale (modifié d'après England et Watson et Glover (105))	18
Figure 3 : Concentrations sériques moyennes de LH, chez des chattes ayant ovulé après une seule copulation, après quatre copulations réparties sur une période de 26 à 81 minutes, après 8 à 12 copulations réparties sur 4 heures et chez des chattes n'ayant pas ovulé après une seule copulation (d'après Concannon (16)).....	25
Figure 4 : Représentation schématique de la phase folliculaire (œstradiol > 20 pg/ml) parallèlement au nombre de chattes présentant un oestrus comportemental pour chaque jour de la phase folliculaire (d'après Feldman et Nelson (26))	27
Figure 5 : Moyenne des diamètres folliculaires en fonction du temps de 8 cycles, de Jmax -4 à Jmax +4, avec représentation des écarts types en barres d'erreur Y (d'après Froment et al (28)).....	40
Figure 6 : Concentration plasmatique moyenne en LH durant un oestrus avec saillies. Les flèches indiquent le moment des saillies. La zone ombrée représente l'écart-type (d'après Goodrowe (35)).....	45
Figure 7: Appareil génital du chat mâle (d'après Smith (89))	49
Figure 8: Appareil génital du chat mâle (vue latérale gauche, en place) (d'après Barone (6))	51
Figure 9: Schéma du système nerveux autonome du chat mâle (d'après Hudson (44)).....	53
Figure 10 : Schéma simplifié du déterminisme de l'érection (d'après Lefrancois (50))	55
Figure 11 : Schéma simplifié du déterminisme de l'éjaculation (d'après Lefrancois (50))	57
Figure 12: Schématisation d'un spermatozoïde	68
Figure 13 : Anomalies des spermatozoïdes chez le taureau (d'après OTT (65)).....	70
Figure 14 : Technique de transfert d'embryons (d'après Swanson et Godke (95)).....	80
Figure 15 : Insémination intra-utérine sous laparoscopie chez le chat domestique (d'après Howard et al (42)).....	83
Figure 16 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°1.....	100
Figure 17 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°1.....	101
Figure 18 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°1.....	102
Figure 19 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°2.....	103
Figure 20 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°2.....	104
Figure 21 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°2.....	105
Figure 22 : Maturation folliculaire lors du cycle n°3.....	106
Figure 23 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°3.....	107
Figure 24 : Progestéronémie lors du cycle n°3.....	108
Figure 25 : Maturation folliculaire lors du cycle n°4.....	109
Figure 26 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°4.....	110
Figure 27 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°4.....	111
Figure 28 : Maturation folliculaire lors du cycle n°5.....	112
Figure 29 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°5.....	113

Figure 30 : Progestéronémie au cours du cycle n°5.....	114
Figure 31 : Maturation folliculaires lors du cycle n°6.....	115
Figure 32 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°6.....	116
Figure 33 : Progestéronémie lors du cycle n°6.....	117
Figure 34 : Maturation folliculaire lors du cycle n°7.....	118
Figure 35 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°7.....	119
Figure 36 : Maturation folliculaire lors du cycle n°8.....	121
Figure 37 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°8.....	122
Figure 38 : Maturation folliculaire lors du cycle n°9.....	123
Figure 39 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°10.....	125
Figure 40 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°10.....	127
Figure 41 : Maturation folliculaire lors du cycle n°12.....	129
Figure 42 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°12.....	131
Figure 43 : Variation du jour décidé pour le déclenchement de l'ovulation par rapport au début du comportement d'oestrus.....	132
Figure 44 : Variation de l'heure d'observation de l'ovulation à l'échographie (H0 étant l'heure du pic de LH)	134
Figure 45: Variation de l'heure d'insémination post-stimulation et résultats obtenus (H0 étant l'heure du pic de LH)	136
Figure 46: Variation de la profondeur d'introduction de la sonde dans le vagin lors de l'insémination	137

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I: Emploi de la gonadotropine chorionique pour déclencher l'ovulation chez la chatte en oestrus naturel (d'après Wildt et al cités par Liège (57)).....	43
Tableau II: Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par vagin artificiel relevées dans la littérature (d'après Posière (75)).....	71
Tableau III : Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par électroéjaculation relevées dans la littérature (d'après Posière (75)).....	71
Tableau IV : Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par dissection de l'épididyme relevées dans la littérature (d'après Posière (75))	72
Tableau V : Résultats obtenus par Sojka et al (93) avec différentes doses inséminantes de semence fraîche lors d'inséminations intra-vaginales chez la chatte.....	77
Tableau VI : Résultats obtenus par Tanaka et al (96) avec différentes doses inséminantes de semence fraîche lors d'inséminations intra-vaginales chez la chatte.....	78
Tableau VII : Taux de conception obtenus par insémination intra-utérine en semence fraîche en fonction du nombre de spermatozoïdes inséminés (d'après Tsutsui et al (103))....	84
Tableau VIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°1100	
Tableau IX : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°2.103	
Tableau X : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°3 ..106	
Tableau XI : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°4.109	
Tableau XII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°5113	
Tableau XIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°6115	
Tableau XIV : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°7118	
Tableau XV : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°8121	
Tableau XVI : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°9124	
Tableau XVII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°10	126
Tableau XVIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°11	128
Tableau XIX : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°12	130
Tableau XX: Caractéristiques des éjaculats prélevés en vue des 12 inséminations artificielles.	
.....	135

INDEX DES PHOTOS

Photo 1 : Femelle en oestrus en présence d'un mâle (photo d'E. Malandain).....	29
Photo 2 : Ecouillon vaginal (en haut) et écouillon urétral (en bas) (photo d'E. Malandain).....	30
Photo 3 : Frottis d'œstrus au grossissement 100 (photo d'E. Malandain)	33
Photo 4 : Frottis d'inter-oestrus au grossissement 400 (photo d'E. Malandain)	34
Photo 5 : Frottis d'anoestrus au grossissement 100 (photo d'E. Malandain)	35
Photo 6 : Stimulation mécanique des récepteurs vaginaux à l'aide d'un écouillon vaginal (photo d'E. Malandain)	42
Photo 7 : Vagin artificiel (photo Axner et Linde-Forsberg (2))	59
Photo 8 : Sonde rectale d'électroéjaculation (photo d'E. Malandain)	61
Photo 9 : Grille de la cellule de Thoma vue au microscope grossissement 40.....	66
Photo 10 : Spermatozoïdes de chat avec leur acrosome intact (l'acrosome apparaît bleu-violacé, la région post-acrosomale apparaît rose pâle). Celui de droite a réalisé la réaction acrosomique (grossissement $\times 400$, coloration Fast-green et rose Bengal).....	73
Photo 11 : Sonde d'insémination artificielle pour chat utilisée par Zambelli et al (photo de Axner et Linde-Forsberg (2)).....	81
Photo 12 : Sac à chat.....	95
Photo 13 : Echographie ovarienne avant l'ovulation.....	97
Photo 14 : Echographie ovarienne après l'ovulation	98
Photo 15 : Echographie ovarienne 2 jours après l'ovulation	98

Introduction

Bien que réalisée couramment depuis de nombreuses années dans l'espèce canine, l'insémination artificielle n'est pas encore applicable en routine dans le cadre de la clientèle vétérinaire dans l'espèce féline. Cependant, la reproduction, que la plupart des particuliers cherchent à limiter dans cette espèce qui peut s'avérer très prolifique, est parfois un véritable problème pour les éleveurs de chats de race. En effet, en raison de son caractère territorial et indépendant, la chatte peut fréquemment refuser la saillie avec un mâle qu'elle ne connaît pas. De même, la plupart des mâles ont besoin d'être dans un environnement familial et rassurant pour saillir une femelle ce qui limite en particulier les échanges internationaux de reproducteurs. Ainsi, des progrès considérables pourraient être réalisés en matière de félinotechnie si une technique d'insémination artificielle était applicable à l'espèce féline dans le cadre de la pratique en clientèle.

Le but de cette étude expérimentale est de définir les conditions pratiques de réalisation de cette technique que de nombreux éleveurs de chats attendent depuis la banalisation de l'insémination artificielle dans l'espèce canine.

Dans une première partie, nous rappellerons les caractéristiques propres à la reproduction dans l'espèce féline et nous présenterons les différentes méthodes d'insémination artificielle déjà mises au point dans l'espèce féline avant de détailler dans une deuxième partie la technique d'insémination artificielle que nous avons utilisée et les résultats que nous avons obtenus.

1. Etude bibliographique

1.1. Cyclicité et ovulation chez la chatte

1.1.1. Rappels d'anatomie

1.1.1.1. Les ovaires

Les ovaires de la chatte sont longs de 8 à 10 mm et hauts de 5 à 6 mm. Ils sont rosés et assez irréguliers en surface (6). Ceci est dû à la présence des follicules en croissance ou des follicules atrétiques et des corps jaunes (90). Ils sont situés en regard de la troisième ou de la quatrième vertèbre lombaire à un centimètre du bord caudal du rein correspondant (58). L'ovaire droit est plus crânial que le gauche. La bourse ovarique est largement ouverte et la glande est très facile à extérioriser. Le mésosalpinx, ample et lâche, est habituellement dépourvu de graisse et transparent (6). L'ovaire est maintenu solidaire de la paroi abdominale par le mésovarium et est maintenu crânialement par le ligament suspenseur de l'ovaire (58).

L'organisation interne est caractérisée par la très faible étendue de la zone vasculaire, l'absence habituelle de follicules pluri-ovulaires, c'est-à-dire de follicules contenant plusieurs ovocytes, le grand nombre de follicules primordiaux sous l'albuginée, c'est-à-dire ovocytes I non entourés de la granulosa, et le grand développement de l'interstitium (6) (voir figure 1A et 1B).

1.1.1.2. Les oviductes

Les trompes utérines, peu flexueuses, sont longues de 4 à 6 centimètres. Leur diamètre varie de 1,0 à 1,5 mm. Elles longent les ovaires jusqu'à leur extrémité crâniale de telle manière que l'infundibulum, très large, puisse venir se situer ventro-médalement par rapport à la glande (6) (voir figure 1B).

1.1.1.3. L'utérus

L'utérus est un utérus bipartitus avec des cornes étroites et longues. Ses dimensions sont en moyenne de 9 à 11 cm sur 3 à 4 mm pour les cornes, de 2 cm pour le corps et de 5 à 8 mm pour le col. Les cornes de l'utérus ont un calibre uniforme et s'étendent en dessinant une légère courbe à concavité dorsale du voisinage des reins à la face dorsale de la vessie, crânialement à l'entrée du bassin (6).

Les cornes utérines sont habituellement appliquées contre la paroi du flanc, le plus souvent à travers le grand omentum. Leur apex est voisin de la région lombaire, en regard de la quatrième ou cinquième vertèbre de cette région. Elles deviennent ensuite plus ventrales et plus profondes pour encadrer le colon descendant (6) (voir figure C).

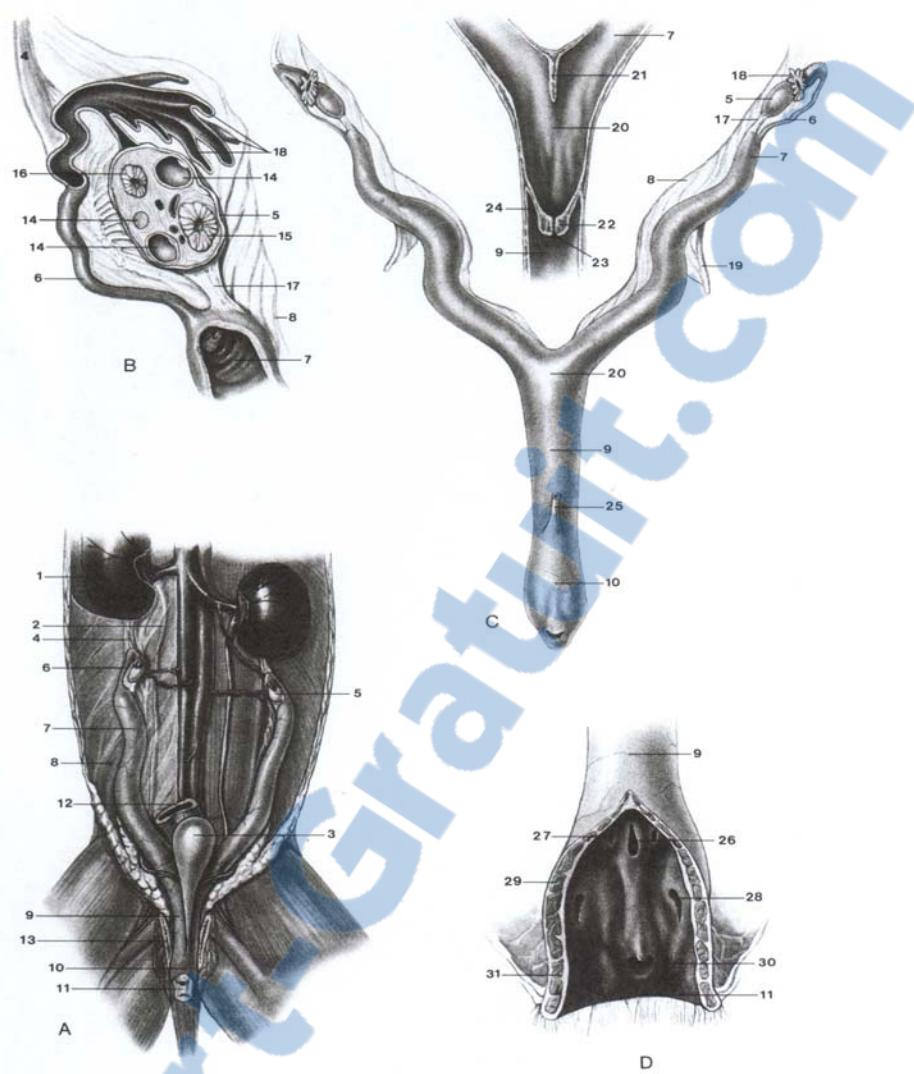


Figure 1 : Appareil génital de la chatte (d'après Smith (90))

- A.** Appareil génital femelle et organes urinaires ; vue ventrale
- B.** Illustration schématique de l'ovaire et des oviductes, coupe longitudinale
- C.** Organes génitaux femelles isolés. Section dorsale du corps de l'utérus, vue ventrale
- D.** Vestibule avec section du plafond du vagin ; vue dorsale

- | | | |
|------------------------------|--|---|
| 1 rein | 13 symphyse pubienne, séparée et rétractée | 23 ostium utérin externe |
| 2 uretère | 14 follicules à différents stades de maturité | 24 fornix du vagin |
| 3 vessie | 15 corps jaune | 25 urètre |
| 4 ligament suspenseur | 16 corps blanc | 26 orifice urétral externe |
| 5 ovaire | 17 ligament propre de l'ovaire | 27 vestiges des conduits mésonéphriques |
| 6 oviducte | 18 fimbria | 28 conduits des glandes vestibulaires majeures |
| 7 corne utérine | 19 ligament rond de l'utérus | 29 muscle constricteur du vestibule |
| 8 ligament large | 20 corps de l'utérus | 30 fosse clitoridienne |
| 9 vagin | 21 vélum utérin | 31 muscle constricteur de la vulve |
| 10 vestibule | 22 cervix | |
| 11 vulve | | |
| 12 rectum sectionné | | |

1.1.1.4. Le vagin et le vestibule.

Le vagin est deux fois plus long que le vestibule du vagin (20 à 30 mm contre 10 à 15 mm). La muqueuse vaginale est pâle et pourvue de plis ineffaçables, principalement longitudinaux. Le cul de sac vaginal ou fornix est incomplet dorsalement, mais très profond ventralement.

Le vestibule est ceint d'un muscle constricteur et contient, ventro-latéralement, deux glandes vestibulaires majeures. L'orifice urétral, situé sur le plancher du vestibule, est entouré d'une petite dépression. Il n'y a chez la chatte ni tubercule urétral, ni bulbe du vestibule qui soient distincts comme chez la chienne (6). Le vagin postérieur présente la particularité d'être distensible. Le vagin antérieur est quand à lui plus étroit que le vagin postérieur (105).

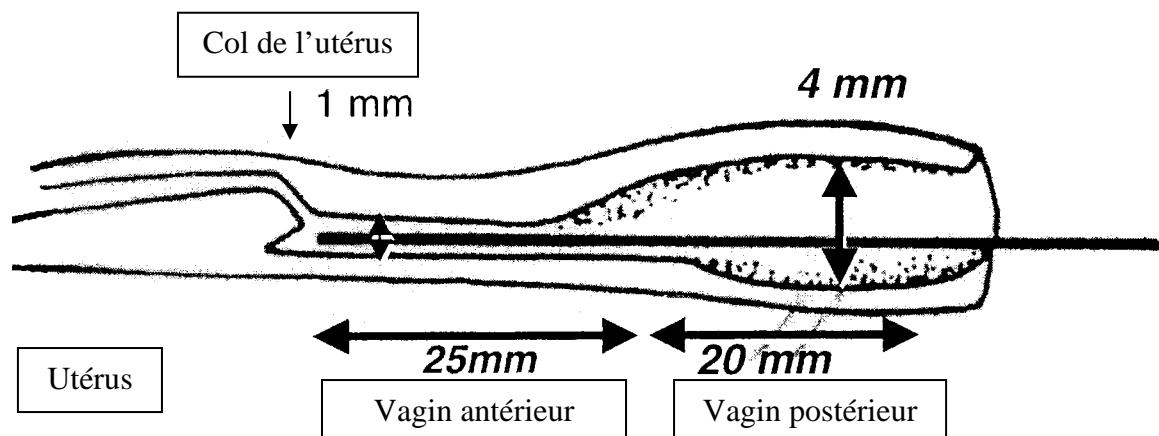


Figure 2 : Schéma de l'anatomie vaginale de la chatte en coupe longitudinale (modifié d'après Watson et Glover (105))

1.1.1.5. La vulve et le clitoris

Les lèvres de la vulve sont épaisses. Elles se joignent en une commissure dorsale et une commissure ventrale. Chacune des lèvres est longée, latéralement à sa base, par un relief cutané épais et peu saillant. La peau de la face latérale, en général pigmentée, est couverte de poils serrés, forts et longs.

Le clitoris est très développé. Epais de 2 mm, long d'un centimètre environ, il est logé dans une fosse étroite et profonde. Son gland rudimentaire fait une saillie conique dans son fond (6) (voir figure 1D).

1.1.2. Rappels de physiologie

La chatte est une femelle à poly-oestrus saisonnier et à ovulation provoquée ce qui est une caractéristique de peu d'espèces de mammifères (lapin, furet, vison, alpaga et dromadaire). Il existe trois types de cycles chez la chatte :

- des cycles anovulatoires,
- des cycles ovulatoires avec gestation,
- des cycles ovulatoires avec pseudogestation.

1.1.2.1. Caractéristiques générales du cycle oestral et cycle anovulatoire

1.1.2.1.1. Variabilité du cycle

1.1.2.1.1.1. La puberté

La puberté survient chez les femelles entre 4 et 12 mois, plus généralement entre 6 et 9 mois. L'acquisition de la maturité sexuelle est liée d'une part à la croissance juvénile (elle survient lorsque la chatte atteint un poids minimal de 80% du poids adulte (87), soit un poids situé entre 2,3 et 2,5 kg pour une chatte de format moyen), mais également du mois de naissance de l'animal en raison du caractère saisonnier de la reproduction dans cette espèce. Il existe également des variations raciales : les races à poils courts (Siamois ou Burmeses) étant plus précoces (puberté entre 4 et 6 mois) que les races à poils longs (Persans ou Birmans) qui ont une puberté survenant à un an ou plus. Le type européen peut être considéré comme le type intermédiaire avec une puberté survenant entre 6 et 9 mois (13). Le mode d'élevage est également un facteur de variation puisque les chattes élevées en liberté ont une puberté plus précoce que les animaux vivant confinés (13).

1.1.2.1.1.2. L'incidence saisonnière

La chatte est un animal à poly-oestrus saisonnier. Dans les conditions naturelles et sous nos latitudes, la chatte présente un long anoestrus saisonnier de septembre à janvier. Cet anoestrus saisonnier est induit par la diminution de la durée des jours (64). Une étude a montré que 8 heures d'éclairement quotidien étaient insuffisantes pour permettre aux chattes d'entrer en oestrus, alors que 12 heures de lumière par jour pendant un mois suivi de 14 heures

d'éclairement par jour déclenchaient l'œstrus dans 85% des cas dans les 15 jours suivant l'augmentation de la durée d'éclairement (64). Une autre étude indique qu'une absence d'alternance jour/nuit est cependant néfaste puisque lorsque les chattes sont éclairées 24 heures sur 24, le nombre de cycles oestraux diminue (56).

L'influence de la photopériode est directement sous la dépendance de la sécrétion de mélatonine. En effet, l'injection de mélatonine à des chattes éclairées 24 heures sur 24 supprime tout développement folliculaire. De même, une injection de mélatonine à des chattes en croissance folliculaire supprime toute synthèse d'œstrogènes (57).

L'alternance repos sexuel/saison sexuelle dépend également de la race, les races à poils courts présentant en général une saison sexuelle longue et marquée.

1.1.2.1.2. Les différentes phases du cycle anovulatoire

Il existe très peu de modifications de l'appareil génital externe au cours du cycle. La distinction entre les différentes phases du cycle repose donc uniquement sur des modifications comportementales (28).

1.1.2.1.2.1. *Le pro-œstrus*

Le pro-œstrus est défini comme la période du cycle où les mâles sont attirés par des femelles non réceptives (26).

Pendant le pro-œstrus, la chatte montre une diminution générale de son activité. Elle miaule plus souvent et présente plusieurs séquences comportementales types : elle piétine sur ses membres postérieurs, elle se roule sur le sol, se frotte aux objets. Elle est généralement plus câline avec son propriétaire et de moins en moins agressive avec les mâles qui lui font des avances. Elle accepte alors le chevauchement mais refuse l'intromission. Le pro-œstrus dure en moyenne un à deux jours avec des extrêmes allant de 12 heures à 3 jours (13) toutefois, cette phase n'est pas observée régulièrement (26).

1.1.2.1.2.2. *L'œstrus*

L'œstrus chez la chatte est caractérisé par l'acceptation du chevauchement et du coït. La chatte vocalise d'avantage. On note parfois un écoulement blanchâtre aux lèvres de la vulve. La durée de cette phase est variable. Sa valeur moyenne est située entre 6 et 10 jours avec des extrêmes

allant de 12 heures à 19 jours. Cette variation s'explique là encore par des différences raciales (oestrus plus long pour les chats de type oriental, plus courts pour les chats de type persan). On peut noter également que la succession de plusieurs oestrus consécutifs non séparés par des phases de repos peut expliquer des périodes oestrales longues (19 jours) (13).

Le rôle de la saillie sur la durée de l'oestrus est controversé. Pour certains, elle entraînerait son arrêt dans les 24 à 48 heures, pour d'autres auteurs, il faut attendre 4 à 5 jours pour que cesse le comportement d'oestrus (13).

1.1.2.1.2.3. Le post-oestrus

De nombreux auteurs ne distinguent pas l'étape du post-oestrus. Il est caractérisé par un comportement identique à celui du pro-oestrus mais suivant immédiatement l'oestrus. La femelle accepte le chevauchement mais refuse de nouveau l'intromission. La durée de cette phase est de 24 à 72 heures (58).

1.1.2.1.2.4. L'inter-oestrus

L'inter-oestrus est la période de repos sexuel séparant 2 phases d'oestrus (26). Il dure en moyenne 2 semaines avec un minimum de 3 jours et un maximum de 30 jours (60). Là encore, il existe des variations raciales sur la durée de l'inter-oestrus (long chez les chattes de type persan, court chez les chattes de type oriental) (8). Durant cette période, la chatte ne vocalise plus et n'attire plus les mâles. Elle retrouve un comportement « normal ».

1.1.2.1.2.5. L'anoestrus

L'anoestrus est la période de repos sexuel entre deux saisons sexuelles (26). Sous nos latitudes, cette période dure en moyenne trois mois, d'octobre à fin décembre. Elle est plus longue pour les Persans que pour les Orientaux. La chatte n'exprime aucun comportement sexuel et il est très difficile de la différencier d'une chatte ovariectomisée (28).

1.1.2.2. Maturation folliculaire et cycle ovulatoire chez la chatte

1.1.2.2.1. Maturation folliculaire

1.1.2.2.1.1. *Le pro-oestrus*

Durant cette période, on note une activité folliculaire avec synthèse et sécrétion d'œstrogènes par les cellules de la granulosa, des modifications de la cytologie vaginale (26). La croissance terminale d'un certain nombre de follicules est rapide (13). Ils passent de 0,5 mm à 1,5 mm (58).

1.1.2.2.1.2. *L'œstrus*

L'œstrus est concomitant de la fin de la période de maturation folliculaire associée à la synthèse et la sécrétion d'œstrogènes. Juste avant l'ovulation, les follicules mesurent entre 2,5 et 4 mm de diamètre (28).

1.1.2.2.1.3. *L'inter-oestrus et l'anoestrus*

Ces deux périodes correspondent à des phases où il n'y a aucune activité folliculaire (26).

1.1.2.2.2. Les différentes phases du cycle ovulatoire

Lors de la phase oestrale, le coït induit l'ovulation. Selon qu'il y a ou non fécondation, le cycle va évoluer vers une gestation ou vers une pseudo-gestation.

1.1.2.2.2.1. *L'ovulation*

La chatte étant une espèce à ovulation provoquée, celle-ci est déclenchée par le coït ou par des stimulations vaginales répétées à l'aide d'un écouvillon stérile ou d'une tige de verre rodée (59).

Il s'agit d'un réflexe mettant en jeu, dans les conditions naturelles, des récepteurs situés en partie antérieure du vagin. L'excitation de ces récepteurs induit une libération de GnRH par l'hypothalamus suivi d'une libération de LH par l'hypophyse.

Pour plusieurs auteurs, l'ovulation surviendrait 24 à 30 heures après le stimulus déclenchant (61) alors que pour Schmidt, celle-ci surviendrait plus de 48 heures après le coït (82). Le nombre d'ovules ovulés varie entre 2 et 11 avec une moyenne de 5,6 ovules par femelle (100).

L'ovulation n'a lieu que si la chatte est effectivement en oestrus. Au cours de cette période d'œstrus toutefois, on constate que la capacité à ovuler est plus faible les deux premiers jours et plus importante au 4^{ème} et au 5^{ème} jour du l'œstrus (8). Ainsi, pour déclencher l'ovulation Feldman et Nelson proposent des stimulations ou des saillies 4 à 8 fois à 5 à 20 minutes d'intervalle pour accroître la proportion de chattes qui ovulent (26).

Des ovulations spontanées en absence de saillies ou de stimulations iatrogènes sont parfois rencontrées (51) (38)). Une stimulation de la base de la queue ou du bas du dos peut suffire pour entraîner le pic de LH (26).

1.1.2.2.2.2. La pseudo-gestation

La pseudo-gestation se rencontre lors d'ovulation spontanée ou de saillie non fécondante. Il y a donc ovulation mais celle-ci n'est pas suivie d'une gestation. L'induction de l'ovulation aboutit au développement de corps jaunes qui synthétisent et sécrètent de la progestérone (26).

Contrairement à ce qui se passe chez la chienne lors de pseudo-gestation, on ne rencontre pas de turgescence mammaire ou de modifications comportementales chez la chatte (8).

Suite à l'ovulation, les corps jaunes se forment en 24 à 36 heures et atteignent leur taille maximale vers le vingt-et-unième jour. Ils régressent ensuite lentement. Leur durée de vie moyenne est de 35 jours mais la durée totale de la pseudo-gestation est de 40 à 50 jours car celle-ci se prolonge jusqu'à la vague de développement folliculaire suivante qui peut survenir dans les 7 à 10 jours (26).

Durant cette période, la chatte ne manifeste pas de comportement sexuel.

1.1.2.2.2.3. La gestation

La durée de gestation est définie comme l'intervalle de temps entre la saillie fécondante et la parturition. Chez la chatte, la gestation dure de 56 à 69 jours avec une moyenne de 66 jours. La durée de la gestation est plus uniforme (comprise entre 63 et 66 jours) lorsque le 1^{er} jour est celui du début d'augmentation du taux plasmatique de progestérone. Ceci s'explique par la possibilité de saillie ne déclenchant pas l'ovulation (26).

La fécondation se produit dans l'oviducte. Quatre à cinq jours après la fécondation, les zygotes migrent dans l'utérus. La nidation a lieu 15 jours après le coït (26).

Durant la gestation, la chatte peut se montrer plus câline envers ses propriétaires mais il n'y a pas de modification comportementale très caractéristique (68).

Le retour en chaleurs s'effectue le plus souvent dans les 10 jours à 1 mois suivant le sevrage. Toutefois on peut noter que chez certaines chattes, un retour en chaleurs est possible autour de la parturition (dans les jours qui la précèdent ou qui suivent). Les saillies à ces périodes ne sont généralement pas fécondantes (26).

1.1.2.3. Modifications hormonal

L'augmentation de LH commence dans les 15 minutes suivant le coït mais avec de grandes variations entre les individus (61). Le pic de LH est atteint entre 10 minutes et 1 heure après un coït unique selon Concannon et al. (16), 9 heures après la stimulation selon Wildt et al. (107). Le taux de LH retrouve son niveau initial au bout de 24 heures (16). Il semble qu'il y ait une absence de pics ultérieurs de LH au cours du même oestrus même en présence d'autres coïts et ovulations. L'hypothèse d'une période réfractaire a été formulée pour expliquer ce phénomène (33).

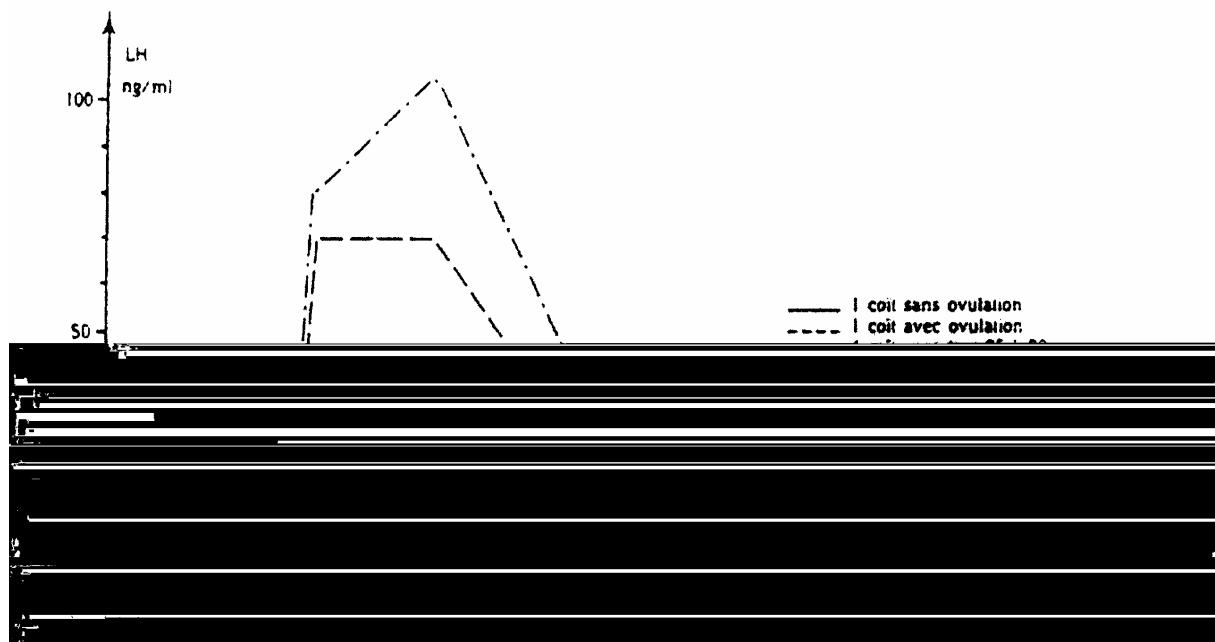


Figure 3 : Concentrations sériques moyennes de LH, chez des chattes ayant ovulé après une seule copulation, après quatre copulations réparties sur une période de 26 à 81 minutes, après 8 à 12 copulations réparties sur 4 heures et chez des chattes n'ayant pas ovulé après une seule copulation (d'après Concannon et al. (16)).

1.1.2.3.2. Les hormones stéroïdiennes

Les stéroïdes sont synthétisés à partir du cholestérol. Sous l'influence de la LH, les cellules de la thèque interne utilisent comme substrat le cholestérol pour synthétiser la progestérone. Puis les androgènes issus de la progestérone servent aux cellules de la granulosa pour synthétiser les oestrogènes(80).

1.1.2.3.2.1. Les oestrogènes

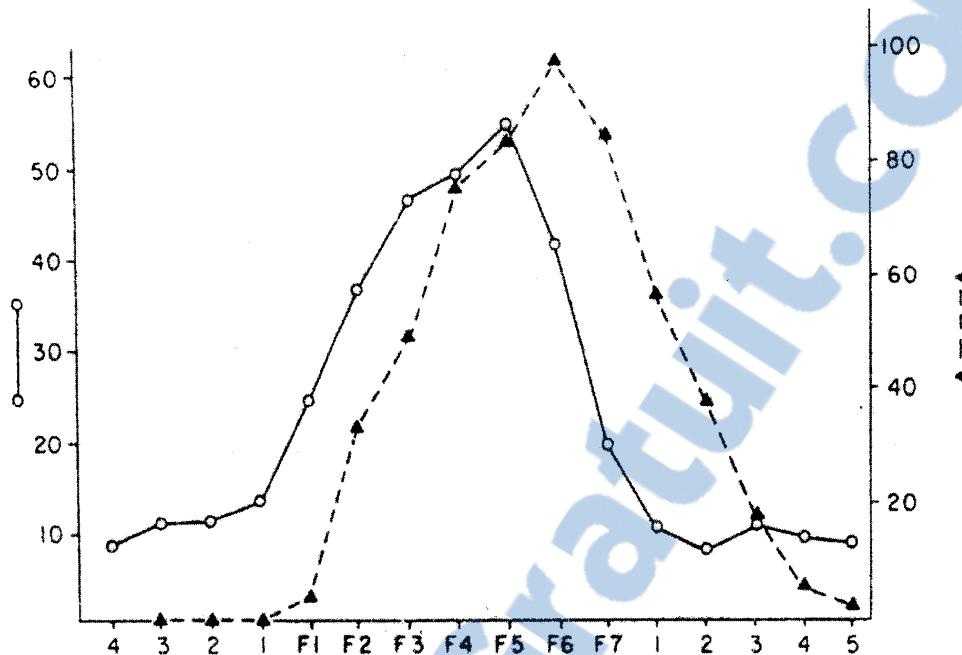
Durant le pro-oestrus et l'oestrus, les oestrogènes sont sécrétés par les follicules ovariens en croissance. Puis, les corps jaunes et les cellules interstitielles prennent le relais et sécrètent des oestrogènes en faible quantité en cas de gestation ou de pseudo-gestation. Au cours de l'anoestrus, il y a sécrétion d'oestrogènes par les cellules interstitielles et par les glandes surrénales (28).

Le comportement d'oestrus est associé à la synthèse et la sécrétion d'oestrogènes (26). Des modifications au niveau de la cytologie vaginale y sont également associées (13).

L'oestradiolémie s'élève dès la fin de l'anoestrus et durant le pro-oestrus pour atteindre un pic qui se situe entre 35 et 70 pg/ml au moment de l'oestrus (chez certaines chattes, ce pic peut se situer à 200 pg/ml) (13). Dès la fin de celui-ci, les valeurs sériques reviennent à leur taux basal soit 20 à 25 pg/ml. Lors de gestation ou de pseudo-gestation, la concentration plasmatique en oestrogènes reste basale mais il arrive chez certaines chattes qu'une élévation de cette concentration soit observée.

Concentration plasmatique
de 17β oestradiol en pg/mL.

Chattes avec oestrus
comportemental.



Jours F1 à F7 représentent la « phase folliculaire ».

Figure 4 : Représentation schématique de la phase folliculaire (17β -oestradiol > 20 pg/ml) parallèlement au nombre de chattes présentant un oestrus comportemental pour chaque jour de la phase folliculaire (d'après Feldman et Nelson (26))

Le premier jour de l'œstrus (F1), défini comme étant le jour où le taux d'œstrogènes devient supérieur à 20 pg/ml, 10 % des chattes présentent un oestrus comportemental. Cette proportion augmente régulièrement au cours de la phase folliculaire et pratiquement toutes les chattes manifestent un comportement de chaleurs avant la fin de cette phase (F7). Pour certaines chattes, ce comportement se poursuit même au-delà de F7. En effet, on constate qu'à J1 après la phase folliculaire, environ 60% des chattes sont en oestrus comportemental, qu'à J2, il y en a encore environ 40 % et qu'à J3, 20% des chattes sont encore en chaleurs (26).

1.1.2.3.2.2. La progestérone

La progestérone est sécrétée par les corps jaunes au moment de la gestation et de la pseudo-gestation. Le placenta ainsi que les glandes surrénales sécrètent aussi de la progestérone mais en quantité très modérée (55).

La progestérone a une action sur l'endomètre en favorisant la croissance et la multiplication des glandes favorables à la nidation. Elle stimule les sécrétions endométriales tout en réduisant l'activité du myomètre. La progestérone maintient le col de l'utérus fermé (55).

En l'absence d'ovulation et quel que soit le moment du cycle, la concentration de progestérone reste à un niveau basal (<1 ng/mL). Froment a montré que lors de cycles anovulatoires, sur 8 cycles suivis, la progestéronémie ne dépasse pas 0,55 ng/mL (28). Un à deux jours après l'ovulation, la concentration de progestérone commence à augmenter pour atteindre son maximum à environ 35 ng/mL 16 à 25 jours post-ovulation. Puis, la progestéronémie diminue progressivement. Dans le cas d'une chatte pseudo-gestante, il retrouve son taux basal vers le 36^{ème} jour. Dans le cas d'une chatte gestante, on observe aussi une diminution de la concentration en progestérone vers le 25^{ème} jour mais cette concentration se maintient entre 5 et 10 ng/mL puis chute à un niveau basal dans les heures qui précèdent la mise-bas (60).

1.1.3. Les différentes méthodes de suivi de l'œstrus chez la chatte

1.1.3.1. Méthodes cliniques

1.1.3.1.1. Comportement

Le comportement de la chatte lors de l'œstrus est caractéristique. Elle présente une diminution de son activité générale, miaule beaucoup, se frotte aux objets inanimés et se roule sur le dos, devient plus câline, s'immobilise lorsqu'on la touche, dévie la queue et piétine en se plaçant en position de lordose lorsqu'on lui gratte le bas du dos ou la région périnéale. Toutefois, certaines chattes plus timides peuvent avoir des chaleurs qui passent inaperçues et il est alors utile de faire appel à d'autres méthodes de suivi.

1.1.3.1.2. Mise en présence d'un mâle

La présence d'un mâle permet de détecter les chattes en oestrus peu démonstratives. La chatte adopte alors plus fréquemment un comportement typique d'oestrus (voir photo 1). Cette méthode permet également de discerner le pro-oestrus de l'oestrus car lors du pro-oestrus, la femelle se laisse chevaucher mais refuse l'intromission en repliant sa queue sous elle.

Photo 1 : Femelle en oestrus en présence d'un mâle (photo d'E. Malandain)



1.1.3.2. Méthodes paracliniques

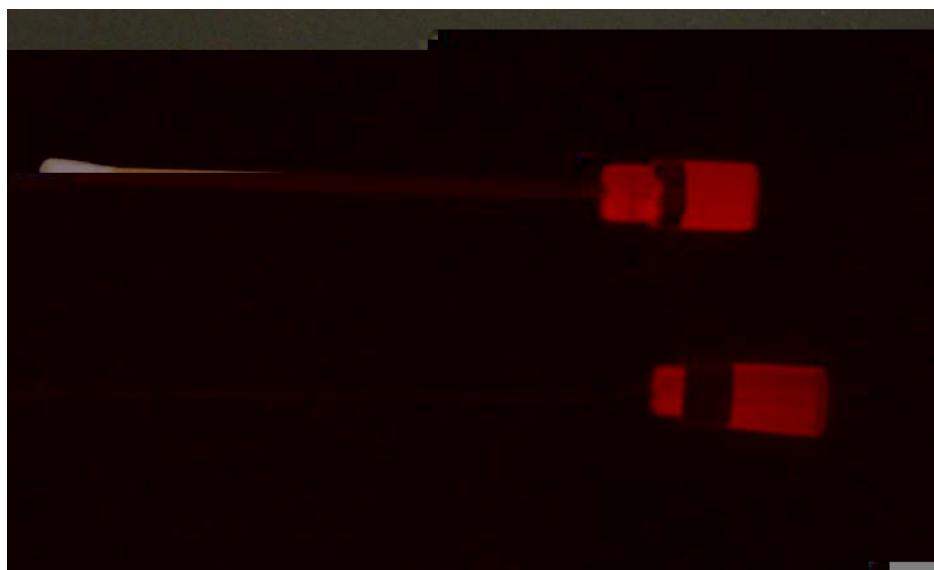
1.1.3.2.1. Frottis vaginaux

Sous l'influence des hormones sexuelles, les cellules de l'épithélium vaginal vont subir des modifications. L'examen de frottis vaginaux réalisés régulièrement au cours du cycle de la chatte permet de déterminer avec précision le moment optimal pour qu'elle soit fécondée (par saillie naturelle ou par insémination).

1.1.3.2.1.1. Réalisation du frottis vaginal

La chatte étant une espèce à ovulation provoquée, le prélèvement doit être effectué avec le plus grand soin afin d'éviter de déclencher l'ovulation. La technique la plus fréquemment utilisée dérive de celle utilisée chez la chienne. On introduit dans le vagin un écouvillon fin (de type écouvillon urétral utilisé en médecine humaine, voir photo 2) après l'avoir préalablement humidifié avec du sérum physiologique. L'écouvillon est introduit horizontalement dans le vagin sur seulement un centimètre (soit la partie recouverte de coton) puis est délicatement roulé contre les parois du vagin. Le retrait de l'écouvillon est lui aussi réalisé en douceur. L'utilisation d'écouvillon servant aux frottis vaginaux chez la chienne ou de coton tige est déconseillée car leur taille étant plus importante, il risque de déclencher l'ovulation chez les chattes en oestrus (28).

Photo 2 : Ecouvillon vaginal (en haut) et écouvillon urétral (en bas) (photo d'E. Malandain)



Après avoir pratiqué le prélèvement, celui-ci est immédiatement étalé sur une lame de verre dégraissée. Pour ce faire, on roule délicatement la partie recouverte de coton sur la lame en faisant attention de ne pas frotter ce qui altèrerait les cellules et en ne passant pas deux fois au même endroit (24). On peut réaliser deux ou trois étalements avec le même écouvillon ce qui permet de réaliser différentes colorations.

La fixation du matériel cellulaire sur la lame est obtenue en plongeant celle-ci pendant 5 minutes dans une solution contenant 50% d'alcool et 50% d'éther. L'utilisation de cytofixateurs sous forme d'aérosols est également possible (24).

La coloration des frottis vaginaux peut être réalisée à l'aide de trois techniques différentes (24): la coloration de Harris-Schorr, la coloration de May-Grünwald-Giemsa ou la coloration monochrome au bleu de méthylène. La coloration de Harris-Schorr (Annexe 1), bien que longue, respecte les affinités tinctoriales des cellules et permet donc une meilleure différenciation des types cellulaires.

1.1.3.2.1.2. Interprétation du frottis vaginal

Il est important de souligner que, comme chez la chienne, l'interprétation d'un seul frottis doit être faite avec précaution car seule l'évolution dans le temps du frottis vaginal présente un intérêt.

L'interprétation du frottis se fera tout d'abord au faible grossissement puis on augmentera pour une observation plus détaillée des cellules (77).

1.1.3.2.1.2.1. Aspect général du frottis

L'appréciation de l'aspect général du frottis est importante dans l'interprétation de celui-ci. En effet, un fond sale et souillé par des sécrétions et du mucus est rencontré en dehors des chaleurs alors qu'un fond limpide est caractéristique de la période des chaleurs (77).

1.1.3.2.1.2.2. Coloration du cytoplasme et indice éosinophilique

L'intérêt de la coloration de Harris-Schorr est qu'elle reflète le caractère acidophile du cytoplasme par une coloration rouge et le caractère basophile du cytoplasme par une coloration bleue. La coloration acidophile correspond à une coloration de la pré-kératine déposée dans le cytoplasme des cellules (83).

Chez la chatte, Froment définit l'indice éosinophilique comme étant le nombre de cellules bicolores et de cellules acidophiles sur le nombre total de cellules comptées. Son étude montre qu'un indice supérieur à 85% est concomitant d'une phase d'œstrus (28).

1.1.3.2.1.2.3. Caractéristiques et classification des cellules épithéliales

Différents types de cellules épithéliales sont présentent dans un frottis de chatte (annexe 2) :

- des cellules basales
- des cellules parabasales
- des cellules petites intermédiaires
- des cellules grandes intermédiaires
- des cellules superficielles nucléées et anucléées.

1.1.3.2.1.2.4. Les autres cellules

Par ordre de fréquence décroissante, sur les frottis vaginaux de chatte, on peut observer les cellules suivantes :

- des leucocytes
- des hématies
- des cellules de la partie antérieure du tractus génital
- des cellules tumorales

1.1.3.2.1.3. Evolution du frottis vaginal au cours du cycle sexuel

Chez la chatte, on ne reconnaît que trois phases au cours du cycle sexuel : la phase folliculaire, la phase inter-oestrale et la phase anoestrale (77) (104) (87). Contrairement à ce que l'on rencontre chez la chienne, on ne peut pas différencier l'inter-oestrus du métoestrus (pseudo-gestation ou gestation).

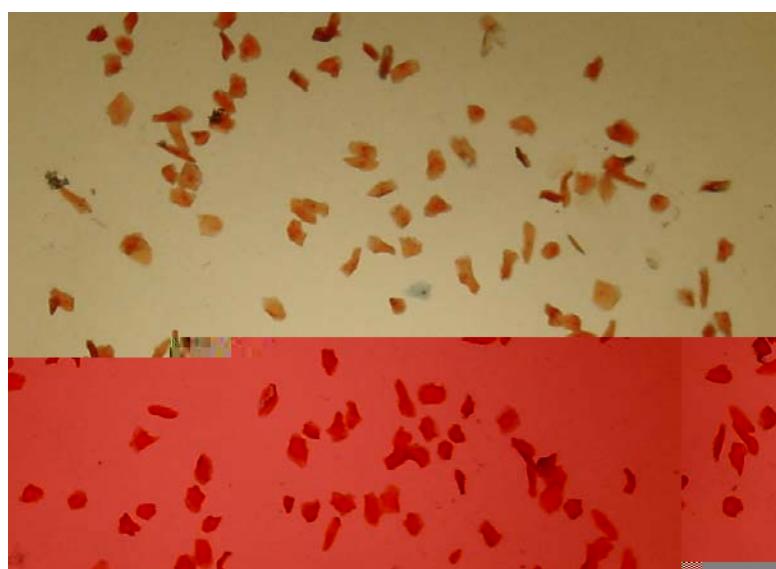
Il est admis que l'aspect du fond du frottis vaginal est un indicateur assez sensible de l'oestradiolémie chez la chatte (87) car les oestrogènes liquéfient le mucus vaginal (26). Un frottis vaginal « clair » est défini comme un frottis vaginal avec absence de débris non cellulaires et absence de traînées de mucus éosinophiliques ou basophiliques, comme la non-agréation des cellules sous forme de feuillets sur la lame (85).

1.1.3.2.1.3.1. La phase folliculaire

La phase folliculaire, qui correspond au pro-oestrus et à l'oestrus, est caractérisée par une élévation de l'oestradiolémie plasmatique au-dessus de 20 pg/ml (85). Shille et al. ont observé un éclaircissement du fond du frottis vaginal deux jours avant la phase folliculaire dans 13% des

cycles étudiés (87). Un fond « clair » est rencontré dans plus de 90% des cycles durant la phase folliculaire et persiste 5 jours après la fin de cette phase dans 20% des cas (85). A cet éclaircissement du fond du frottis s'ajoutent la présence de cellules superficielles et superficielles anucléées et une prédominance de l'acidophilie. On observe également au maximum de l'œstrus des amas de cellules. Durant la phase folliculaire, la morphologie des cellules change : la proportion de cellules superficielles anucléées augmente et passe d'environ 10% le premier jour de la phase folliculaire (F1) à 40% le 4^{ème} jour de la phase folliculaire (26). On constate également que la proportion de cellules superficielles nucléées reste relativement constante au cours de cette phase (autour de 60%) alors que le nombre de cellules intermédiaires et de cellules parabasales diminue (26). Il semble cependant que, bien qu'il y ait un changement de morphologie des cellules vaginales, il soit difficile de se baser sur le comptage cellulaire pour dire si la chatte est au début ou à la fin de la phase folliculaire (voir photo 3). En effet, Froment (28) décrit une répartition des cellules suivant une courbe de Gauss mais celle ci est difficilement interprétable car il existe des variations individuelles : pour une même chatte, la répartition des cellules ne suit pas parfaitement une courbe de Gauss au cours de la phase folliculaire et les pourcentages de cellules dans les différentes catégories cellulaires peuvent être très différents. De plus, certaines chattes ont des frottis d'œstrus avec des indices éosinophiliques de 100% alors que chez d'autres, il sera au maximum de 97%. Ainsi, contrairement ce qui se passe chez la chienne, les frottis vaginaux ne permettent pas de déterminer à quel moment de la phase folliculaire se trouve la chatte.

Photo 3 : Frottis d'œstrus au grossissement 100 (photo d'E. Malandain)



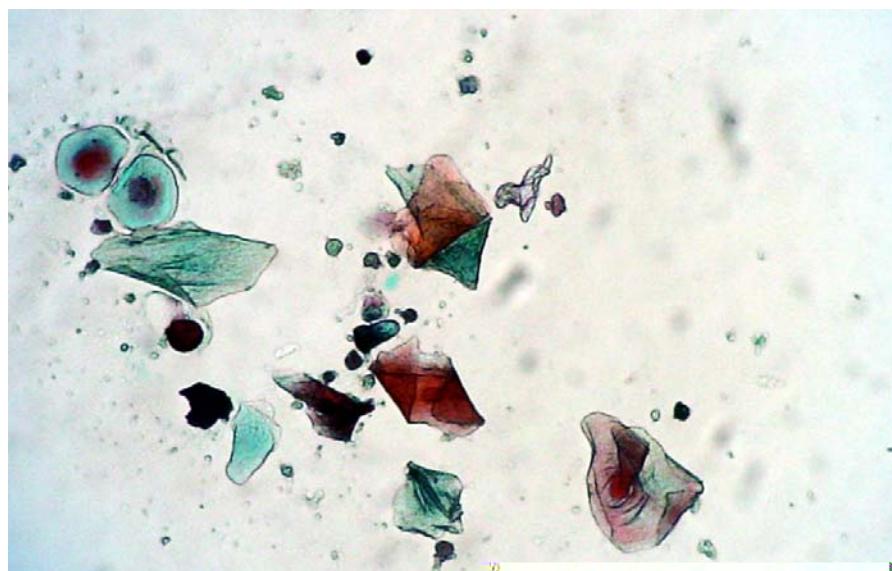
1.1.3.2.1.3.2. La phase inter-oestrale

Cette phase correspond à l'inter-oestrus (période qui sépare deux phases folliculaires avec ou sans ovulation).

Le frottis vaginal montre un fond sale, un nombre égal de cellules intermédiaires (autour de 48%) et de cellules superficielles nucléées (46% environ), de rares cellules basales et parabasales (environ 2%), de rares cellules superficielles anucléées (environ 4%), une tendance à l'acidophilie et quelques leucocytes immatures (26).

La présence de cellules superficielles kératinisées et de cellules basales sur le même frottis est fréquente chez la chatte alors que ce cas est rare chez la chienne (voir photo 4).

Photo 4 : Frottis d'inter-oestrus au grossissement 400 (photo d'E. Malandain)



1.1.3.2.1.3.3. La phase anoestrale

Cette phase correspond à l'anoestrus.

Le frottis vaginal se caractérise par un fond très sale, un faible nombre de cellules, la prédominance des cellules basales et parabasales souvent en amas, la présence de quelques cellules intermédiaires et de quelques leucocytes immatures, le très faible nombre de cellules superficielles probablement d'origine vestibulaire (104) (77). La basophilie est dominante (voir photo 5). Toutefois, il faut noter que tous les auteurs ne sont pas d'accord sur la répartition des

cellules durant cette phase puisque selon Feldman et Nelson (26), les parabasales représentent moins de 10% des cellules, les cellules intermédiaires représentent 40 à 70% des cellules et les cellules superficielles nucléées de 30 à 40%.

Photo 5 : Frottis d'anoestrus au grossissement 100 (photo d'E. Malandain)



1.1.3.2.1.4. Intérêt des frottis vaginaux dans le suivi du cycle oestral chez la chatte

Comme dit précédemment, il est plus intéressant de suivre l'évolution des frottis vaginaux dans le temps que de regarder un frottis isolé. De plus, les frottis vaginaux ne reflètent pas la maturation folliculaire et ne permettent pas de se situer précisément au sein de la phase folliculaire.

Une étude dans le temps permet en effet de déterminer la phase du cycle sexuel même en l'absence de comportement de chaleurs, de déterminer le moment de la mise à la reproduction, de contrôler la réalisation de la saillie par visualisation des spermatozoïdes, de diagnostiquer et de suivre l'évolution des affections vaginales ou utérines (vaginites, endométrites, pyomètres, mucomètres).

Les frottis vaginaux s'avèrent donc indispensables pour réaliser des inséminations artificielles. En effet, bien qu'ils ne permettent pas de savoir avec précision à quel moment de l'œstrus se situe la chatte, ils nous permettent de savoir si la chatte est effectivement en période

d'imprégnation oestrogénique, période durant laquelle la maturation folliculaire devra être étroitement suivie (par échographie comme nous le verrons par la suite).

1.1.3.2.2. Echographie ovarienne

L'échographie ovarienne a déjà été étudiée chez la vache (69), la jument (70), la truie (98) et la chienne (7). Récemment, une étude a montré l'intérêt du suivi échographique de la maturation folliculaire lors de cycles anovulatoires chez la chatte (28).

1.1.3.2.2.1. *Principes généraux de l'échographie*

L'échographie est une méthode d'investigation fondée sur la réflexion des ultrasons. En médecine vétérinaire, on utilise des fréquences variant de 2 à 10 millions de Hertz (18). Pour obtenir une image de bonne qualité, le faisceau d'ultrasons doit être de préférence perpendiculaire à la structure échographiée. La peau de l'animal examiné doit être préalablement tondue et imbibée d'alcool ou d'eau puis recouverte d'un gel spécial afin de garantir l'absence d'air entre la peau et la sonde.

L'intensité de l'onde ultrasonore se modifie en traversant les différents milieux. Plus la distance parcourue est grande, plus le faisceau perd en intensité (53). L'atténuation de cette onde ultrasonore dépend également de la fréquence d'émission et de la nature des milieux de propagation. Ainsi, plus la fréquence est élevée, moins les ondes pénètrent profondément dans les tissus.

La résolution axiale est la capacité à distinguer deux points proches situés sur un axe parallèle au faisceau ultrasonore. Elle dépend directement de la longueur d'onde donc de la fréquence. Pour une bonne résolution axiale, il faut donc utiliser une fréquence élevée. La résolution latérale est la capacité à distinguer deux points proches situés sur axe perpendiculaire au faisceau d'ultrasons. Cette résolution latérale varie également en fonction de la fréquence. Plus la fréquence est élevée, meilleure est la résolution. Elle dépend directement du phénomène de divergence que subissent les faisceaux au cours de leur trajet. La résolution latérale sera meilleure dans les zones focales (50).

Il est également important de connaître le fonctionnement d'un échographe pour obtenir des images de bonne qualité. Celui-ci est composé d'une unité centrale (écran et commandes) ainsi que d'une ou plusieurs sondes.

Les sondes peuvent être de deux types : mécaniques (constituées d'un ou plusieurs cristaux actionnés par un mécanisme permettant le balayage, elles donnent des images sectorielles) ou électroniques. Les sondes électroniques peuvent être de deux sortes (linéaires ou « *phased array* »). Les sondes linéaires sont constituées de plusieurs cristaux dont l'excitation successive permet le balayage. Elles peuvent être convexes ou microconvexes et produisent alors une image sectorielle. Lorsqu'elles sont rectilignes, l'image est rectangulaire (18).

Sur l'échographe, plusieurs réglages sont nécessaires suivant l'organe et l'animal que l'on examine afin d'améliorer la qualité de l'image. On peut régler :

- La profondeur selon les organes à examiner.
- La focale doit être placée à l'endroit où l'on souhaite la meilleure résolution latérale.
- Le TGC (*Time Gain Compensation*) permet un réglage étagé du gain. C'est un traitement des échos. Il agit sur la brillance des échos. On peut ainsi choisir d'augmenter la brillance des échos profonds pour compenser l'atténuation et de diminuer celle des échos superficiels afin d'obtenir une image homogène d'un même organe.
- Le gain général permet de régler la brillance générale de l'image. Plus le gain augmente, plus la brillance est importante.
- La puissance du faisceau est une modification des ultrasons émis et non des échos reçus. Plus la puissance augmente, plus l'intensité des ultrasons est forte, plus l'image est brillante. Pratiquement, il suffit de s'assurer que la puissance est moyenne au début de la séance d'échographie (28).

La plupart du temps un système d'enregistrement et d'archivage est relié à l'échographe. Par convention, les coupes longitudinales sont orientées pour voir la partie crâniale à gauche de l'écran et les coupes transversales pour que la gauche de l'animal soit à droite de l'écran (23) (29).

1.1.3.2.2.2. Sémiologie échographique

1.1.3.2.2.2.1. Les tissus mous

Les tissus mous correspondent au divers parenchymes , tels que le stroma ovarien en anoestrus. Ils sont caractérisés par une répartition régulière des échos, l'image échographique est homogène, légèrement piquetée (65) (50).

Par ordre d'échogénicité croissante, on peut classer les différents parenchymes comme suit : corticale rénale, foie, rate. Le stroma ovarien est isoéchogène au parenchyme rénal (28).

1.1.3.2.2.2.2. Les liquides homogènes

Les liquides acellulaires, tels que le liquide folliculaire, sont assimilables à de l'eau. A l'écran, ils apparaissent sous forme de zones anéchogènes. Dans le cas du sang, la cellularité élevée permet d'observer de fins échos. Le centre des corps hémorragiques apparaît comme des zones hypoéchogènes (28).

1.1.3.2.2.2.3. Les gaz

L'impédance du gaz étant très différente de celle des tissus mous, l'interface entre les deux est hyperéchogène. Ceci est dû à la réflexion totale des échos. En profondeur, on observe différents artéfacts : cônes d'ombre et queue de comète. Les gaz sont présents à l'état normal dans le tube digestif en quantité très variable, ils peuvent parfois cacher l'ovaire ou rendre son observation difficile.

1.1.3.2.2.2.4. Les images de contours

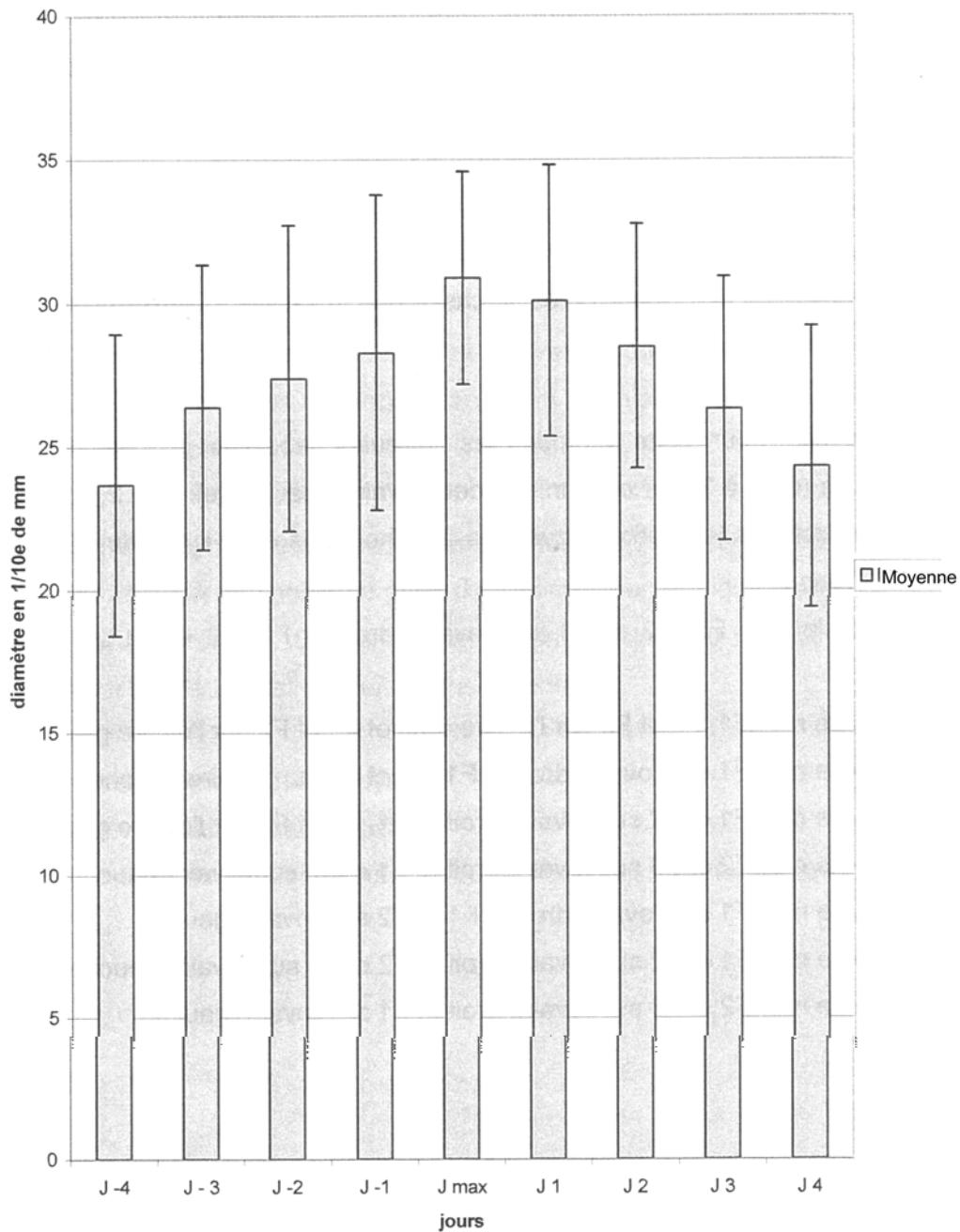
On observe une ligne hyperéchogène qui peut correspondre à une paroi, une cloison ou une interface. Une paroi apparaît sous la forme d'un trait qui souligne et isole presque entièrement la structure. Une cloison sépare des images liquidiennes. On peut observer ceci lorsque deux follicules remplis de liquide folliculaire sont accolés. Une interface est une ligne construite qui mime une paroi. Elle sera d'autant plus échogène que le faisceau sera perpendiculaire à l'interface acoustique (entre deux milieux d'impédances différentes). On observe ceci à l'interface stroma ovarien-liquide folliculaire (28).

1.1.3.2.2.3. Utilisation de l'échographie pour le suivi du cycle oestral chez la chatte

Froment et al (28) ont étudié l'évolution de la taille des follicules ovariens au cours du cycle anovulatoire chez la chatte.

Cette étude révèle que le premier jour d'expression d'un comportement d'œstrus, il y a toujours au moins un follicule d'un diamètre supérieur à 0,2 cm. Une cinétique de croissance et de décroissance folliculaire est observée pour les follicules principaux avec parfois de petits follicules qui croissent et qui décroissent de façon asynchrone par rapport aux follicules plus grands ou qui n'évoluent pas au cours du cycle. La croissance folliculaire moyenne mise en évidence était de 0,072 cm sur 4 jours, ce qui correspond à une croissance folliculaire quotidienne moyenne de 0,018 cm. Ceci étant inférieur à la résolution de la sonde qui est de 0,02 cm, la variation de taille du diamètre d'un follicule n'est pas significative sur 24 heures mais l'est sur 48 heures. La décroissance folliculaire moyenne observée était de 0,066 cm sur 4 jours ce qui correspond à une décroissance folliculaire quotidienne moyenne de 0,0165 cm. Là encore, seule la décroissance sur 48 heures est significative.

Figure 5 : Moyenne des diamètres folliculaires en fonction du temps de 8 cycles, de Jmax – 4 à Jmax +4, avec représentation des écarts types en barres d’erreur Y (d’après Froment et al (28))



Le diamètre folliculaire maximal moyen est compris entre 0,262 et 0,356 cm sur les cycles qui ont été étudiés (voir figure 5). Ceci correspond à une taille moyenne maximale des follicules de $0,309 \pm 0,047$ cm.

Il a également été établi que le Jmax (jour où la taille des tailles des follicules ovariens est maximale) est généralement le même sur les deux ovaires. Ces derniers présentent donc une cinétique folliculaire synchrone dans la majorité des cycles étudiés (7 cycles sur 10).

Dans cette étude, les deux ovaires présentaient une activité folliculaires quelques soient les cycles.

L'évaluation cinétique a également mis en évidence que lorsque la croissance folliculaire maximale était obtenue, au moins un follicule avait atteint un diamètre supérieur ou égal à 0,3 cm. En extrapolant ces résultats, on peut en déduire que lorsque aucun follicule n'a atteint ce diamètre, le pic de croissance folliculaire n'est pas encore obtenu.

De plus, cette étude montre que la croissance maximale est observée à des jours différents par rapport au début de l'expression comportementale de l'oestrus. Sur 10 cycles étudiés, ce jour varie de J2 à J6 avec une majorité des chattes ayant un Jmax à J5 (J1 étant le premier jour d'expression des chaleurs). Le début du comportement des chaleurs n'est donc pas un moyen fiable pour déceler la maturation folliculaire.

Enfin, l'échographie ovarienne chez la chatte est difficile à mettre en œuvre en routine car elle nécessite un échographe de haute résolution ainsi qu'un manipulateur expérimenté. Elle est en pratique utilisable dans le suivi folliculaire lorsque l'oestrus est confirmé par le frottis

1.1.4. Déclenchement de l'ovulation

La chatte étant une espèce à ovulation provoquée, le déclenchement de l'ovulation est indispensable pour réaliser une insémination artificielle.

1.1.4.1. Utilisation de mâle vasectomisé

L'ovulation étant déclenchée par la saillie, l'utilisation de mâles vasectomisés permet de déclencher celle-ci tout en prévenant la fécondation. Le nombre de saillies nécessaires conseillé est identique à celui conseillé lors d'une mise à la reproduction classique. Cependant, cette méthode ne supprime pas le risque de maladie sexuellement transmissible qui est un des avantages de l'insémination artificielle.

1.1.4.2. Stimulation mécanique des récepteurs vaginaux

On peut pour cela utiliser une tige de verre rodée, un écouvillon vaginal ou un coton-tige. Il est nécessaire de pratiquer des stimulations répétées, de 10 secondes à 5 minutes d'intervalle, deux jours consécutifs. L'efficacité des stimulations est contrôlée par l'obtention du comportement typique post-coïtal (12). Feldman et Nelson (26) conseillent de pratiquer de quatre à huit stimulations de 2 à 5 secondes chacune et espacées de 5 à 20 minutes, à l'aide d'une tige de verre rodée ou d'un écouvillon stérile (voir photo 6). La stimulation doit souvent être réalisée plusieurs fois consécutives pour obtenir l'ovulation.

Photo 6 : Stimulation mécanique des récepteurs vaginaux à l'aide d'un écouvillon vaginal (photo d'E. Malandain)



L'écouvillon doit être introduit horizontalement et non pas verticalement comme c'est le cas chez la chienne.

1.1.4.3. Déclenchement hormonal

1.1.4.3.1. Traitement à base de hCG

Le pourcentage de chattes qui ovulent et le taux d'ovulation augmentent avec la dose de hCG (Tableau I). Pour obtenir un taux d'ovulation de 100% sur la totalité des chattes traitées, Wildt et Seager (59) ont montré qu'il fallait administrer soit une dose unique de 500 UI de hCG le second jour de l'œstrus, soit une injection de 100, 250, ou 500 UI de hCG les 2^{ème} et 3^{ème} jours de l'œstrus. Toutefois, selon Chaffaux (12), 50 UI de hCG administrées une fois en intra-veineuse ou 75 à 375 UI administrées en intra-musculaire pendant deux jours consécutifs seraient suffisants. Selon Goodrowe et al (36), il existe une interaction synergique entre l'utilisation de hCG et le coït. Cette interaction peut être mise à profit pour optimiser le taux d'ovulation.

Tableau I: Emploi de la gonadotropine chorionique pour déclencher l'ovulation chez la chatte en œstrus naturel (d'après Wildt et al cités par Liège (59))

Dose de hCG en UI	Une injection le premier jour de l'œstrus	Deux injections : une le premier jour et une le second jour
	Taux moyen d'ovulation	Taux moyen d'ovulation
0	0	0
50	31,6	41,6
100	25,0	74,2
250	66,6	85,0
500	100,00	95,8

NB : Chaque traitement est étudié sur un groupe de quatre femelles. Les follicules matures sont dénombrés le premier jour de l'œstrus. Les corps jaunes sont dénombrés 96 à 168 heures après l'injection de hCG.

Chez les chattes ayant reçu un traitement d'induction de l'œstrus avec de la FSH-P, c'est-à-dire avec de la FSH d'origine porcine, aux doses de 0,75 mg/j les 5 premiers jours et de 0,25 mg le 6^{ème} jour, Dresser et al (22) préconisent une dose de hCG élevée : 2 injections de 375 UI en intramusculaire à 24 heures d'intervalle en commençant le jour de la 6^{ème} injection de FSH-P.

Toutefois, selon Graham (37), l'administration de gonadotropine exogène provoque un environnement endocrinien anormal chez le chat domestique, probablement dû au développement de follicules secondaires. L'élévation importante du taux d'oestradiol semble perturber le transport des embryons dans l'oviducte et conduit peut-être à la fertilité plus faible

observée chez les chattes soumises à une stimulation par les gonadotropines et à une insémination artificielle.

1.1.4.3.2. Traitement à base de GnRH

La GnRH administrée à une dose unique de 25 µg par voie intramusculaire le 2^{ème} jour de l'œstrus ou à deux doses de 25 µg les 2^{ème} et 3^{ème} jours de l'œstrus donne des résultats équivalents à ceux obtenus lors de l'utilisation de hCG (22).

1.1.5. Détermination du moment de l'ovulation

Peu de techniques peuvent être utilisées pour déterminer le moment de l'ovulation chez la chatte. Certaines actuellement utilisées sont invasives et nécessitent une anesthésie générale. Cependant, l'échographie ovarienne en développement important actuellement pourrait représenter une alternative intéressante à l'exploration chirurgicale.

1.1.5.1. Par dosage hormonaux

1.1.5.1.1. Dosage de la LH

1.1.5.1.1.1. Techniques de dosage

Le dosage de la LH, hormone très spécifique d'espèce, est réalisable par méthode radio-immunologique. Peu d'équipes de recherche savent réaliser ce dosage (33) (16) (86).

1.1.5.1.1.2. Evolution

Les concentrations de LH varient d'un laboratoire à l'autre selon que les techniciens utilisent des standards chez le chien (14) ou chez le mouton (86) (16) (33).

Bien que la pulsatilité de la LH ait été démontrée de manière évidente chez le mâle de certaines espèces de félidés sauvages (10), rien n'a été démontré chez la chatte.

La concentration plasmatique en LH après saillie (50 à 70 ng/ml d'après Wildt et al. (106)) est de 10 à 50% inférieure à la production maximale permise par l'hypophyse (35) (Figure 6). L'augmentation de la LH plasmatique en réponse à une seule copulation est moins importante en durée et en intensité que celle due à des coits multiples (16). Tous les auteurs s'accordent à dire

que plusieurs saillies sont nécessaires, en général 3 ou 4 coïts, pour induire l'ovulation. Pour Wildt et al. (106), plus les coïts sont fréquents, plus l'amplitude et la durée du pic de LH sont élevées. Plus les coïts sont étalés dans le temps, plus le pic de LH est tardif (35).

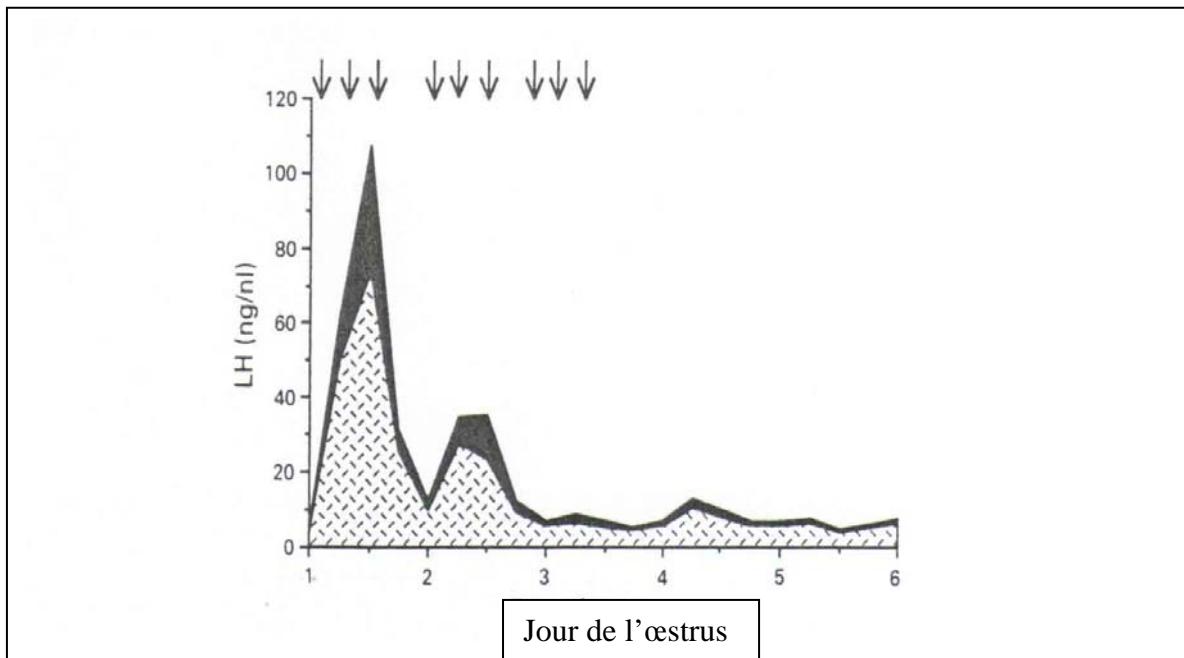


Figure 6 : Concentration plasmatique moyenne en LH durant un oestrus avec saillies. Les flèches indiquent le moment des saillies. La zone ombrée représente l'écart-type (d'après Goodrowe (35))

En l'absence de saillie suffisante ou de stimuli induisant la décharge pituitaire, le taux de LH reste inférieur à 10 ng/mL (35).

Pour qu'il y ait ovulation, le follicule doit être suffisamment mature. Ainsi, alors que certaines chattes ont un comportement d'œstrus, il arrive que l'ovulation ne se produise pas même en présence de stimuli suffisants car la maturation folliculaire n'est pas achevée (4) (5). Il peut arriver également que le coït et la décharge de LH surviennent trop tardivement alors même que le follicule est déjà atrétique. Ainsi, il apparaît que la maturation folliculaire ne coïncide pas toujours avec le comportement d'œstrus puisse expliquer un certain nombre d'échecs d'ovulations (26).

1.1.5.1.2. Dosage de la progestérone

Contrairement à celle de la chienne, la progestéronémie n'augmente pas avant l'ovulation et ne permet donc pas de déterminer le moment de celle-ci. L'intérêt du dosage de la progestérone pour l'insémination artificielle sera donc de s'assurer que la chatte ait ovulé et non pas qu'elle va ovuler.

1.1.5.1.2.1. *Les techniques de dosages*

Plusieurs techniques de dosages peuvent être utilisées : la radio-immunologie ou la technique ELISA. Les résultats sont différents suivant que l'on utilise l'une ou l'autre technique.

1.1.5.1.2.2. *Evolution*

La concentration plasmatique en progestérone reste basale (<1 ng/mL) en absence d'ovulation.

Lors de la phase lutéale, gestation ou pseudo-gestation, la progestérone est l'hormone dominante. Son taux est toujours supérieur à 1 ng/mL (35).

Contrairement à ce qui est rencontré chez la chienne, la progestéronémie n'augmente que 24 à 48 heures après l'ovulation et ne peut donc pas être utilisée pour prévoir le moment de l'ovulation (26).

En regardant l'évolution du taux de progestérone au cours de la phase lutéale, on constate qu'il est maximum 16 à 25 jours après le premier accouplement. Il atteint alors 30 à 60 ng/mL (26) avant de diminuer progressivement. Dans le cas d'une chatte pseudo-gestante, il retrouve son taux basal vers le 36^{ème} jour. Si la chatte est gestante, on observe aussi une diminution de la concentration en progestérone vers le 25^{ème} jour mais cette concentration se maintient entre 5 et 10 ng/mL puis chute à un niveau basal dans les heures qui précèdent la mise-bas (60).

1.1.5.2. **Détermination de l'ovulation par examen direct des ovaires**

Jusqu'à présent, chez la chatte, il s'agit de la seule possibilité pour contrôler l'ovulation en temps réel. Différents auteurs se sont intéressés à la détermination du moment de l'ovulation et utilisent pour cela la laparotomie (94) (102) (103) ou la laparoscopie (74) (43). Bien que les auteurs ne soient pas d'accord sur le moment de l'ovulation, on constate cependant que la

majorité d'entre eux s'accordent pour situer celle-ci entre 24 et 30 heures après l'injection de hCG (94) ou après la copulation (26) (60) (6).

1.1.5.3. Utilisation de l'échographie pour le suivi de l'ovulation dans d'autres espèces

L'échographie est déjà utilisée afin de déterminer le moment de l'ovulation chez la vache. On peut observer dans cette espèce deux types d'ovulation : une ovulation brutale avec rupture de l'enveloppe du follicule associée à l'évacuation de son contenu liquidien et de l'ovocyte ou une ovulation apparaissant comme une diminution progressive de la taille du follicule (7). Chez la jument, la disparition d'un follicule pré-ovulatoire, précédemment détecté, et l'apparition d'un corps jaune, sont l'indication d'une ovulation récente (7). Chez la chienne, une étude (7) décrit les aspects des ovaires au cours des phases pré-ovulatoire, péri-ovulatoire ou post-ovulatoire et montre que l'échographie peut être utilisée dans cette espèce afin de détecter l'ovulation. Toutefois, ceci nécessite un matériel de haute définition, une grande habitude de la part du clinicien et des contrôles échographiques quotidiens. Lors de la phase péri-ovulatoire, les ovaires deviennent plus homogènes, les structures anéchogènes disparaissent et des structures hypoéchogènes par rapport au stroma ovarien apparaissent.

Le développement de l'échographie ovarienne chez la chatte et les possibilités de suivi des follicules ovariens lors des cycles anovulatoires rapportées par Froment (28) permettent de supposer que l'échographie peut également être utilisée chez la chatte pour le suivi de l'ovulation.

1.2. Récolte et examen du sperme chez le chat

1.2.1. Rappels d'anatomie

1.2.1.1. Testicules, enveloppes testiculaires, épididymes et conduits déférents.

Les testicules sont contenus dans une poche cutanée, le scrotum qui est situé en position périnéale haute, juste sous l'anus. La peau du scrotum est recouverte de poils rudes et serrés. Le raphé scrotal externe se prolonge intérieurement par le septum scrotal (6). Le muscle crémaster, grêle chez le chat, dérive du bord caudal du muscle oblique interne (90). La tunique vaginale, évagination du péritoine à l'intérieur du scrotum, est une membrane séreuse qui peut être divisée en vaginale pariétale et en vaginale viscérale séparées par une cavité virtuelle ne contenant normalement que très peu de liquide séreux (90).

Les testicules, globuleux, sont recouverts d'une épaisse capsule fibreuse, la tunique albuginée (90). Ils pèsent 1,3 g en moyenne (6). Les testicules sont orientés crânio-caudalement au sein du scrotum.

Les épididymes, tubes contournés situés et fixés sur la partie supérieure des testicules, formés par la réunion et le pelotonnement des vaisseaux séminifères, peu volumineux, pèsent en moyenne 0,2 g (6). Ils sont fixés à la paroi scrotale par le ligament de la queue de l'épididyme. Testicules et tête de l'épididyme sont attachés par le ligament propre du testicule.

Les canaux déférents prennent naissance à la queue de l'épididyme. Ils entrent dans l'abdomen au niveau des anneaux inguinaux et cheminent au sein des cordons spermatiques qui contiennent également les nerfs et vaisseaux testiculaires. Les veines testiculaires, tortueuses, forment les plexus pampiniformes qui permettent de refroidir le sang arrivant aux testicules afin d'assurer une production optimale de spermatozoïdes. Les canaux déférents, une fois dans l'abdomen, contournent les uretères, traversent la prostate et rejoignent l'urètre pelvien dorsalement à celui-ci, au niveau du *colliculus seminalis* qui forme une petite proéminence (90) (voir figure 8).

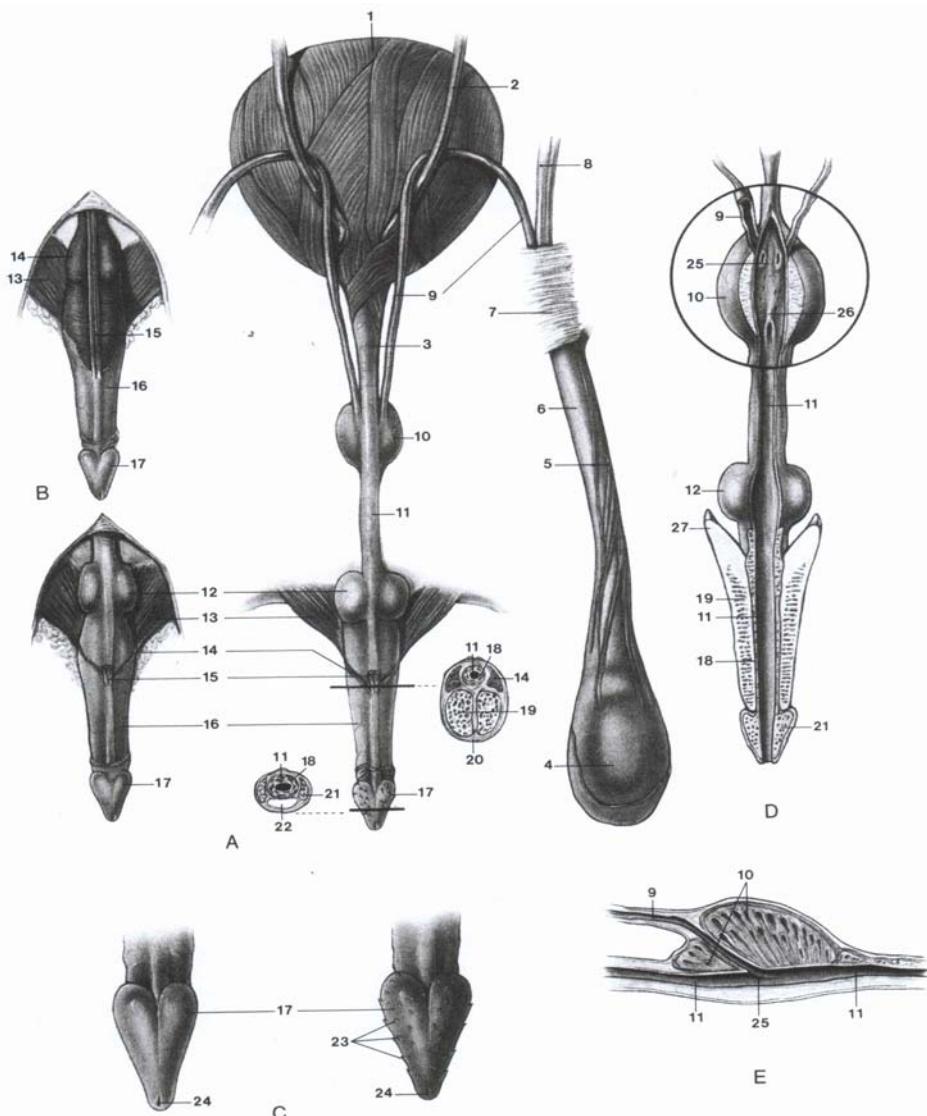


Figure 7: Appareil génital du chat mâle (d'après Smith (90))

A Appareil génital du chat mâle, castré (à gauche) et entier (à droite), vue dorsale.

B Pénis, vue dorsale.

C Gland du pénis chez un mâle castré et un mâle entier, vue dorsale.

D Structure commune de l'appareil génital mâle et de l'appareil urinaire (urètre ouvert ventralement, vue ventrale).

E Jonction de l'appareil génital mâle et de l'appareil urinaire, section médiane.

1 Vessie

2 Uretère

3 Col de la vessie

4 Testicule à l'intérieur de la tunique vaginale et du fascia spermatique

5 Muscle crémaster

6 Cordon spermatique

7 Canal inguinal

8 Artère et veine testiculaires

9 Conduit déférent

10 Prostate

11 Urètre

12 Glande bulbo-urétrale

13 Muscles ischio-caverneux

14 Muscles bulbo-spongieux

15 Muscles rétracteur du pénis

16 Corps du pénis

17 Gland du pénis

18 Corps spongieux du pénis

19 Corps caverneux du pénis

20 Tunique albuginée

21 Corps spongieux du gland

22 Os pénien

23 Papilles kératinisées du pénis

24 Orifice externe de l'urètre

25 Colliculus seminalis

26 Crête urétrale

27 Pilier du pénis

1.2.1.2. Urètre

La partie pénienne de l'urètre est courte. Elle est à peine égale à la partie pelvienne qui, avec 5 cm de longueur en moyenne de la vessie à l'arcade ischiatique, apparaît comme étant relativement longue par rapport à d'autres espèces. Le bulbe du pénis est bien développé et en raison de l'orientation de l'organe, le corps spongieux, où chemine l'urètre pénien, est situé à la face dorso-caudale du pénis (6) (voir figure 8D).

1.2.1.3. Glandes annexes

L'appareil génital mâle du chat se distingue de celui des autres mammifères domestiques par l'absence de vésicules séminales, d'ampoule et de glandes sur ses conduits déférents (58). Les seules glandes annexes présentes sont la prostate et les glandes bulbo-urétrales.

La prostate est intimement associée à l'urètre juste en arrière du col vésical. La partie compacte (*pars compacta*) de la prostate se présente sous forme de deux lobes allongés (5 mm sur 2 mm) séparés par un sillon médian. Elle recouvre les parties dorsale et latérales de l'urètre laissant libre la partie ventrale. La partie disséminée de la prostate (*pars disseminata*) est située dans le tissu conjonctif péri-urétral compris entre le col vésical et les glandes bulbo-urétrales (58) (voir figure 10E).

Les glandes bulbo-urétrales sont bien développées. Sphéroïdes, leur diamètre est de 5 à 6 mm (6). Elles sont situées dorso-latéralement à la base du pénis. Entourées par le muscle bulbo-urétral, elles sont jointes par un tissu conjonctif (58).

1.2.1.4. Pénis

Le pénis est court (8 à 10 mm), cylindroïde, et dirigé caudalement, avec sa face urétrale en situation dorsale. Lors de l'érection il se redresse et se dirige ventralement (6). Le pénis est constitué d'une racine entourée de muscles ischio-caverneux, d'un corps et d'un gland recouvert d'un prépuce (58) (voir figure 9). Le gland est court et conique et relié au pénis par un frein. Sa surface est hérissée chez l'adulte de forte papilles à épithélium kératinisé et épais. Ces papilles dont le développement est hormono-dépendant, manquent toutefois au niveau de l'apex et du raphé du pénis (6) (voir figure 10).

Une coupe transversale réalisée au niveau de la base du pénis met en évidence l'urètre entouré du corps spongieux, avec de part et d'autre, les muscles bulbo-spongieux et les corps caverneux séparés d'un septum. Au niveau du gland, les corps spongieux du gland entourent l'urètre et l'os pénien, court (4 mm de long) et d'ossification tardive (58).

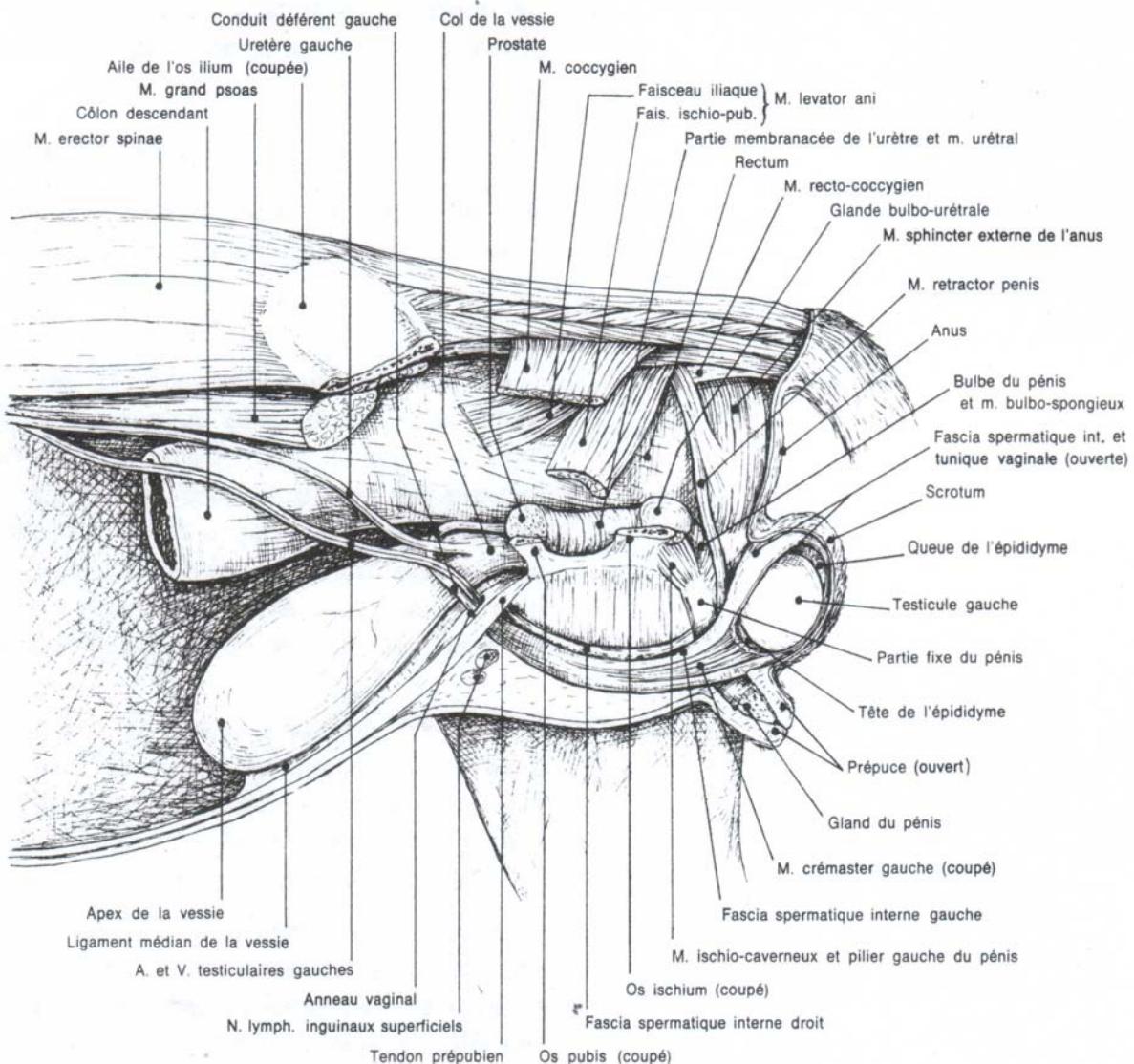


Figure 8: Appareil génital du chat mâle (vue latérale gauche, en place) (d'après Barone (6))

1.2.1.5. Innervation

L'innervation de l'appareil génital mâle est complexe.

Des fibres orthosympathiques, issues de la chaîne sympathique thoraco-lombaire et des plexus abdominaux, s'anastomosent au niveau du ganglion mésentérique caudal pour constituer le nerf hypogastrique (45).

Des fibres parasympathiques issues des racines médullaires sacrées S1, S2 et S3 constituent le nerf pelvien qui rejoint ensuite le nerf hypogastrique au niveau du ganglion pelvien pour former le plexus hypogastrique (45).

Des fibres somatiques issues de S1 et S2 et formant le nerf honteux interne innervent des fibres musculaires striées (muscles bulbo-caverneux, muscles ischio-caverneux, musculature périnéale) (58).

Au niveau périphérique, il est impossible de distinguer les trois innervations car les filets nerveux se rejoignent pour suivre les mêmes trajets et ne sont pas individualisables. Le plexus hypogastrique présente trois regroupements autour des organes génito-urinaires :

- un groupe crânial qui innerve la vessie et le début de l'urètre.
- un groupe moyen ou prostatique qui entoure la prostate.
- un groupe caudal avec des trajets vers le pénis et le rectum. Une des branches rectales s'anastomose au nerf honteux interne (58) (voir figure 10).

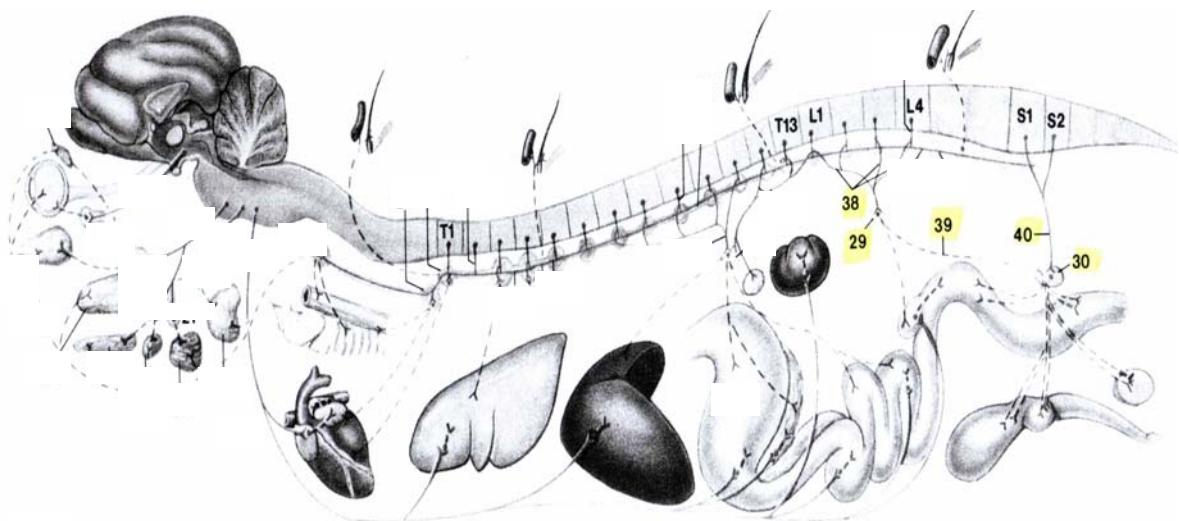


Figure 9: Schéma du système nerveux autonome du chat mâle (d'après Hudson (45))

- 29 ganglion mésentérique caudal
- 30 ganglion pelvien
- 38 nerfs splanchniques lombaires
- 39 nerf hypogastrique
- 40 nerf pelvien

1.2.2. Rappels de physiologie

La spermatogenèse correspond au processus complet de la transformation des cellules germinales en spermatozoïdes. Mitose et méiose surviennent successivement au cours de la spermatogenèse afin d'obtenir des spermatozoïdes haploïdes.

1.2.2.1. Erection

L'érection est le mécanisme de rigidification et d'allongement du pénis permettant son intromission dans les voies génitales femelles.

1.2.2.1.1. Mécanisme

L'érection est causée par une augmentation de la pression sanguine au sein des sinus caverneux du pénis. L'afflux sanguin est dû à la vasodilatation des artères commandées par une stimulation du système nerveux parasympathique. La congestion pénienne est accrue par la diminution du flux veineux due à la compression de la veine dorsale du pénis contre le bassin lorsque le muscle ischio-caverneux se contracte. La contraction des muscles ischio-caverneux comprime également

le sang dans les sinus caverneux ce qui facilite l'érection en augmentant la pression sanguine au sein des sinus caverneux (78). La présence de l'os pénien participe à la rigidification du pénis lors de l'érection.

1.2.2.1.2. Déterminisme

La stimulation du nerf honteux interne produit une vasodilatation et l'érection.

Les zones sensibles sont les organes génitaux et la région périgénitale d'une façon générale.

Les centres médullaires se situent entre S2 et S4 pour les fibres efférentes parasympathiques (dont les neurotransmetteurs sont l'acétylcholine et le VIP) et entre T13 et L3 pour les fibres orthosympathiques (vasomotrices, la diminution de leur activité permet la vasodilatation) (79).

La mise en jeu est essentiellement réflexe mais d'autres phénomènes peuvent intervenir, en particulier les structures nerveuses supérieures (99) (Figure 10).

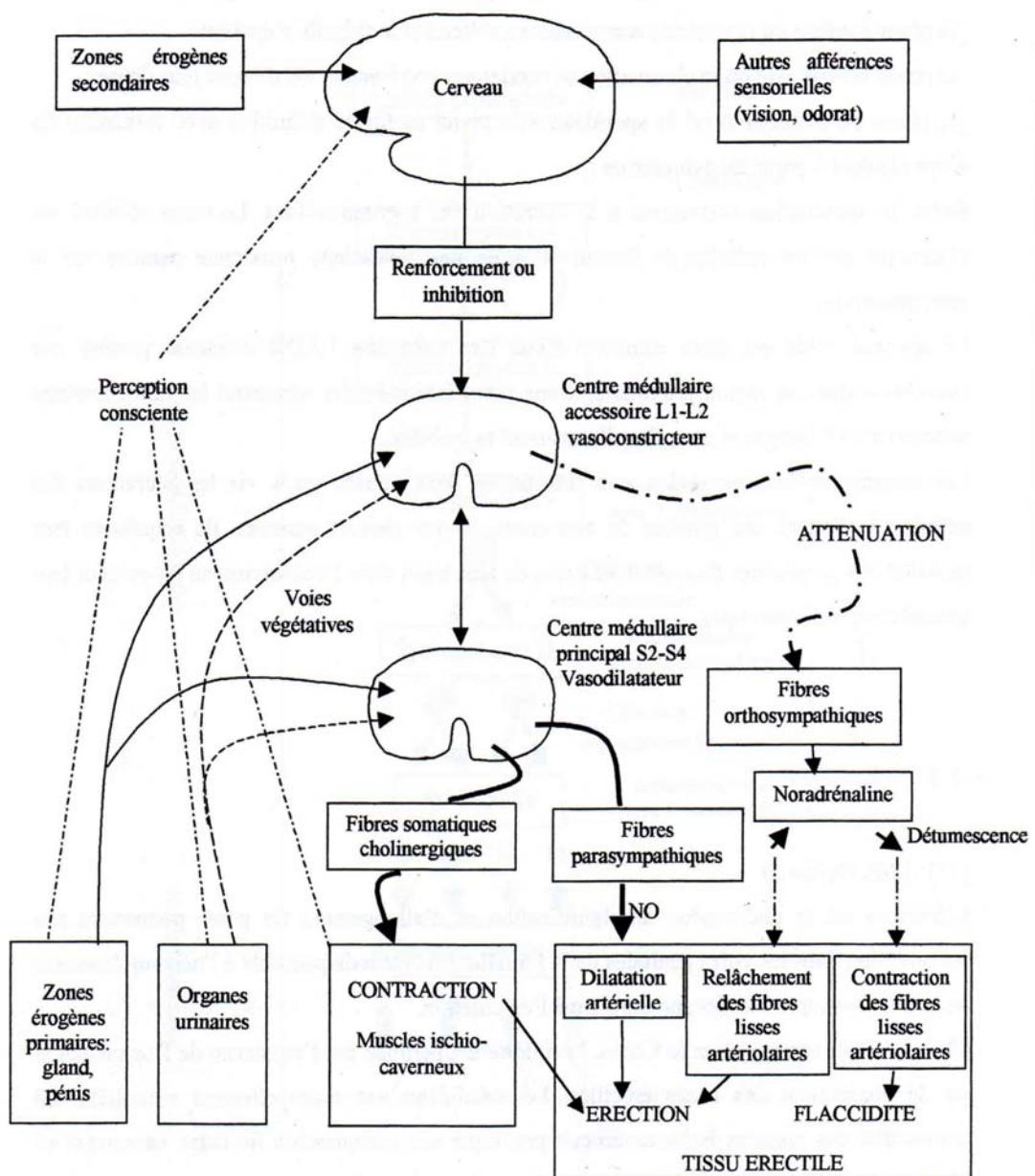


Figure 10 : Schéma simplifié du déterminisme de l'érection (d'après Lefrancois et Tiret (52))

1.2.2.2. Ejaculation

L'éjaculation est l'expulsion du sperme par des voies qui sont communes aux voies urinaires inférieures (urètre).

1.2.2.2.1. Mécanisme

Le sperme est mis sous pression dans la partie terminale des canaux déférents. Des vagues de mise sous pression se produisent d'abord, sans éjection, puis au paroxysme elles produisent l'éjection. Une contraction de la région vésico-sphinctérienne empêche le reflux dans la vessie. La mise sous pression concerne aussi l'épididyme (99). Ceci s'accompagne de nombreuses contractions spasmodiques des muscles squelettiques (de la hanche, de la paroi abdominale et des membres antérieurs et postérieurs) (79).

1.2.2.2.2. Déterminisme

Il s'agit là aussi d'un réflexe.

Les zones sensibles sont plus restreintes que pour l'érection. En principe, seule la région du gland est réflexogène. Les stimuli sont essentiellement mécaniques et thermiques.

Les centres médullaires de l'éjaculation sont pratiquement les mêmes que ceux de l'érection (segments L1 à S3 pour l'érection et L2 à S1 pour l'éjaculation) (79). Les centres nerveux supérieurs interviennent aussi. (99) (Figure 11).

L'éjaculation débute par la contraction des muscles lisses de l'épididyme et des conduits déférents ainsi que de la prostate (dont l'urètre prostatique constitue une « chambre » fermée à ses deux extrémité par des sphincters). Cela est dû à la stimulation des fibres sympathiques α -adrénergiques issues des segments T11 à L2 de la moelle épinière et innervant l'appareil génital mâle par l'intermédiaire du plexus hypogastrique (79). Les trains d'ondes péristaltiques du canal épидidymaire et du canal déférent conduisent les spermatozoïdes jusqu'à l'urètre prostatique en même temps que le liquide déférentiel. Ceci provoque la dilatation de la chambre prostatique. L'augmentation de la pression ouvre le sphincter strié qui est le plus faible. Les spermatozoïdes et le liquide séminal s'écoulent alors sous pression dans l'urètre membraneux puis pénien. L'éjaculation est sous la dépendance de la stimulation des fibres crâniales du plexus hypogastrique (58).

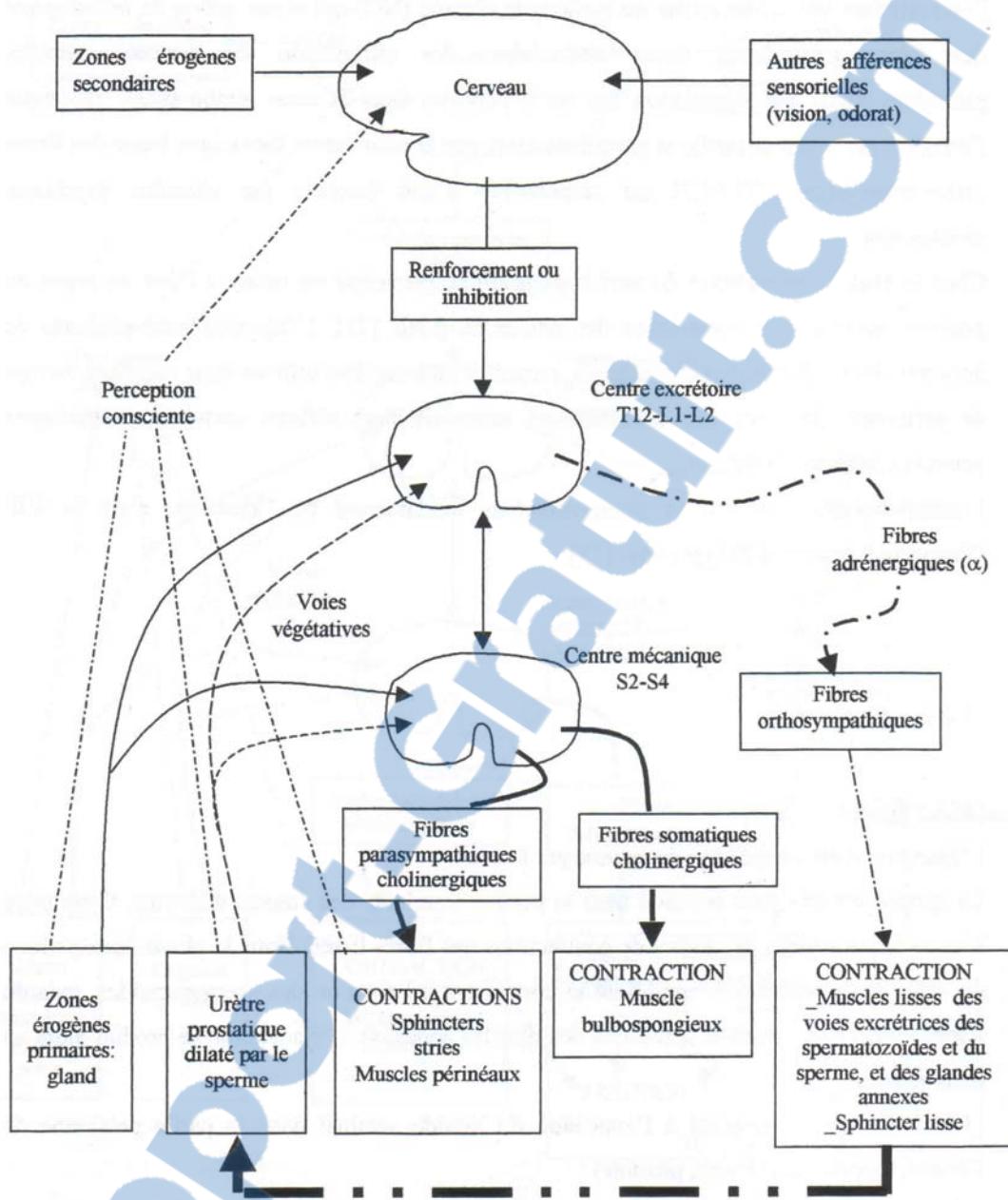


Figure 11 : Schéma simplifié du déterminisme de l'éjaculation (d'après Lefrancois et Tiret (52))

Si le nerf dorsal du pénis est lésé, l'éjaculation est impossible.

Lors de l'accouplement, les afférences tactiles stimulent les fibres nerveuses de manière simultanée et indistincte si bien que l'éjaculation survenant quelques secondes seulement après l'intromission, les mécanismes ne peuvent que se superposer (58).

Chez le chat, 15 à 90 % de l'éjaculation (moyenne de 46,8%) est rétrograde et le sperme part dans la vessie (46).

1.2.2.3. Puberté et saison sexuelle

Chez le chat mâle, la puberté est décrite soit comme le moment de la première spermatogenèse, soit comme l'âge auquel la première éjaculation est possible. Les premières divisions de la spermatogenèse sont observées vers 20 semaines mais les premiers spermatozoïdes n'apparaissent dans les tubes séminifères qu'à partir de la 30^{ème} à la 36^{ème} semaine. Tant que le poids cumulé des testicules est inférieur à 1 gramme, il n'y a aucun spermatozoïde (46) La puberté survient vers huit à dix mois chez les mâles, lorsque le poids corporel atteint 3 à 3,5 kg pour les chats de format moyen soit 75% du poids à l'âge adulte.

Contrairement aux femelles, les mâles sont fertiles toute l'année. Toutefois, on observe une baisse de leur libido lorsque les jours décroissent (septembre-octobre à janvier dans l'hémisphère nord). Cette baisse de la libido s'accompagne d'une variation du poids des testicules en corrélation avec une baisse de la testostérone circulante. La photopériode influence donc également l'activité sexuelle des chats mâles bien qu'elle ne l'interrompe pas comme c'est le cas chez la femelle (58).

On constate que la qualité du sperme est la même tout au long de l'année et qu'il n'y a aucune différence de concentration ou de motilité des spermatozoïdes en fonction des mois de l'année (95). Par contre, le nombre de spermatozoïdes epididymaires par éjaculats récoltés de juillet à décembre est significativement supérieur à celui des éjaculats récoltés de janvier à juin (48).

1.2.3. Techniques de récolte de la semence

Contrairement au chien chez qui les prélèvements de sperme sont faciles, les prélèvements de sperme chez le chat sont contraignants. Ils nécessitent un entraînement de quelques semaines ou une anesthésie générale.

1.2.3.1. Vagin artificiel

On peut utiliser un vagin artificiel pour prélever les chats mâles mais cette technique ne peut malheureusement pas être utilisée en routine en clientèle car elle nécessite un apprentissage. En effet, les mâles peuvent être prélevés par cette méthode après 2 à 3 semaines d'entraînement

selon Platz (73) ou Seager (84). De plus, il semble que seuls 3 chats sur 5 donnent un éjaculat satisfaisant à l'issue de cet apprentissage. Pour Sojka (93), 3 chats sur 5 peuvent être entraînés à éjaculer dans un vagin artificiel au bout de 7 à 10 jours s'ils ont une libido suffisante et un caractère malléable. Ces chats peuvent parfois être prélevés en l'absence de femelle en chaleurs. Cependant, en général, le succès de cette méthode de prélèvement dépend de la stimulation provoquée par la femelle en chaleurs.

Cette technique de prélèvement présente l'avantage de nécessiter seulement un manipulateur. De plus les animaux ne sont pas anesthésiés contrairement aux autres techniques de prélèvement (91).

Technique :

Le vagin artificiel est constitué d'un tube en verre préalablement réchauffé fixé à une poire pour pipette Pasteur de 2 mL coupée à son extrémité la plus large. Cette partie est placée en contact avec le pénis pour le prélèvement (74). Le même dispositif peut être utilisé en plaçant le tube de prélèvement dans une bouteille remplie d'eau à 52°C pour maintenir la température interne à 44-46°C (94).

Le vagin artificiel est construit avec des matériaux transparents afin de visualiser la semence (voir photo 8).

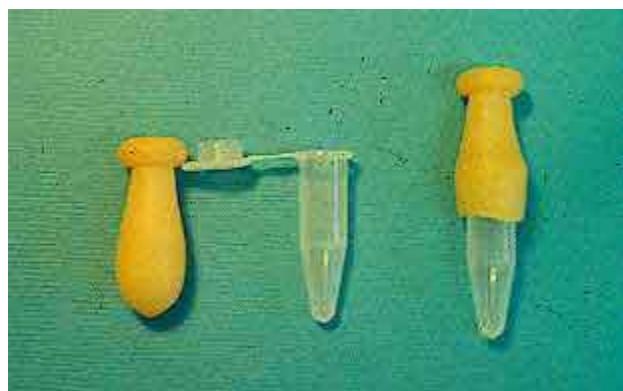


Photo 7 : Vagin artificiel (photo Axner et Linde-Forsberg (2))

Avant le prélèvement, le mâle est mis en contact visuel non limité avec une femelle en chaleurs pendant 15 minutes (20). Puis le mâle est mis en contact direct avec la femelle car le comportement de chevauchement est indispensable pour obtenir l'éjaculation. Une fois que le

mâle est sur la femelle, le pénis est dévié et placé dans le vagin artificiel pour l'éjaculation (92). Une stimulation de la région génitale entraîne l'éjaculation (74).

Les mâles peuvent être prélevés trois fois par semaine sans altération de la qualité de la semence (93).

1.2.3.2. Electroéjaculation

L'électroéjaculation est la technique de prélèvement la plus utilisée car elle ne nécessite pas d'apprentissage préalable. Elle est de ce fait réalisable sur tous les animaux en état d'être anesthésiés. Elle permet de réaliser des prélèvements en vue d'examen de qualité de la semence, en vue de conservation de la semence ou en vue d'insémination artificielle.

1.2.3.2.1. Anesthésie

Le principal inconvénient de l'électroéjaculation est l'anesthésie générale qui est indispensable pour le prélèvement. Toutefois, on peut signaler que les premières électroéjaculations étaient réalisées sur animal vigile comme le rapporte Scott (73).

Le blocage des récepteurs α -adrénergiques par l'atropine via les récepteurs muscariniques inhibe les contractions de l'urètre. Le glycopyrrolate inhibe la réponse de la vessie aux agents parasympathiques stimulants. Les parasympatholytiques (atropine, glycopyrrolate, scopolamine) provoquent un relâchement de la vessie qui peut entraîner sa vidange et donc une contamination urinaire du prélèvement (88). Les tranquillisants et les sédatifs (acépromazine, zolazépam, xylazine, pentobarbital), qui sont hypotenseurs, ne sont pas recommandés. L'utilisation de dose trop élevée de phénothiazines risque d'entraîner une contamination urinaire car ces molécules provoquent une augmentation de la production d'urine. Les myorelaxants comme les benzodiazépines et les dérivés thiazidiques peuvent entraîner la vidange vésicale par relâchement des sphincters (31). Enfin, les anesthésiques dissociatifs (kétamine par exemple) ne provoquent pas de relaxation musculaire (89). Ils peuvent être utilisés pour réaliser des électroéjaculations sans risque de contaminations urinaires (21).

Les capacités du chat à éjaculer ne sont pas modifiées par des anesthésies et des stimulations électriques répétées (72).

On peut également noter que la kétamine est l'anesthésique le plus fréquemment choisi pour les électroéjaculations. Les doses varient de 7 mg/kg après une prémédication par 2 mg/kg d'acépromazine (84) à 35 mg/kg sans prémédication (21). La dose la plus fréquemment rencontrée dans la littérature est de 30 mg/kg sans prémédication. Une dose de 30 mg/kg après prémédication au glycopyrrrolate 0,01 mg/kg est utilisée par Herron (40). Un mélange de xylazine 1 mg/kg et de kétamine 10 mg/kg en intramusculaire est également décrit par Johnstone (48).

1.2.3.2.2. Techniques de prélèvement

Lorsque le mâle est anesthésié, celui-ci est placé en décubitus latéral. Le pénis est extériorisé par une pression manuelle et un tube à prélèvement est placé à son extrémité afin de recueillir la semence (73). Un sondage urétral à l'aide d'une sonde urinaire peut également être réalisé sur 5 cm (caudalement au *colliculus seminalis*, c'est-à-dire à l'abouchement des conduits déférents dans l'urètre) afin de faciliter le prélèvement. Une seringue à insuline dont le piston a été retiré est fixée à l'extrémité de la sonde urinaire et la semence monte dans le corps de la seringue par capillarité (40).

Une sonde rectale est alors introduite dans le rectum sur environ 6 cm (Dooley (20), Herron (40) et Seager (84)) à 9 cm (Johnstone (48) ou Platz (74)). Cette sonde lubrifiée avant l'insertion est retirée, nettoyée et remise en place. Ceci permet d'améliorer le contact avec le rectum en éliminant les matières fécales qui pourraient gêner la propagation des ondes électriques.



Photo 8 : Sonde rectale d'électroéjaculation (photo d'E. Malandain)

Il s'agit d'une sonde rectale de 1 cm de diamètre et de 12 cm de long, portant de 3 à 5 électrodes mesurant 5 cm de long. La nature des électrodes est variable selon les électroéjaculateurs. Les électrodes doivent être placées ventralement (72).

L'électroéjaculateur est constitué d'un générateur ajustable qui permet le contrôle précis du stimulus électrique appliqué à l'animal (19). Le voltage utilisé pendant l'électroéjaculation varie de 2 à 6V. En effet, un voltage de 1V est trop faible pour entraîner une éjaculation satisfaisante et un voltage de 8V entraîne une contamination urinaire (71). Ce voltage correspond à un ampérage variant de 5 à 220 mA.

Un « électroéjaculat » est défini dans la plupart des expériences comme étant le résultat de 60 stimulations électriques. Quatre séries de 60 stimulations sont réalisées avec 5 minutes de repos entre chaque série. Chaque stimulation dure 1,5 à 2s (temps nécessaire pour passer de 0V au voltage souhaité puis revenir à 0V) avec un intervalle de 3s entre chaque stimulation (20). Seager a constaté qu'une stimulation d'intensité croissante donnait de meilleurs résultats qu'une stimulation de type on/off (84).

Herron (40) pour sa part, définit l'éjaculat comme étant le résultat d'une série de stimulations provoquant l'extension des postérieurs et la flexion des doigts. La première série de stimulations dure 4 minutes et nécessite un voltage qui varie de 5 à 10V selon les individus. La 2^{ème} série de stimulations est réalisée en augmentant ce voltage minimum de 1V, la 3^{ème} en augmentant le voltage minimal de 2V. Entre chaque série, l'animal est laissé au repos pendant 5 minutes. Chaque stimulation dure 2 secondes avec une pause de 2 secondes entre stimulation. Herron a constaté que la réponse à la stimulation diminuait durant la 2^{ème} moitié de chaque série (40).

Une méthode un peu différente est également décrite par Johnstone (48). Le voltage est augmenté jusqu'à l'extension des postérieurs et la protrusion des griffes (ce qui correspond à un voltage compris entre 2 et 3V), maintenu pendant 3 secondes puis rapidement ramené à 0V. Une pause de 3 secondes est marquée avant de répéter l'opération. Une dizaine de stimulations sont ainsi réalisées, puis l'opérateur applique le voltage nécessaire à l'extension des postérieurs et la protrusion des griffes et le maintient tout en réalisant 3 fois un mouvement de va et vient dans le rectum. Le voltage est alors ramené à 0V. Après une période de repos de 10 minutes, la procédure est recommandée de 4 à 9 fois. La méthode utilisée à l'Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort est fortement inspirée de cette technique (76).

Une stimulation électrique de 6V produit un éjaculat de qualité comparable à celui obtenu à l'aide d'un vagin artificiel (20). Toutefois, le volume de l'éjaculat est plus important lors d'électroéjaculation, probablement à cause d'une stimulation plus importante des glandes accessoires (20). On constate également que lors d'une série de plusieurs électroéjaculations, le deuxième éjaculat est de qualité supérieure (nombre de spermatozoïdes plus important) aux autres éjaculats (71) (72).

1.2.3.2.3. Ejaculation rétrograde

L'éjaculation rétrograde semble être une composante de l'éjaculation chez le chat. En effet, lors d'accouplement naturel ou de prélèvement de semence par vagin artificiel, des spermatozoïdes peuvent être retrouvés dans l'urine alors que celle-ci n'en contenait pas avant l'éjaculation (21). Dooley et al. ont montré que la xylazine qui est un alpha agoniste, provoque un flux rétrograde de spermatozoïdes même en absence de stimulation sexuelle .Par contre, la kétamine ne joue aucun rôle sur l'éjaculation rétrograde (21).

1.2.3.3. Dissection de l'épididyme

L'épididyme assure la maturation des spermatozoïdes (capacitation rendue possible, condensation de la chromatine) et le stockage de ceux-ci. La capacité des spermatozoïdes à se lier avec la membrane pellucide est acquise au cours du transit dans l'épididyme (34). D'après Axner (3) si l'on divise l'épididyme en 6 régions, les transformations les plus nombreuses et les plus importantes subies par les spermatozoïdes ont lieu dans la 4^{ème} région.

La dissection de l'épididyme permet de récolter les spermatozoïdes épидidymaires. Le meilleur moment pour récupérer les spermatozoïdes épидidymaires se situe dans les 2 heures après la castration car le potentiel de fécondation est diminué lors d'une longue conservation (34). Lorsque l'on récolte les spermatozoïdes épидidymaires, il ne faut récolter que les spermatozoïdes contenus dans la queue afin qu'ils soient matures (76).

Technique de prélèvement :

Différentes techniques peuvent être adoptées pour récupérer les spermatozoïdes épididymaires. Niwa réalise une castration après anesthésie au dropéridol (0,1 mg/kg) et à la kétamine (20 mg/kg). Après dissection de la queue de l'épididyme et du canal déférent, il place ceux-ci dans une boîte de Pétri contenant un milieu de culture à incubation à 37°C. Les épididymes sont ensuite flushés avec 0,15 à 0,20 mL de ce milieu afin de récolter les spermatozoïdes (66). Hingst, en utilisant une méthode comparable, a obtenu une mobilité de 60% (76).

Une autre technique consiste à disséquer l'épididyme, à l'inciser en plusieurs pièces de 2 mm et à les laisser incuber à 38°C dans un milieu contenant de la sérum albumine bovine pendant 30 minutes (34) (9) (76). Le prélèvement est ensuite centrifugé à 300G et le surnageant est écarté.

1.2.4. Analyse de la semence

La réalisation d'un spermogramme permet d'évaluer la qualité de la semence. Cet examen est réalisé afin de diagnostiquer les causes d'infertilité mais aussi afin de s'assurer avant une insémination que la semence prélevée et destinée à être inséminée est de qualité convenable. Un spermogramme est également réalisé avant et après chaque congélation de semence.

1.2.4.1. Etude macroscopique : volume et couleur de la semence

L'aspect macroscopique de l'éjaculat est important à considérer. La couleur normale de la semence est blanchâtre. Une coloration jaunâtre signe une contamination urinaire, une coloration rosée indique une contamination sanguine.

Le volume de l'éjaculat qui dépend de la technique de prélèvement (20) est faible. Il est compris entre 0,03 mL et 0,09 mL en utilisant un vagin artificiel et 0,09 et 0,54 mL lors de prélèvement par électroéjaculation. Il est intéressant de noter que le volume augmente avec le voltage utilisé (20).

1.2.4.2. Caractères physico-chimiques de la semence

L'osmolarité de la semence est comprise entre 320 et 343,5 mOsm/kg selon Glover et Watson (32). Elle apparaît avoir une grande importance sur la qualité de semence car une baisse de cette osmolarité est associée à une baisse de la mobilité des spermatozoïdes (32).

Le pH moyen du plasma séminal est de 6,6 selon Johnston. Sa densité est de 1,007 environ. Les fractions testiculaires et épидidymaires de la semence sont riches en phosphatases alcalines dont la concentration moyenne est de 160 000 UI/L (47).

1.2.4.3. Etude microscopique

1.2.4.3.1. Mobilité

Il s'agit de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans le prélèvement. Cet examen est dynamique et doit être réalisé sur un microscope avec une platine chauffante, à 37°C (76).

Au faible grossissement, le sperme de bonne qualité a un aspect tourbillonnant évoluant par vagues (76).

Une bonne corrélation a été démontrée entre la morphologie et les mouvements des spermatozoïdes.

La mobilité normale de la semence du chat est de 60 à 95%, que le prélèvement soit fait par électroéjaculation ou par vagin artificiel (84), c'est-à-dire que 60 à 95% des spermatozoïdes sont fléchants et traversent rapidement le champ du microscope.

1.2.4.3.2. Nombre de spermatozoïdes

- Numération moyenne :

Le nombre de spermatozoïdes par éjaculat dépend de la technique de prélèvement. Il dépend également du voltage, du nombre de stimuli électriques et de la séquence d'électroéjaculation (20). Lors d'électroéjaculation, le nombre moyen de spermatozoïdes par « électroéjaculat » (c'est-à-dire par série de 60 stimulations) est compris entre $0,13 \times 10^6$ et $12,62 \times 10^6$ selon Pineda et al (72), entre $0,32 \times 10^6$ et $49,6 \times 10^6$ selon Herron (40). Avec un vagin artificiel, le nombre moyen de spermatozoïdes est de $56,5 \times 10^6$ (92).

- Evaluation de la concentration :

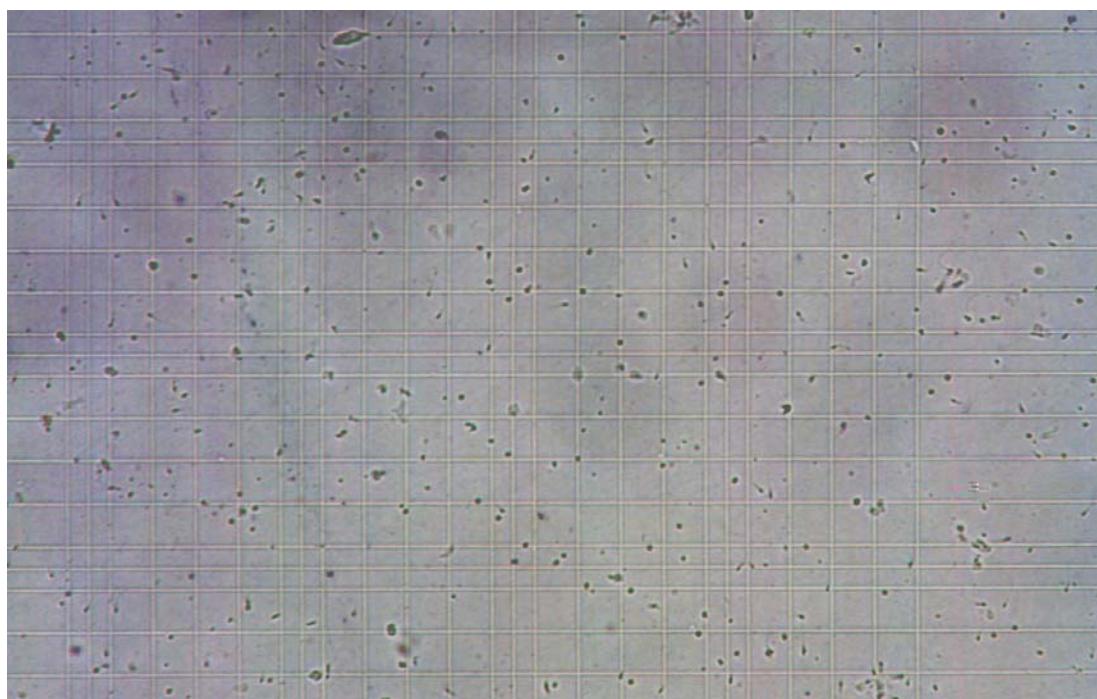
Pour évaluer la concentration en spermatozoïdes dans un éjaculat, on utilise une cellule de Thoma (Photo 8) sur laquelle on place une quantité calibrée de semence diluée dans du NaCl à 30%, le plus souvent au 1/10^{ème}.

Le comptage s'effectue sur 5 grands carreaux de la grille en choisissant, par convention, de compter uniquement les spermatozoïdes situés à l'intérieur du carreau et sur deux de ses côtés (toujours les mêmes). Le nombre de spermatozoïdes obtenu est alors divisé par le volume de ces cinq grands carreaux ($N \times 1/250 \text{ mm}^3 \times 5$) et est ensuite multiplié par la dilution de départ ($\times 10$). On obtient alors le nombre de spermatozoïdes par mL.

Concentration finale = $N \times \text{dilution} \times 50 \times 1000 \text{ spermatozoïdes /mL}$.

Pour obtenir le nombre de spermatozoïdes total de l'éjaculat, il suffit de multiplier par le volume prélevé.

Photo 9 : Grille de la cellule de Thoma vue au microscope grossissement 40



1.2.4.3.3. Vitalité des spermatozoïdes

La différenciation des spermatozoïdes vivants et des spermatozoïdes morts se fait grâce à une coloration vitale à l'éosine-nigrosine (67). En effet, les spermatozoïdes morts ont une membrane qui devient perméable au colorant, ils apparaissent alors rosés tandis que les spermatozoïdes vivants, dont la membrane est imperméable, apparaissent incolores (11). Cet examen est souvent abandonné car peu prédictif.

1.2.4.3.4. Morphologie des spermatozoïdes

Le spermatozoïde est le gamète mâle fécond. Il est constitué de trois parties distinctes d'un point de vue morphologique et fonctionnel (voir figure 14):

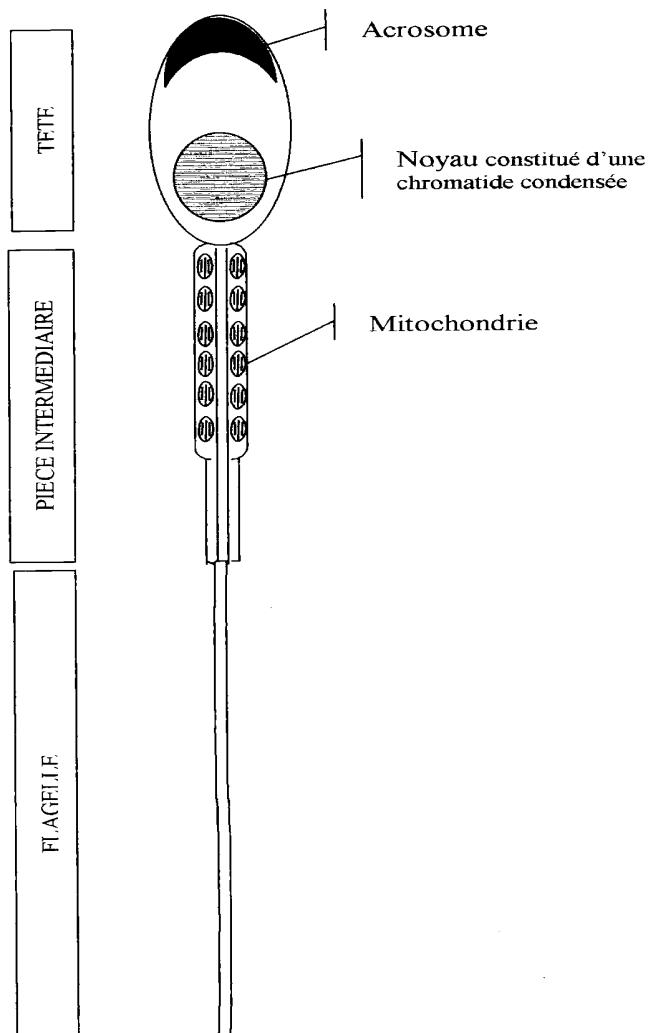
- la tête, allongée et ovale, comporte deux plans de symétries (longitudinal et latéral). Elle contient de la chromatine condensée. Cette condensation lui confère sa résistance aux altérations.

Le cytoplasme est recouvert d'un acrosome.

- la partie intermédiaire contient des microtubules et des mitochondries qui assurent la fabrication de l'ATP nécessaire à la survie, au déplacement et à la fonction de fécondation du spermatozoïde.

- le flagelle est composé de microtubules permettant son ondulation et ainsi le déplacement du spermatozoïde et l'accomplissement de la fécondation (76).

Figure 12: Schématisation d'un spermatozoïde



1.2.4.3.5. Anomalies : le spermocytogramme

La classification des spermatozoïdes se fait par un examen microscopique au fort grossissement après coloration à l'éosine-nigrosine le plus souvent mais aussi à l'aniline bleue ou au SpermacND.

On classe alors les spermatozoïdes dans les catégories suivantes (67) identiques à celles de la classification OMS chez l'homme (27):

- normaux
- anomalies de la tête (malposition, tête piriforme, étroite ou allongée, microcéphalie ou macrocéphalie, tête double, acrosome anormal)

- décapités
- anomalie de la pièce intermédiaire (coudée, double, inexistante)
- anomalie du flagelle (enroulé, double, inexistant)
- gouttelette protoplasmique (proximale, distale)
- présence de cellules autres (cristaux de spermine, cellules épithéliales, leucocytes, érythrocytes, cellules spermogéniques).

La présence de cellules autres que les spermatozoïdes dans l'éjaculat amène à suspecter un problème infectieux ou métabolique.

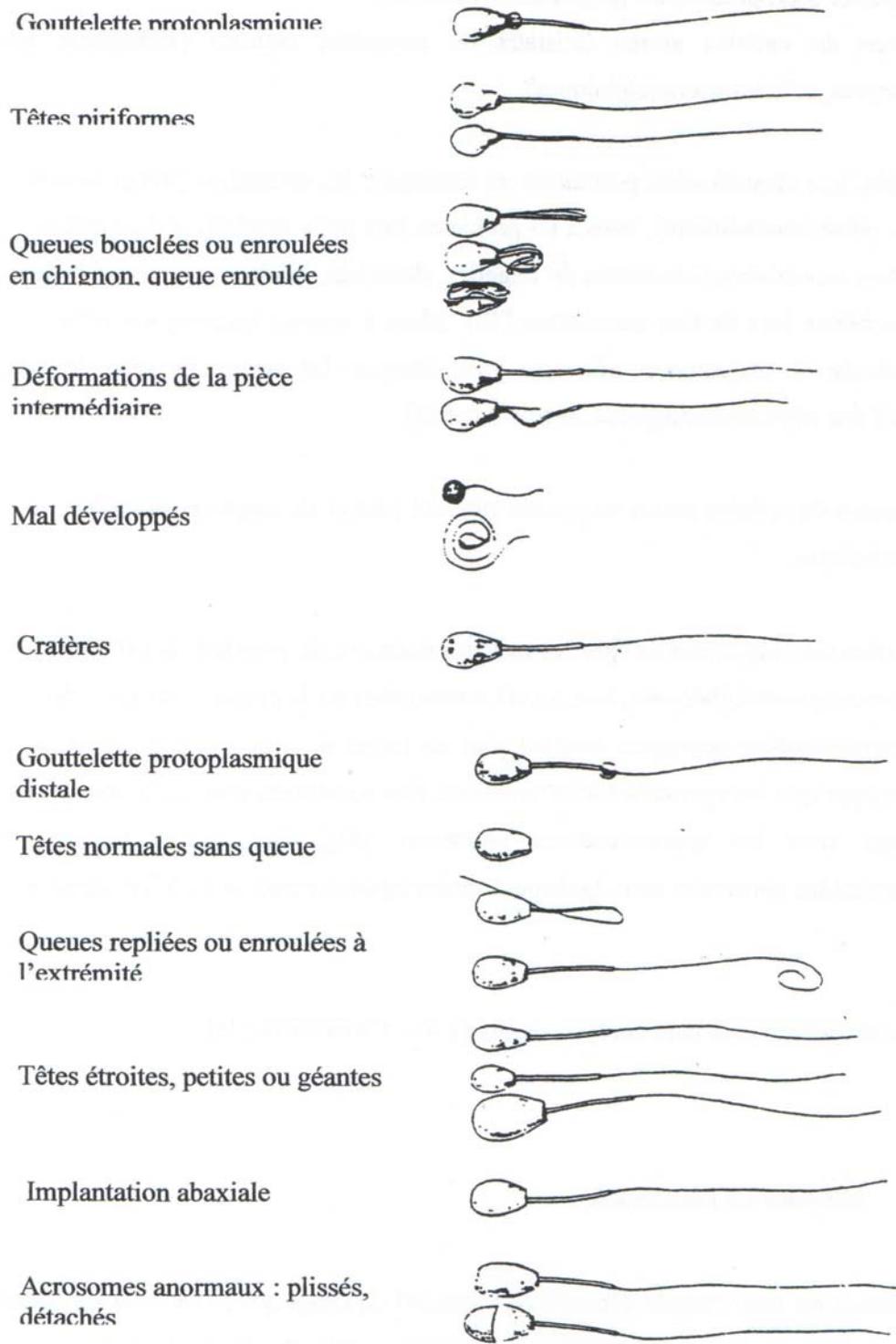


Figure 13 : Anomalies des spermatozoïdes chez le taureau (d'après OTT (67))

Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux est très élevé chez le chat. Il varie entre 25,5% et 86% (1).

Tableau II: Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par vagin artificiel relevées dans la littérature (d'après Posière (76))

Auteur	Sojka (94)	Seager (84)	Platz (74)	Dooley (20)	Pope (75)
Mobilité (%)	78	60 à 95	82,5	58	
Volume (mL)	0,04	0,02 à 0,12	0,04	0,06	0,38
Concentration ($10^8/\text{mL}$)	17,3				5,41
Nombre de spermatozoïdes par éjaculat	57×10^6	15 à 130×10^6	$60,7 \times 10^6$	$60,97 \times 10^6$	
Spermatozoïdes normaux (%)					
Viabilité (%)				67	90,1
Acrosomes normaux (%)					80 à 96
pH	7,4			8,32	

Tableau III : Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par électroéjaculation relevées dans la littérature (d'après Posière (76))

Auteur	Seager (84)	Platz (74)	Dooley ((20)	Herron ((40)	Long (62)
Mobilité (%)	60 à 95	60	65		82,1
Volume (mL)	0,1 à 0,5	0,233	0,26	0,019 à 0,284	0,245
Concentration ($10^8/\text{mL}$)					$22,3 \times 10^6$
Nombre de spermatozoïdes par éjaculat	15 à 28×10^6 130×10^6		$42,7 \times 10^6$	0,32 à $49,6 \times 10^6$	
Spermatozoïdes normaux (%)					77,7
Viabilité (%)			73		
Acrosomes normaux (%)					
pH			8,61		

Tableau IV : Caractéristiques moyennes de la semence de chats prélevée par dissection de l'épididyme relevées dans la littérature (d'après Posière (76))

Auteur	Goodrowe (34)	Spindler (95)
Mobilité (%)	51,9	57,3
Volume (mL)		
Concentration (108/mL)	80,3×10 ⁶	
Nombre de spermatozoïdes par ejaculat		5,4×10 ⁶ /g d'épididyme
Spermatozoïdes normaux (%)	51	25,4
Viabilité (%)		77,4
Acrosomes normaux (%)		92,5
pH		

1.2.4.4. Tests fonctionnels

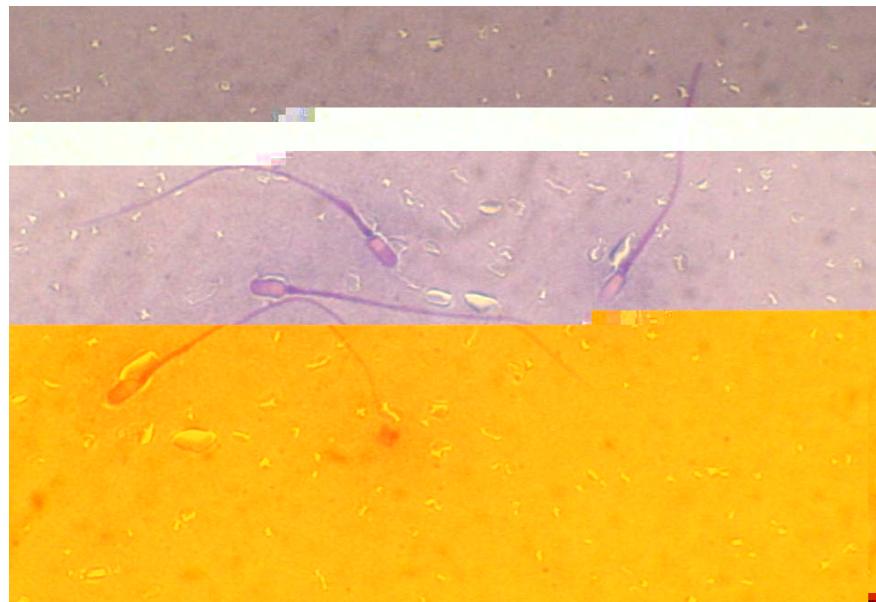
1.2.4.4.1. Intégrité de l'acrosome

L'acrosome est une vésicule dérivant de l'appareil de Golgi qui coiffe le spermatozoïde (17). Il doit rester intact pour permettre au spermatozoïde de rester fécondant. La capacitation qui a lieu dans les voies génitales de la femelle, permet les flux de Ca²⁺ nécessaires à la réaction acrosomique. La réaction acrosomique est nécessaire à la pénétration du spermatozoïde dans la zone pellucide et à sa fusion avec l'ovocyte. Elle se produit au stade terminal de migration des spermatozoïdes vers le lieu de fécondation après la capacitation (17).

L'observation de l'acrosome chez le chat nécessite l'utilisation d'un colorant spécial contenant notamment du fast green et du rose bengal. L'acrosome apparaît alors bleu-violacé et la région post-acrosomale rose pâle. Les spermatozoïdes qui ont réalisé la réaction acrosomique sont à peine colorés en rose clair sur la partie antérieure de la tête alors que la partie postérieure est colorée en rose plus intense (75).

La coloration avec le SpermacND (Stain Enterprises, Afrique du Sud ; distribution : Fertility Technologies, Natik, MA, USA) fait apparaître l'acrosome en vert et la tête du spermatozoïde en rouge (81).

Photo 10 : Spermatozoïdes de chat avec leur acrosome intact (l'acrosome apparaît bleu-violacé, la région post-acrosomale apparaît rose pâle). Celui de droite a réalisé la réaction acrosomique (grossissement $\times 400$, coloration Fast-green et rose Bengal)



1.2.4.4.2. Condensation de la chromatine

La compétence des spermatozoïdes met en jeu une bonne condensation de la chromatine pendant la spermiogenèse, sa bonne stabilisation pendant la maturation épididymaire et une décondensation rapide après la fusion avec l'ovocyte. La stabilisation de la chromatine est obtenue par l'interaction de protamine avec l'ADN. Ces protamines, riches en arginine et en cystéine, prennent la place des histones riches en lysine lors de la spermiogenèse. La condensation est stabilisée par l'oxydation des protamines et la formation de ponts dissulfures lors de la maturation dans l'épididyme (41).

La coloration bleue à l'aniline acidique, présentée par Terquem et Dadoune (1983) permet la détection de la chromatine incomplètement condensée, c'est-à-dire la chromatine riche en histones. Elle est visualisée par une coloration bleue de la tête des spermatozoïdes lors de l'examen microscopique. L'intégrité et la résistance de l'ADN peuvent être détectées par le test microscopique à l'acridine orange qui permet de différencier les spermatozoïdes avec un double brin d'ADN intact de ceux avec un ADN dénaturé (41).

L'évaluation de la condensation de la chromatine permet d'apprécier la qualité de la semence et d'évaluer la spermatogenèse et la maturation dans l'épididyme, souvent défectueuses chez le chat (76).

1.2.4.4.3. Hemizona test

L'hémizona test évalue la capacité de fixation des spermatozoïdes à la zone pellucide des oocytes. Ce test est un test fonctionnel permettant de prédire le potentiel fécondant des spermatozoïdes. Il est actuellement utilisé chez l'homme (30) et chez le chien (63).

1.2.4.4.4. Pénétration de la zone pellucide

La capacité du spermatozoïde de pénétrer la zone pellucide peut être étudiée sur des oocytes de chatte ou sur des oocytes de hamster sans zone pellucide (qui est une barrière d'espèce) (42). Ce test est un filtre efficace pour les spermatozoïdes anormaux (44).

1.2.4.4.5. Fécondation *in vitro*

La fécondation *in vitro* est également un bon moyen d'évaluer la qualité du sperme d'un animal car cet examen combine l'adhésion à la zone pellucide et la pénétration dans l'oocyte. Par contre, il ne renseigne pas sur la mobilité des spermatozoïdes. Cet examen est déjà réalisé dans de nombreuses espèces y compris chez le chat (54).

1.2.4.5. Anomalies de la semence

La semence peut présenter diverses anomalies (76):

- absence totale de spermatozoïdes : azoospermie
- absence de sperme : aspermie
- faible quantité de spermatozoïdes : oligozoospermie
- faible quantité de semence : oligospermie
- fortes spermatozoïdes anormaux : tératospermie
- manque de mobilité des spermatozoïdes : asthénospermie

1.3. Techniques d'insémination artificielle chez la chatte

Différentes techniques d'insémination artificielle ont déjà été décrites chez la chatte mais aucune n'est actuellement utilisable en clientèle comme c'est le cas pour la chienne. En effet, toutes les méthodes actuelles nécessitent une anesthésie de la femelle et font intervenir des protocoles difficiles à proposer en clientèle.

1.3.1. Insémination artificielle intra-vaginale chez la chatte

Peu de publications présentent des techniques d'insémination artificielle intra-vaginale. Sojka et al (94) et Tanaka et al (97) rapportent des inséminations artificielles intra-vaginales avec utilisation de semence fraîche prélevée en faisant éjaculer les mâles dans un vagin artificiel alors que Platz et al (74) rapportent des inséminations artificielles intra-vaginales avec utilisation de semence congelée prélevée par électroéjaculation ou à l'aide d'un vagin artificiel.

1.3.1.1. Déclenchement de l'ovulation

Sojka et al (94) stimulent des chattes en oestrus naturel. L'œstrus est jugé par le comportement et par l'obtention de frottis vaginaux caractéristiques d'œstrus. La stimulation est réalisée en injectant 50 UI de hCG en intra-musculaire.

Tanaka et al (97) induisent l'ovulation par administration dans la veine jugulaire de 250 UI ou de deux fois 100 UI de hCG les 2^{ème} et 4^{ème} jours de l'œstrus. Lors de l'administration de 2 fois 100 UI, l'intervalle entre deux injections est de 24 heures.

Dans l'étude de Platz et al (74), l'ovulation est provoquée par des saillies par des mâles vasectomisés ou par injections de 250-500 UI de hCG les premier et deuxième jours de l'œstrus qui est soit naturel, soit induit par des gonadotropines.

1.3.1.2. Matériel utilisé

Toutes les publications relatant des inséminations artificielles chez la chatte font mention d'anesthésie des femelles. Cette anesthésie est légère et est réalisée à l'aide de pentobarbital (94) ou de kétamine (5mg/kg) avec un relais à l'halothane (97) ou enfin de kétamine seule (6 mg/kg) (74).

Sojka et al (94) utilisent comme sonde d'insémination une aiguille de 20 G de 9 cm de long avec une pièce arrondie en argent soudée à son extrémité. Cette aiguille modifiée est attachée à une seringue de 0,25 cc. L'insémination est, dans cette étude, réalisée au moment de l'injection de hCG sans anesthésie. Le contrôle de l'ovulation est réalisé par laparoscopie 24-28 heures après l'injection de hCG.

Tanaka et al (97) anesthésient les femelles pour réaliser l'insémination 15, 20 ou 30 heures après l'injection de hCG. Ils utilisent une sonde résistante de 9 cm de long et de 2 mm de diamètre pour dilater le vagin. Puis, une sonde de nylon de 9 cm de long et 1,5 cm de diamètre (utilisée pour l'administration intra-gastrique de médicaments aux rats) est connectée à une seringue de 1 ml et introduite sur 3 à 4 cm dans le vagin avant d'injecter la semence. Après l'insémination, la femelle est maintenue avec la région périnéale surélevée pendant une quinzaine de minutes.

Platz et al (74) placent la chatte anesthésiée en décubitus dorsal avec la région périnéale surélevée. Ils utilisent de la semence congelée qu'ils inséminent à l'aide d'une aiguille de lavage de 20 G de 9 cm de long montée sur une seringue à tuberculine de 1 ml. La semence est injectée après 20 minutes de décongélation et 5 minutes de centrifugation. L'insémination est réalisée les deuxième et troisième jours de l'œstrus. Après l'insémination, la femelle est maintenue avec la région périnéale surélevée pendant une vingtaine de minutes.

1.3.1.3. Lieu d'insémination

Comme nous l'avons vu précédemment, l'anatomie du vagin de la chatte est très différente de celle de la chienne ce qui va avoir des conséquences pour l'insémination. En effet, il sera très difficile de réaliser une insémination intra-vaginale à proximité du col car le vagin antérieur a un diamètre de 1 mm seulement. Platz et al (74) réalisent leur insémination au niveau du vagin antérieur. Etant donné la longueur du vagin postérieur (25 mm), on peut considérer que lorsque la sonde d'insémination pénètre sur 3 à 4 cm comme c'est le cas dans l'étude de Tanaka et al (97), l'insémination a lieu à proximité du col utérin. Toutefois, Sojka et al (94) réalisent des inséminations dans le vagin antérieur ou dans le vagin postérieur.

1.3.1.4. Doses inséminantes

Les doses inséminantes recommandées en semence fraîche sont variables d'un auteur à l'autre. En effet, Sojka et al (94) recommandent 5×10^6 à 50×10^6 spermatozoïdes deux fois à 24 heures

d'intervalle mais indiquent que des doses de $1,25 \times 10^6$ spermatozoïdes peuvent être suffisantes chez une chatte sur quatre. Tanaka et al (97) inséminent avec des doses de 20×10^6 , 40×10^6 et 80×10^6 spermatozoïdes. . Enfin, Platz et al (74) utilisent des doses de semence congelée de 50×10^6 et 100×10^6 spermatozoïdes mobiles après décongélation deux fois à 24 heures d'intervalle

1.3.1.5. Résultats

L'analyse des résultats de Sojka et al (94) (tableau V) montre qu'une dose de 5 à 50×10^6 spermatozoïdes donnent de bons résultats. Sur un total de 30 chattes inséminées une fois, ils ont obtenu 15 gestations (soit 50% de réussites) alors qu'en renouvelant l'insémination au bout de 24 heures en utilisant à chaque fois 5×10^6 spermatozoïdes ils ont obtenu 6 gestations sur 8 chattes inséminées (soit un taux de réussite de 75%).

Tableau V : Résultats obtenus par Sojka et al (94) avec différentes doses inséminantes de semence fraîche lors d'inséminations intra-vaginales chez la chatte.

Nombre de spermatozoïdes inséminés	Nombre de chattes inséminées	Nombres de chattes gestantes	Nombre de chatons par portée
$0,5 \times 10^6$	3	0	-
$1,25 \times 10^6$	3	1	3
5×10^6	7	3	4
10×10^6	7	4	3
25×10^6	6	3	2
50×10^6	6	4	2

Les résultats obtenus par Tanaka et al (97), également avec de la semence fraîche, sont complètement différents. En effet, avec une dose de 20×10^6 spermatozoïdes ils obtiennent un taux de 6,6% de réussite, avec 40×10^6 spermatozoïdes ils obtiennent un taux de 33,3% de réussite et avec 80×10^6 spermatozoïdes ils obtiennent un taux de 77,8% de réussite. Les résultats sont présentés dans le Tableau VI.

Tableau VI : Résultats obtenus par Tanaka et al (97) avec différentes doses inséminantes de semence fraîche lors d'inséminations intra-vaginales chez la chatte.

Nombre de spermatozoïdes inséminés	Nombre de chattes inséminées	Nombres de chattes gestantes	Nombre moyen de chatons par portée
20×10^6	16	1	4
40×10^6	18	6	4,4 +/- 0,4
80×10^6	9	7	3,3 +/- 0,5

Enfin, Platz et al (74) obtiennent un taux de réussite de 10,6% (6 gestations sur 56 inséminations) pour des doses de 50×10^6 et 100×10^6 spermatozoïdes. Toutefois, il ne faut pas oublier qu'il s'agit là de semence préalablement congelée.

1.3.2. Insémination artificielle intra-utérine chez la chatte

Comme l'insémination artificielle intra-vaginale, l'insémination artificielle intra-utérine est peu étudiée chez la chatte. Différentes méthodes sont cependant décrites.

1.3.2.1. Voies d'abord

1.3.2.1.1. Par cathétérisation du col utérin

L'insémination intra-utérine nécessite actuellement une intervention chirurgicale qui est difficilement applicable en clientèle. C'est pourquoi, Chatdarong et al (15) ont mis au point une technique de cathétérisation du col utérin durant l'œstrus. Cette technique n'a pas encore été utilisée pour l'insémination artificielle en routine chez la chatte.

Les chattes sont prémédiquées avec 0,04 mg/kg d'atropine et anesthésiées avec 3 mg/kg de xylazine et 10 mg/kg de kétamine. Elles sont placées en décubitus latéral. Un cathéter vaginal est fabriqué à l'aide d'une sonde urinaire en polypropylène de 2,8 mm de diamètre dont l'extrémité est fermée par chauffage. Une nouvelle ouverture est réalisée à 8 mm de l'extrémité de la sonde. Une sonde urinaire à chat de 3,5 French de 140 mm de long et de 1 mm de diamètre est utilisée pour cathétérer l'intérieur du col. La nouvelle ouverture dans le cathéter vaginal est dirigée de telle sorte que le cathéter intérieur arrive directement face à l'ouverture du col. Lorsque le col utérin a effectivement été passé, l'extrémité de la sonde est palpable dans la corne utérine.

Cette technique a permis de réaliser une cathétérisation du col utérin chez 13 des 17 chattes inclus dans l'étude. Chez 2 chattes, le vagin a été accidentellement perforé. Malgré le risque de perforation vaginale, cette technique semble intéressante non seulement pour la reproduction assistée mais aussi pour des traitements médicaux d'infections utérines.

Une technique de cathétérisme du col utérin a également été décrite chez le chat par Swanson et Godke (96) qui utilisent un matériel voisin de celui utilisé par Chatdarong et al (15) (voir Figure 14). Un spéculum vaginal est fabriqué à partir d'une sonde urinaire en polypropylène de 8 Fr. dont l'extrémité est coupée à 80 mm. Par un chauffage doux de la section, le plastique est modelé à la forme voulue. Le plastique modelé est taillé à l'aide d'une lame de scalpel et lissé à l'aide d'un papier de verre à grain fin afin d'obtenir une extrémité non vulnérante. Une ouverture distale est ménagée à 3 mm de l'extrémité. Le diamètre externe du spéculum est de 2,7 mm et sa longueur est de 80 mm. Cette longueur permet une insertion jusqu'au fond du vagin en ayant 30 mm du spéculum qui reste à l'extérieur. Un cathéter transcervical est fabriqué à partir d'un cathéter urinaire en polypropylène de 3,5 Fr. (1,2 mm de diamètre extérieur et 140 mm de long) en le coupant à 27 mm de l'extrémité. Un chauffage léger permet de couder l'extrémité (à 10 mm) en formant un angle de 30°. Une tubulure de transfert d'embryon de 0,28 mm de diamètre interne, de 0,61 mm de diamètre externe et de 200 mm de long) est obtenu à partir d'une tubulure en polyéthylène connectée à une aiguille hypodermique de 30 G sur une seringue à tuberculine de 1 mL.

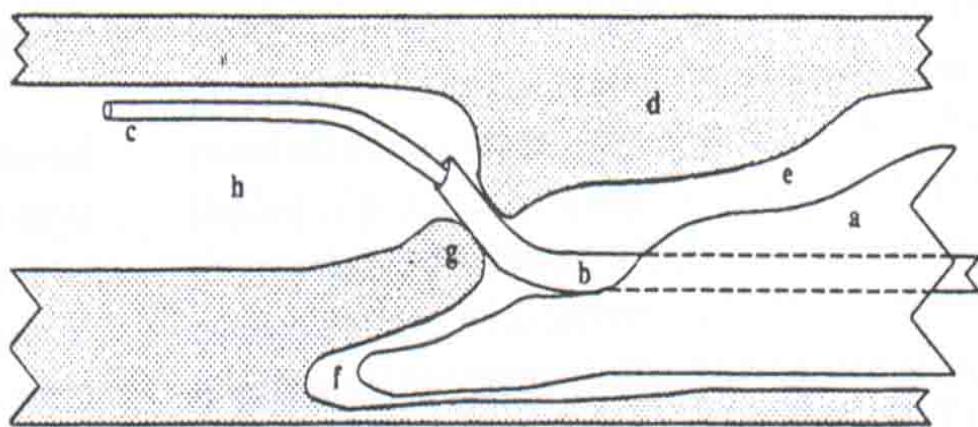
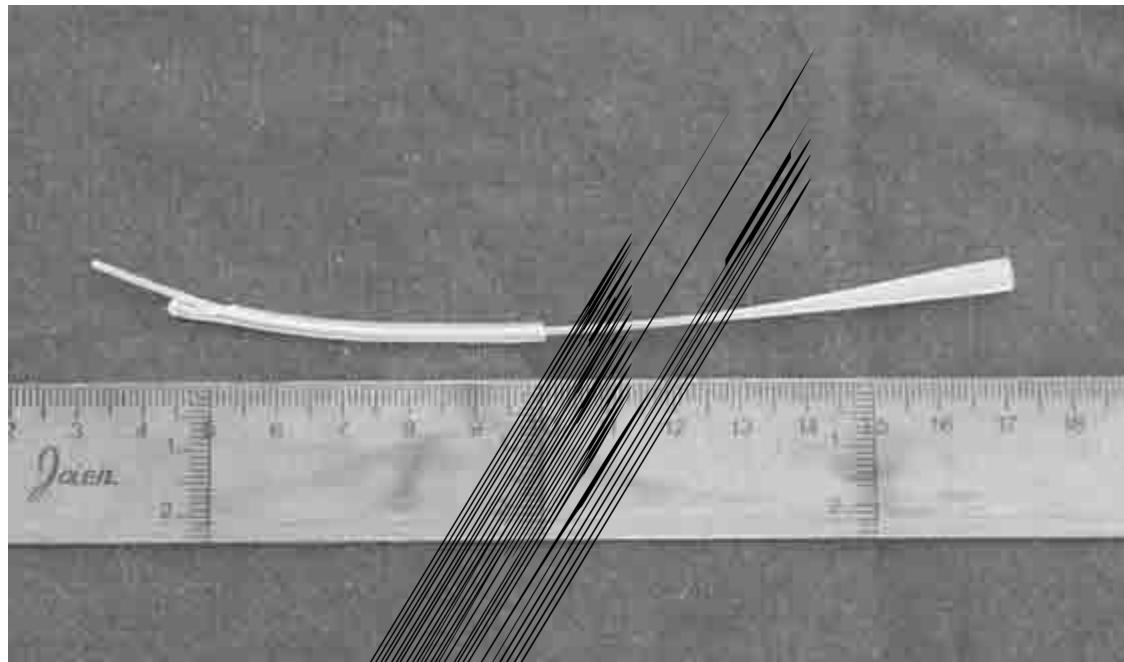


Figure 14 : Technique de transfert d'embryons (d'après Swanson et Godke (96))

Le spéculum vaginal (a) aligne le cathéter transcervical (b) avec le canal cervical (g), permettant le dépôt d'embryon, par l'intermédiaire de la tubulure de transfert (c), à l'intérieur de l'utérus (h). (d) repli postcervical médian dorsal, (e) vagin, (f) fornix ventral du vagin.

Plus récemment, Zambelli et al ont décrit des cathétérisations transcervicales aux différents moments du cycle et chez des femelles en anoestrus ou en oestrus induit hors saison de reproduction (108). Les résultats indiquent que la cathétérisation du col utérin est plus facile chez les chattes en anoestrus, la phase folliculaire s'accompagnant de modification de la morphologie vaginale. En effet, le repli postcervical médian dorsal est plus volumineux ce qui augmente l'angle formé entre l'axe du vagin et celui du col utérin. Pour cathétéreriser le col utérin, Zambelli utilise une sonde urinaire à chat au bout de laquelle il fixe une sonde lacrymale de 1 mm de diamètre (Photo 11). Le cathéter transcervical ainsi formé est inséré dans le vagin de la femelle anesthésiée placée en décubitus sternal et par toucher rectal, le manipulateur palpe le col utérin et l'aligne avec la sonde pour réaliser la cathétérisation (communication personnelle).

Photo 11 : Sonde d'insémination artificielle pour chat utilisée par Zambelli et al (photo de Axner et Linde-Forsberg (2))



1.3.2.1.2. Par laparotomie

Tsutsui et al réalisent l'insémination en semence fraîche (103) et en semence congelée (101) sous anesthésie générale 15, 20 ou 30 heures après injection de hCG afin d'induire l'ovulation. Pour l'anesthésie, les chattes sont prémédiquées avec de l'atropine (0,05 mg/kg) et de l'acépromazine (0,025 mg/kg). L'induction est réalisée à l'aide de kétamine (5 mg/kg) et le maintien de l'anesthésie est obtenu par utilisation d'halothane. Le contrôle de l'ovulation et l'insémination dans une corne utérine sont réalisés par laparotomie.

Pour l'insémination, une aiguille de 18 G est insérée dans la région centrale d'une des cornes utérines et la semence, prélevée à l'aide d'un vagin artificiel, est injectée à l'extrémité de la

1.3.2.1.3. Par laparoscopie

Howard et al utilisent la laparoscopie afin de réaliser des inséminations intra-utérines. L'anesthésie des chattes est induite à l'aide de kétamine (20 mg/kg IM) et d'acépromazine (0,18 mg/kg IM) et maintenue à l'halothane (43).

Pour la laparoscopie, un pneumopéritoine est obtenu en utilisant une aiguille de Verres insérée latéralement à la ligne blanche et à laquelle est fixée un insufflateur de 100% de CO₂. Un trocart de 7 mm de diamètre est inséré au travers d'une incision cutanée de 1 cm réalisée 3 cm crânialement à l'ombilic. Le trocart est retiré et remplacé par un laparoscope de 7 mm de diamètre attaché à une source lumineuse.

Les ovaires sont alors examinés afin de déterminer si l'insémination est effectuée avant ou après l'ovulation.

L'insémination intra-utérine est facilitée par la préhension des cornes utérines à l'aide de forceps insérés 3 cm caudalement et 4 cm latéralement par rapport à l'ombilic. Chaque corne est alors soulevée et placée contre la paroi abdominale et cathétérisée afin de déposer le sperme dans l'utérus à l'aide d'un cathéter félin stérile. Le cathéter est inséré sous contrôle laparoscopique à travers la peau dans la lumière du tiers proximal de l'utérus. Après pénétration, le mandrin est retiré complètement et remplacé par une tubulure stérile de polyéthylène attachée à une aiguille de 30 G et à une seringue de 1 ml contenant 100 µl de sperme. Après le dépôt du sperme dans une corne, une autre dose de 100 µl de sperme est inséminée dans l'autre corne. Les instruments sont alors retirés (voir Figure 15).

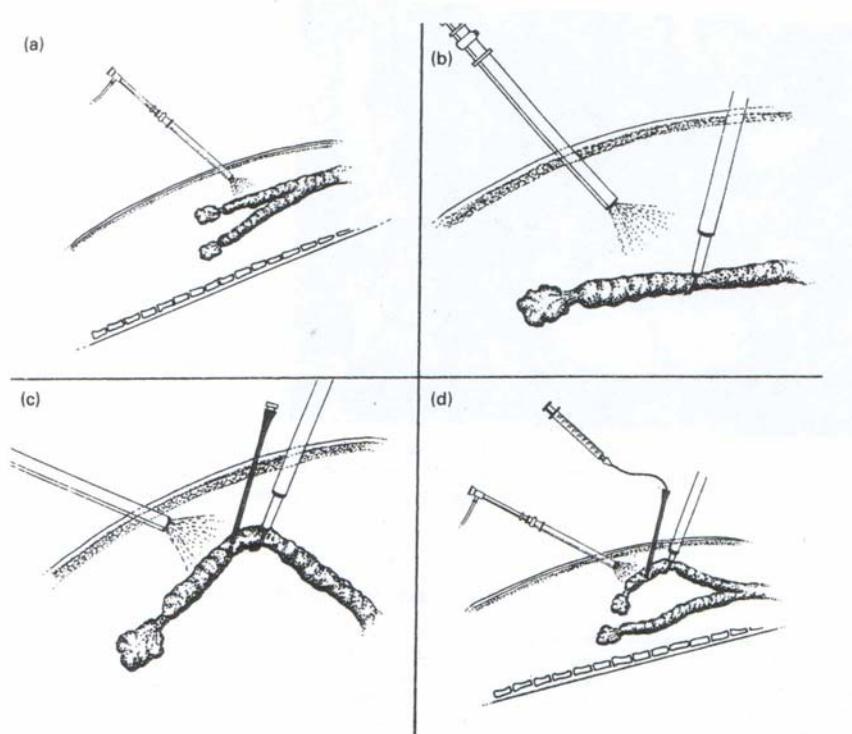


Figure 15 : Insémination intra-utérine sous laparoscopie chez le chat domestique (d'après Howard et al (43))

(a) Le laparoscope est initialement utilisé pour identifier l'appareil génital et (b) la corne utérine est saisie à l'aide de pinces. (c) La corne est alors soulevée et un cathéter est inséré à travers la paroi abdominale dans la lumière de la corne utérine. (d) Le mandrin est retiré du cathéter et la tubulure contenant le sperme est guidée à travers le cathéter jusqu'à la lumière utérine pour déposer la semence.

1.3.2.2. Déclenchement de l'ovulation

Tsutsui et al induisent l'ovulation par l'administration dans la veine jugulaire de 2 fois 100 UI ou de 250 UI de hCG entre le 2^{ème} et le 4^{ème} jour de l'oestrus. Dans le groupe traité par deux fois 100 UI de hCG, l'insémination est réalisée après la première injection (103).

Howard et al induisent l'oestrus par une injection intra-musculaire de 100 UI de PMSG et l'ovulation par l'injection (80 heures après l'administration de la PMSG) de 75 ou de 100 UI de hCG (43).

1.3.2.3. Doses inséminantes

Howard et al ont utilisé des doses inséminantes de $6,2 \pm 0,9 \times 10^6$ spermatozoïdes lors des inséminations intra-utérines sous laparoscopie alors que Tsutsui et al ont utilisé des doses inséminantes de 2×10^6 , 4×10^6 et 8×10^6 spermatozoïdes lors d'inséminations intra-utérines en

semence fraîche et deux paillettes de 50×10^6 spermatozoïdes lors d'inséminations intra-utérines en semence congelée (43) (103).

1.3.2.4. Résultats

Howard et al se sont intéressés au moment de l'insémination par rapport à l'ovulation et ont constaté que les résultats étaient bien meilleurs après l'ovulation, celle-ci étant compromise par l'anesthésie. En effet, seules 2 des 14 chattes inséminées avant ovulation ont été gestantes (soit 14,3%) contre 9 des 18 chattes inséminées après ovulation (soit 50%) (43).

Les résultats obtenus par Tsutsui et al (103) sont différents. En effet, les taux de conceptions lors d'utilisation de semence fraîche sont respectivement de 25% et de 0% avant et après ovulation avec 2×10^6 spermatozoïdes, 60% et 18% avec 4×10^6 spermatozoïdes et 100% et 60% avec 8×10^6 spermatozoïdes. Les résultats sont donc meilleurs avant l'ovulation dans cette étude. En ramenant les résultats uniquement à la dose inséminante, on obtient les résultats suivants (Tableau VII) :

Tableau VII : Taux de conception obtenus par insémination intra-utérine en semence fraîche en fonction du nombre de spermatozoïdes inséminés (d'après Tsutsui et al (103))

Nombre de spermatozoïdes inséminés	Nombre de chattes inséminées	Nombre de chattes gestantes	Taux de gestation
2×10^6	16	2	12,5%
4×10^6	16	5	31,3%
8×10^6	10	8	80%

Lors d'utilisation de semence congelée, les taux de gestation sont de 57,1% .

1.3.3. Insémination artificielle dans les trompes utérines

Une seule publication à notre connaissance fait mention d'insémination artificielle dans les trompes utérines chez la chatte (102).

1.3.3.1. Déclenchement de l'ovulation

L'ovulation est induite par administration intra-veineuse de 100 UI de hCG dans la veine jugulaire. Le contrôle de l'ovulation est effectué lors de l'insémination et si, lors de celle-ci, l'ovulation n'a pas encore eu lieu, une deuxième injection de 100 UI de hCG est réalisée immédiatement après la chirurgie.

1.3.3.2. Matériel et méthode

Les inséminations en semence fraîche prélevée par vagin artificiel sont réalisées sous anesthésie générale 15, 20 ou 30 heures après injection de hCG. Les chattes sont prémédiquées avec 0,05 mg/kg d'atropine et 0,025 mg/kg d'acépromazine. 5 mg/kg de kétamine sont utilisés pour l'induction et le maintien de l'anesthésie est obtenu par administration d'halothane. L'insémination dans l'ampoule de l'oviducte est réalisée en utilisant un tube capillaire de verre. L'insémination est effectuée dans les deux oviductes.

1.3.3.3. Doses inséminantes

Différentes doses ont été testées : 5×10^3 , 5×10^5 , 2×10^6 et 4×10^6 spermatozoïdes.

1.3.3.4. Résultats

Des doses de 5×10^3 et 5×10^5 spermatozoïdes semblent insuffisantes pour permettre une gestation (aucune des chattes inséminées, respectivement 3 et 7, n'a été gestante). Des doses inséminantes de 2×10^6 et 4×10^6 spermatozoïdes donnent respectivement des taux de gestation de 25% et 42,9% (2 chattes sur 8 et 3 chattes sur 7).

Différentes techniques d'insémination artificielle ont donc déjà été mises au point. Toutefois, elles nécessitent toutes une anesthésie des femelles, anesthésie qui est difficilement proposable aux éleveurs de chats. Nous allons maintenant présenter la technique d'insémination que nous avons adaptée à la réalisation d'insémination artificielle féline dans le cadre de la clientèle.

2. Etude expérimentale

Le but de cette étude, menée avec la collaboration du Docteur Elise Malandain (Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport, ENVA) et du Docteur Delphine Rault (Unité Fonctionnelle d'Imagerie Médicale, ENVA), a été de valider chez la chatte une technique d'insémination artificielle applicable en clientèle.

2.1. Matériels et méthodes

2.1.1. Les animaux

2.1.1.1. La sélection et les critères d'inclusion des animaux

2.1.1.1.1. Les chattes

Pour cette étude, deux catégories de chattes ont été utilisées :

- 7 chattes de race Abyssin (Aby, Yseult, Happy, Beth, Pussy, Midy et Sissi), âgées de un à deux ans, appartenant à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- 1 chatte de race Maine Coon, âgée de 2 ans (Prisca) appartenant à un éleveur
- 1 chatte de type Abyssin (Noumène) âgée de 5 ans, appartenant à une étudiante de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort
- 1 chatte de race européenne (Chagasse), âgée de 1 an, appartenant à une étudiante de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Les huit premières chattes, n'ont subi aucun traitement auparavant et sont vaccinées contre le typhus, l'herpès virus félin et les calicivirus. Les chattes sont séronégatives pour le FIV et le FeLV.

Noumène a reçu épisodiquement des progestatifs pour prévenir l'apparition des chaleurs. Elle est vaccinée contre la rage, la leucose, le typhus, les calicivirus et l'herpès virus félin. Testée contre le FIV et le FeLV, les résultats sont négatifs.

Chagasse est vaccinée contre la rage, la leucose, le typhus, les calicivirus et l'herpès virus félin. Testée contre le FIV et le FeLV, les résultats sont négatifs.

2.1.1.1.2. Les mâles

Deux mâles de race Abyssin (Stone et Charden), âgés de un an au début de l'étude qui a duré 9 mois, ont également été utilisés. Ces chats qui appartiennent à l'Ecole Nationale Vétérinaire

d'Alfort n'ont reçu aucun traitement auparavant et sont vaccinés contre le typhus, l'herpès virus félin et les calicivirus.

2.1.1.3. Critères d'inclusions

Lors de cette étude, nous nous intéressons au suivi échographique ovarien selon la technique utilisée par Froment et al (28) dans le but de déterminer le moment de l'ovulation afin de réaliser l'insémination artificielle avant celle-ci.

Pour entrer dans l'étude, les chattes doivent répondre aux critères suivant :

- présenter un comportement d'œstrus
- avoir un frottis vaginal d'œstrus
- avoir une progestéronémie inférieure à 1 ng/ml avant l'insémination
- ovuler dans les 30 heures suivant la stimulation vaginale destinée à provoquer la décharge de LH, l'ovulation devant être visualisée à l'échographie.

2.1.1.2. La maintenance des animaux

Les animaux appartenant à l'Ecole Vétérinaire d'Alfort sont logés dans la chatterie du service de Reproduction Animale. Les deux mâles sont logés dans la même cage mesurant 120×80×80 cm. Les femelles sont réparties entre une cage identique à celle des mâles et deux autres cages collectives mesurant 150x200x100 cm. La plupart du temps, les chattes sont logées uniquement dans les deux grandes cages qui sont aménagées avec des étagères et des griffoirs. Elles sont alors trois dans une cage et quatre dans l'autre.

Les mâles sont laissés en liberté dans la chatterie au minimum une heure par jour. Les femelles sont ensuite sorties, pendant une heure minimum. Mâles et femelles, bien que n'étant jamais en contact direct peuvent communiquer à travers les portes des cages.

La chatterie de reproduction est maintenue à une température de 18°C à 25°C tout au long de l'année. L'éclairage est fourni pendant 14 heures par jour grâce à de larges fenêtres et à un éclairage artificiel.

Les animaux sont nourris *ad libitum* avec des croquettes Royal Canin. De l'eau fraîche est à disposition en permanence.

Les litières et les cages sont nettoyées quotidiennement.

2.1.1.3. Détection des chaleurs

Les chattes sont observées quotidiennement pendant plusieurs dizaines de minutes, généralement le soir, afin de détecter un comportement caractéristique d'œstrus et des frottis vaginaux sont réalisés régulièrement afin de détecter le début de l'imprégnation oestrogénique chez les chattes dont le comportement d'œstrus se trouverait décalé par rapport au début de la phase oestrale.

Les frottis vaginaux sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile, de type écouvillon urétral utilisé en médecine humaine. Cet écouvillon de 15 cm de long, dont l'extrémité recouverte de coton mesure 2 mm de diamètre, est humidifié avec du sérum physiologique avant d'être introduit verticalement sur un demi centimètre dans le vagin de la chatte. Il est alors roulé avec précaution contre la muqueuse vaginale puis retiré délicatement. Un grand soin doit être apporté à cet examen qui, effectué trop vigoureusement, risque de déclencher l'ovulation. L'écouvillon est ensuite immédiatement étalé et fixé sur une lame de verre avant d'être coloré par la coloration de Harris-Schorr (voir annexe 1).

Le frottis est lu sous un microscope optique au grossissement 100 afin d'apprécier le fond du frottis et la présence ou l'absence d'amas cellulaire. Puis, il est examiné au grossissement 400 afin d'étudier plus précisément les cellules qui s'y trouvent. On considère qu'il s'agit d'un frottis d'œstrus lorsque le fond est clair, que les cellules superficielles nucléées et superficielles anucléées sont prédominantes et que l'acidophilie est dominante (77).

2.1.2. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Lorsqu'une chatte est détectée comme étant en chaleurs, un suivi échographique régulier est effectué (tous les jours ou tous les deux jours en fonction de la vitesse de croissance des follicules). J1 est défini comme étant le 1^{er} jour d'observation des chaleurs.

2.1.2.1. Préparation de la séance d'échographie

2.1.2.1.1. Réglage de l'échographe

L'échographe utilisé appartient à l'Unité Fonctionnelle d'Imagerie Médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort. Il s'agit d'un appareil HDI 3500 (ATL, Philips Medical Systems, France).

La sonde utilisée est une sonde linéaire, microconvexe, dont la fréquence varie de 5 à 12 MHz, ce qui fournit des images échographiques de haute qualité.

Cette sonde a été choisie car elle permet un contact étroit avec la peau et une bonne exploration des organes superficiels, donc des ovaires.

Toutes les mesures sont réalisées en gelant à l'écran l'image la plus nette. Les images sont systématiquement enregistrées et annotées.

2.1.2.1.2. Préparation de l'animal

Les chattes sont tondues sur l'abdomen et une partie des flancs et sont placées en décubitus dorsal dans un coussin pour échographie. La peau est ensuite imbibée d'eau puis de gel échographique afin d'améliorer la pénétration des ondes ultrasonographiques.

Suivant le caractère des chattes, une à deux personnes sont nécessaires pour réaliser la contention. Aucune tranquillisation n'est nécessaire. Les mesures échographiques sont réalisées par un autre manipulateur ayant une bonne expérience des mesures de follicules ovariens chez la chatte.

2.1.2.2. Suivi échographique des follicules

2.1.2.2.1. Critères de choix pour définir l'aspect échographique d'un follicule

D'après ce qu'a décrit Froment (28), nous considérons que les structures cavitaires nettement anéchogènes, présentes au sein du stroma ovarien sont les follicules ovariens.

2.1.2.2. Mesure du diamètre des follicules ovariens

Le suivi des follicules ovariens par échographie commence le premier jour de détection de l'œstrus (détection par le comportement ou par le frottis vaginal) et est effectué tous les jours ou tous les deux jours si la maturation folliculaire est lente.

Les follicules au sein du parenchyme ovarien sont identifiés et comptés. On nommera follicule D les follicules observés sur l'ovaire droit et follicule G les follicules observés sur l'ovaire gauche. Une mesure optimale du diamètre de chaque follicule est effectuée. Nous choisissons pour la mesure l'image où le diamètre folliculaire est maximum avec le contour le plus circulaire. Les curseurs de mesure sont placés sur les interfaces les plus brillantes (interface stroma-follicule), c'est-à-dire celle placées dans l'axe du faisceau d'ultrasons.

Les mesures sont répétées au minimum deux fois pour chaque follicule et sont immédiatement notées sur un cahier. La plupart des images sont également enregistrées et classées. Lorsque différentes mesures sont obtenues pour un même follicule, la valeur la plus élevée est celle qui sera retenue.

D'après les résultats obtenus par Froment et al (28) sur la croissance folliculaire, nous pouvons en déduire que cette croissance n'est pas à son maximum lorsque tous les follicules ont des diamètres inférieurs à 0,3 cm. Nous décidons donc de déclencher l'ovulation à partir du moment où au moins un follicule atteint ce diamètre « seuil » de 0,3 cm.

Les suivis échographiques sont toujours réalisés par les mêmes opérateurs.

2.1.3. Déclenchement de l'ovulation

L'ovulation est provoquée par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux à l'aide d'écouillons vaginaux. Pour cela, un opérateur introduit horizontalement un écouillon urétral dans le vagin de la chatte qui est immobilisée, un opérateur la tenant fermement par la peau du cou. Cet écouillon est introduit au maximum et des mouvements de va et vient sont réalisés jusqu'à ce que la femelle crie. La femelle est alors lâchée. La stimulation est considérée comme étant efficace si la femelle manifeste le comportement post-coital typique, c'est-à-dire si elle se

lèche la vulve et se roule frénétiquement sur le sol. Pour certaines chattes, la présence d'un mâle s'avère indispensable. Celui-ci est alors placé dans une cage juste devant la femelle.

Les stimulations sont répétées en général cinq fois à 30 minutes d'intervalle (donc sur une période de deux heures). H0 est définie comme l'heure où est réalisée la 3^{ème} stimulation. On considère arbitrairement que c'est le moment où survient le pic de LH.

Le contrôle de l'ovulation est effectué par échographie et par dosage de progestérone après l'insémination.

2.1.4. Prélèvements de la semence

Les mâles sont prélevés par électroéjaculation selon la technique employée par Posière (76).

Un des deux mâles est anesthésié en utilisant du ZolétielND (Tilétamine +zolazépam) à la dose 10 mg/kg injectée en IM.

Une sonde urinaire de 1 mm de diamètre est alors reliée à une seringue à tuberculine dont le piston a été retiré. En effet, le caoutchouc de celui-ci est spermicide. La sonde urinaire est entourée de ruban adhésif à 4 cm de son extrémité afin de limiter son introduction dans les voies urogénitales et de prévenir les contaminations urinaires. La sonde urinaire est alors introduite jusqu'au ruban adhésif et maintenue en place par un manipulateur pendant toute la durée du prélèvement.

Une sonde rectale de 12 cm de long munie de 3 électrodes est préalablement induite de gel échographique et est introduite dans le rectum puis retirée afin de vider celui-ci des selles éventuellement présentes ce qui améliorera la conduction des ondes électriques. Après avoir de nouveau appliqué du gel échographique sur la sonde rectale, celle-ci est introduite dans le rectum sur 8 à 9 cm en orientant les électrodes ventralement.

Pour chaque électroéjaculation, les stimulations sont effectuées de la manière suivante :

- Le voltage est monté en deux secondes jusqu'à obtenir l'extension des postérieurs et la protrusion des griffes (en général, le voltage nécessaire est de 3 à 4 V).
- Ce voltage est maintenu pendant 3 secondes.
- Il est ensuite redescendu rapidement à 0.

- Une pause de 3 secondes est marquée avant de recommencer une nouvelle stimulation.
- Au bout de 10 stimulations, le voltage maximal (3 à 4 V) est maintenu pendant quelques secondes et 3 à 4 mouvements de va et vient sont réalisés dans le rectum avec la sonde avant de ramener le voltage à 0. Une pause de quelques minutes est effectuée.

Après deux séries de 10 stimulations, la semence, qui est montée dans la sonde urinaire par capillarité, est recueilli dans un tube Eppendorf de 1,5 ml et maintenu dans l'obscurité pendant que les stimulations suivantes sont réalisées.

Au total, 6 séries de 10 stimulations sont effectuées.

2.1.5. Examen de la qualité de la semence

Dès la fin des prélèvements, la semence est examinée comme décrit dans l'annexe 3, afin de déterminer si sa qualité est suffisante pour permettre une insémination artificielle.

2.1.6. Insémination artificielle intra-vaginale

L'insémination est réalisée entre H24 et H26, c'est à dire en période péri-ovulatoire immédiate, sans anesthésier la femelle. La contention est réalisée à l'aide d'un sac de contention pour chat qui nous permet d'avoir accès à la région périnéale de l'animal sans que celui-ci puisse se débattre (Photo 12).

Photo 12 : Sac de contention pour chat (Content'Sac Vet®) et muselière (Content'Muz®) pour chat



La semence est transférée de l'Eppendorf dans une seringue à tuberculine grâce à une tubulure en plastique souple non spermicide. Lors du transfert, il faut tout d'abord aspirer un peu d'air car le sperme ne doit pas entrer en contact avec le piston de la seringue qui est en caoutchouc et qui est supposé être spermicide.

Une sonde d'insémination est réalisée à partir d'une sonde urinaire à chat avec mandrin. La sonde et le mandrin sont coupés pour avoir une longueur d'environ 4,5 cm. Il faut faire très attention à ce que le mandrin soit plus court que la sonde car celui-ci risquerait de perfore le vagin.

Une fois que le matériel est prêt, la chatte est muselée et placée dans le sac à chat. Les postérieurs sont sortis de même que la queue. Un accès à la vulve est dégagé. Un opérateur tient la femelle en extension avec les postérieurs surélevés. Un autre opérateur réalise l'insémination. D'une main il écarte délicatement les lèvres de la vulve et de l'autre, il introduit doucement la sonde d'insémination.

L'insertion doit se faire en direction du plafond du vagin afin de ne pas entrer dans le méat urinaire. La sonde est ensuite poussée au maximum dans le vagin, toujours en douceur pour ne pas risquer une perforation du vagin. Plusieurs tentatives sont réalisées pour réussir à aller dans le vagin antérieur mais cette opération n'est pas toujours possible. Si la sonde est insérée sur 2 cm environ, on considère que l'on se trouve dans le vagin postérieur, si elle est insérée sur 3 à 4 cm, on considère que l'on se trouve dans le vagin antérieur. Lors de l'insertion de la sonde dans le vagin, il arrive que la chatte crache et essaye de se dégager. En effet, la sonde stimule les récepteurs du vagin et la chatte manifeste un comportement post-coital.

Lorsqu'on ne peut plus insérer la sonde plus loin, on vérifie en écartant les lèvres de la vulve que la sonde n'est pas introduite dans le méat urinaire. Si c'est le cas, on recommence l'opération.

On fixe alors la seringue contenant la semence sur la sonde urinaire et on injecte lentement celle-ci en faisant attention de ne pas injecter d'air. En effet, celui-ci occuperait du volume dans le vagin et la semence risquerait de refluer davantage. Si le volume injecté dépasse 0,3 mL, une partie de la semence reflue. Une fois que l'injection est réalisée, on retire doucement la sonde et

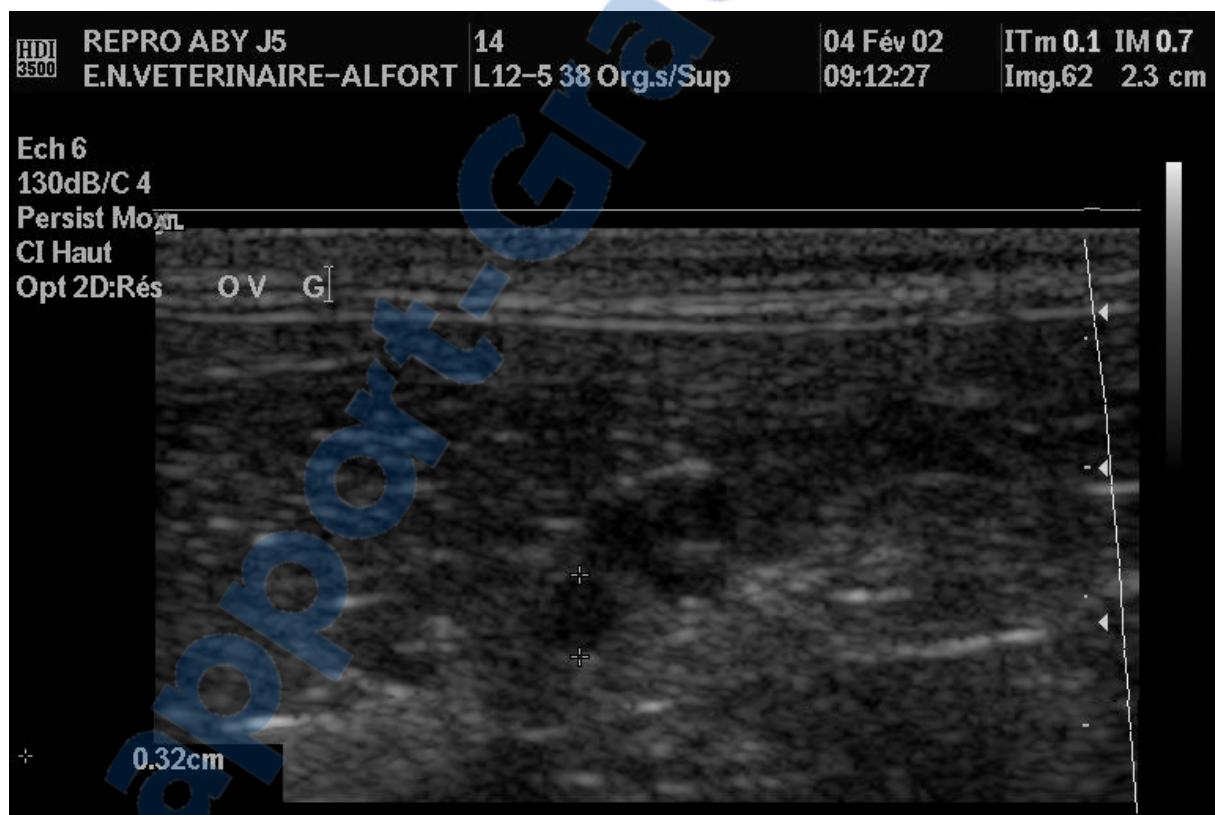
on écarte les lèvres de la vulve en maintenant la femelle avec les postérieurs surélevés pendant une dizaine de minutes. On libère ensuite la femelle.

2.1.7. Contrôle échographique de l'ovulation

Après la stimulation vaginale, les contrôles échographiques sont multipliés. Ils sont effectués avant l'insémination (soit à H23 en moyenne, H0 étant le moment de déclenchement de l'ovulation) puis, en général, à H26 et à H29 si l'ovulation n'a pas encore eu lieu.

Avant l'ovulation, les follicules apparaissent comme des structures circulaires anéchogènes bien délimitées (Photo 13).

Photo 13 : Echographie ovarienne avant l'ovulation (image D. Rault)



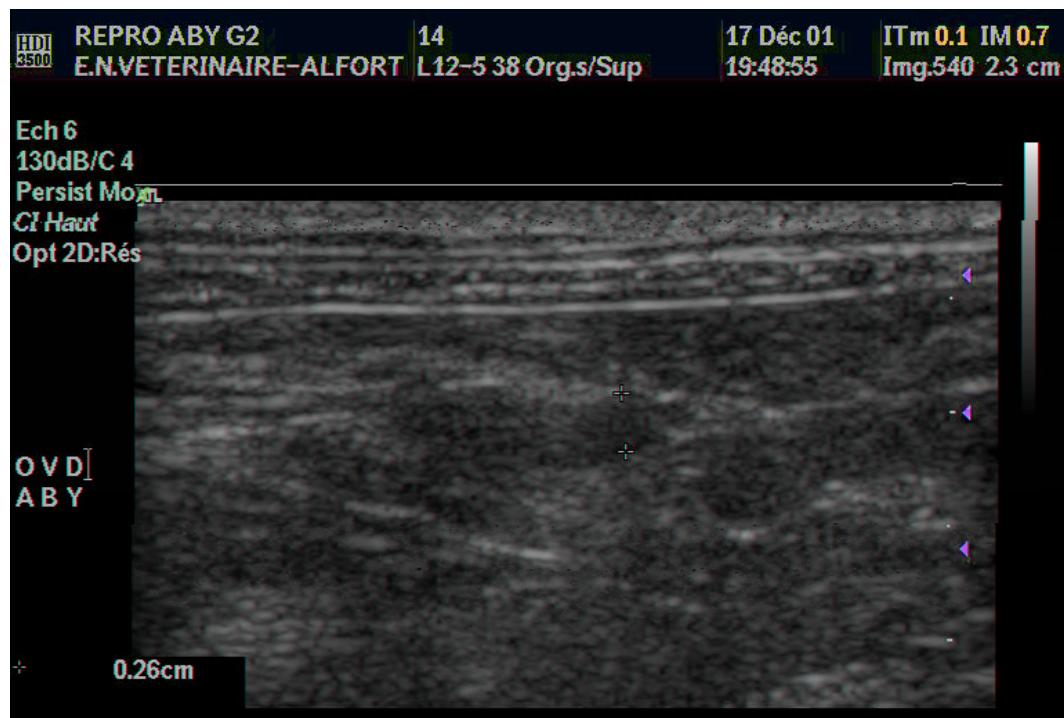
Après l'ovulation, on ne distingue plus de structures circulaires anéchogènes, l'ovaire apparaît homogène (Photo 14).

Photo 14 : Echographie ovarienne après l'ovulation (image D. Rault)



Le lendemain de l'ovulation, des structures hypoéchogènes circulaires sont de nouveaux visualisées (Photo 15).

Photo 15 : Echographie ovarienne 2 jours après l'ovulation (image D. Rault)



2.1.8. Dosages hormonaux

Le contrôle de l'ovulation est également effectué par dosage de la progestéronémie 3 à 4 jours après l'insémination. Un taux supérieur à 1 ng/mL confirme que l'ovulation a eu lieu.

2.1.9. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est réalisé par échographie dès le 10^{ème} jour après l'insémination. Celui-ci est confirmé par un contrôle vers le 16^{ème} jour après l'insémination. On définit G0 comme étant le jour de réalisation de l'insémination artificielle.

2.1.10. Comptage des chatons à la naissance

À la naissance, nous comptons les chatons et nous déterminons leur sexe.

2.2. Résultats

2.2.1. Résultats par chatte

Préalablement à l'étude proprement dite, deux inséminations ont été réalisées afin de mettre au point le protocole expérimental. Ces deux inséminations avaient été des succès puisque la première réalisée sur Yseult, une chatte de race Abyssin, avait permis la naissance de quatre chatons (3 mâles et une femelle) et que la seconde réalisée sur Prisca, une chatte de race Maine Coon, avait abouti à la naissance de deux chatons mâles. Ces deux inséminations ne rentrent pas dans l'étude actuelle car nous ne disposons pas de toutes les données nécessaires à leur inclusion, notamment en ce qui concerne le suivi de la maturation folliculaire.

2.2.1.1. Cycle n°1 : Aby

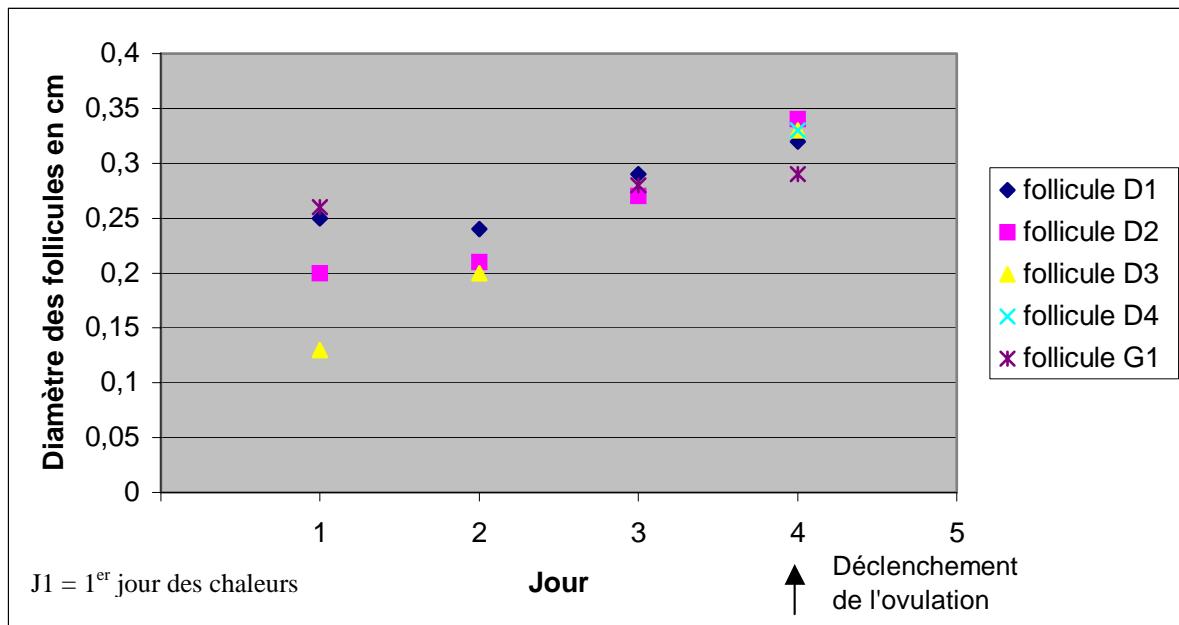
Aby, une chatte de race Abyssin a été observée en chaleurs le 9 octobre 2001. Un frottis caractéristique de l'œstrus est obtenu ce jour-là.

2.2.1.1.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

A J1, 4 follicules sont détectés à l'échographie dans l'ovaire droit (seulement 3 sont mesurés) et 3 dans l'ovaire gauche (un seul est mesuré). Le suivi de la maturation est effectué quotidiennement jusqu'à ce qu'au moins un follicule atteigne un diamètre supérieur à 0,30 cm. A

J4, tous les follicules de l'ovaire droit ont un diamètre supérieur à 0,30 cm et bien que le seul follicule mesuré dans l'ovaire gauche ait un diamètre de 0,29 cm, le déclenchement de l'ovulation est réalisé le jour même.

Figure 16 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°1.



2.2.1.1.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisée à J4 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux.

2.2.1.1.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H27 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau VIII.

Tableau VIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°1

Volume recueilli	0,4 mL
Mobilité	60%
Concentration	19 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	7,2 millions

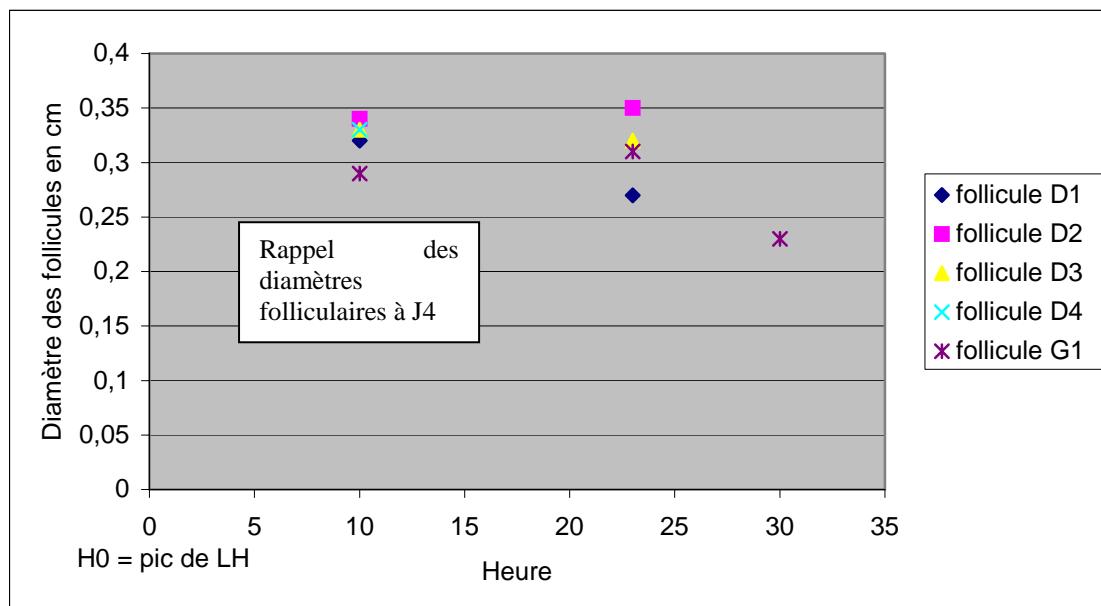
2.2.1.1.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H28. La sonde est enfoncee de 4,5 cm dans le vagin. Aucun reflux n'est observé.

2.2.1.1.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle échographique de l'ovulation est effectué à H23 et à H30 (Figure 17). A H23, les follicules sont encore bien visibles et anéchogènes. A H30, seul un follicule est visible dans l'ovaire gauche ; dans l'ovaire droit, aucune structure n'est identifiable. On considère que l'ovulation a eu lieu à droite. A H48, deux structures hypoéchogènes sont identifiables (une à droite et une à gauche).

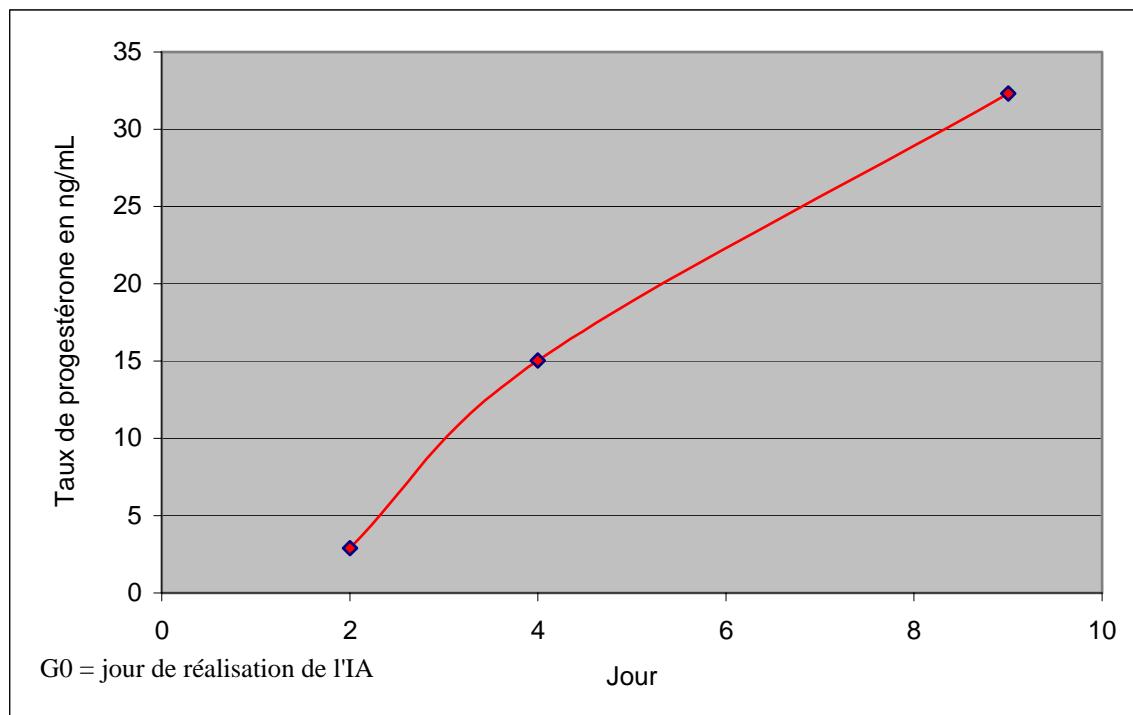
Figure 17 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°1.



2.2.1.1.6. Dosage de progestérone

Des dosages de progestérone sont effectués à G2 (G0 étant le jour de l'insémination), G4 et G9. L'obtention de taux supérieurs à 1 ng/mL nous confirme qu'il y a bien eu ovulation.

Figure 18 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°1.



2.2.1.1.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est effectué à G9, G13 et G16. Aucune structure n'est visualisée dans l'utérus, la chatte n'est pas gestante.

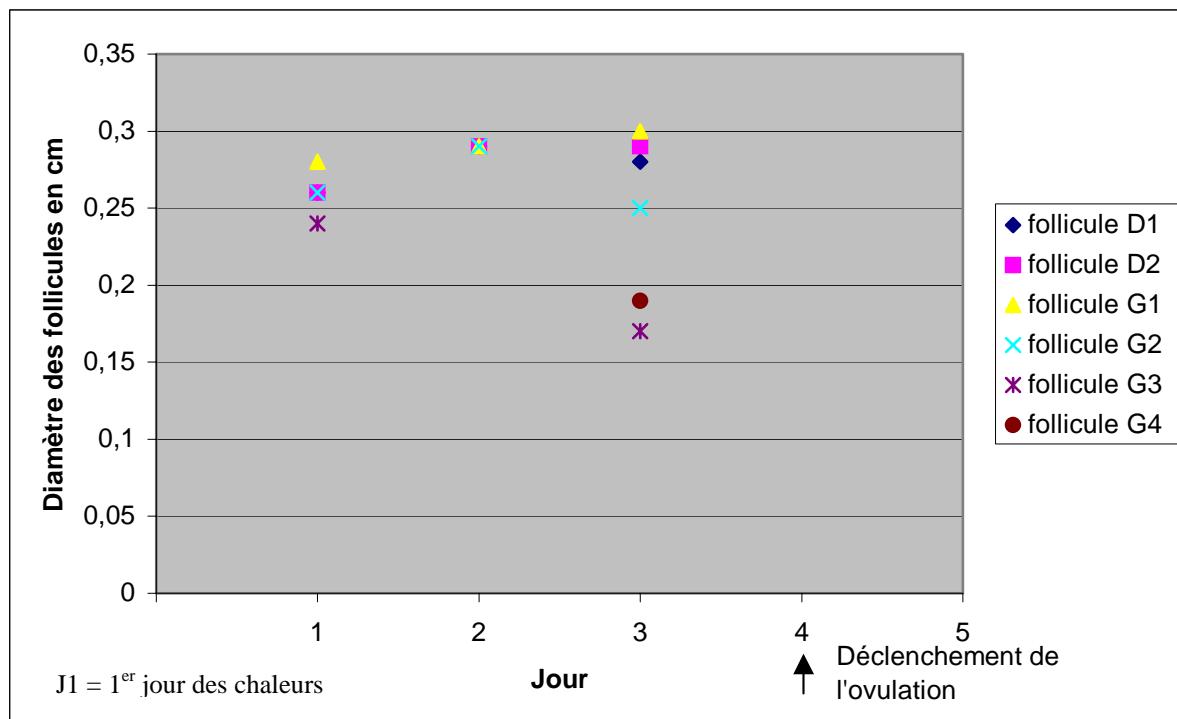
2.2.1.2. Cycle n°2 : Happy

Happy, une chatte de race Abyssin est observée en chaleurs le 29 octobre 2001. Un frottis est réalisé qui confirme l'œstrus.

2.2.1.2.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

A J1, deux follicules mesurant 0,26 cm chacun sont observés dans l'ovaire droit. Dans l'ovaire gauche, on mesure 3 follicules mesurant 0,24 cm, 0,26 cm et 0,28 cm. Des mesures quotidiennes sont effectuées. A J3, un follicule mesure 0,30 cm dans l'ovaire gauche alors qu'à droite les follicules mesurent 0,28 et 0,29 cm. On décide de déclencher l'ovulation le lendemain.

Figure 19 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°2.



2.2.1.2.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisée à J4 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux.

2.2.1.2.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H25,5 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau IX.

Tableau IX : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°2

Volume recueilli	0,3 mL
Mobilité	70%
Concentration	13 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	4 millions

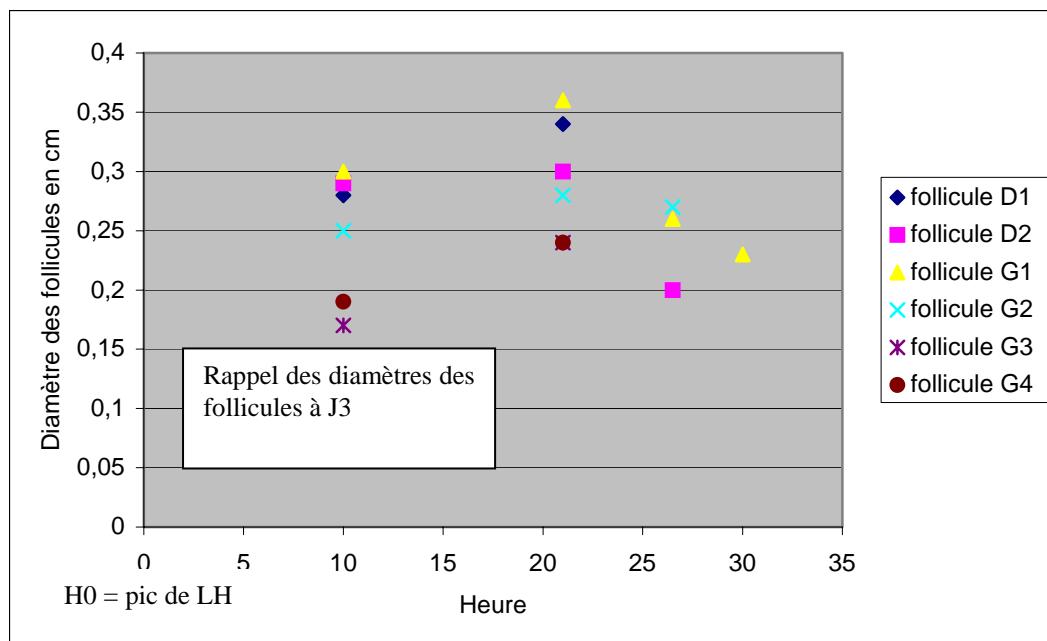
2.2.1.2.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H26. La sonde est enfoncee de 3 cm dans le vagin. Un léger reflux est observé.

2.2.1.2.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle de l'ovulation est effectué à H21, à H26,5 et à H30 (Figure 20). On constate qu'à H21, les follicules sont plus gros qu'à J3. A H26,5, on remarque que leur diamètre a diminué et que certains ont disparu. A H30, il ne reste plus qu'un seul follicule dans l'ovaire gauche. On considère que l'ovulation a eu lieu.

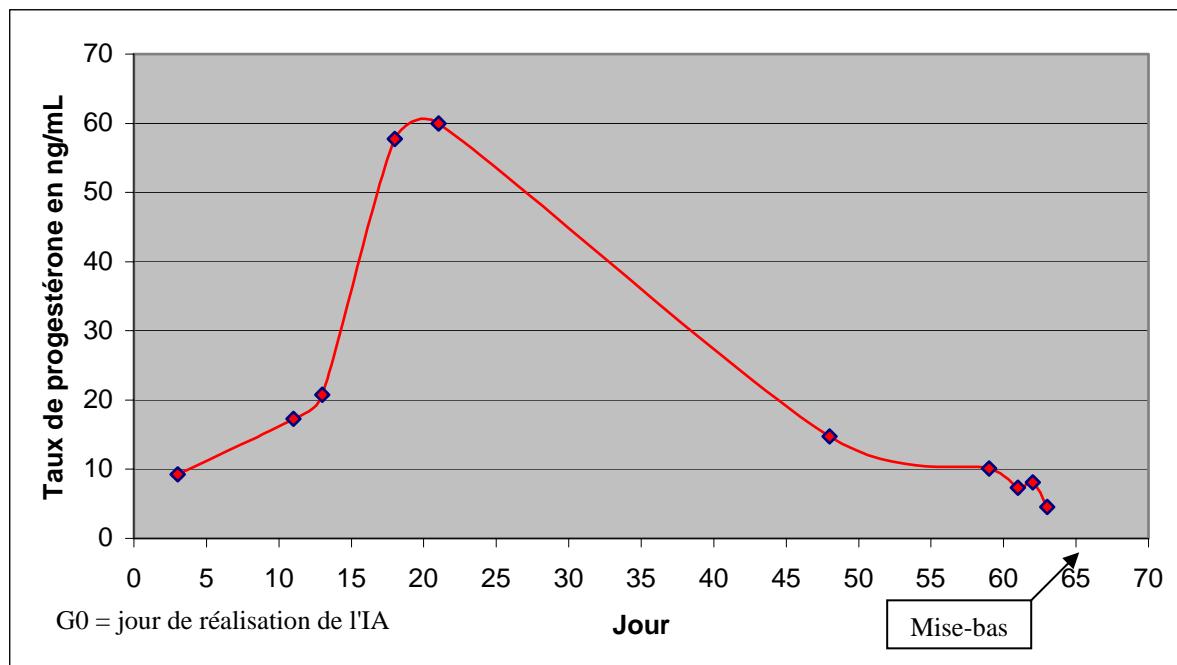
Figure 20 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°2.



2.2.1.2.6. Dosage de progestérone

On constate que la progestéronémie est supérieure à 1ng/mL à G3. La chatte a donc ovulé. Un suivi de la progestéronémie est réalisé pendant la phase lutéale et on constate qu'après une hausse rapide jusqu'à plus de 60 ng/mL à G21, la progestéronémie redescend jusqu'à 4,53 ng/mL deux jours avant la mise-bas (Figure 21).

Figure 21 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°2.



2.2.1.2.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est réalisé à G10 par échographie. Une structure circulaire anéchogène de 0,20 cm de diamètre est visualisée dans la corne utérine droite et deux structures circulaires anéchogènes de 0,19 et 0,21 cm de diamètres sont visualisées dans la corne utérine gauche. Le diagnostic de gestation est confirmée par une autre échographie à G13 où deux structures anéchogènes circulaires sont identifiées dans chacune des deux cornes. Leur diamètre est alors compris entre 0,50 et 0,62 cm.

La chatte a mis-bas à G65 quatre chatons (3 mâles et une femelle).

2.2.1.3. Cycle n°3 : Beth

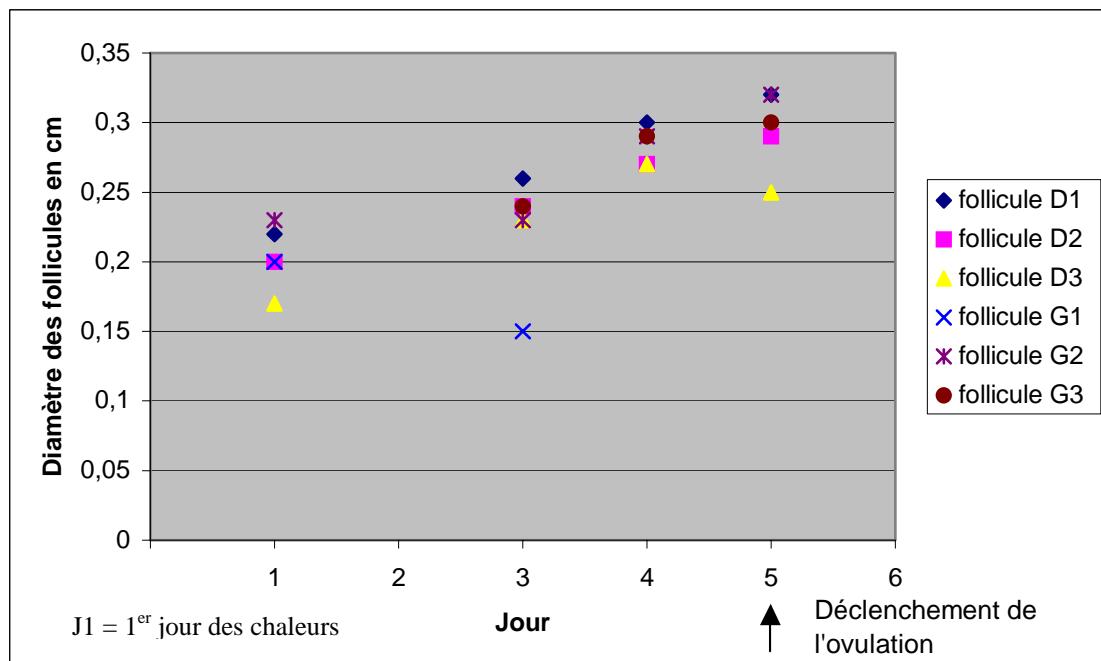
Beth, une chatte de race Abyssin, est observée en chaleurs le 10 décembre 2001. Le frottis réalisé le jour même confirme l'œstrus.

2.2.1.3.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le premier jour des chaleurs, 5 follicules sont observés à l'échographie. Leur diamètre varie de 0,17 cm à 0,23 cm. Devant le faible diamètre des follicules à J1, aucune échographie n'est réalisée à J2. A J3, le diamètre des follicules varie de 0,15 à 0,26 cm. A J4, un seul follicule a un

diamètre de 0,30 cm et il faut attendre J5 pour que 3 follicules aient un diamètre supérieur ou égal à 0,30 cm. La stimulation est alors réalisée le jour même (Figure 22).

Figure 22 : Maturation folliculaire lors du cycle n°3.



2.2.1.3.2. Déclenchement de l'ovulation

L'ovulation est déclenchée par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux à J5.

2.2.1.3.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H25,5 sur Stone. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau X.

Tableau X : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°3

Volume recueilli	0,25 mL
Mobilité	70%
Spermatozoïdes normaux	85%
Acrosomes intacts	95%
Concentration	56 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	14 millions

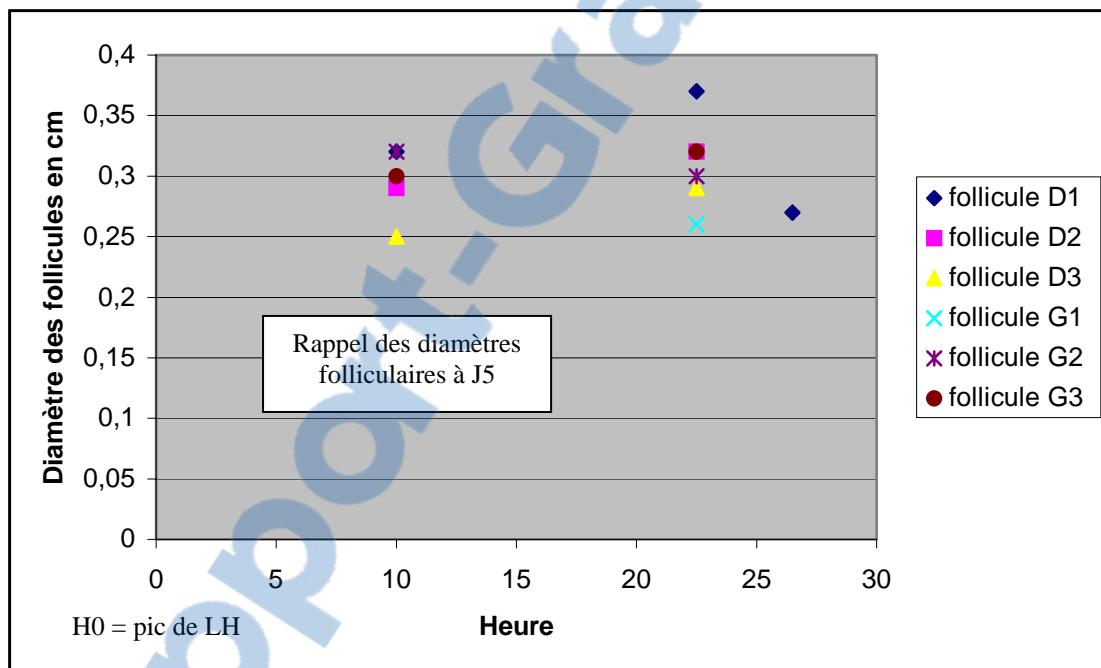
2.2.1.3.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H26. La sonde est enfoncee sur 4,5cm. Lors de l'insémination, aucun reflux n'est constaté.

2.2.1.3.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle échographique de l'ovulation est réalisé à H22,5 et à H26,5 (Figure 23). A H22,5 on observe 5 follicules dont les diamètres sont compris entre 0,26 et 0,37cm. A H26,5 un seul follicule hypoéchogène est visible dans l'ovaire droit. Son diamètre est de 0,27 cm. On considère donc que l'ovulation a eu lieu.

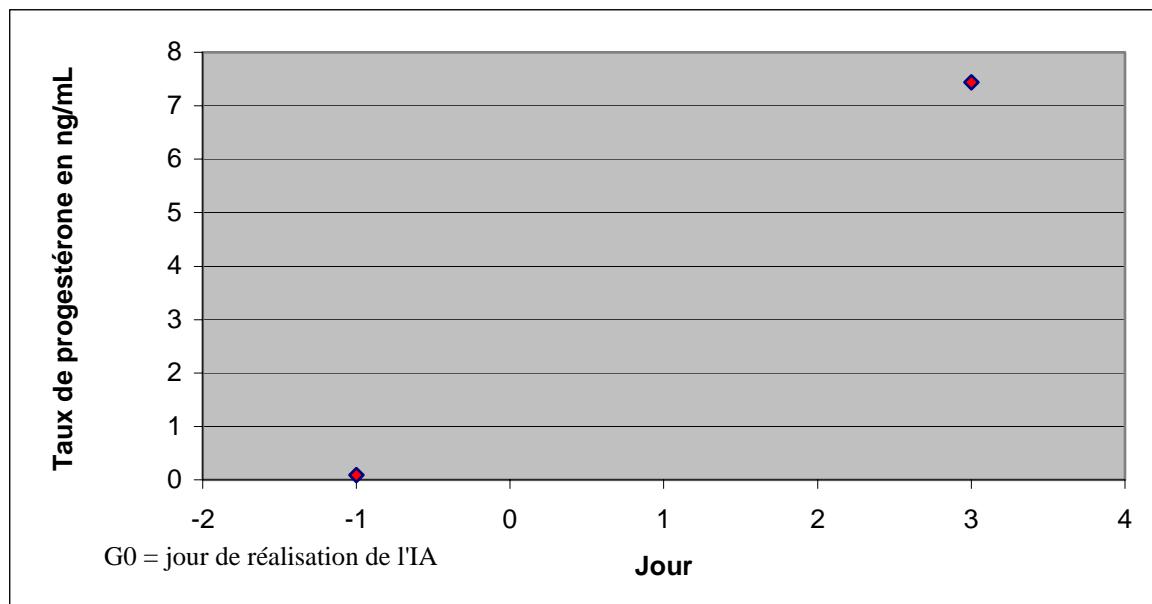
Figure 23 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°3.



2.2.1.3.6. Dosage de progestérone

La mesure de la progestéronémie le jour de la stimulation révèle un taux plasmatique de 0,092 ng/mL. La chatte n'a donc pas ovulé dans les 48 heures qui précèdent ce dosage. A G3 la concentration plasmatique est de 7,44 ng/mL et donc l'ovulation a eu lieu (Figure 24).

Figure 24 : Progestéronémie lors du cycle n°3.



2.2.1.3.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est effectué à G11 et est confirmé à G18. La chatte n'est pas gestante.

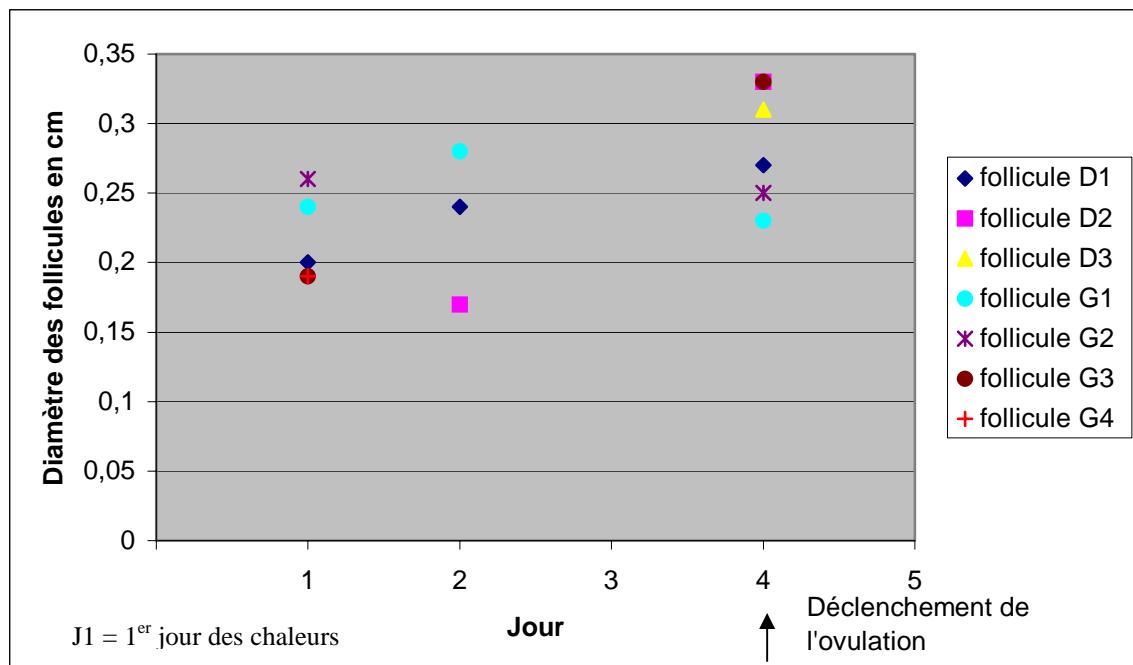
2.2.1.4. Cycle n°4 : Sissi

Sissi, une chatte de race Abyssin, est vue en chaleurs le 13 novembre 2001. Un frottis confirme l'œstrus.

2.2.1.4.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le premier jour des chaleurs, un follicule est observé dans l'ovaire droit et quatre dans l'ovaire gauche. Les diamètres varient de 0,19 à 0,26 cm. A J2, deux follicules sont observés à droite. Leurs diamètres sont de 0,17 et 0,24 cm. A gauche, un follicule de 0,28 cm est visualisé. Aucune échographie n'est réalisée à J3. A J4, les diamètres varient de 0,23 à 0,33 cm. La stimulation est réalisée le jour même (Figure 25).

Figure 25 : Maturation folliculaire lors du cycle n°4.



2.2.1.4.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisé à J4.

2.2.1.4.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H25 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XI.

Tableau XI : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°4

Volume recueilli	0,4 mL
Mobilité	80% à 90%
Acrosomes intacts	95%
Concentration	12 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	4,8 millions

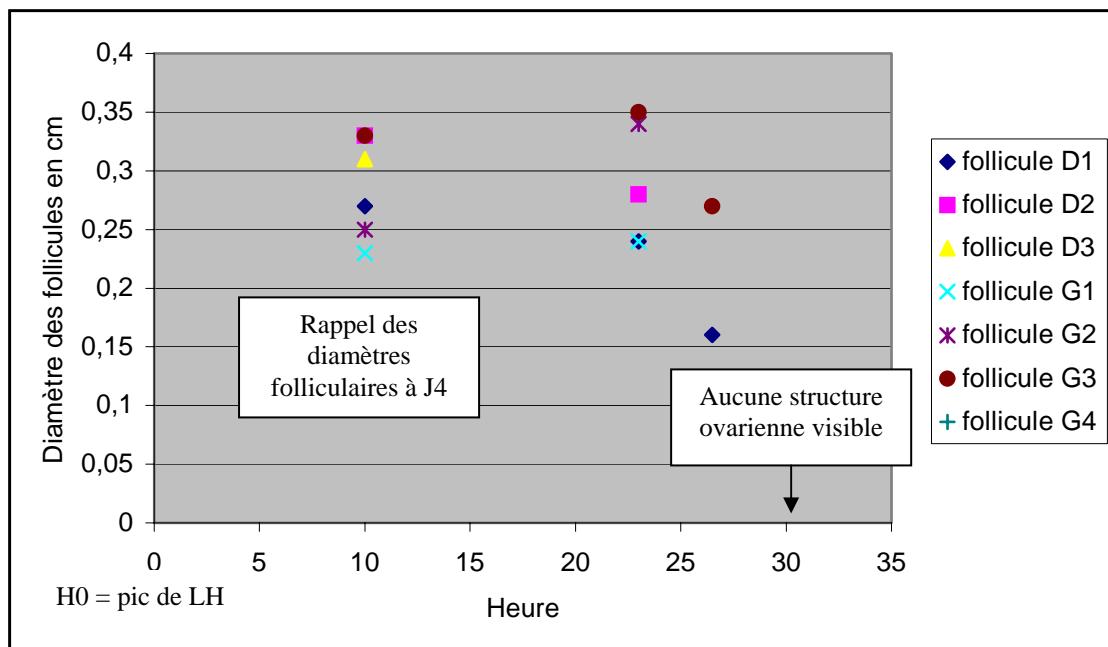
2.2.1.4.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H25. La sonde est introduite dans le vagin sur 3,5 cm. Un léger reflux est observé.

2.2.1.4.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle de l'ovulation est effectué par échographie à H23, à H26,5 et H30 (Figure 26). A H23, cinq follicules sont visibles. Leurs diamètres sont compris entre 0,24 et 0,35 cm. A H26,5 il n'y a plus que deux follicules visibles. Leurs diamètres sont de 0,16 et 0,27 cm. A H30, il n'y a plus aucun follicule dans les ovaires. L'ovulation a eu lieu.

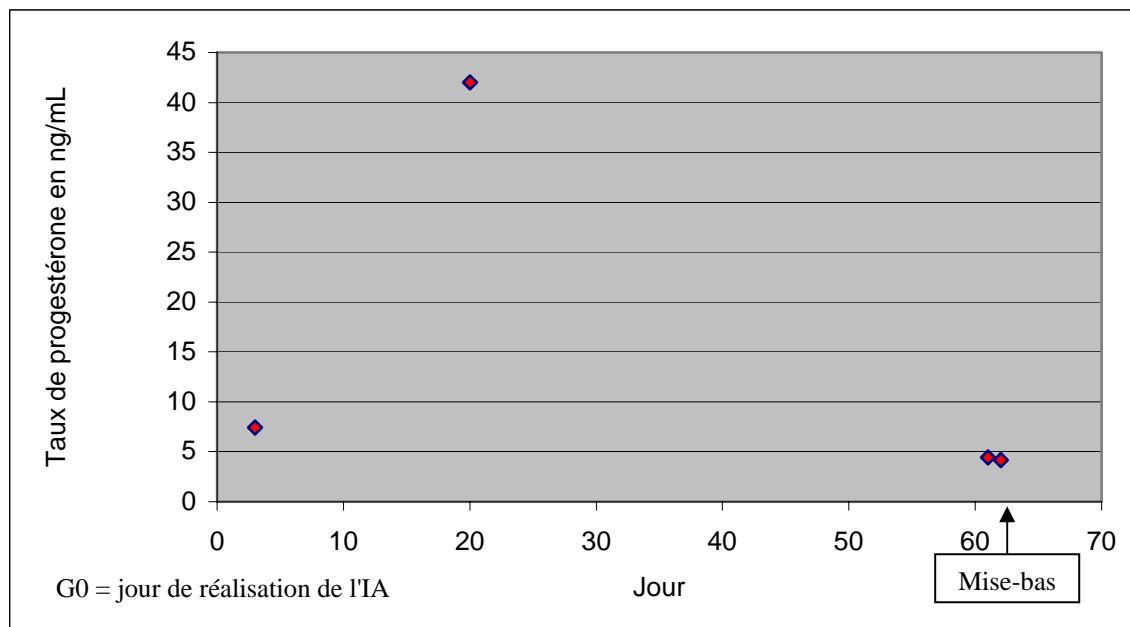
Figure 26 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°4.



2.2.1.4.6. Dosage de progestérone

A G3, la progestéronémie est de 7,41 ng/mL. L'ovulation a donc eu lieu. La veille de la mise-bas, la progestéronémie est de 4,18 ng/mL (Figure 27).

Figure 27 : Courbe de la progestéronémie lors du cycle n°4.



2.2.1.4.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est effectué à G9. Une structure circulaire anéchogène mesurant 0,13 cm de diamètre est visualisée dans la corne utérine droite. Dans la corne utérine gauche, on observe une structure identique de 0,15 cm de diamètre. A G10, les deux structures mesurent 0,34 cm de diamètre. A G13, leurs tailles sont de 0,57 et 0,63 cm. La chatte est donc gestante et deux fœtus sont identifiables.

La mise-bas a lieu à G63. La portée est composée de deux chatons mâles.

2.2.1.5. Cycle n°5 : Aby, 2^{ème} cycle.

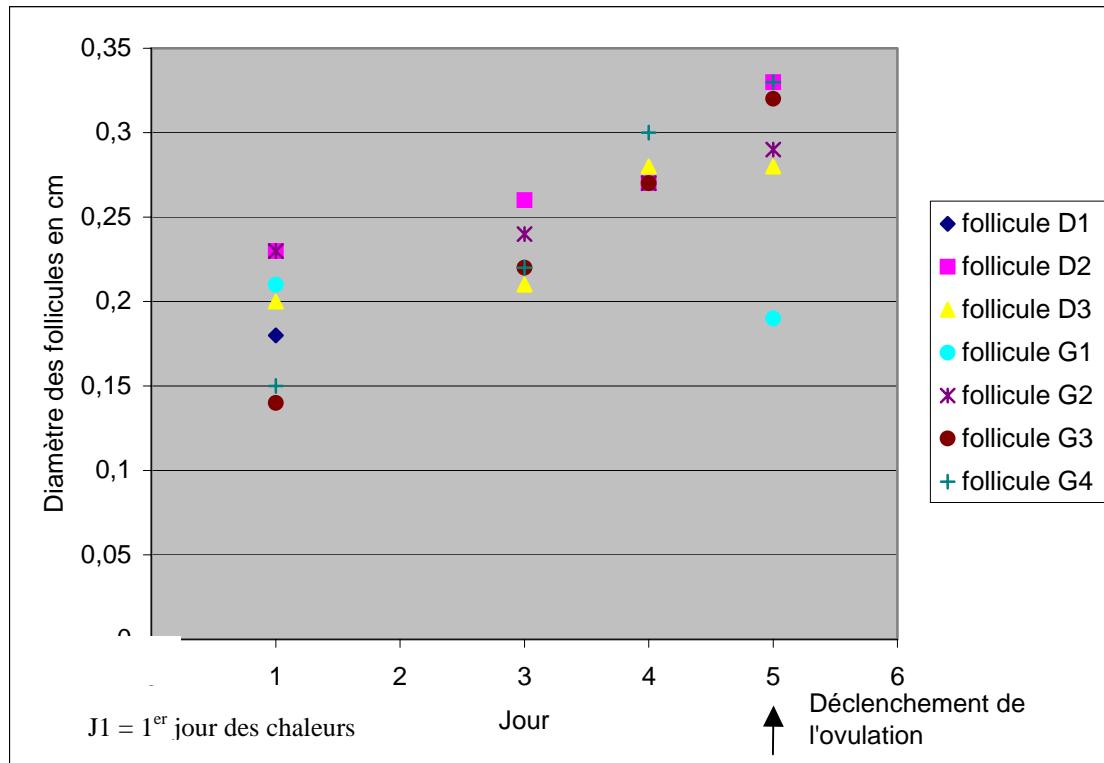
Aby est observée comme étant en chaleurs le 10 décembre 2001. Le frottis réalisé le jour même n'est pas compatible avec une phase d'œstrus. Le 12 décembre, soit deux jours plus tard, la chatte présente toujours un comportement de chaleurs et le frottis réalisé ce jour-là est un frottis typique d'œstrus.

2.2.1.5.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le premier jour où le comportement d'œstrus est observé, l'échographie ovarienne montre la présence de petits follicules (trois follicules dans l'ovaire droit, quatre dans l'ovaire gauche). Leurs diamètres sont compris entre 0,14 et 0,23 cm. Devant la faible taille de ces follicules,

l'échographie de suivi est réalisée à J3. Les diamètres sont alors de 0,21 à 0,26 cm. A J4, un seul follicule a un diamètre de 0,30 cm. On attend le lendemain pour déclencher l'ovulation. Les follicules ont alors des diamètres compris entre 0,19 et 0,33 cm (Figure 28).

Figure 28 : Maturation folliculaire lors du cycle n°5.



2.2.1.5.2. Déclenchement de l'ovulation

L'ovulation est déclenchée à J5 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux.

2.2.1.5.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé sur Charden à H25,5. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XII.

Tableau XII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°5

Volume recueilli	0,25 mL
Mobilité	70%
Spermatozoïdes normaux	70%
Acrosomes intacts	95%
Concentration	28 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	7 millions

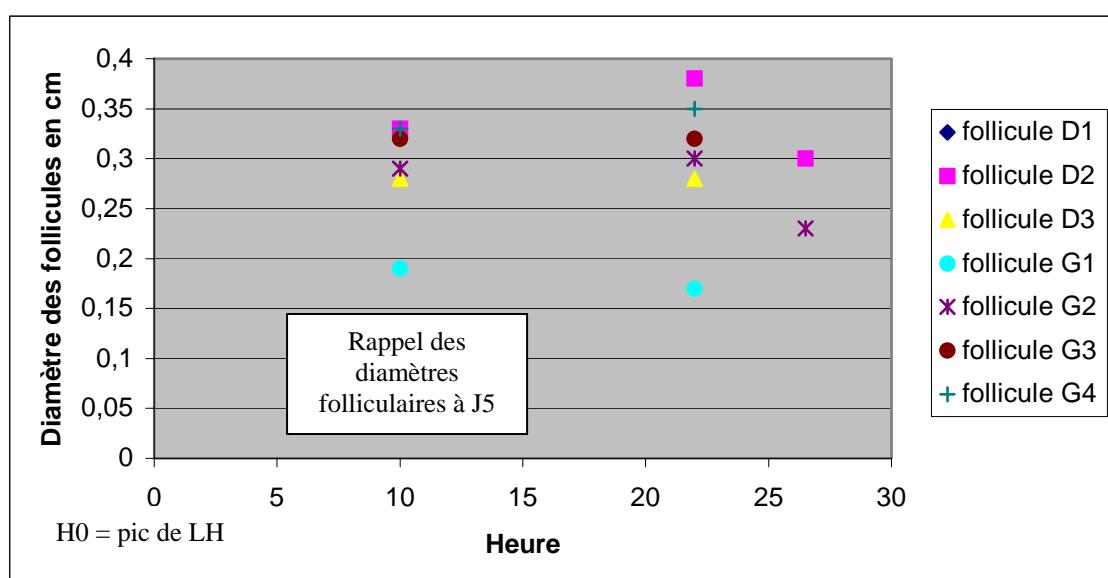
2.2.1.5.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H26. La sonde d'insémination est introduite dans le vagin sur 4,5 cm. Aucun reflux n'est observé.

2.2.1.5.5. Contrôle de l'ovulation

Le suivi échographique est réalisé à H22 et à H26,5 (Figure 29). A H22, six follicules sont identifiables. Leurs diamètres sont compris entre 0,17 et 0,38 cm. A H26,5 il ne reste qu'un follicule visible dans chaque ovaire. Les diamètres sont de 0,30 et 0,23 cm. On considère que l'ovulation a eu lieu.

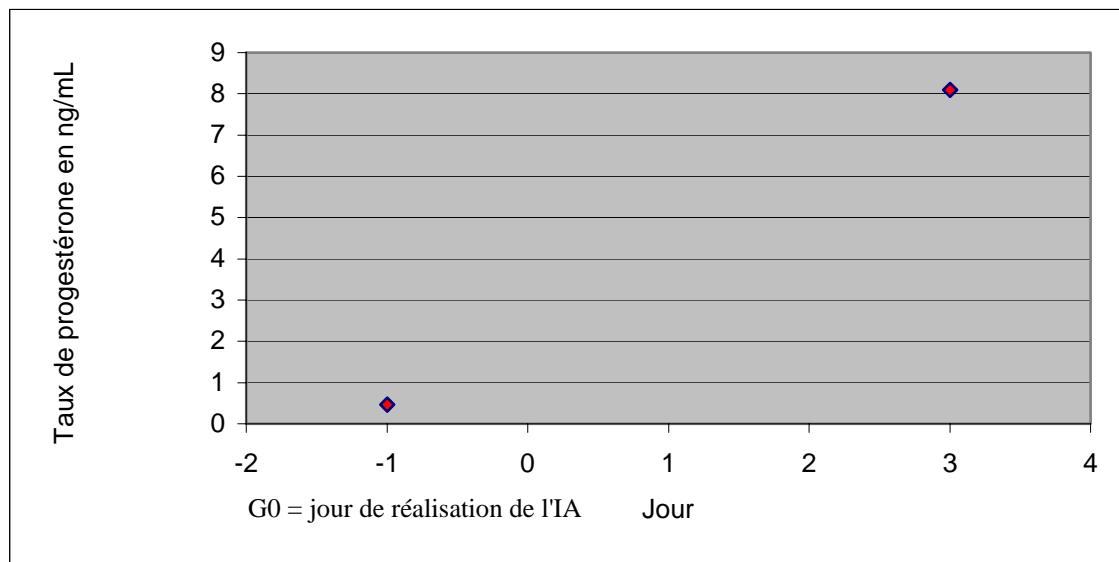
Figure 29 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°5.



2.2.1.5.6. Dosage de progestérone

Le dosage de la progestérone est effectué le jour du déclenchement de l'ovulation et à G3. Le taux de 0,47 ng/mL le jour de la stimulation indique que l'ovulation n'a pas encore eu lieu alors que le taux de 8,09 ng/mL à G3 indique que celle-ci a effectivement eu lieu (Figure 30).

Figure 30 : Progestéronémie au cours du cycle n°5.



2.2.1.5.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est effectué à G11 et est confirmé à G18. Aucune structure anéchogène n'est visible dans les cornes utérines. La chatte n'est pas gestante.

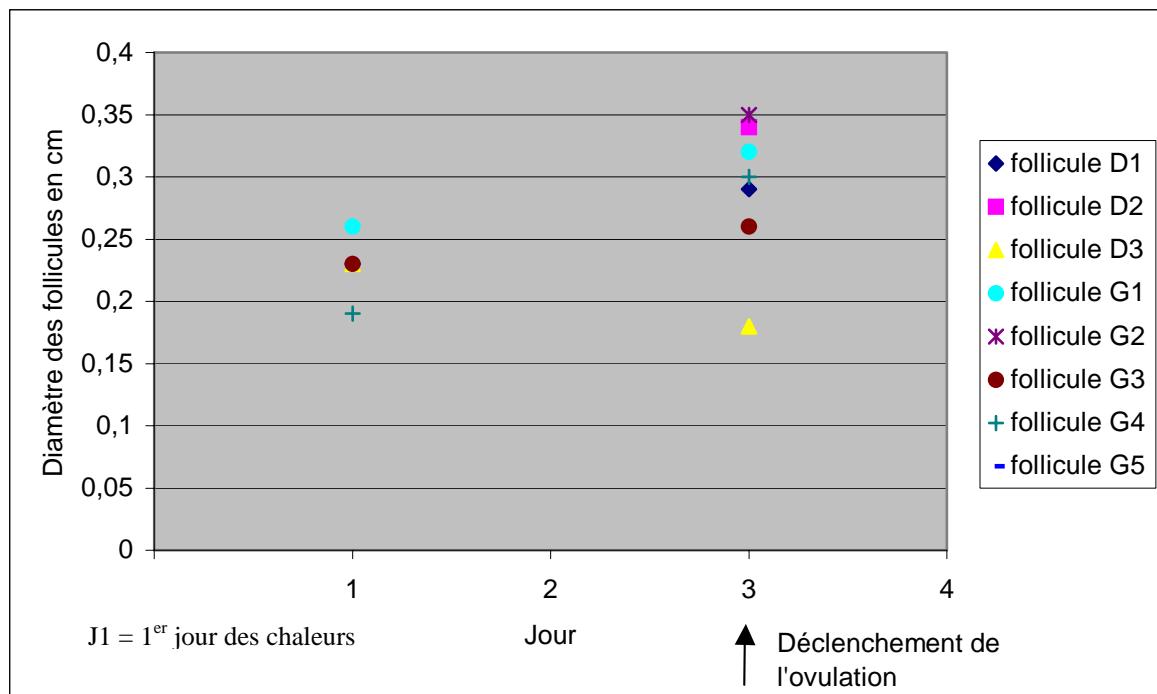
2.2.1.6. Cycle n°6 : Yseult

Yseult, une chatte de race Abyssin, présente un comportement de chaleurs le 13 décembre. Un frottis est réalisé le jour même et est compatible avec une phase d'œstrus.

2.2.1.6.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le premier jour des chaleurs, 7 follicules sont visualisés (seuls 5 sont mesurés). Leurs diamètres varient de 0,19 à 0,26 cm. Devant le diamètre relativement faible des follicules, on ne réalise pas d'échographie le lendemain. A J3, 4 follicules ont des diamètres supérieurs à 0,30 cm (le plus gros a un diamètre de 0,35 cm). On décide alors de déclencher l'ovulation le jour même (Figure 31).

Figure 31 : Maturation folliculaires lors du cycle n°6.



2.2.1.6.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisé à J3 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux.

2.2.1.6.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé sur Stone à H24,5. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XIII.

Tableau XIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°6

Volume recueilli	0,35 mL
Mobilité	70%
Spermatozoïdes normaux	70%
Acrosomes intacts	85%
Concentration	26 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	9 millions

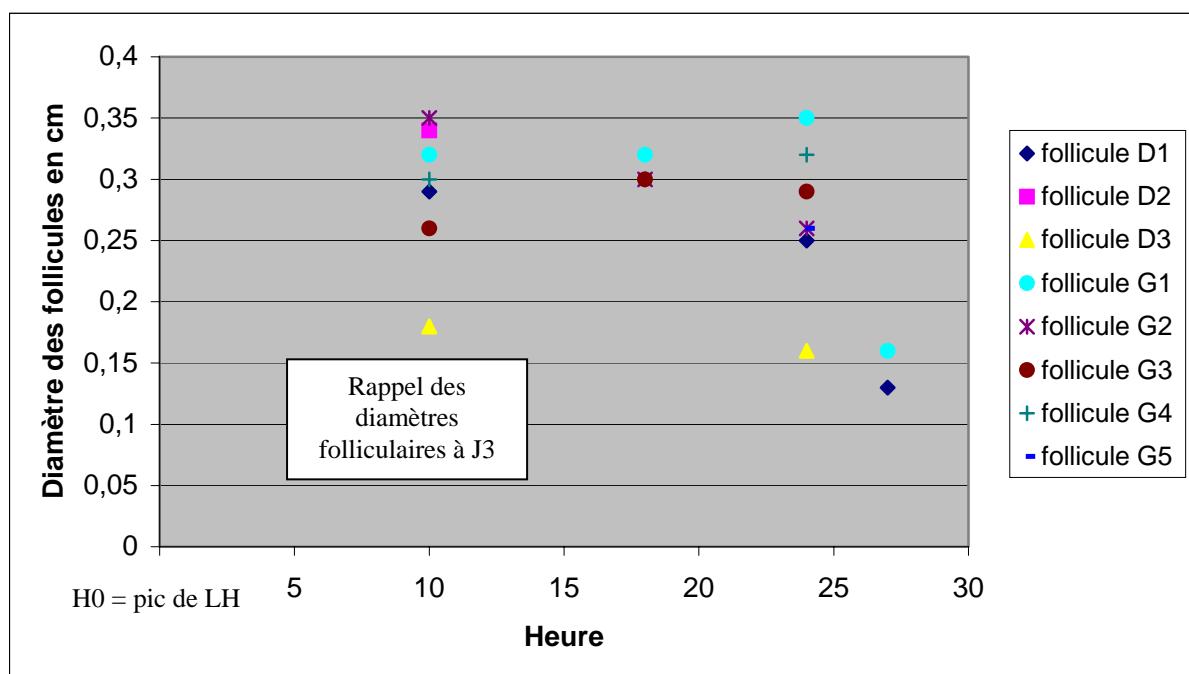
2.2.1.6.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H25 en introduisant la sonde d'insémination sur 2,5 cm. Un reflux modéré est observé.

2.2.1.6.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle de l'échographie est réalisé à H18, à H24 et à H27 (Figure 32). A H24, sept follicules sont visualisés. Leurs diamètres varient de 0,16 à 0,35 cm. A H27, deux follicules seulement sont identifiés dans l'ovaire gauche. Leurs diamètres sont de 0,13 et 0,16 cm. On considère que l'ovulation a eu lieu.

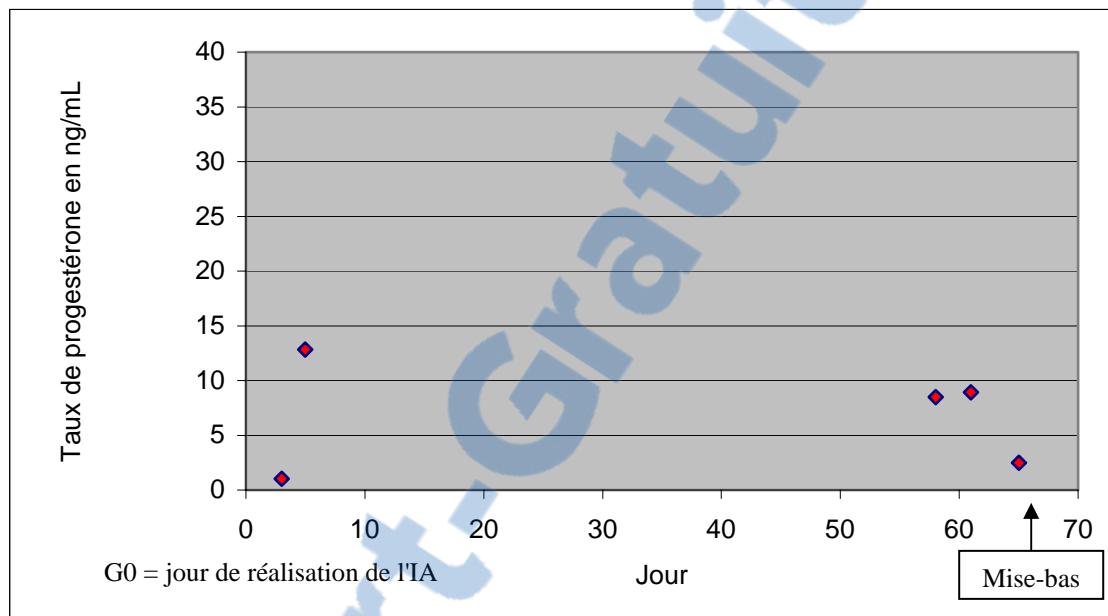
Figure 32 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°6.



2.2.1.6.6. Dosage de progestérone

A G2, le taux de progestérone plasmatique est de 1,04 ng/mL. L'ovulation a donc eu lieu. A G4, le taux est de 12,84 ng/mL ce qui indique que la progestéronémie relevée à G2 était bien due à une phase lutéale débutante. La veille de la mise-bas, le taux de progestérone est de 2,5 ng/mL (Figure 33).

Figure 33 : Progestéronémie lors du cycle n°6.



2.2.1.6.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation effectué par échographie à G9 laisse supposer que la chatte n'est pas gestante. Un deuxième diagnostic de gestation est réalisé par échographie à G17 et montre la présence de deux embryons. La chatte met bas deux chatons (un mâle et une femelle) à G65 (G0 étant le jour de l'insémination).

2.2.1.7. Cycle n°7 : Beth, 2^{ème} cycle.

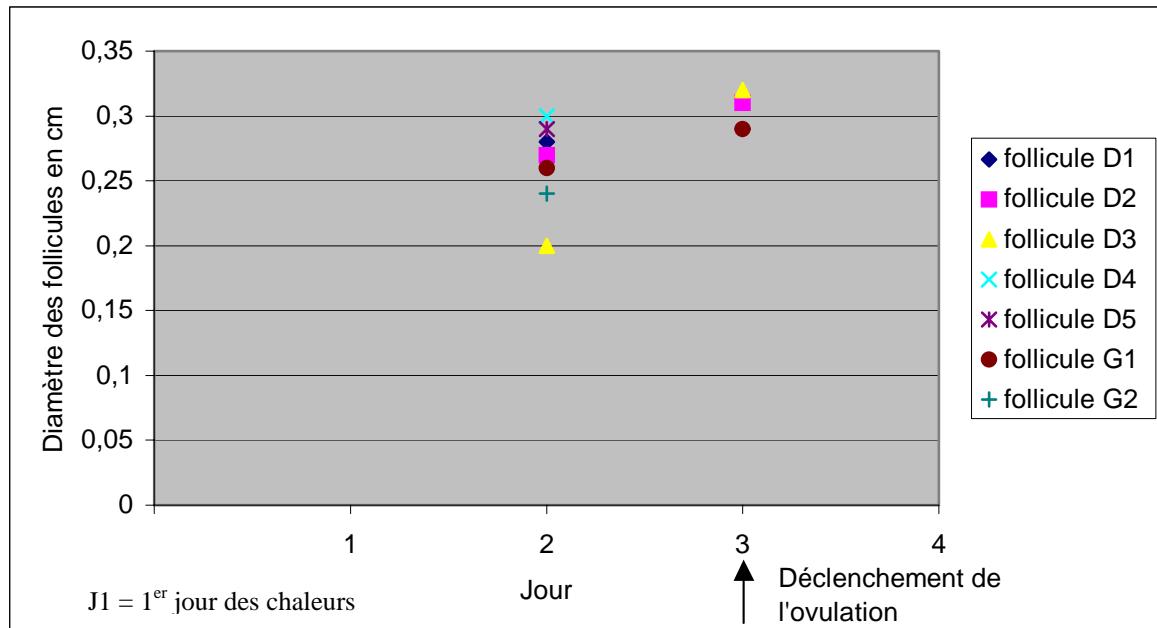
Beth est vue de nouveau en chaleurs le 7 février 2002. Un frottis confirme la phase oestrale.

2.2.1.7.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le 1^{er} jour de l'oestrus, on ne réalise pas d'échographie ovarienne. A J2, les diamètres folliculaires des 7 follicules observés sont compris entre 0,2 et 0,3 cm (un seul follicule ayant un

diamètre de 0,30 cm). A J3, sur les quatre follicules visualisés, deux ont un diamètre supérieur à 0,30 cm. Le déclenchement de l'ovulation est réalisé le jour même (Figure 34).

Figure 34 : Maturation folliculaire lors du cycle n°7.



2.2.1.7.2. Déclenchement de l'ovulation

L'ovulation est déclenchée à J3 par cinq stimulations vaginales.

2.2.1.7.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est effectué à H23,5 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XIV.

Tableau XIV : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°7

Volume recueilli	0,3 mL
Mobilité	80% à 90%
Spermatozoïdes normaux	67%
Concentration	23 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	6,9 millions

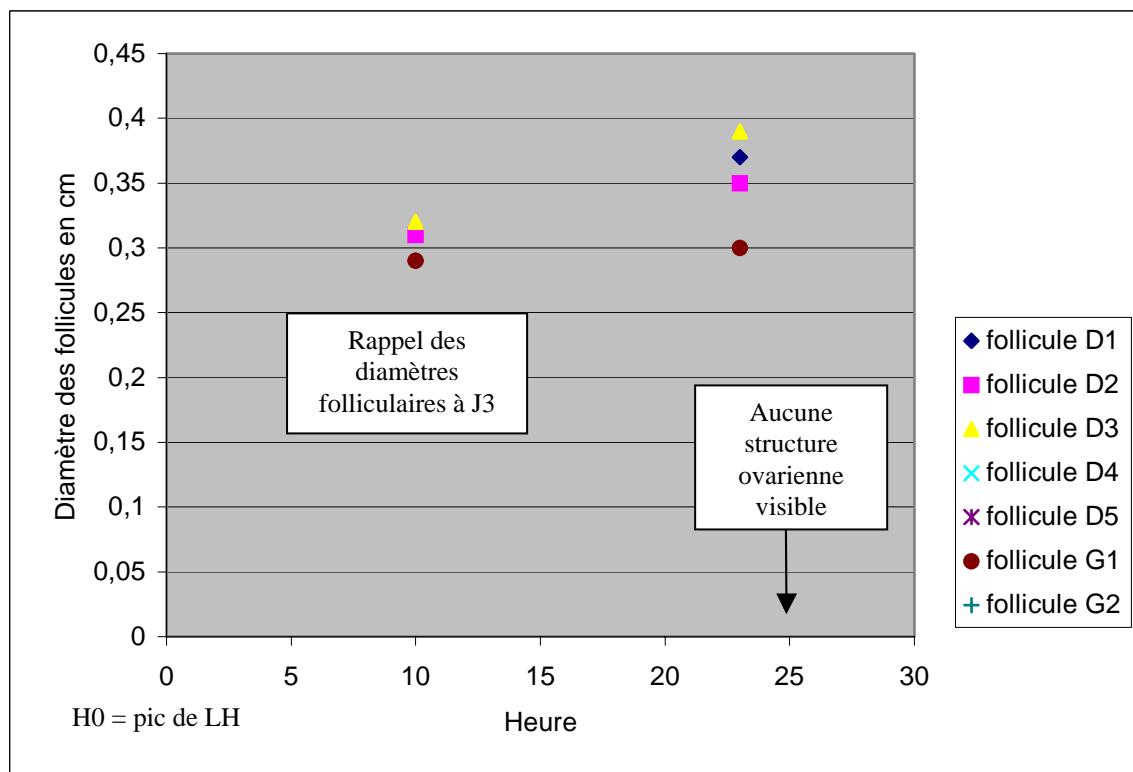
2.2.1.7.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H24. La sonde est introduite de 3 cm dans le vagin et un léger reflux est observé.

2.2.1.7.5. Contrôle de l'ovulation

A H23, il n'y a plus que quatre follicules de visibles (trois dans l'ovaire droit et un seul dans l'ovaire gauche). Leurs diamètres sont compris entre 0,30 et 0,39 cm. A H25, il n'y a plus aucune structure identifiable dans les ovaires (Figure 35). On considère que l'ovulation a eu lieu.

Figure 35 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°7.



2.2.1.7.6. Dosage de progestérone

La progestéronémie est mesurée à G2. La valeur de 3.82 ng/mL nous confirme que la chatte a ovulé.

2.2.1.7.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est réalisé à G11. La chatte n'est pas gestante. Ce diagnostic est confirmé à G18.

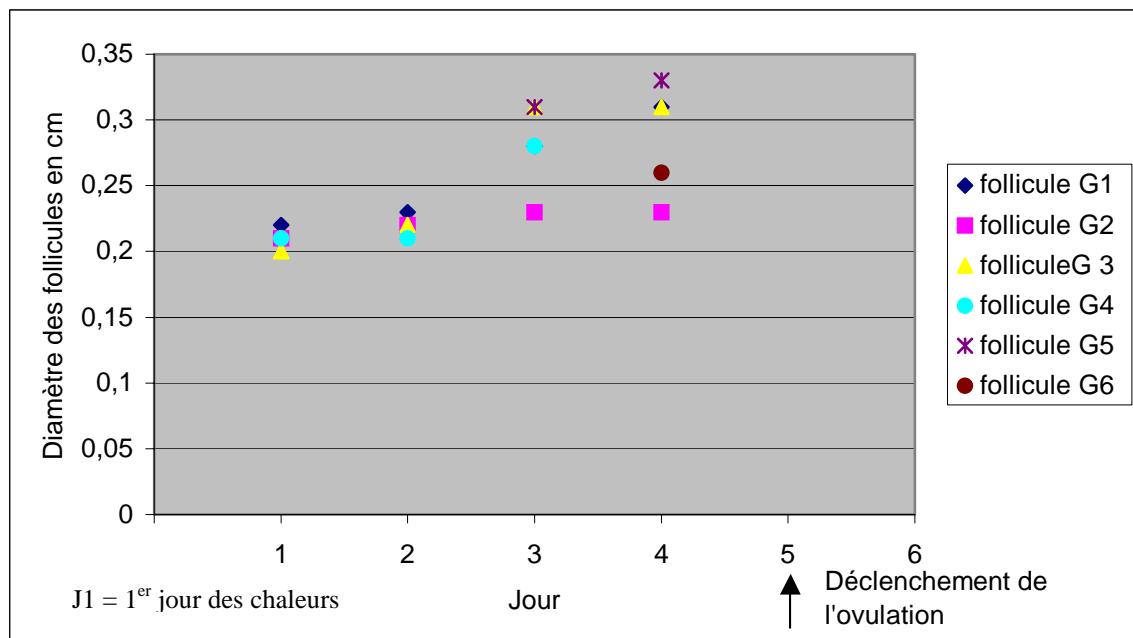
2.2.1.8. Cycle n°8 : Aby, 3^{ème} cycle.

Aby est vue de nouveau en chaleurs le 29 janvier 2002. Le frottis réalisé ce jour là est un frottis d'interoestrus. Il faut attendre le 31 janvier pour avoir un frottis d'œstrus et un comportement de chaleurs. On appelle J1 le jour où le frottis et le comportement sont compatibles avec une phase d'œstrus.

2.2.1.8.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

A J1, on observe au moins 7 follicules dans l'ovaire gauche et aucun dans l'ovaire droit. Seuls quatre follicules sont mesurés. Leurs diamètres sont compris entre 0,2 et 0,22 cm. A J2, les diamètres sont compris entre 0,21 et 0,23 cm. Devant la faible taille des follicules on ne réalise pas d'échographie ovarienne le lendemain. A J4, les diamètres sont compris entre 0,23 et 0,31 cm. Le déclenchement de l'ovulation est réalisé le lendemain. Ce jour-là, les follicules ont sensiblement les mêmes tailles qu'à J3. Durant tout le suivi de la maturation folliculaire, aucun follicule n'a pu être identifié dans l'ovaire droit (Figure 36).

Figure 36 : Maturation folliculaire lors du cycle n°8.



2.2.1.8.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisé à J5.

2.2.1.8.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé sur Stone à H24,5. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XV.

Tableau XV : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°8

Volume recueilli	0,3 mL
Mobilité	80%
Spermatozoïdes normaux	70%
Acrosomes intacts	95%
Concentration	14 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	4 millions

2.2.1.8.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H25. La sonde est introduite dans le vagin sur 3 cm. Un léger reflux est observé.

2.2.1.8.5. Contrôle de l'ovulation

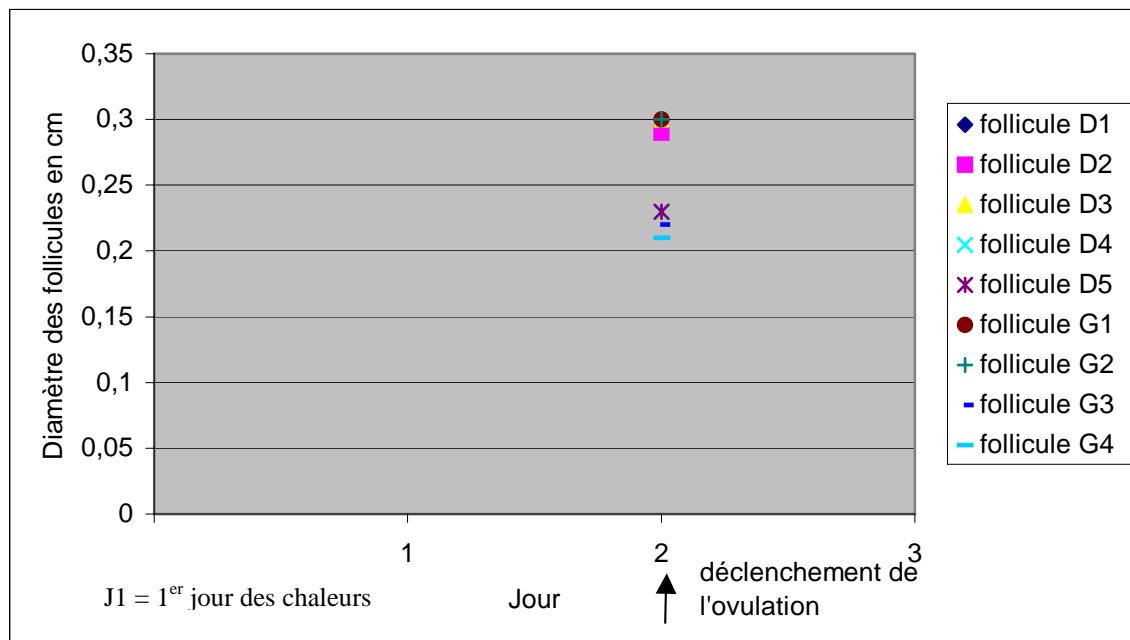
Le contrôle de l'ovulation est effectué à H22 et à H26,5 (Figure 37). A H22, on constate que de nombreux follicules volumineux sont visibles dans l'ovaire gauche. Leurs diamètres varient entre 0,26 et 0,35. A H26,5 on ne voit plus aucune structure dans les ovaires. On considère que l'ovulation a eu lieu.

Figure 37 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°8.

2.2.1.9.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

La première échographie est réalisée à J2. Dans l'ovaire droit on observe 5 follicules dont les diamètres varient de 0,23 à 0,30 cm. dans l'ovaire gauche on mesure 4 follicules de diamètres compris entre 0,21 et 0,30 cm (Figure 38). On décide de déclencher l'ovulation le jour même.

Figure 38 : Maturation folliculaire lors du cycle n°9



2.2.1.9.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est fait à J2 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux chez la propriétaire. Cinq stimulations sont réalisées en 2 heures. Aucune des stimulations n'est suivie d'une réponse post-coïtale typique. On centre H0 sur les cinq stimulations.

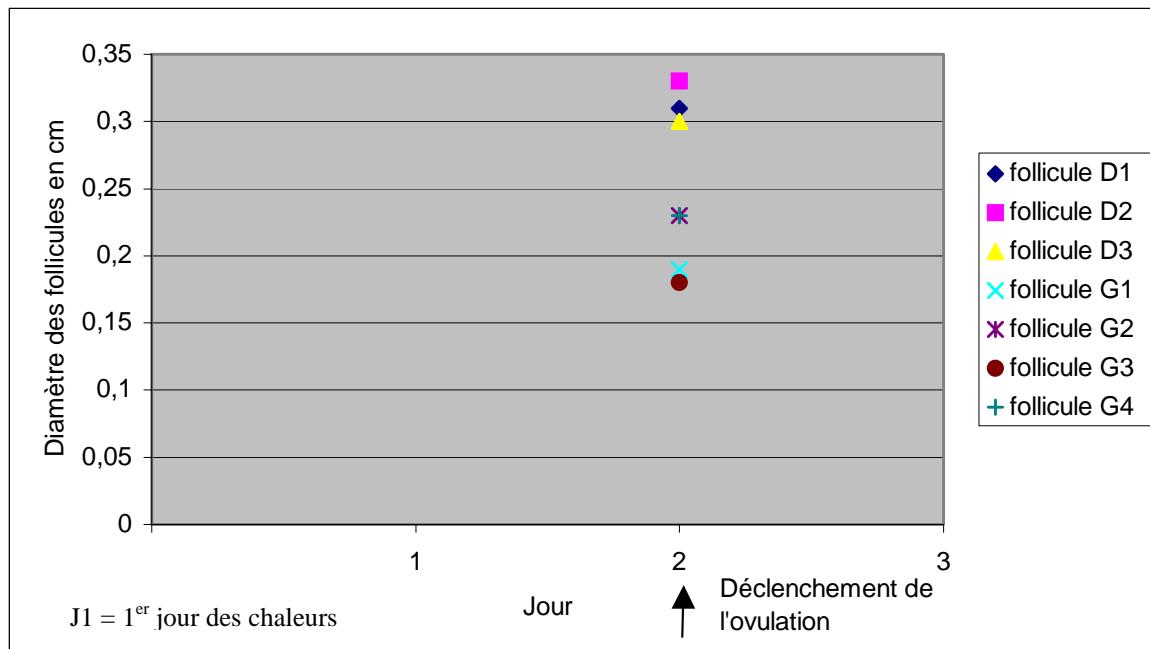
2.2.1.9.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H20 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XVI.

Tableau XVI : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°9

Volume recueilli	8,125 mL	0
Mobilit		

Figure 39 : Maturation folliculaire au cours du cycle n°10.



2.2.1.10.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisé à J2 par stimulation mécanique des récepteurs vaginaux au domicile de la chatte pour limiter le stress de cet animal assez craintif. Quatre stimulations sont réalisées à une demi-heure d'intervalle. Seule une stimulation est suivie d'un comportement évoquant le comportement typique post-coïtal. On centre H0 sur les quatre stimulations.

2.2.1.10.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est effectué à H23,5 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XVII.

Tableau XVII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°10

Volume recueilli	0,3 mL
Mobilité	90%
Spermatozoïdes normaux	67%
Acrosomes intacts	98%
Concentration	100 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	30 millions

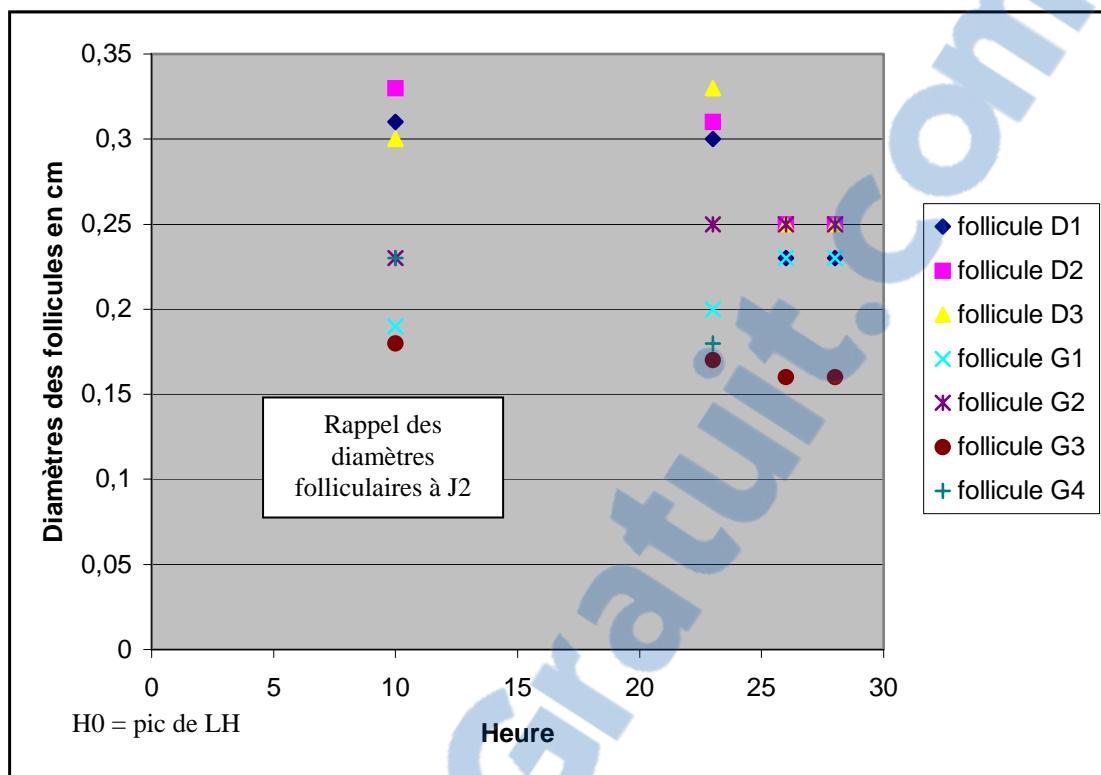
2.2.1.10.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H24. La sonde d'insémination est introduite de 3 cm dans le vagin. Un reflux assez important est observé.

2.2.1.10.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle échographique de l'ovulation est réalisé à H23, à H26 et à H28 (Figure 40). A H23, les follicules ont des diamètres comparables à ceux observés le jour de la stimulation. On constate à H28 que tous les follicules sont encore présents bien que de tailles assez modestes (comprises entre 0,16 et 0,25 cm). On considère que l'ovulation n'a pas eu lieu.

Figure 40 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°10.



2.2.1.10.6. Dosage de progestérone

Un dosage de progestérone est réalisé à G7 afin de vérifier l'absence d'ovulation. Le taux de progestérone de 0,177 ng/mL confirme que l'ovulation n'a pas eu lieu.

2.2.1.11. Cycle n°11 : Noumène, 2^{ème} cycle

Noumène est de nouveau observée comme étant en chaleurs le 26 mars 2002 par sa propriétaire.

2.2.1.11.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

La première échographie ovarienne est réalisée le 2^{ème} jour des chaleurs. Dans l'ovaire droit, les follicules sont très gros (diamètres compris entre 0,46 et 0,54 cm). Il est difficile de distinguer les contours des follicules et il n'est pas impossible que certains follicules soient sommés. Dans l'ovaire gauche, les diamètres varient de 0,2 à 0,25 cm. A J4, on constate que dans l'ovaire droit, les follicules sont plus nombreux et plus petits que ce qu'on avait tout d'abord visualisé (4 follicules dont les diamètres varient de 0,27 à 0,41 cm). Il y avait donc bien sommation. Dans l'ovaire gauche, les diamètres varient de 0,2 à 0,27 cm. On décide de stimuler le jour même.

2.2.1.11.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est réalisé à J4 par la propriétaire de la chatte à son domicile afin de diminuer le stress. Cinq stimulations sont réalisées en 2 heures à une demi-heure d'intervalle. Toutes les stimulations sont suivies d'un comportement typique post-coïtal. On centre H0 sur les cinq stimulations.

2.2.1.11.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H23,5 sur Charden. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XVIII.

Tableau XVIII : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°11

Volume recueilli	0,1 mL
Mobilité	60%
Spermatozoïdes normaux	65%
Acrosomes intacts	95%
Concentration	45 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	4,5 millions

2.2.1.11.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H24. La sonde d'insémination est introduite de 3 cm dans le vagin. Aucun reflux n'est observé.

2.2.1.11.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle de l'ovulation est effectué à H21, à H25, à H27,5 et à H29. On constate qu'à H29, tous les follicules sont encore présents et volumineux. On considère que l'ovulation n'a pas eu lieu. On conseille alors à la propriétaire de réitérer les stimulations qui sont toutes suivies d'un comportement typique post-coïtal.

2.2.1.11.6. Dosage de progestérone

Aucun dosage de progestérone n'a été réalisé sur cette chatte lors de ce cycle.

2.2.1.11.7. Diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est effectué à G47 par palpation abdominale et est confirmé par échographie. Deux fœtus sont identifiés. La mise-bas a lieu à G65.

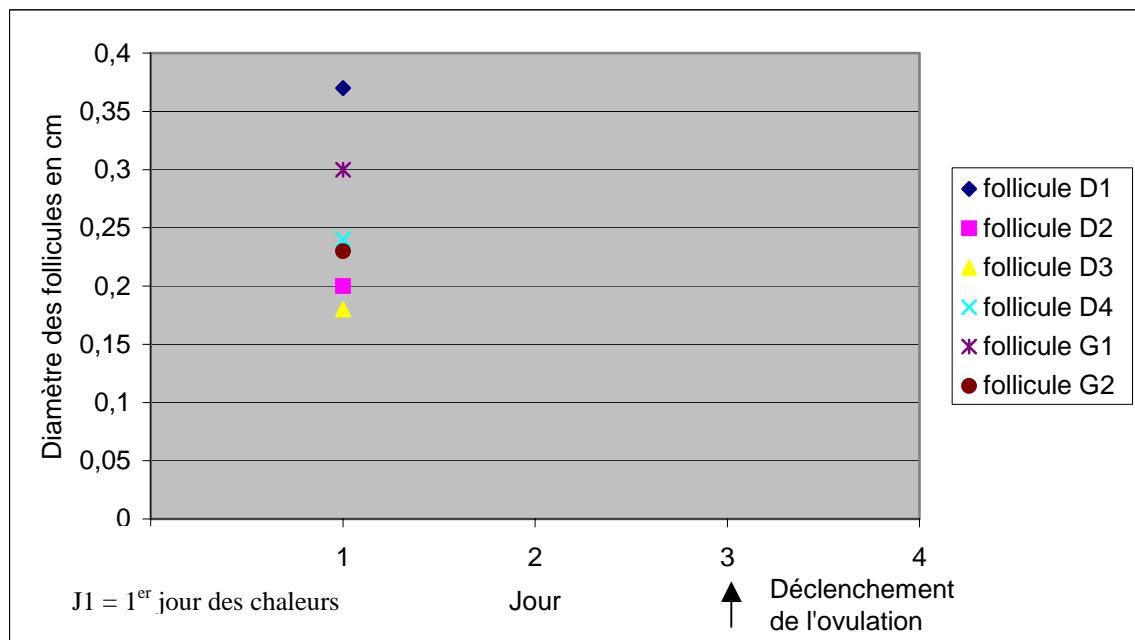
2.2.1.12. Cycle n°12 : Pussy

Pussy est observée en chaleurs le 26 mars 2002. Le frottis réalisé ce jour est un frottis d'œstrus. Les frottis réalisés les jours précédents étaient des frottis d'interœstrus.

2.2.1.12.1. Suivi échographique de la maturation folliculaire

Le premier jour des chaleurs, l'échographie ovarienne révèle des follicules de très gros diamètres. Dans l'ovaire droit, les diamètres varient de 0,18 à 0,37 cm. Dans l'ovaire gauche, les diamètres sont de 0,23 et 0,30 cm (Figure 41). L'ovulation est déclenchée deux jours plus tard.

Figure 41 : Maturation folliculaire lors du cycle n°12.



2.2.1.12.2. Déclenchement de l'ovulation

Le déclenchement de l'ovulation est effectué à J3 suivant le protocole décrit.

2.2.1.12.3. Qualité de la semence

Le prélèvement est réalisé à H26,5 sur Stone. Les caractéristiques de la semence sont présentées dans le Tableau XIX.

Tableau XIX : Caractéristiques de la semence utilisée pour l'insémination lors du cycle n°12

Volume recueilli	0,3 mL
Mobilité	70%
Spermatozoïdes normaux	61%
Acrosomes intacts	98%
Concentration	24 millions de spermatozoïdes par mL
Nombre de spermatozoïdes inséminés	7,2 millions

La mobilité est bonne (70% des spermatozoïdes sont mobiles). 61% des spermatozoïdes sont normaux et 98% des acrosomes sont intacts. La concentration est de 24 millions de spermatozoïdes par mL et donc 7,2 millions de spermatozoïdes sont inséminés dans les 0,3mL du prélèvement.

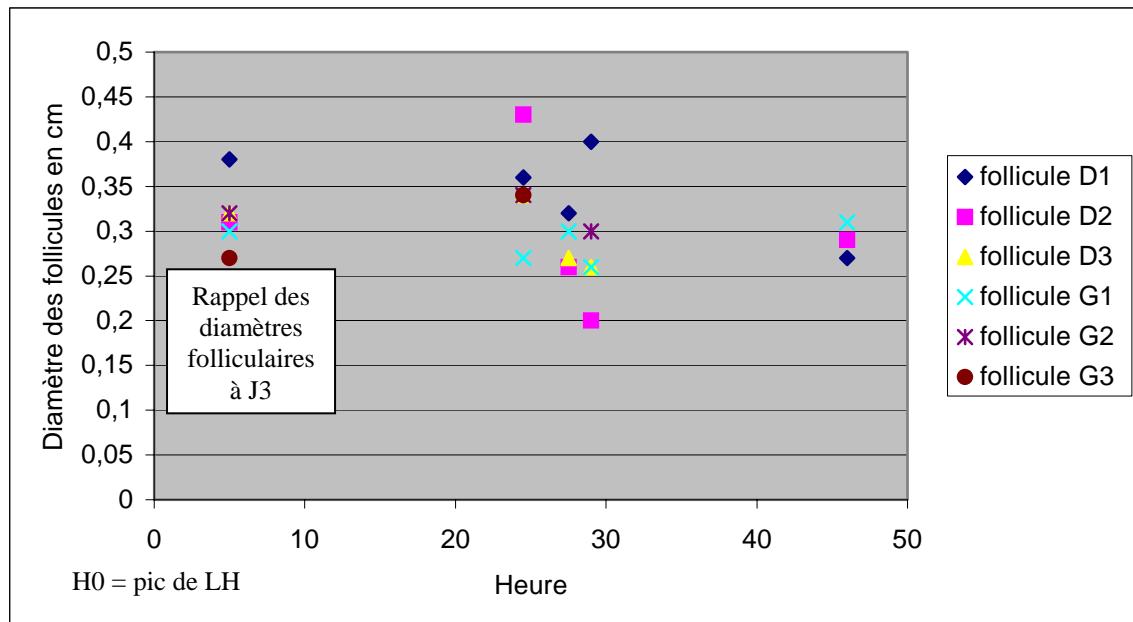
2.2.1.12.4. Réalisation de l'insémination

L'insémination est réalisée à H27. La sonde est introduite de seulement 1 cm dans le vagin de la femelle qui se débat. Un reflux important est observé.

2.2.1.12.5. Contrôle de l'ovulation

Le contrôle de l'ovulation est réalisé dès H5 car la taille très élevée des follicules nous fait craindre une ovulation spontanée, puis à H24,5 à H27,5 à H29 et à H46 (Figure 42). Bien qu'à partir de H27,5 la taille des follicules diminuent, ils restent bien visibles jusqu'à H46. On considère que l'ovulation n'a pas eu lieu.

Figure 42 : Contrôle échographique de l'ovulation lors du cycle n°12.



2.2.1.12.6. Dosage de progestérone

Un dosage de progestérone est effectué à G8 pour confirmer l'absence d'ovulation. Le résultat de 0,19 ng/mL confirme qu'il n'y a pas eu ovulation.

2.2.2. Synthèse des résultats

2.2.2.1. Suivi de la maturation folliculaire

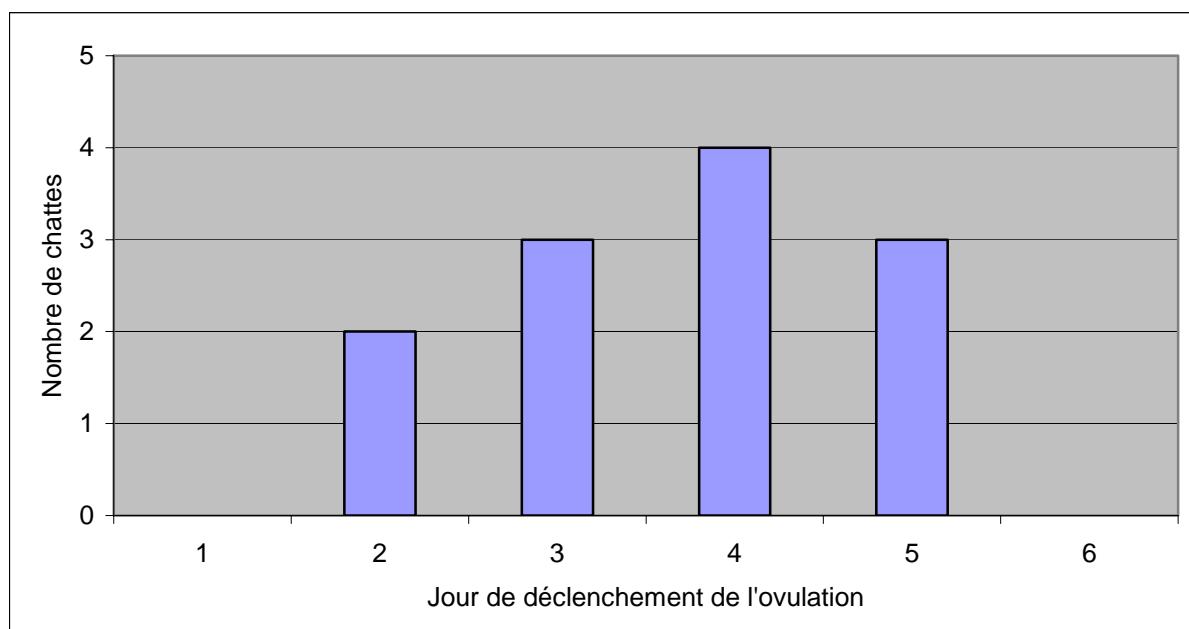
2.2.2.1.1. Maturation folliculaire

Nous avons constaté que chez toutes les chattes dont les ovaires ont été observés à l'échographie le 1^{er} jour des chaleurs (soit 7 sur 12), des follicules de diamètres supérieurs à 0,20 cm étaient visualisables. Ceci confirme les résultats trouvés par Froment (28). Nous avons également constaté que la taille des follicules augmente régulièrement lors de la maturation folliculaire.

2.2.2.1.2. Jours de déclenchement de l'ovulation

Suivant les cycles, le jour décidé pour le déclenchement de l'ovulation varie du 2^{ème} au 5^{ème} jour après le début du comportement d'oestrus (Figure 43).

Figure 43 : Variation du jour décidé pour le déclenchement de l'ovulation par rapport au début du comportement d'oestrus.



Dans les cas où le déclenchement de l'ovulation n'a eu lieu que le 5^{ème} jour (3 cycles), un follicule de 0,3 cm de diamètre était déjà observé la veille (cycle n°3), voire l'avant-veille (cycle

n°5 et n°8). Toutefois, la croissance folliculaire s'est poursuivie jusqu'à ce qu'on décide de stimuler (soit J5).

2.2.2.2. Déclenchement de l'ovulation

2.2.2.2.1. Appréciation de la réponse post-coïtale

Une réponse post-coïtale typique a été observée dans 10 cas sur 12.

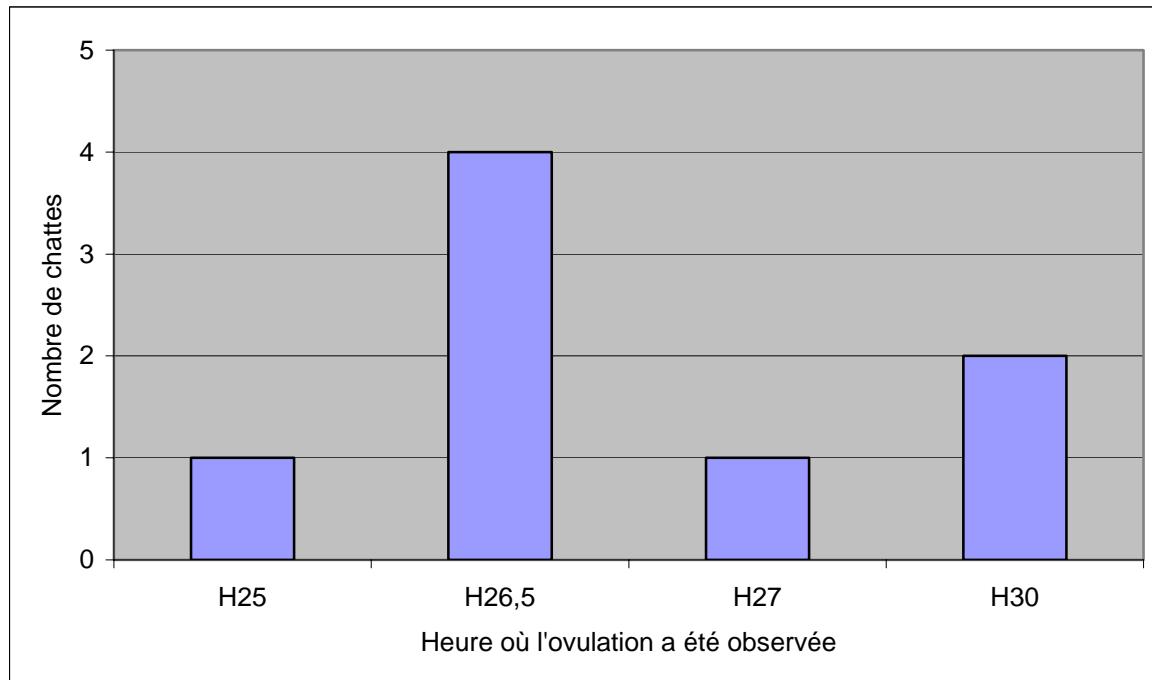
2.2.2.2.2. Ovulation

Dans 3 cycles sur 12 (cycles n°9,10 et 12), aucune modification échographique de la taille ou de l'aspect des follicules n'a été mise en évidence entre la 20^{ème} et la 30^{ème} heure après stimulation (H0). La progestéronémie dans ces trois cycles a confirmé l'absence d'ovulation.

La disparition échographique des follicules est observée dans 8 cycles sur 12 entre la 24^{ème} et la 30^{ème} heure post-stimulation. Dans 6 cycles sur ces 8 cycles, l'ovulation a même eu lieu avant la 27^{ème} heure.

Dans le seul cycle où l'observation échographique de l'ovulation a fait défaut (cycle n°11), la dernière échographie ovarienne a été réalisée 29 heures après les stimulations. Aucun dosage de progestérone n'a été effectué durant ce cycle pour confirmer l'absence d'ovulation. Il faut noter que la propriétaire a stimulé de nouveau la chatte après la dernière échographie.

Figure 44 : Variation de l'heure d'observation de l'ovulation à l'échographie (H0 étant l'heure du pic de LH)



2.2.2.3. Caractéristiques de la semence récoltée

Lors des différents prélèvements, nous avons constaté que les volumes recueillis varient de 0,15 à 0,4 mL avec un volume moyen de $0,296 \pm 0,07$ mL.

La mobilité varie de 60 à 90 % avec une moyenne de 75%.

Le pourcentage d'anomalies est compris entre 15 et 39 % avec une moyenne de $29 \pm 7,47\%$.

Nous notons que suivant les prélèvements, 85 à 98% des acrosomes sont intacts avec une moyenne de $95 \pm 4,12\%$.

La concentration moyenne est de $31,667 \pm 25,16 \times 10^6$ spermatozoïdes par mL avec des variations de 12 à 100 millions de spermatozoïdes par mL.

Le nombre de spermatozoïdes inséminés varie de 4 à 30 millions de spermatozoïdes avec une moyenne de $8,633 \pm 7,28 \times 10^6$ mL.

Tableau XX: Caractéristiques des éjaculats prélevés en vue des 12 inséminations artificielles.

	Volume de sperme en mL	Mobilité	Pourcentage d'anomalies	Intégrité des acrosomes	Concentration en millions de spermatozoïdes par mL	Nombre de spermatozoïdes inséminés en millions
Moyenne	0,292	75%	29%	95%	31,667	8,633
Ecart-type	0,079	9,369%	7,468%	4,116%	25,159	7,281
Maximum	0,4	90%	39%	98%	100	30
Minimum	0,1	60%	15%	85%	12	4

Nous remarquons que ces résultats sont conformes à ceux relevés dans la littérature (voir partie bibliographique).

2.2.2.4. Inséminations artificielles

Certains cycles étant anovulatoires, ils sont exclus de l'étude. Seuls 9 cycles vont donc être exploités pour étudier l'efficacité de notre technique d'insémination artificielle. Il s'agit des cycles de Chagasse, de Pussy et du 1^{er} cycle de Noumène.

2.2.2.4.1. Heure d'insémination

Les inséminations sont réalisées entre H24 et H28 (H0 étant l'heure où est réalisée la 3^{ème} stimulation ; on considère qu'il s'agit du moment où survient le pic de LH). Seule une insémination est réalisée à H28, deux sont réalisées à H24, trois sont réalisées à H25 et trois à H26 (Figure 45).

Figure 45: Variation de l'heure d'insémination post-stimulation et résultats obtenus (H0 étant l'heure du pic de LH)

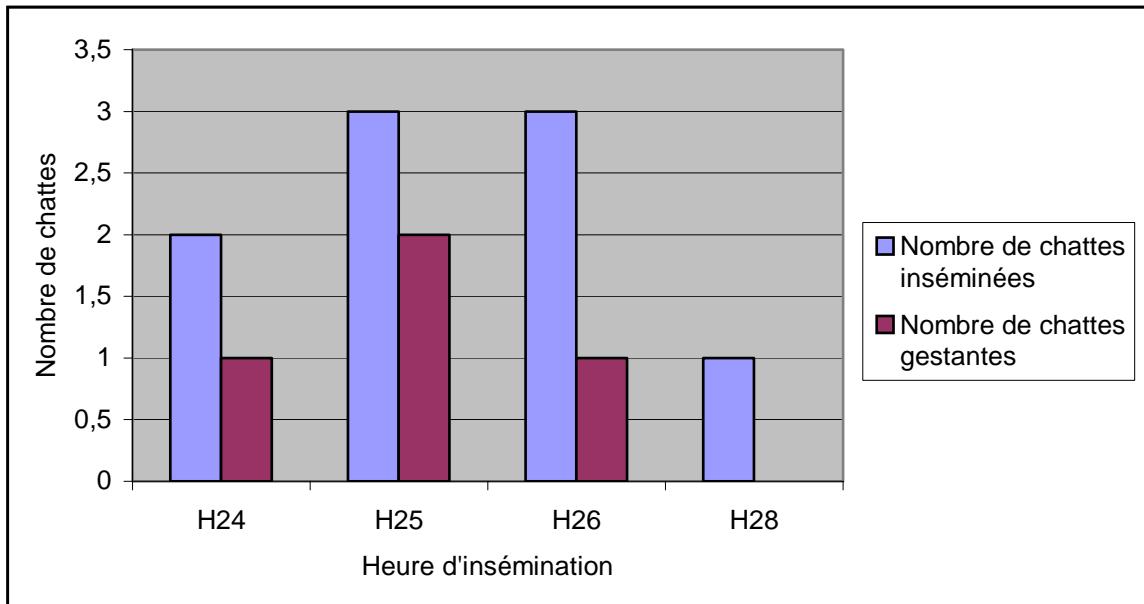
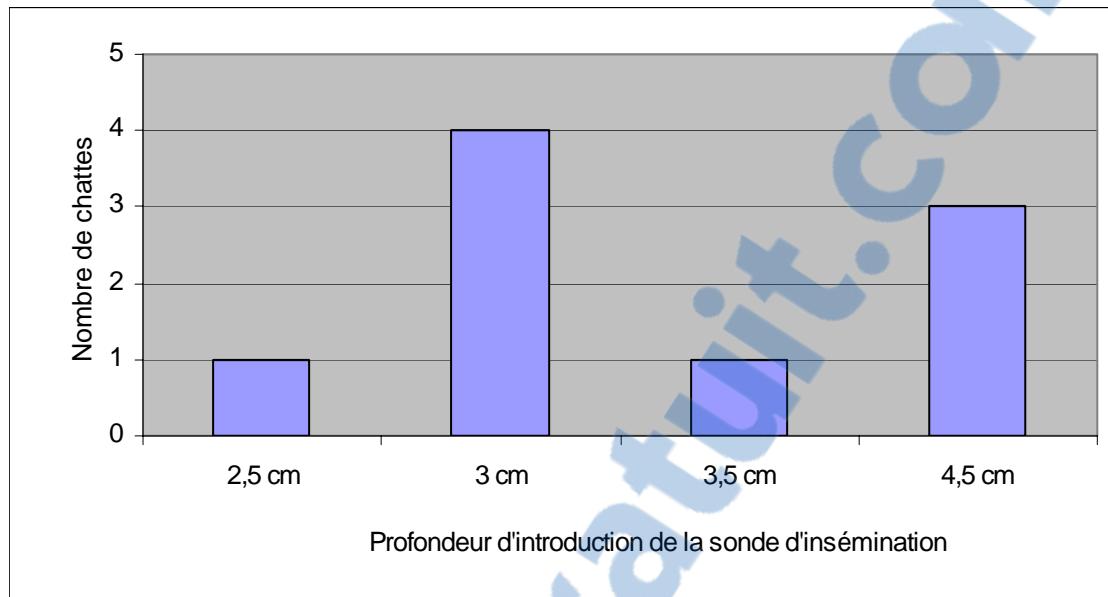


Figure 46: Variation de la profondeur d'introduction de la sonde dans le vagin lors de l'insémination



2.2.2.4.3. Nombre de spermatozoïdes inséminés

Le nombre de spermatozoïdes inséminés varie de 4 à 7,2 millions de spermatozoïdes avec une moyenne de $6,82 \pm 3,2$ millions de spermatozoïdes. Ces chiffres ne tiennent pas compte des reflux qui ont été fréquemment observés lors des inséminations.

2.2.2.4.4. Taux de gestation

Sur 9 chattes inséminées, 4 gestations ont été observées. Le taux de réussite est donc de 44,4%.

2.2.2.4.5. Nombre de petits par portée

Sur les 4 gestations obtenues par insémination artificielle, le nombre de chatons varie de 2 à 4 avec une moyenne de 2,5 chatons.

2.2.2.4.6. Sex ratio

10 chatons sont nés par insémination artificielle. Malheureusement le sexe d'un des chatons n'a pu être déterminé car la femelle a aussitôt dévoré son chaton. Le *sex ratio* est donc établi à partir des 9 autres chatons. On constate que sur ces neuf chatons, il y a quatre femelles pour cinq mâles.

2.2.3. Discussion

2.2.3.1. Intérêt du suivi des chaleurs et de la maturation folliculaire

Comme l'a déjà montré une étude précédente (28), on s'aperçoit que le premier jour des chaleurs, toutes les chattes n'ont pas des follicules de même taille. Certaines chattes comme la chatte du cycle n°8 ont de petits follicules dont le diamètre maximal est de 0,22 cm alors que d'autres comme la chatte du cycle n°12 ont des follicules mesurant déjà 0,37 cm de diamètre à J1. Nous constatons également que la vitesse de maturation folliculaire n'est pas la même chez toutes les chattes.

Froment et al ont déterminé l'allure de la courbe de maturation folliculaire chez ces chattes de race Abyssin lors de cycles anovulatoires. Ceci nous a permis de fixer un diamètre « seuil » à partir duquel il était possible de stimuler les chattes pour déclencher l'ovulation. Il serait intéressant de savoir si ce diamètre de 0,3 cm est le plus adapté pour déclencher l'ovulation ou si l'ovulation peut être obtenue avec des diamètres folliculaires différents (plus gros ou plus petits).

La croissance folliculaire maximale est obtenue à des jours différents d'une chatte à l'autre par rapport au début du comportement d'oestrus. A la différence de ce qui est relaté dans les autres protocoles concernant l'insémination artificielle chez la chatte, le déclenchement de l'ovulation n'est donc pas réalisé à un jour donné par rapport à l'apparition du comportement d'œstrus (ce qui ne tient pas compte de la croissance des follicules) mais à des jours variables déterminés par l'obtention d'un diamètre folliculaire supérieur ou égal à 0,3 cm.

2.2.3.2. Intérêt du déclenchement de l'ovulation par stimulation mécanique

On peut tout d'abord remarquer que la stimulation mécanique des récepteurs vaginaux n'a permis de déclencher l'ovulation que dans 75% des cas. Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par utilisation de gonadotropines exogènes (voir partie 1). Toutefois, l'étude réalisée par Graham (37) nous faisait craindre une baisse de la fertilité liée aux modifications physico-chimiques du tractus génital entraînées par l'hCG. En effet, l'élévation importante du taux d'œstradiol associé à l'utilisation de l'hCG semble perturber le transport des embryons dans l'oviducte et conduit

peut-être à la fertilité plus faible observée chez les chattes soumises à une stimulation par les gonadotropines et à une insémination artificielle.

Si nous nous intéressons de plus près aux échecs d'ovulation de notre étude, nous constatons que deux chattes (cycles 9, Chagasse, et 10, Noumène) étaient particulièrement stressées car placées dans un environnement inconnu avec des manipulateurs inconnus. Elles n'ont d'ailleurs manifesté aucun comportement post-coïtal (l'échec d'ovulation était dans ces cas-là attendu). Lors de son deuxième cycle, Noumène, la chatte du cycle n°10 et du cycle n°11, a été stimulée par sa propriétaire dans son environnement habituel et a manifesté un comportement post-coïtal caractéristique. La troisième chatte (cycle n°12, Pussy) a montré une maturation folliculaire particulière puisque dès le premier jour des chaleurs, des follicules ovariens de très gros volumes (jusqu'à 0,37 cm de diamètre) étaient observés. Le déclenchement de l'ovulation étant réalisé à J3, nous pouvons nous demander s'il n'était pas trop tard et si les follicules n'étaient pas atrétiques lors des stimulations.

Nous pouvons donc penser que cette technique de déclenchement de l'ovulation est intéressante mais contraignante. En effet, le suivi de la maturation folliculaire doit être rigoureux et le stress doit être absolument évité lors des stimulations sous peine de voir échouer l'ovulation. En pratique, elle apparaît donc comme difficilement applicable en clientèle car la plupart des chattes sont stressées lorsqu'elles sont amenées en consultation. Une alternative serait éventuellement un déclenchement de l'ovulation par le propriétaire, le geste technique étant assez facile à réaliser et certains éleveurs le pratiquant pour augmenter l'intervalle entre deux périodes de chaleurs. D'autres études pourraient être envisagées en déclenchant l'ovulation de manière différente (par utilisation de l'hCG par exemple).

2.2.3.3. Suivi échographique de l'ovulation

La première observation que nous pouvons faire est que la visualisation échographique de l'ovulation chez la chatte est peu différente de celle rapportée par Boschiero et Truelle (7) chez la chienne. En effet, chez la chienne, on observe une disparition ou une diminution de taille brutale des structures anéchogènes qui deviennent hypoéchogènes. Chez la chatte, les structures anéchogènes disparaissent complètement. Les ovaires apparaissent lisses pendant quelques heures avant que des structures hypoéchogènes ne soient de nouveaux visualisables.

L'échographie apparaît donc comme un moyen très fiable pour déterminer précisément le moment de l'ovulation. En effet, dans 8 cas sur 9, l'ovulation a bien été visualisée à l'échographie. Nous pouvons noter que dans le cas où l'ovulation n'a pas été vue à l'échographie, la dernière échographie ovarienne a été réalisée à H29. Or, dans deux autres cycles, nous nous sommes aperçus que l'ovulation pouvait être observée à H30. Une échographie réalisée plus tardivement nous aurait peut-être permis de visualiser cette ovulation. Il faut également rappeler que lors de ce cycle, la propriétaire a de nouveau stimulé sa chatte après la dernière échographie. En l'absence de nouvelle échographie et de dosage de progestérone dans les 24 heures qui ont suivi cette deuxième stimulation, il est impossible de dire si la chatte a ovulé suite à la première série de stimulations ou à la deuxième série de stimulations.

Cependant, cette méthode est contraignante si on veut observer précisément le moment de l'ovulation car elle nécessite de nombreuses échographies. Toutefois, notre étude révélant que l'ovulation survient entre 24 et 30 heures après les stimulations mécaniques des récepteurs vaginaux, on peut envisager qu'en pratique courante, une insémination réalisée entre H23 et H26 serait pré ou péri-ovulatoire. Des études supplémentaires permettraient de déterminer le rôle du moment de l'insémination par rapport à l'ovulation. En effet, chez la chatte, on ignore combien de temps les spermatozoïdes survivent dans les voies génitales femelles et combien de temps leur est nécessaire pour remonter les cornes utérines.

Contrairement aux autres études sur l'insémination artificielle chez la chatte, cette technique présente l'avantage de ne pas demander d'anesthésie générale de la chatte, anesthésie qui pourrait interférer avec l'ovulation. En effet, nous remarquons que dans toutes les études déjà menées, la visualisation directe de l'ovulation est réalisée sous anesthésie ce qui pourrait entraîner un biais. En effet, Howard et al ont montré qu'une anesthésie avec kétamine/ acépromazine et halothane pouvait perturber l'ovulation (43).

Cette méthode échographique de suivi de l'ovulation nous permettrait aussi d'envisager de n'inséminer que des chattes venant d'ovuler afin de ne pas "gaspiller" de semence sur des chattes qui n'ovuleraient pas. Elle présente en effet l'avantage de diagnostiquer immédiatement l'ovulation contrairement au dosage de la progestéronémie qui ne confirme l'ovulation qu'après 3 jours.

Enfin, il serait intéressant d'étudier grâce à cette méthode l'influence du moment d'insémination par rapport au moment de l'ovulation.

2.2.3.4. Qualité de la semence inséminée et fertilité obtenue

Cette technique d'insémination ayant pour but d'être applicable en clientèle, on souhaite réaliser une insémination à partir d'une seule séance d'électroéjaculation. En effet, il est difficilement envisageable d'anesthésier plusieurs fois un mâle reproducteur pour une seule insémination. De même, on ne peut pas envisager de mélanger le sperme de plusieurs mâles afin d'augmenter le nombre de spermatozoïdes inséminés (ceci poserait un problème de filiation au sein des élevages).

Contrairement aux autres études réalisées, nous avons réalisé une seule insémination artificielle par cycle. Il est donc difficile de comparer nos résultats avec ceux obtenus précédemment par les autres équipes (celles de Sojka et al (94) et de Tanaka et al (97)) d'autant que les quantités inséminées sont différentes.

Comme le montre le Tableau XX, les caractéristiques de la semence prélevée pour les inséminations sont comparables à celles relevées dans la littérature. Toutefois, on constate que lors des inséminations qui ont aboutie à des gestations, le nombre de spermatozoïdes inséminés étaient relativement faible (compris entre 4 et 9 millions de spermatozoïdes avec une moyenne de 5,5 millions de spermatozoïdes par insémination réussie). Ces valeurs sont comparables à celles obtenues par Sojka et al (94) lors d'une précédente étude sur l'insémination artificielle par voie intra-vaginale. Il faut noter que dans cette étude, ces doses d'insémination peuvent être renouvelées au bout de 24 heures. On remarque également que ces valeurs sont très nettement inférieures à celles utilisées par Tanaka et al (97). En effet, avec des doses inséminantes de 20×10^6 , 40×10^6 et 80×10^6 spermatozoïdes les pourcentages de réussites sont seulement de 6,6%, 33,3% et 77,8%.

On constate enfin que Sojka et al (94) et Tanaka et al (97) utilisent de la semence prélevée par vagin artificiel ce qui est peu applicable en clientèle étant donné l'apprentissage préalable nécessaire pour ce type de prélèvement.

Ainsi, il apparaît qu'avec des doses inséminantes plus faibles que celles utilisées dans l'étude la plus récente, les résultats obtenus sont nettement supérieurs (44,6 % avec 4 à 9 millions de spermatozoïdes contre 6,6% avec 20 millions de spermatozoïdes inséminés). Les doses que nous utilisons sont donc suffisantes pour avoir une fertilité correcte. On peut supposer qu'en utilisant des doses inséminantes supérieures le taux de réussite aurait pu encore être amélioré.

2.2.3.5. Lieu de dépôt de la semence

On remarque que les inséminations qui ont été des succès n'ont pas toutes été réalisées dans le vagin antérieur (la sonde était enfoncée entre 2,5 et 3,5 cm dans le vagin). Un léger reflux a systématiquement été observé.

Des améliorations doivent encore être apportées car la sonde d'insémination utilisée n'est pas très bien adaptée et l'introduction du cathéter dans le vagin antérieur peut s'avérer difficile chez la chatte à cause de la conformation particulière du vagin.

Enfin, les plus grands espoirs d'amélioration de la technique reposent sur le passage du col utérin avec une sonde adaptée. A l'heure actuelle, des résultats encourageants ont été obtenus mais les risques de perforation du vagin sont importants et il arrive que chez certaines chattes, ce cathétérisme du col se révèle impossible, en particulier en période d'œstrus (108) ce qui est paradoxal puisque le col est censé être plus ouvert durant cette période (2).

2.2.3.6. Moment de réalisation de l'insémination

A l'heure actuelle, trop peu d'études ont été conduites sur le moment optimal de l'insémination artificielle par rapport à l'ovulation. En effet, on ignore le temps nécessaire aux spermatozoïdes pour remonter les voies génitales femelles. On ignore également la durée de survie des spermatozoïdes et des ovocytes. Cependant, on sait que la durée de survie des spermatozoïdes est d'au moins 24 heures puisqu'une seule saillie peut suffire pour obtenir une gestation (l'ovulation ayant lieu en moyenne 24 heures après la stimulation coïtale).

2.2.3.7. Efficacité de la technique d'insémination artificielle utilisée

Cette technique d'insémination ne requiert pas d'anesthésie de la femelle. En effet, la contention est de courte durée et est relativement bien tolérée par les chattes. En évitant l'anesthésie, on

limite au maximum les perturbations qui pourraient être liées aux anesthésiques et qui pourraient entraîner une baisse de fertilité.

Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus par les équipes ayant déjà travaillé sur l'insémination artificielle par voie intra-vaginale chez la chatte tout en étant applicable à la pratique en clientèle comme le montre la gestation obtenue sur la chatte n°11, chatte appartenant à un particulier.

De plus, il est très important de remarquer que sur les 9 inséminations artificielles réalisées, les 5 qui ont échouées ont été réalisées sur deux chattes uniquement (3 sur Aby et 2 sur Beth). Devant ces échecs répétés sur ces femelles, après la fin de notre étude, celles-ci ont été mises en saillies naturelles avec les deux mâles de la chatterie. Les saillies ont été surveillées (les deux chattes ont été saillies entre 6 et 8 fois en 24 heures par les deux mâles). Ces saillies ont été suivies de gestation mais celles-ci se sont révélées être à problème. En effet, des résorptions embryonnaires ont été observées lors des deux gestations (à G21 pour Beth et à G25 pour Aby) et Beth a avorté à 57 jours. La recherche de maladies infectieuses s'est révélée infructueuse.

On peut donc supposer que nos résultats ont été moins bons que ce que l'on pouvait espérer à cause de ces deux chattes. Sur des chattes sans problème de reproduction, on peut espérer obtenir de meilleurs résultats.

2.2.3.8. Nombre de petits par portée obtenu avec cette méthode

Comme nous l'avons vu précédemment, sur les 4 gestations obtenues par inséminations artificielles, le nombre de chatons varie de 2 à 4 avec une moyenne de 2,5 chatons. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par les autres équipes ayant travaillé sur l'insémination artificielle par voie intra-vaginale chez la chatte. En effet, Sojka et al ont obtenu des portées avec en moyenne de 2 à 4 chatons suivant le nombre de spermatozoïdes inséminés et Tanaka et al ont obtenu des portées de taille moyenne comprises entre 3,3 +/- 0,5 et 4,4 +/- 0,4. La taille moyenne des portées d'Abyssins obtenues par saillies naturelles est de 3,5 chatons. Les portées de Burmeses comptent en moyenne 5 chatons ce qui révèle une variabilité de la prolifilité en fonction des races (49).

2.2.3.9. Perspectives

Comme l'a montré le succès obtenu avec la chatte n°11 qui était une chatte de particulier, cette technique est applicable en clientèle. Toutefois, il faut noter qu'elle nécessite un matériel échographique d'excellente résolution ce qui peut en limiter l'accessibilité. De plus, il faut remarquer que cette technique d'insémination artificielle requiert un suivi rigoureux des animaux. En effet, même si le suivi de l'ovulation n'est pas indispensable (toutes les chattes ayant ovulé dans les 24 à 32 heures suivant les stimulations vaginales), il est important de réaliser un suivi précis de la maturation folliculaire afin de déclencher l'ovulation au moment qui paraît être optimal.

En ce qui concerne le matériel, en plus de l'échographe de bonne résolution, un électroéjaculateur et un microscope à platine chauffante s'avèrent indispensables. Pour l'insémination proprement dite, il n'y a pas d'investissement particulier à réaliser car nous avons utilisé du matériel courant en clientèle vétérinaire (sonde urinaire à chat et seringue à insuline).

Ainsi, cette technique, bien que non accessible à n'importe quel cabinet vétérinaire, peut être utilisée dans des cliniques très bien équipées.

Enfin, le nombre de spermatozoïdes ne pouvant pas facilement être augmenté au vue des contraintes imposées par la pratique en clientèle, il serait intéressant de réaliser des inséminations intra-utérines afin d'augmenter la dose inséminante utile. En effet, chez le chat, la capacitation des spermatozoïdes a lieu dans l'utérus, la glaire cervicale ne semble pas avoir de rôle (39). La réalisation d'une insémination intra-utérine apparaît comme indispensable dès que l'on envisage de travailler en semence congelée car le nombre de spermatozoïdes mobiles après décongélation est pour le moment assez faible (76).

Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons montré que notre technique d'insémination artificielle dans l'espèce féline était accessible en clientèle à condition de posséder un échographe de très bonne résolution qui nous permette de déterminer avec précision le moment optimal pour déclencher l'ovulation.

La méthode que nous avons mise au point présente l'avantage de ne pas nécessiter d'anesthésie de la femelle et de ne pas être traumatisante pour cette dernière mais demande un suivi rigoureux et contraignant de la maturation folliculaire lors du cycle oestral. Les résultats obtenus par cette méthode sont comparables à ceux obtenus précédemment par d'autres équipes tout en répondant aux exigences de la pratique en clientèle.

L'utilisation de cette méthode à plus grande échelle permettrait de vérifier nos résultats obtenus sur un petit lot d'animaux dont la plupart sont des chattes de laboratoires donc facilement disponibles pour le suivi de la maturation folliculaire.

La mise au point d'une technique efficace d'insémination artificielle en semence fraîche ouvre la voie à des recherches sur l'utilisation de semence réfrigérée ou congelée pour des inséminations artificielles intra-vaginales ou mieux intra-utérines. Toutefois, pour l'insémination intra-utérine, des études supplémentaires sont nécessaires pour trouver le moyen de franchir le col utérin par voie vaginale sans risques de perforation.

Annexe 1

Coloration des frottis vaginaux par la méthode de coloration Harris Schorr:

1. Fixation dans un mélange alcool-éther aa. Pendant 5 min.
2. Coloration des frottis:
 - a. Alcool à 70% 10 fois
 - b. Alcool à 50% 10 fois
 - c. Eau distillée 10 fois
 - d. Hématoxyline de Harris 2 minutes
 - e. Eau distillée 1 passage
 - f. Eau distillée 1 passage
 - g. Alcool ammoniacal 1 minute
 - h. Eau distillée 1 passage
 - i. Alcool à 70% 1 passage
 - j. Alcool à 95% 1 passage
 - k. Colorant de Schorr 2 minutes
 - l. Alcool à 95% 1 passage
 - m. Alcool absolu 1 passage

Annexe 2

Cellules identifiables sur un frottis vaginal :

Cellules épithéliales

- **cellules basales**
 - o Gros noyau sphérique (diamètre du noyau supérieur à la distance noyau-membrane cellulaire)
 - o Cellules ovoïdes régulières, parfois en amas
 - o Cytoplasme basophile
- **cellules parabasales**
 - o Noyau sphérique (diamètre du noyau inférieur à la distance noyau-membrane cellulaire)
 - o Cellules plus grosses que les cellules basales, contour plus irrégulier : ovale ou allongé
 - o Cytoplasme basophile
- **cellules petites intermédiaires**
 - o Gros noyau où les vésicules sont discernées clairement
 - o Cytoplasme basophile
- **cellules grandes intermédiaires**
 - o Noyau rond ou légèrement ovale et picnotique (diamètre du noyau nettement inférieur à la distance noyau-membrane cellulaire) ou vésiculaire
 - o Grandes cellules (le double des cellules parabasales) à contour irrégulier aux bords sinueux.
 - o Cytoplasme basophile, acidophile ou les deux, donc bicolore.
- **cellules superficielles**
 - o Encore présence d'un noyau, ovale, nettement picnotique (diamètre du noyau très inférieur à la distance noyau-membrane cellulaire)
 - o Très grandes cellules, ce sont les plus grandes cellules rencontrées sur le frottis vaginal. Le contour est irrégulier avec une tendance à se replier sur lui-même.
 - o Cytoplasme acidophile, rarement mixte.
- **cellules superficielles anucléées**
 - o Anucléées
 - o Plus petites que les cellules superficielles, à contour irrégulier, très anguleux, souvent replié sur lui-même
 - o Cytoplasme acidophile

Autres cellules

- **Leucocytes**
 - o Le degré de maturité des polynucléaires neutrophiles (PNN) est un signe indicatif de leur présence physiologique ou pathologique. Des formes jeunes avec des noyaux peu lobulés sont physiologiques. Leur présence en faible nombre est fréquente en fin d'œstrus. Froment en a décrit chez 6 chattes sur 8, toujours après le pic de croissance folliculaire (28). Au contraire, des formes mures avec des noyaux bien lobulés ou divisés accompagnent des processus infectieux ou inflammatoires (77).
- **Hématies**
 - o Les hématies sont beaucoup moins fréquentes chez la chatte que chez la chienne où leur présence en grand nombre est physiologique au moment du pro-oestrus. Chez la chatte, elles témoignent toujours d'un processus pathologique ou iatrogène. (77).
- **Cellules de la partie antérieure du tractus génital**
 - o Ce sont des cellules qui proviennent de l'épithélium glandulaire de l'utérus, il n'est pas toujours facile de les identifier. En revanche, leur présence indique une affection grave de cet organe (77).
- **Cellules tumorales**
 - o Les tumeurs de l'appareil reproducteur ne sont pas fréquentes chez la chatte et desquamement rarement. La présence de cellules tumorales doit être interprétée par un anatomo-pathologiste (77).
- **Spermatozoïdes**
 - o Leur identification, aisée, indique que la chatte vient d'être saillie.
- **Bactéries**
 - o La détection de bactéries n'est pas pathognomonique d'un mécanisme pathologique car la muqueuse vaginale est riche en flore bactérienne. Le nombre de bactéries est notablement augmenté en cas d'infection (77).

Annexe 3

Examen de la qualité de la semence

- Couleur et volume du prélèvement

La couleur et le volume du prélèvement sont tout d'abord examinés. En effet, si la semence apparaît jaunâtre, une contamination urinaire est fortement suspectée et la mobilité des spermatozoïdes sera très faible. De même, le volume est important à considérer car le volume d'un éjaculat de chat est très faible et les différents examens réalisés sur celui-ci pour déterminer sa qualité vont utiliser une partie de ce volume qui ne pourra donc plus servir pour l'insémination.

- Mobilité des spermatozoïdes

On regarde ensuite la mobilité des spermatozoïdes. Pour cela, on prélève à l'aide d'une pipette 10 μ L de sperme et l'on dépose celle-ci entre lame et lamelle afin de regarder la mobilité d'ensemble au grossissement $\times 100$ puis $\times 400$ sur un microscope à platine chauffante à 37°C. Le résultat, qui est subjectif, est obtenu en évaluant le pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Une mobilité supérieure à 60% est considérée comme bonne.

- Numération des spermatozoïdes

A l'aide d'une pipette graduée, on prélève 10 μ L de semence que l'on dilue dans 90 μ L de NaCl à 30% afin d'obtenir une solution au dixième. Après avoir bien homogénéisé le mélange, on remplit un hématimètre de Thoma. Le volume contenu entre lame et lamelle est calibré et est donc connu.

On compte alors le nombre de spermatozoïdes contenus dans cinq grands carreaux de la cellules en choisissant de ne compter que les spermatozoïdes entièrement contenus dans le grand carré et ceux à cheval sur deux des bords de celui-ci, toujours les mêmes (par exemple bord inférieur et bord droit).

Concentration finale = $N \times \text{dilution} \times 50 \times 1000 \text{ spermatozoïdes /mL}$

(avec N = nombre de spermatozoïdes comptés sur 5 grands carreaux)

Pour obtenir le nombre de spermatozoïdes dans le prélèvement, il suffit de multiplier par le volume du prélèvement exprimé en millilitre.

- Pourcentage d'anomalies

Une goutte de sperme est mélangée sur une lame avec une goutte de colorant éosine-négrosine. Au bout d'une minute, le mélange est étalé sur une lame dégraissée qui est séchée à l'air libre. Une fois la lame sèche, elle est examinée au microscope au grossissement $\times 400$ puis $\times 1000$. On compte le nombre de spermatozoïdes anormaux sur 200 spermatozoïdes et on convertit le résultat en pourcentage.

- Intégrité de l'acrosome

Sur une lame, une goutte de semence est mélangée à une goutte de colorant au fast green et au rose bengal (75). Après 1 minute, on étale la préparation sur une lame dégraissée et on laisse sécher. Une fois la lame sèche, elle est examinée au microscope au grossissement $\times 400$ puis $\times 1000$. On compte le nombre de spermatozoïdes ayant un acrosome intact sur 200 spermatozoïdes et on convertit le résultat en pourcentage.

Bibliographie

- 1 AXNER E, HOLST BS et LINDE-FORSBERG C. Morphology of spermatozoa in the cauda epididymis before and after electroejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat. *Theriogenology* 1998, **50**, 973-979.
- 2 AXNER E et LINDE-FORSBERG C. Semen Collection and Assessment, and Artificial Insemination in the Cat. In: CONCANNON, PW, ENGLAND, G, VERSTEGEN, J and LINDE-FORSBERG, C, editors. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, Ithaca NY: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), 2002.
- 3 AXNER E, LINDE-FORSBERG C et EINARSSON S. Morphology and motility of spermatozoa from different regions of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* 1999, **52**, 767-778.
- 4 BANKS DH, PAAPE SR et STABENFELDT GH. Prolactin in the cat : Pseudopregnancy, pregnancy and lactation. *Biol Reprod* 1983, **28**, 923-932.
- 5 BANKS DH et STABENFELDT GH. Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of oestrus. *Biol Reprod* 1982, **26**, 603-611.
- 6 BARONE R. *Splanchnologie II, appareil urogénital, péritoine et topographie abdominale*, Paris, 1990
- 7 BOSCHIERO S et TRUELLE N. *Contribution de l'échographie ovarienne à la détermination du moment de l'ovulation chez la chienne: comparaison avec les autres méthodes paracliniques couramment utilisées*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 2002, 113 p.
- 8 BOSSE PH, CHAFFAUX S et KRETZ C. Eléments de maîtrise de la physiologie sexuelle chez le chat domestique en vue d'améliorer sa reproduction. *Rec Méd Vét* 1990, **166**, 573-591.
- 9 BOWEN RA. Fertilization in vitro of feline ova by spermatozoa from the ductus deferens. *Biol. Reprod.* 1977, **17**, 144-147.
- 10 BROWN JL, GOODROWE KL, SIMMONS LG, ARMSTRONG DL et WIDT DE. Evaluation of the pituitary-gonadal response to GnRH and adrenal status in the leopard (*Panthera Pardus Japonensis*) and tiger (*Panthera Tigris*). *J Androl* 1988, **5**, 431-437.
- 11 CAMPBELL RC, DOTT HM et GLOVER TD. Nigrosin eosin as a stain for differentiating live and dead spermatozoa. *J. Agr. Sci.* 1956, **48**, 1-8.
- 12 CHAFFAUX S. Induction de l'oestrus et de l'ovulation chez la chatte. In: ELSEVIER, editors. *Encyclopédie vétérinaire*, Paris, 1992, (1500) 1-6.
- 13 CHAFFAUX S et BOSSÉ P. Biologie de la reproduction du chat et du chien. In: ELSEVIER, editors. *Encyclopédie vétérinaire*, Paris, 1992, (100) 1-6.
- 14 CHAKRABORTY PK, WILDT DE et SEAGER SWJ. Serum luteinizing hormone and ovulatory response to luteinizing hormone releasing hormone in the estrous and anoestrous cat. *Lab. Anim. Sci.* 1979, **29**, 338-344.
- 15 CHATDARONG K, LOHACHIT C, PONGLOWHAPAN S et LINDE-FORSBERG C. Transcervical catheterization and cervical patency during the oestrous cycle in domestic cats. *J Reprod Fertil Suppl* 2001, **57**, 353-6.

- 16 CONCANNON P, HODGSON B et LEIN D. Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. *Biol Reprod* 1980, **23**, 111-117.
- 17 CROSS NL et MEIZEL S. Methods for evaluating the acrosomal status of mammalian sperm. *Biol. Reprod.* 1989, **41**, 635-641.
- 18 CURRY TS, DOWDEY JE et MURRY RC. *Christensen's Physics of Diagnostic Radiology*. Williams and Wilkins, Philadelphia, 1990, 522 p.
- 19 DOOLEY MP, MURASE K et PINEDA MH. An electroejaculator for the collection of semen from the domestic cat. *Theriogenology* 1983, **20**, 297-310.
- 20 DOOLEY MP et PINEDA MH. Effect of method of collection on seminal characteristics of the domestic cat. *Am J Vet Res* 1986, **47**, 286-92.
- 21 DOOLEY MP, PINEDA MH, HOPPER JG et HSU WH. Retrograde flow of spermatozoa into the urinary bladder of cats during electroejaculation, collection of semen with an artificial vagina, and mating. *Am J Vet Res* 1991, **52**, 687-91.
- 22 DRESSER BL, SEHLORST CS, WACHS KB, KELLER GL, GELWICKS EJ et TURNER JL. Hormonal stimulation and embryo collection in the domestic cat (*felis catus*). *Theriogenology* 1987, **28**, 915-927.
- 23 DUGRAGNE C et BEGON D. Imagerie du bas appareil urinaire et de la prostate. *Rec Méd Vét* 1996, **172**, 117-128.
- 24 DUMON C. Frottis vaginaux chez la chienne. In: *Les indispensables de l'animal de compagnie. Reproduction du chien et du chat*, Paris: P.M.C.A.C, 1992, 47-52.
- 25 DUMON C. Particularités physiologiques de la chienne et de la chatte. In: *Reproduction du chien et du chat : applications pratiques*, 2000, 1-17 p.
- 26 FELDMAN EC et NELSON RW. *Canine and Feline endocrinology and reproduction*. Saunders, Philadelphia, 1996, 785 p.
- 27 FONTBONNE A, BUFF S et GUÉRIN P. Abord de l'infertilité du chien mâle. *Rec Méd Vét* 1998, **174**, 39-60.
- 28 FROMENT E. *Contribution à l'étude du cycle oestral chez la chatte : suivi échographique, colpocytologique et endocrinien*. Thèse Med. Vét., Alfort, 2002, 169 p.
- 29 GALLOIS-BRIDE H. Imagerie du foie chez le chien et chat. *Point Vétérinaire* 1993, **26**, 333-342.
- 30 GAMZU R, YOGEV L, AMIT A, LESSING J, HOMONNAI ZT et YAVETZ H. The hemizona assay is of good prognostic value for the ability of sperm to fertilize oocytes in vitro. *Fert. Ster.* 1994, **62**, 1056-1059.
- 31 GLEED R. Tranquilizers and Sedatives. In: *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*, Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1987, 16-27.
- 32 GLOVER TE et WATSON PF. The effect of buffer osmolality on the survival of cat (*Felis catus*) spermatozoa at 5°C. *Theriogenology* 1985, **24**, 449-456.
- 33 GLOVER TE, WATSON PF et BONNEY RC. Observations on variability in LH release and fertility during oestrus in the domestic cat (*Felis catus*). *J Reprod Fertil* 1985, **75**, 145-52.
- 34 GOODROWE KL et HAY M. Characteristics and zona binding ability of fresh and cooled domestic cat epididymal spermatozoa. *Theriogenology* 1993, **40**, 967-975.

- 35 GOODROWE KL, HOWARD JG, SCHMIDTS PM et WILDT DE. Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and in-vitro fertilization. *J Reprod Fert* 1989, **Suppl.39**, 73-90.
- 36 GOODROWE KL et WILDT DE. Ovarian response to Human Chorionic Gonadotropin or Gonadotropin Releasing Hormone in cats in natural or induced estrus. *Theriogenology* 1987, **27**, 811-817.
- 37 GRAHAM LH, SWANSON WF et BROWN JL. Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. *Theriogenology* 2000, **54**, 1117-1131.
- 38 GUDERMUTH DF, NEWTON L, DAELS P et CONCANNON P. Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. *J Reprod Fertil Suppl* 1997, **51**, 177-84.
- 39 HAMNER CE, JENNINGS LL et SOJKA NJ. Cat (*Felis catus L.*) spermatozoa require capacitation. *J. Reprod. Fert.* 1970, **23**, 477-480.
- 40 HERRON MA, BARTON CL et APPLEGATE B. A modified technique for semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Theriogenology* 1986, **26**, 357-364.
- 41 HINGST O, BLOTTNER S et FRANZ C. Chromatin condensation in cat spermatozoa during epididymal transit as studied by aniline blue and acridine orange staining. *Andrologia* 1995, **27**, 275-9.
- 42 HOWARD J, BUSH M et WILDT DE. Teratospermia in domestic cats compromises penetration of zona-free hamster ova and cat zonae pellucidae. *J Androl* 1991, **12**, 36-45.
- 43 HOWARD JG, BARONE MA, DONOGHUE AM et WILDT DE. The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J Reprod Fertil* 1992, **96**, 175-86.
- 44 HOWARD JG, DONOGHUE AM, JOHNSTON LA et WILDT DE. Zona pellucida filtration of structurally abnormal spermatozoa and reduced fertilization in teratospermic cats. *Biol. Reprod.* 1993, **49**, 131-139.
- 45 HUDSON LC. Nervous system. In: HUDSON, LC and HAMILTON, WP, editors. *Atlas of feline anatomy for veterinarians*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993.
- 46 JOHNSTON SD, ROOT KUSTRITZ MV et OLSON PN. *Canine and feline theriogenology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001, 592 p.
- 47 JOHNSTON SD, ROOT MV et OLSON PN. Ovarian and testicular function in the domestic cat: clinical management of spontaneous reproductive disease. *An. Reprod. Sci.* 1996, **42**, 261-274.
- 48 JOHNSTONE I. Electroejaculation in the domestic cat. *Aust Vet J* 1984, **61**, 155-8.
- 49 JOHNSTONE I. Reproductive patterns of pedigree cats. *Aust Vet J* 1987, **64**, 197-200.
- 50 KREMKAU FW. *Diagnostic Ultrasound - Principles, Instruments, and Exercises*. W.B. Saunders Company, Philadelphie, 1989, 364 p.
- 51 LAWLER DF, JOHNSTON SD, HEGSTAD RL, KELTNER DG et OWENS SF. Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. *J Reprod Fertil Suppl* 1993, **47**, 57-61.

- 52 LEFRANCOIS T et TIRET L. Physiologie de l'appareil reproducteur. Mécanismes généraux. Particularités d'espèces. In: *Cours DCEV-I*. ENVA, 2000-2001.
- 53 LEGRAND JJ et CARLIER B. Bases physiques de l'échotomographie. *Rec Méd Vét* 1981, **157**, 553-559.
- 54 LENGINAT T et BLOTTNER S. In vitro fertilization of follicular oocytes of domestic cat using fresh and cryopreserved epididymal spermatozoa. *Animal reproduction Science* 1994, **35**, 291-301.
- 55 LENNOZ M. Physiologie de la reproduction. *Point Vétérinaire* 1978, **7**, 11-17.
- 56 LEYVA H, MADLEY T et STABENFELD GH. Effect of light manipulation on ovarian activity and melatonin and prolactin secretion in the domestic cat. *J Reprod Fert* 1989, **39**, 125-133.
- 57 LEYVA H, MADLEY T et STABENFELD GH. Effect of melatonin on photoperiod response, ovarian secretion of oestrogen, and coital response in the domestic cat. *J Reprod Fert* 1989, **39**, 135-142.
- 58 LIÈGE P. *Techniques de reproduction artificielles chez le chat domestique*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1991, 117 p.
- 59 LIÈGE P. Induction de l'ovulation et insémination artificielle chez la chatte. In: *Les indispensables de l'animal de compagnie*, Paris: Prat Med Chir Anim Comp, 1992, 265-270.
- 60 LIÈGE P. Physiologie sexuelle du chat et de la chatte. In: PMCAC, editors. *Les indispensables de l'animal de compagnie : reproduction*, Paris, 1992, 27-36.
- 61 LÖFSTEDT RM. The estrous cycle of the domestic cat. *The Compendium On Continuing Education* 1982, **4**, 52-58.
- 62 LONG JA, WILDT DE, WOLFE BA, CRITSER JK, DEROSSI RV et HOWARD J. Sperm capacitation and the acrosome reaction are compromised in teratospermic domestic cats. *Biol. Reprod.* 1996, **54**, 638-646.
- 63 MAYENCO -A, A.M. et PEREZ-CONTE AB. Preliminary results of hemizona assay as a fertility test for canine spermatozoa. *Theriogenology* 1998, **50**, 195-204.
- 64 MICHEL C. Induction of oestrus in cats by photoperiodic manipulations and social stimuli. *Lab Anim Sci* 1993, **27**, 278-80.
- 65 MILES KG. Basic principles and clinical applications of diagnostic ultrasonography. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.* 1989, **11**, 609-622.
- 66 NIWA K, OHARA K, HOSOI Y et IRITANI A. Early events of in-vitro fertilization of cat eggs by epididymal spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1985, **74**, 657-60.
- 67 OTT RS, GOFFAUX M et THIBIER M. Examen morphologique des spermatozoïdes. *Elevage Insém.* 1987, **221**, 15-20.
- 68 PARAGON P-M, MALANDAIN E et KRETZ C. *Guide pratique de l'élevage félin*. Royal Canin, Paris, 2000, 296 p.
- 69 PIERSON RA et GINTHER OJ. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology* 1984, **21**, 495-504.
- 70 PIERSON RA et GINTHER OJ. Ultrasonic evaluation of the corpus luteum of the mare. *Theriogenology* 1985, **24**, 359-368.

- 71 PINEDA MH et DOOLEY MP. Effects of voltage and order of voltage application on seminal characteristics of electroejaculates of the domestic cat. *Am J Vet Res* 1984, **45**, 1520-5.
- 72 PINEDA MH, DOOLEY MP et MARTIN PA. Long-term study on the effects of electroejaculation on seminal characteristics of the domestic cat. *Am J Vet Res* 1984, **45**, 1038-41.
- 73 PLATZ CC, JR. et SEAGER SW. Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *J Am Vet Med Assoc* 1978, **173**, 1353-5.
- 74 PLATZ CC, WILDT DE et SEAGER SW. Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1978, **52**, 279-82.
- 75 POPE C, YONG P, ZHANG Z, DRESSER M et DRESSER B. A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa. *J. Zoo Wildlife Med.* 1991, **22**, 87-95.
- 76 POSIÈRE S. *Récolte de la semence de chat (felis catus) par électroéjaculation et par dissection de l'épididyme. Comparaison des méthodes . Essai de cryoconservation avec un dilueur canin.* Thèse Méd. Vét., Alfort, 2002, 95 p.
- 77 PRATS-ESTÈVE A. Frottis vaginaux chez la chatte. In: PMCAC, editors. *Les indispensables de l'animal de compagnie : Reproduction du chien et du chat*, Paris, 1992, 56-65.
- 78 REECE WO. Male reproduction. In: REECE, WO, editors. *Physiology of domestic animals*, Baltimore: Williams & Wilkins, 1997.
- 79 RUCKEBUSCH Y, PHANEUF LP et DUNLOP R. Copulation and Fertilization. In: *Physiology of small and large Animals*, Philadelphia Halmilton: B.C. Decker, Inc, 1991, 581-584.
- 80 RUCKEBUSH Y, PHANEUF L et DUNLOP R. Ovarian hormones. In: RUCKEBUSH, Y, PHANEUF, L and DUNLOP, R, editors. *Physiology of small and large animals*, Philadelphia: B.C. Decker, Inc, 1991, 563-572.
- 81 SCHAFFER S et HOLZMANN A. The use of transmigration and SpermacTM stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *An. Reprod. Sci.* 2000, **59**, 201-211.
- 82 SCHMIDT P. Feline Breeding Management. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1986, **16**, 435-451.
- 83 SCHUTTE AP. Canine Vaginal Cytolgy - I Technique and cytological Morphology. *J. Small. Anim. Pract.* 1967, **8**, 301-306.
- 84 SEAGER SWJ. Semen collection, evaluation and artificial insemination of the domestic cat. In: *Current Veterinary Therapy VI*, 1977, 1252-1254.
- 85 SHILLE VM, LUNDSTROM KE et STABENFELDT GH. Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 beta concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. *Biol Reprod* 1979, **21**, 953-63.
- 86 SHILLE VM, MUNRO C, WALKER FARMER S et COLL A. Ovarian and endocrine response in the cat after coitus. *J Reprod Fert* 1983, **68**, 29-39.
- 87 SHILLE VM et SOJKA NJ. *Feline reproduction*. WB Saunders Co, Philadelphia, 1995, 1690 p.

- 88 SHORT C. Anticholinergics. In: *Principles and Practice of Veterinary Anesthesia*, Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1987, 8-15.
- 89 SHORT C. Dissociative Anesthesia. In: *Principles and Practices of Veterinary Anesthesia*, Baltimore: Williams and Wilkins Company, 1987, 158-169.
- 90 SMITH BJ. Urogenital system. In: HUDSON, LC and HAMILTON, WP, editors. *Atlas of feline anatomy for veterinarians*, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1993.
- 91 SMITH FO. Examining male dogs and cats for breeding soundness. *Veterinary Medicine* 1989, **84**, 594-603.
- 92 SOJKA N. Feline Semen Collection, Evaluation and Artificial Insemination. In: *Current Therapy in Theriogenology I*, 1980, 848-850.
- 93 SOJKA NJ et JENNINGS LL. Collection and utilization of cat semen for artificial insemination. *J.A.V.M.A.* 1970, **156**, 1250-1251.
- 94 SOJKA NJ, JENNINGS LL et HAMNER CE. Artificial insemination in the cat (*Felis catus L.*). *Lab. An. Care* 1970, **20**, 198-204.
- 95 SPINDLER RE et WILDT DE. Circannual variations in intraovarian oocyte but not epididymal sperm quality in the domestic Cat. *Biol Reprod* 1999, **61**, 188-94.
- 96 SWANSON WF et GODKE RA. Transcervical embryo transfer in the domestic cat. *Lab Anim Sci* 1994, **44**, 288-91.
- 97 TANAKA A et TAKAGI Y. Artificial intravaginal insemination using fresh semen in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, **62**, 1163-7.
- 98 TERQUI M, GUILLOUET P, MAUREL MC et MARTINAT-BOTTE F. Relationship between peri-oestrus progesterone levels and time of ovulation by echography in pigs and influence of the interval between ovulation and artificial insemination (AI) on litter size. *Reprod. Nutr. Dev.* 2000, **40**, 393-404.
- 99 THÉRAPEUTIQUE UPDPED. *Reproduction, phénomènes généraux et mécanismes, étude spéciales dans quelques espèces d'intérêt vétérinaire*. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1999, 110 p.
- 100 TSUTSUI T et STABENFELDT GH. Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. *J. Reprod. Fert.* 1993, **Suppl. 47**, 165-173.
- 101 TSUTSUI T et TANAKA A. Unilateral intrauterine horn insemination of frozen semen in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, **62**, 1247-1251.
- 102 TSUTSUI T, TANAKA A et HORI T. Intratubal insemination with fresh semen in cats. *J. Reprod Fertil Suppl* 2001, **57**, 347-51.
- 103 TSUTSUI T, TANAKA A, TAKAGI Y, NAKAGAWA K, FUJIMOTO Y, MURAI M, et al. Unilateral intrauterine horn insemination of fresh semen in cats. *J. Vet. Med. Sci.* 2000, **62**, 1241-1245.
- 104 VERSTEGEN J. Physiology and endocrinology of reproduction in female cats. In: SIMPSON, GM, ENGLAND, GCW and HARVEY, M, editors. *BSAVA Manual of small animal reproduction and neonatology*, Shurdington: British Small Animal Veterinary Association, 1998.

- 105 WATSON PF et GLOVER TE. Vaginal anatomy of the domestic cat (*Felis catus*) in relation to copulation and artificial insemination. *J. Reprod.Fert.,Suppl* 1993, **47**, 3355-359.
- 106 WILDT DE, CHAN SY, SEAGER SW et CHAKRABORTY PK. Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biol Reprod* 1981, **25**, 15-28.
- 107 WILDT DE, SEAGER SW et CHAKRABORTY PK. Effect of copulatory stimuli on incidence of ovulation and on serum luteinizing hormone in the cat. *Endocrinology* 1980, **107**, 1212-7.
- 108 ZAMBELLI D, BUCCIOLI M, CASTAGNETTI C et BELLUZZI S. Vaginal and cervical anatomic modifications during the oestrus cycle in relation to transcervical catheterization in the domestic cat. In: *3rd EVSSAR European Congress on reproduction in companion, exotic and laboratory animals*. Liège, 2002, 191 p.