

# TABLE DES MATIERES

TABLE DES FIGURES.....	15
TABLE DES TABLEAUX.....	16
Liste des abréviations utilisées .....	17
INTRODUCTION.....	19

I. Biologie de la reproduction du loup.....	21
---	----

<b>A. Physiologie de la reproduction .....</b>	<b>21</b>
--	-----------

1. Généralités.....	21
a) Une reproduction saisonnière .....	21
b) Maturité sexuelle.....	25
2. Caractéristiques du cycle reproducteur .....	27
a) Caractéristiques de la reproduction de la louve .....	27
(1) Les différentes phases du cycle sexuel de la louve .....	27
(2) Endocrinologie du cycle sexuel.....	29
(a) Les hormones ovariennes.....	29
- Les oestrogènes.....	29
- Les progestagènes .....	29
(b) Hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire.....	30
- La GnRH (Gonadotropin releasing hormone).....	30
- LH, FSH plasmatiques .....	30
(c) Variations au cours du cycle .....	31
(3) Cytologie vaginale de la louve .....	32

b)	Caractéristiques de la reproduction du mâle.....	33
3.	Fécondation, gestation.....	34
a)	Fécondation et période fertile .....	34
b)	Durée de gestation, taille des portées.....	34
c)	Variations hormonales au cours de la gestation.....	35
d)	Diagnostic de gestation .....	35
<b>B.</b>	<b>Comportements sociaux et accès à la reproduction.....</b>	<b>36</b>
1.	Comportement lors de la saison de reproduction.....	36
2.	Stratégies de reproduction .....	39
a)	Portées multiples .....	40
b)	Usurper la place d'un reproducteur.....	41
3.	Influence sociale et régulation du comportement reproducteur .....	42
a)	Choix du partenaire (observations en captivité) .....	42
b)	Suppression de la reproduction.....	46
<b>C.</b>	<b>Elevage « pluri parental » des louveteaux.....</b>	<b>49</b>
1.	Naissance des louveteaux, et phases de développement.....	49
a)	La période néonatale .....	50
b)	La période de transition .....	50
c)	La période de socialisation .....	51
2.	La tanière et les autres soins indirects.....	52
a)	Construction de la tanière .....	52
b)	Défense des louveteaux .....	54
3.	Les soins directs.....	54
a)	Les régurgitations.....	54
b)	Education « pluri parentale » des louveteaux.....	58
4.	Déterminisme du comportement « parental ».....	58

II. Régulation de la population d'une meute en milieu naturel ..... 61

**A. Diminution du nombre d'individus .....61**

- 1. Dispersion..... 61
- 2. Mortalité .....65
  - a) Causes de mortalité .....65
    - (1) Absence de nourriture.....65
    - (2) L'homme.....66
    - (3) Maladies.....66
    - (4) Accidents.....66
    - (5) Animaux sauvages.....67
  - b) Mortalité néonatale.....67
  - c) Taux de mortalité .....68
  - d) Influence de la dispersion .....68

**B. Augmentation du nombre d'inividus .....69**

- 1. Reproduction.....69
- 2. Immigration .....69

III. Maîtrise de la reproduction chez le chien domestique (*Canis familiaris*)... 73

**A. Contraception temporaire .....73**

- 1. Techniques classiques utilisées chez la chienne .....73
  - a) Androgènes .....73
    - (1) Mode d'action .....73
    - (2) Effets secondaires .....73
    - (3) Molécule utilisée .....74
      - La mibolérone : .....74

b) Progestatifs .....	75
(1) Mode d'action .....	75
(2) Effets secondaires.....	76
(3) Principales molécules utilisées.....	77
▪ Acétate de delmadinone.....	77
▪ Acétate de mégestrol .....	77
▪ Acétate de médroxyprogestérone .....	79
▪ Proligestone .....	80
2. Techniques classiques de contraception utilisées chez le mâle .....	81
3. Nouvelles techniques et voies de recherches.....	82
a) Méthodes vaccinales .....	82
b) Analogues agonistes de la GnRH.....	83
c) Analogues antagonistes de la GnRH.....	87
d) Stérilet ou dispositif intra-utérin (DIU).....	87
<b>B. Contraception définitive .....</b>	<b>89</b>
1. Période d'intervention.....	89
2. Méthodes de stérilisation utilisées chez la femelle .....	90
a) Techniques de stérilisation .....	90
(1) Ovariectomie.....	90
(2) Ovariohystérectomie.....	91
(3) Ligature et section des trompes.....	91
b) Indications / contre indications .....	92
c) Avantages / inconvénients .....	93
3. Méthodes de stérilisation utilisées chez le mâle .....	94
a) Techniques de stérilisation .....	94
(1) Orchiectomie préscrotale .....	94
(2) Vasectomie.....	95
b) Indication et contre indication .....	96
c) Avantages et inconvénients .....	96

<b>C. Interruption médicale de gestation.....</b>	<b>98</b>
1. Avortement précoce .....	98
a) Utilisation d'oestrogènes .....	99
b) Utilisation des antagonistes de la progestérone .....	100
2. Avortement tardif.....	101
a) Utilisation des antiprogestérones .....	101
b) Utilisation des prostaglandines F2 $\alpha$ .....	101
c) Utilisation d'antiprolactine .....	103
3. Autres techniques d'interruption de gestation .....	104
a) Epostane .....	104
b) Antagonistes de la GnRH .....	105
 IV. Etude de la maîtrise de la reproduction du loup en captivité .....	 107
 <b>A. Bilan des différentes méthodes de maîtrise de la reproduction disponible pour le loup en captivité.....</b>	 <b>107</b>
1. Méthodes utilisées chez le chien.....	107
2. Méthodes contraceptives utilisées sur les animaux sauvages en captivité et protocole d'utilisation.....	108
(1) Implants d'acétate de mélangestrol (MGA®).....	108
(2) Agoniste de la GnRH : implant de deslorelin .....	110
(3) Où obtenir ces produits ? .....	114
 <b>B. Critères à prendre en compte pour choisir une méthode contraceptive appropriée</b>	 <b>115</b>
1. Réglementation .....	116
2. Réversibilité de la méthode .....	117
3. Modification du comportement de reproduction .....	117
4. Administration du traitement.....	119

<b>C. Application à la meute du Parc Alpha .....</b>	<b>120</b>
1. Présentation du parc alpha.....	120
a) Présentation des meutes.....	120
b) Bilan de reproduction de la meute .....	121
2. Utilisation pratique des différentes méthodes envisagées.....	124
a) Quels individus traiter ?.....	124
b) Méthodes définitives .....	124
(1) Moment de l'intervention .....	124
(2) Réalisation.....	125
(3) Avantages.....	125
(4) Inconvénients .....	126
(5) Bilan.....	126
c) Méthode temporaire .....	127
(1) Contraceptifs administrés par voie orale .....	127
(a) Molécules utilisables et protocoles d'utilisations.....	127
(b) Avantages.....	127
(c) Inconvénients .....	128
(d) Bilan.....	128
(2) Contraceptifs hormonaux administrés par voie injectable.....	129
(a) Molécules utilisables et protocole d'utilisation.....	129
(b) Avantages.....	130
(c) Inconvénients .....	130
(d) Bilan.....	131
(3) Les implants contraceptifs .....	131
(a) Molécules utilisables et protocole d'utilisation.....	131
(b) Avantages.....	132
(c) Inconvénients .....	132
(d) Bilan.....	132
d) Interruption médicale de gestation.....	133

<b>D. Autres alternatives pour réguler la taille d'une meute.....</b>	<b>135</b>
1. Division de la meute.....	135
2. Euthanasie des louveteaux.....	135
3. Séparation des sexes.....	136
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>137</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>141</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>149</b>
<b>Annexe 1:</b> Récapitulatif des méthodes classiques utilisées chez la chienne pour prévenir l'apparition de l'oestrus et supprimer l'oestrus.....	151
<b>Annexe 2:</b> Principaux protocoles anesthésiques utilisés chez le loup.....	153
<b>Annexe 3 :</b> Parcs animaliers où l'on peut observer des loups.....	155
<b>Annexe 4 :</b> Formulaire permettant la collecte d'informations lors d'utilisation d'implants MGA®.....	157





## **Table des figures :**

<b>Figure 1 :</b> Variations saisonnières de la concentration plasmatique basale et après stimulation par la LH de la testostérone et index de la taille des testicules pour trois loups mâles.....	22
<b>Figure 2 :</b> Variations de la concentration plasmatique moyenne de la prolactine chez des louves gestantes et non gestantes (a), des mâles avec ou sans partenaire (b), pour des mâles et des femelles stérilisés (c).....	24
<b>Figure 3 :</b> Variations des concentrations plasmatiques de la progestérone, de l'oestradiol 17 $\beta$ et de LH chez trois louves juvéniles au cours de la période de reproduction. La louve n°8 a mis bas le 6 mai et a eu deux louveteaux. La barre noire indique la durée observée du pro-oestrus et la barre claire la durée observée de l'oestrus.....	26
<b>Figure 4 :</b> Variations des concentrations plasmatiques de la progestérone, de l'oestradiol et de LH chez une louve de cinq ans gestante au cours de la période de reproduction. La barre noire indique la durée observée du pro-oestrus et la barre claire la durée observée de l'oestrus.....	32
<b>Figure 5 :</b> Préférences entre les mâles et femelles, respectivement déterminées par les comportements « suivre sexuellement » et « présence active ».....	44
<b>Figure 6 :</b> Différences de concentrations fécales en moyenne en cortisol entre les dominants et les dominés en fonction de l'année, du sexe et de la meute à laquelle ils appartiennent. En ordonnée : glucocorticoïdes fécaux (ng cortisol/ g de matière sèche).....	46.
<b>Figure 7:</b> Distribution des loups donneurs et des loups receveurs de régurgitations dans une meute observée pendant six étés. Parmi les loups donneurs les barres noires représentent la mère reproductrice, les barres blanches le mâle reproducteur, et les barres grises les auxiliaires.....	57
<b>Figure 8 :</b> Age (mois) de dispersion de 48 loups d'âge connu et 27 d'âge estimé. Forêt National Supérieure, 1969-1989.....	62
<b>Figure 9 :</b> Mois de dispersion de 39 mâles et 36 femelles. Forêt National Supérieure, 1969-1989.....	63
<b>Figure 10 :</b> Distance parcourue au cours de la dispersion en fonction de la classe d'âge. Forêt Nationale Supérieure du Minnesota, 1969-1989.....	63
<b>Figure 11 :</b> Effets de la concentration plasmatique en progestérone au moment de l'implantation sur l'incidence d'induction d'un oestrus. Chaque barre représente un individu. Oestrus (□) et absence d'oestrus (■).....	86

## **Table des tableaux :**

<b>Tableau 1</b> : Mesures des testicules d'un loup âgé de 5 ans avant, pendant et après la saison de reproduction.....	23
<b>Tableau 2</b> : Schéma hiérarchique au sein de la meute du zoo de Burgers à Arnhem de 1977 à 1980.....	43
<b>Tableau 3</b> : Composition de la meute de l'île d'Ellesmere, étudiée par Mech.....	56
<b>Tableau 4</b> : Nombre de régurgitations en fonction du statut du loup.....	57
<b>Tableau 5</b> : Pourcentage de succès d'installation sur un territoire, d'accouplement et d'élevage de louveteaux, en fonction de la classe d'âge.....	64
<b>Tableau 6</b> : Fréquence des anomalies transitionnelles de L7 dans trois populations de loup différentes.....	45
<b>Tableau 7</b> : Durée du report (mois) de l'oestrus chez 52 chiennes après la mise en place d'un implant d'analogue de la GnRH pendant l'anoestrus, le dioestrus et la gestation.....	85

## **Liste des abréviations utilisées :**

AFSSA : Agence française de la sécurité sanitaire des aliments

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AZA : Association des zoos Américains

DIU : Dispositif intra utérin

FSH : Follicles stimulating hormone

GnRH : Gonadotrophin releasing hormone

IM : Intra-musculaire

SC : Sous-cutané

LH : Luteinizing hormone

L7 : 7ème vertèbre lombaire

MGA : acétate de mélangestrol

MPA : acétate de médroxyprogestérone

PGF2 $\alpha$ : Prostaglandines F2  $\alpha$

PIF : Prolactin inhibiting factor

PRF : Prolactin realising factor

VO : Voie Orale

ZP : Zone pellucide

WAZA : World association of zoos and aquariums



## INTRODUCTION

Aujourd'hui la majorité des animaux maintenus en captivité n'a jamais connu le milieu sauvage, ces animaux se reproduisent mieux et vivent plus longtemps que leurs parents, qui vivaient dans le milieu naturel. Au fil des décennies l'amélioration des conditions de vie dans les parcs zoologiques a permis d'augmenter l'espérance de vie des animaux, le succès reproductif et de diminuer la mortalité néonatale. Ce succès de l'élevage en captivité est vite devenu problématique dans la mesure où il a conduit à un taux de naissance supérieur au taux de décès et par conséquent à un surplus d'animaux.

Le parc Alpha situé au cœur du parc Naturel du Mercantour (Alpes Maritimes), bien qu'il ait été créé récemment, est confronté à cette situation. Ce parc présente au public trois meutes de loups (*Canis lupus*) maintenus en semi-liberté, parmi elles une meute a donné chaque année naissance à une portée de louveteaux. Cette meute à l'origine composée de huit loups possède aujourd'hui vingt quatre individus après trois années de reproduction non contrôlée.

L'utilisation de méthodes contraceptives est par conséquent devenue une nécessité dans la gestion de la plupart des animaux maintenus en captivité. Cependant il n'est pas toujours facile de trouver une solution socialement et biologiquement acceptable au problème du sur-nombre d'animaux et du manque de place.

Fort heureusement, du fait d'une anatomie et d'une physiologie très proches du chien domestique (*Canis familiaris*) il est possible de mettre en place chez le loup la plupart des méthodes de contraception utilisées chez le chien. Néanmoins les effets de leur utilisation sur le comportement et la structure sociale méritent d'être considérés, la reproduction étant une activité sociale fondamentale chez le loup.

Ainsi du fait de leur structure sociale complexe et des difficultés inhérentes à la mise en place de traitements chez des individus sauvages, le choix de méthodes contraceptives pour contrôler les populations de loups captifs est difficile.

Le contrôle de la reproduction dans les parcs zoologiques peut-être également nécessaire pour des raisons médicales, afin d'éviter la consanguinité ou d'éviter la reproduction d'individus génétiquement indésirables.

Après un rappel des connaissances bibliographiques sur la physiologie de la reproduction du loup, nous envisagerons les différentes méthodes contraceptives utilisables chez le chien domestique puis leur application sur le loup en captivité. Enfin, nous discuterons des autres alternatives disponibles pour contrôler la taille d'une meute captive.

# **I. Biologie de la reproduction du loup**

## **A. Physiologie de la reproduction**

### **1. Généralités**

La physiologie de la reproduction de la chienne (*Canis familiaris*) a été largement étudiée et de nombreuses connaissances peuvent être extrapolées au loup (*Canis lupus*), le plus proche parent du chien. Cependant quelques différences existent entre les deux canidés : la chienne présente des chaleurs plusieurs fois par an (en général deux fois par an), la louve quant à elle, n'entre en oestrus qu'une seule fois par an, à un moment hautement dépendant de la photopériode.

#### **a) Une reproduction saisonnière**

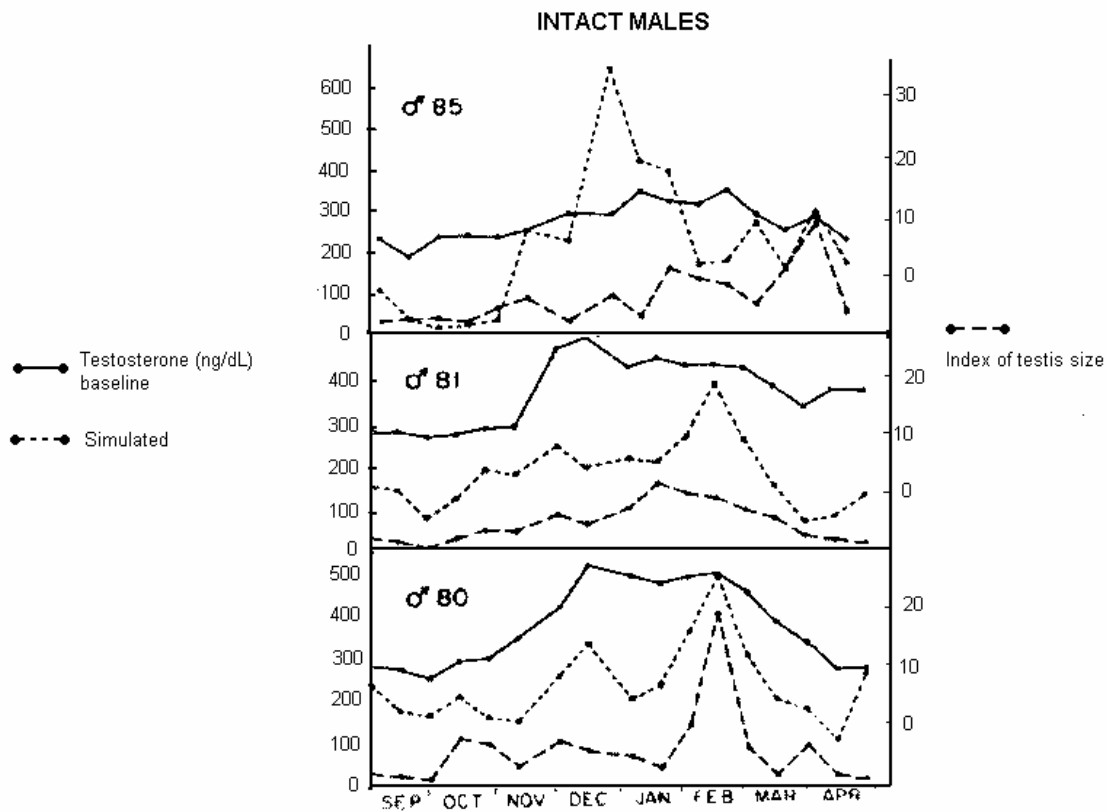
Selon les latitudes la période de reproduction se situe entre fin janvier et début avril, plus on se dirige vers le nord plus le cycle débute tard (mars-avril en Alaska). En Inde les chaleurs surviennent trois mois plus tôt, après la période des moussons et les petits naissent en décembre (Jhala and Giles 1991 ; Kumar and Rahmani 2001 (40)). Il en va de même pour les loups d'Éthiopie qui se reproduisent après la saison des pluies. Cependant les différences entre la latitude et la période de reproduction ne sont pas toujours significatives, par exemple en Israël et en Iran les naissances se produisent également début avril (40).

Dans la majeure partie de l'hémisphère Nord, les louveteaux naissent donc assez tôt au printemps. Ainsi leur sevrage (mai-juin) coïncide avec le pic de naissances des herbivores, les jeunes proies étant plus faciles à capturer. Ensuite, en automne les louveteaux sont assez grands pour suivre les adultes au cours de la chasse de plus grandes proies, plus difficiles à tuer. Ainsi, les louveteaux naissent après l'hiver, et atteignent une taille adulte avant l'hiver suivant (43).

Les mâles présentent également des variations saisonnières de certains paramètres reproducteurs. Alors que le chien est capable de se reproduire tout au long de l'année, la spermatogenèse est saisonnière chez le loup mâle.

Le loup possède un cycle reproducteur qui présente des variations saisonnières de sécrétion de LH (luteinizing hormone) et de testostérone ainsi qu'une modification de la morphologie des testicules (Cf. Figure 1). Les testicules sont plus volumineux pendant la saison de reproduction que pendant l'été. (Cf. Tableau 1). Des mesures de la taille des testicules chez deux autres mâles captifs pendant trois ans ont montré également un rythme circannuel (43).

**Figure 1** : Variation saisonnière de la concentration plasmatique basale et après stimulation par la LH de la testostérone et index de la taille des testicules pour trois loups mâles (40).





**Tableau 1** : Mesures des testicules d'un loup âgé de 5 ans avant, pendant et après la saison de reproduction (43).

	Septembre	Janvier	Avril
Longueur (cm)	4.0	3.3	5.2
Largeur (cm)	3.0	3.5	2.5
Volume (cm <sup>3</sup> )	19.55	35.59	10.9

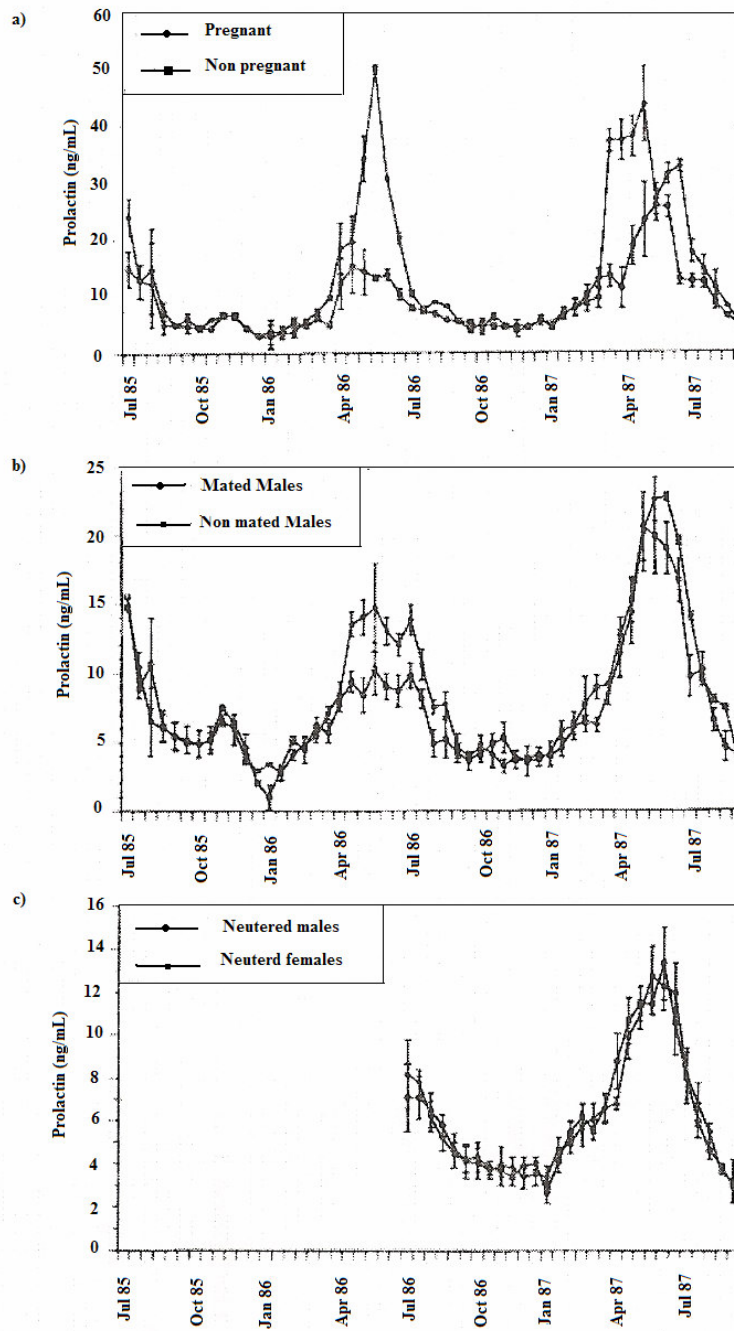
La prolactine est sécrétée par l'hypophyse également de façon saisonnière chez tous les loups de la meute, qu'ils s'agissent de mâles ou de femelles, de dominants ou de subordonnés (Cf. Figure 2). On observe ainsi un pic de sécrétion à la fin du printemps après la saison de reproduction coïncidant avec la naissance des louveteaux (28). Il faut noter que la variation est présente également chez les mâles et les femelles stérilisés.

Cette variation est à relier au moment où les soins à apporter aux louveteaux sont les plus importants comme c'est le cas pour d'autres espèces. La prolactine ne sert pas seulement à la croissance des lobules des glandes mammaires et au maintien de la lactation, elle permet également de favoriser un comportement parental chez tous les loups de la meute. Elle contribuerait à l'acceptation et à la prise en charge des louveteaux, ce qui permet à terme d'augmenter le taux de survie des louveteaux.

Remarque :

La mue est également associée au rythme saisonnier de la sécrétion de la prolactine. Les loups perdent leur sous-poil épais et isolant au printemps, lorsque les jours s'allongent et que les taux de prolactine commencent à augmenter. Inversement en automne, lorsque les jours raccourcissent et que la sécrétion de prolactine diminue, le pelage d'été est remplacé par le pelage épais de l'hiver (26).

**Figure 2 :** Variations de la concentration plasmatique moyenne de la prolactine chez des louves gestantes et non gestantes (a), des mâles avec ou sans partenaire (b), pour des mâles et des femelles stérilisés (c) (40).



La photopériode via la mélatonine pourrait être impliquée dans ce processus, cependant une étude réalisée sur douze loups mâles et femelles a montré que ces loups dont on a enlevé la glande pinéale (qui sécrète normalement la mélatonine) ou le noyau supra chiasmatic de l'hypothalamus n'ont pas présenté de modifications de leur période de reproduction (2).

### **b) Maturité sexuelle**

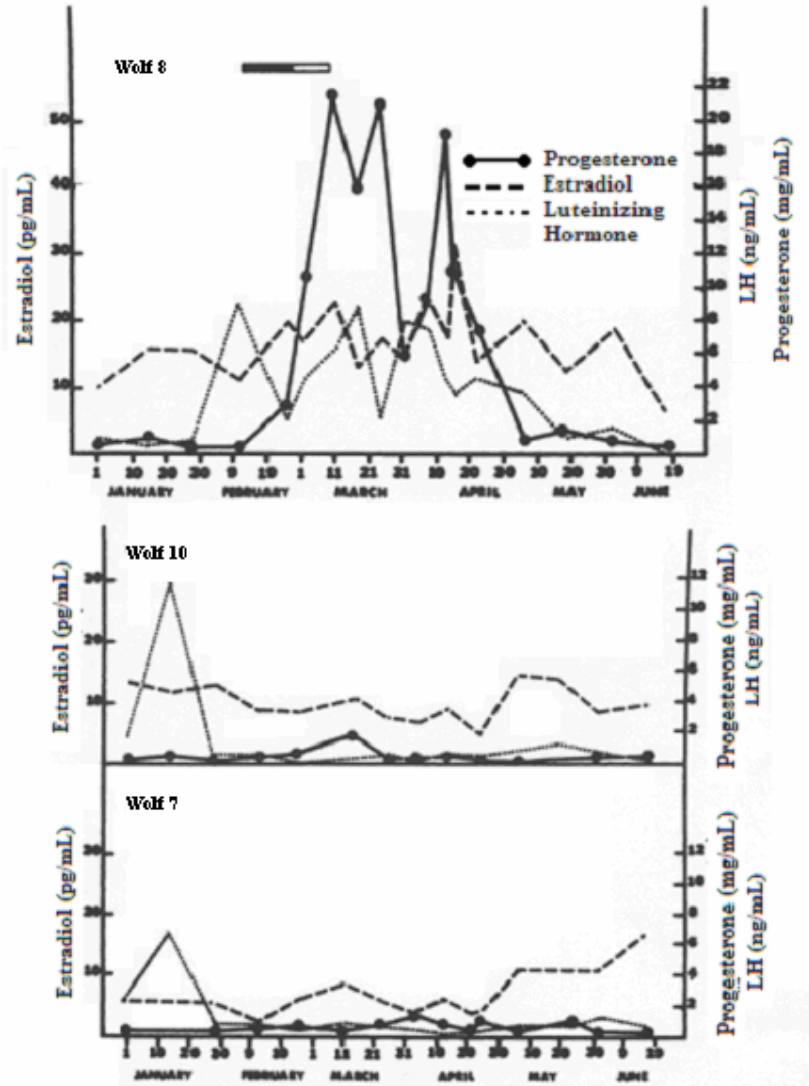
La plupart des louves ont leurs premières chaleurs ou leurs premières portées vers l'âge de 22 mois. En captivité, des louves ont été observées se reproduire dès l'âge de 10 mois (47). A l'état sauvage, les seuls cas de gestations si précoces ont été observés parmi la population de loups réintroduite du parc du Yellowstone, où les proies sont inhabituellement très abondantes (43).

Il semble donc que les jeunes louves de 9-10 mois sont tout à fait capables de se reproduire mais des facteurs sociaux peuvent supprimer l'apparition des premières chaleurs pendant la première saison de reproduction. Le fait que les chiennes soient capables de se reproduire à cet âge (ou même plus tôt) et à n'importe quelle saison, est peut être la conséquence de la perte de cette pression sociale, ainsi que la perte de sensibilité aux effets de la photopériode (20).

L'étude réalisée par Seal en 1979 illustre parfaitement ces propos. Seal a réalisé un suivi de reproduction sur une meute contenant quatre louves et trois loups en tenant compte du comportement, des frottis vaginaux et de la mesure des concentrations plasmatiques de la progestérone, des oestrogènes  $17\beta$  ainsi que de la LH (*luteinizing hormone*) (47).

Une louve de 10 mois (louve n°8) a présenté des chaleurs et est devenue gestante alors que ses deux sœurs (louves n°7 et n°10) du même âge, de taille et poids comparables n'ont pas présenté de chaleurs. Leur mère est morte au début de la saison de reproduction (début février), la louve n°8 est alors devenue dominante sur ses deux sœurs.

**Figure 3 :** Variations des concentrations plasmatiques de la progestérone, de l'oestradiol  $17\beta$  et de LH chez trois louves juvéniles au cours de la période de reproduction. La louve n°8 a mis bas le 6 mai et a eu deux louveteaux. La barre noire indique la durée observée du prooestrus et la barre claire la durée observée de l'oestrus (47).



En captivité la plus vieille ayant mis bas avait quatorze ans ; à l'état sauvage la plus vieille femelle avait au moins dix ans (43).

Comme la femelle, le mâle est capable de se reproduire dès l'âge de 10 mois, mais il le fait rarement. Les testicules sont petits à cet âge, ils peuvent se développer jusqu'à l'âge de 22 mois (Mitsuzuka 1987, 43). Des prélèvements de sperme sur des loups âgés de 10 mois ont montré un haut pourcentage de spermatozoïdes immatures (Mitsuzuka 1987). Une étude a montré que le mâle ne produit plus de spermatozoïdes à partir de quatorze ans. A l'état sauvage un mâle s'est reproduit au moins jusqu'à l'âge de 11 ans et a été le père de deux louveteaux la dernière année (43).

## **2. Caractéristiques du cycle reproducteur**

### **a) Cycle sexuel de la femelle**

#### **(1) Les différentes phases du cycle sexuel de la louve**

Le cycle reproducteur de la femelle est caractérisé par différentes phases : l'anoestrus, le pro-oestrus, l'oestrus, le métoestrus (gestation ou pseudo-gestation), les soins aux louveteaux, puis l'anoestrus. Chaque phase est caractérisée par des changements hormonaux, des changements cellulaires au niveau du vagin et des changements comportementaux.

La durée de chaque phase et l'ampleur des variations hormonales au cours d'une phase varient selon les individus et dépendent de l'interaction de nombreux facteurs tels que le génotype, l'âge, l'expérience, les conditions de vie, la latitude et l'environnement social.

#### **Le pro-oestrus**

Le pro-oestrus est une phase de transition, précédant l'oestrus. Au cours de cette phase la femelle est attractive pour les mâles mais non réceptive, elle n'accepte pas l'accouplement. Cette phase est caractérisée par une augmentation du taux plasmatique d'oestrogène.

La longueur du pro-oestrus des louves en captivité est en moyenne de 15.7 +/- 1.6 jours, soit environ le double de celui de la chienne. Cependant, à l'état sauvage, cette phase

peut durer jusqu'à 45 jours, et si l'on se base sur les changements cellulaires au niveau vaginal, jusqu'à 60 jours (43).

Des pertes sanguines sont communément observées mais un examen rapproché ou un frottis vaginal sont parfois nécessaires pour les mettre en évidence chez certains animaux.

Le profil des hormones durant le pro-oestrus est identique à celui du chien.

### **L'oestrus**

L'oestrus est la période où la femelle est réceptive, et donc accepte l'accouplement. Ce comportement est dû à une diminution du taux plasmatique d'œstrogène et à une augmentation de la progestérone.

Selon une étude sur des femelles en captivité, l'oestrus dure en moyenne 9.0 +/- 1.2 jours, mais dans une autre étude il a été montré que l'oestrus pouvait atteindre 15 jours. A l'inverse nous avons très peu de données sur la durée de l'oestrus et ses variations saisonnières chez les louves sauvages. Cependant une femelle sauvage a été observée sur plusieurs années consécutives s'accouplant pendant près d'un mois. Ces informations suggèrent que l'oestrus peut durer jusqu'à un mois chez certaines femelles (43).

### **Le metoestrus :**

Le métoestrus (ou dioestrus) correspond à la phase lutéale que ce soit chez les femelles gestantes ou les non gestantes. Lorsque la femelle est gestante, il dure jusqu'au jour de la mise bas où la progestérone chute pour atteindre son nadir, chez les femelles non gestantes il dure un peu moins longtemps.

### **L'anoestrus :**

Les loups sont en anoestrus de juin à décembre (excepté en Inde), il commence après la lactation ou avant celle-ci si elle n'a pas lieu. Cette période correspond généralement à une période de repos au niveau endocrinien.

## (2) Endocrinologie du cycle sexuel

### (a) Les hormones ovariennes

#### - Les oestrogènes

Ils sont sécrétés par la thèque interne des follicules ovariens en maturation (et par les corps jaunes).

Ils interviennent d'une part au niveau central dans la régulation des sécrétions hypothalamo-hypophysaires. Ainsi ils stimulent la sécrétion du pic de gonadotropines (*Follicles stimulating hormone* (FSH) et *luteinizing hormone* (LH)) en milieu de cycle, responsable de la maturation finale et de l'ovulation du follicule en croissance.

Ils agissent d'autre part sur certaines zones sensibles du cerveau, influant sur le comportement sexuel des femelles et sont responsables des manifestations comportementales des chaleurs.

Les oestrogènes ont par ailleurs des effets très marqués sur le tractus génital. Ils provoquent une congestion et un œdème de la vulve et du vagin. Ils sont responsables des changements d'apparence des cellules épithéliales du vagin. Enfin au niveau de l'utérus, ils stimulent la croissance du myomètre et de l'endomètre, l'augmentation de la contractilité utérine et favorisent l'ouverture du col (27).

#### - Les progestagènes

La progestérone est le stéroïde majeur sécrété pendant la seconde partie du cycle ovarien, principalement par les cellules de la granulosa et de la thèque, organisées en corps jaune (le follicule ovarien en produit une très faible quantité).

La plupart de ses effets physiologiques résulte des interactions avec les oestrogènes, une sensibilisation préalable par les oestrogènes est donc nécessaire.

Au niveau comportemental, l'administration de progestérone après celle d'oestrogènes augmente l'activité sexuelle, alors que si la progestérone est administrée seule avant les oestrogènes aucune activité n'est notée.

Au niveau de l'utérus les oestrogènes ont stimulé la croissance glandulaire. La progestérone stimule alors l'activité sécrétoire de ces cellules hypertrophiées, inhibe les

contractions spontanées du myomètre et maintient le col fermé, d'où l'importance du maintien d'un taux élevé de cette hormone au cours de la gestation.

Enfin au niveau vaginal, la progestérone inhibe la kératinisation des cellules épithéliales oestrogéno-induite et entraîne une mucification vaginale (27).

## **(b) Hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire**

### **- La GnRH (*Gonadotropin releasing hormone*)**

La GnRH est sécrétée par les neurones du noyau arqué de l'hypothalamus, elle gagne alors les cellules gonadotropes situées dans l'hypophyse antérieure en empruntant les capillaires du système porte hypophysaire. Sans être spécifique des canidés, ce passage direct évite une dilution de la GnRH dans la circulation générale.

La libération n'est pas continue et revêt un caractère pulsatile. La GnRH est le seul facteur hypothalamique à contrôler la synthèse et la libération des gonadotropines, c'est-à-dire la LH et la FSH. Les cas où les sécrétions de LH et de FSH sont dissociées sont dus à des différences de sensibilité des cellules gonadotropes vis-à-vis de la libération de la GnRH (27).

### **- LH, FSH plasmatique**

Les deux gonadotropines (LH et FSH) sont sécrétées par l'hypophyse antérieure, de manière pulsatile, mise en évidence par l'apparition de pics sécrétoires intermittents sur une sécrétion basale faible mais continue dite tonique. La pulsatilité est cependant plus marquée pour la sécrétion de LH. Il existe un décalage de 60 à 90 minutes entre le pic de GnRH et ceux de FSH et LH.

La FSH est indispensable à la croissance du follicule ovarien et à sa maturation ainsi qu'à l'augmentation de la sensibilité des cellules folliculaires vis-à-vis de la LH. Elle induit le début de la sécrétion d'oestrogènes par la thèque interne des follicules.

La LH active la maturation finale du follicule ovarien, provoque l'ovulation et la formation du corps jaune. La LH contrôle donc la lutéinisation et la synthèse de la progestérone. De plus, elle stimule la synthèse des stéroïdes par toutes les cellules ovariennes (27).



### (c) Variations hormonales au cours du cycle

#### - Pro-œstrus

Une augmentation du taux d'oestradiol  $17\beta$  est notée, il passe de 10-20 pg/mL à 30 à 50 pg/mL en fin de pro-œstrus.

Le taux plasmatique de progestérone reste bas, environ 1 ng/mL, il peut occasionnellement atteindre 3ng/mL.

Comme chez le chien une décharge mineure de LH survient entre 9 et 24 jours avant une décharge majeure de LH pré-ovulatoire pendant l'œstrus (24).

#### - Oestrus

Le pic pré-ovulatoire de LH atteint 10-15 ng/mL, taux légèrement inférieur à celui du chien et dure 1 à 3 jours chez les deux canidés. L'ovulation est déclenchée par le pic de LH qui permet le développement et la lutéinisation des follicules ovariens matures. Une sécrétion de progestérone par le corps jaune succède alors à la sécrétion d'œstrogènes par les follicules. Le pic de FSH survient 24 à 48 heures après l'ovulation mais est toujours faible.

Chez le loup comme le chien, le pic de LH survient moins d'un jour après la transition entre le comportement de pro-œstrus et celui de l'œstrus. Cependant, des mâles agressifs peuvent arriver à monter des femelles quatre à cinq jours avant le pic de LH, et certaines femelles refusent l'accouplement jusqu'à sept jours après le pic (24).

On ne connaît pas précisément le moment de l'ovulation chez la louve mais l'on sait que chez le coyote, proche parent du loup, l'ovulation survient 1 à 9 jours après le début de l'œstrus (47).

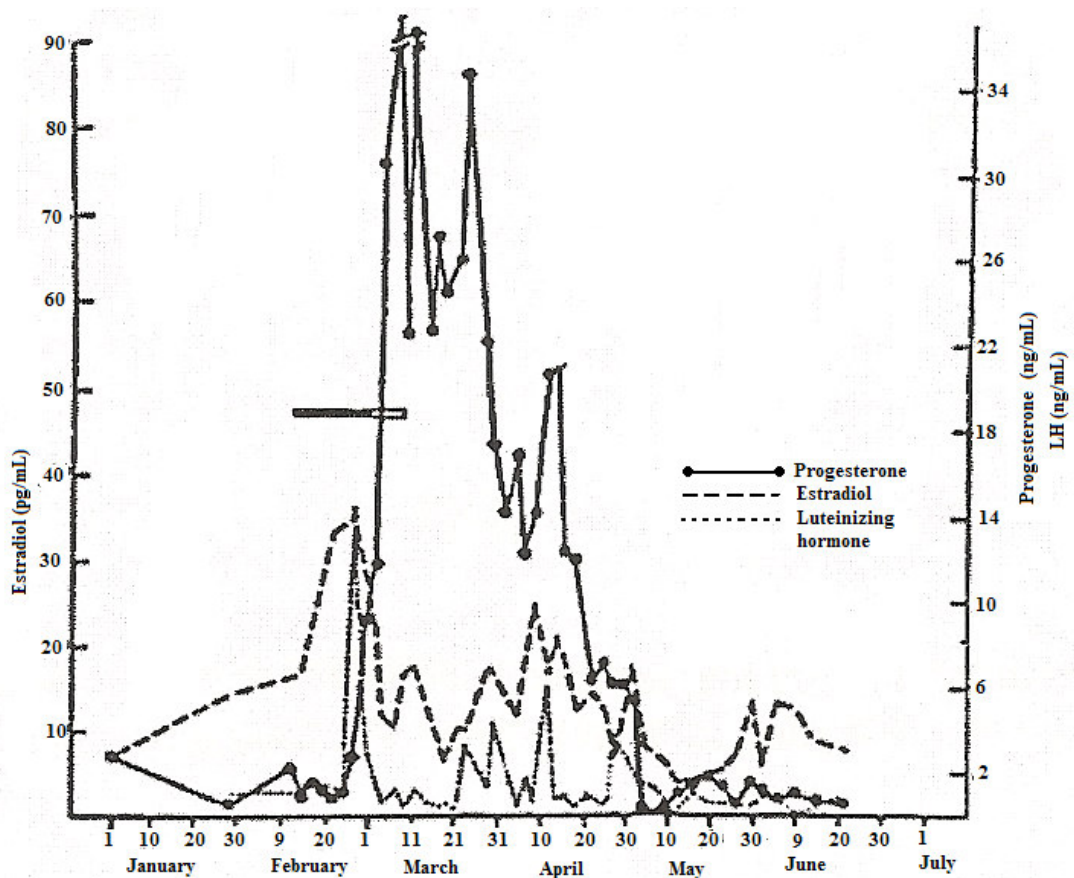
#### - Métoestrus

La concentration en oestradiol  $17\beta$  fluctue entre 10 et 30 pg/mL mais contrairement au chien aucune augmentation pré-partum d'oestradiol  $17\beta$  n'est observée chez le loup.

Le pic de sécrétion de la progestérone est atteint 10 à 14 jours après le pic de LH et atteint la valeur de 22-40 ng/mL, valeur moins élevée que chez le chien. Un taux élevé de progestérone est maintenu pendant 56-68 jours, soit la durée de la gestation. Chez les femelles non gestantes la progestérone a une évolution similaire, mais le taux de progestérone est maintenu, un peu moins longtemps.

La prolactine augmente doucement tout au long du métoestrus chez les femelles non gestantes et les femelles gestantes (24).

**Figure 4 :** Variations des concentrations plasmatiques de la progestérone, de l'oestradiol 17 $\beta$  et de LH chez une louve de cinq ans gestante au cours de la période de reproduction. La barre noire indique la durée observée du pro-oestrus et la barre claire la durée observée de l'oestrus (47).



### (3) Cytologie vaginale du loup

Les variations de la cytologie vaginale du loup sont très proches de celles observées chez la chienne.

#### Pro oestrus :

Pendant le pro-oestrus on observe des cellules épithéliales kératinisées (cellules intermédiaires), de nombreux érythrocytes, et quelques leucocytes (24).

Oestrus :

On observe des cellules épithéliales kératinisées anucléées ou à noyau picnotique, peu d'érythrocytes et de rares leucocytes (24).

Métoestrus :

On observe sur le frottis des leucocytes en abondance et quelques neutrophiles, des cellules épithéliales rondes non kératinisées font leur apparition (24).

Anoestrus :

On observe des cellules non kératinisées avec un cytoplasme bleu clair très distinct et des noyaux de taille uniforme, ainsi que des leucocytes en grand nombre (24).

**b) Caractéristiques de la reproduction du mâle**

Chez les loups d'Amérique du nord, la sécrétion de testostérone fluctue tout au long de l'année (de 10 à 560 ng/dL), on observe une forte augmentation de la sécrétion de décembre à mars, et la sécrétion est à son niveau le plus bas de juin à septembre. La LH, dont la sécrétion est stimulée par la GnRH, suit un cycle similaire à celui de la testostérone.

Les variations de sécrétion de la testostérone expliquent pourquoi la spermatogenèse est également cyclique. Elle atteint son maximum de production lors de la saison de reproduction.

De janvier à mars, des prélèvements de sperme ont été collectés sur des loups âgés de cinq ans et ont montré des volumes moyens de 1.6mL (de 0.2 à 4 mL), un nombre de spermatozoïdes de  $372.1 \times 10^6$  par mL en moyenne et une motilité de l'ordre de 90-95% (Mitsuzuka 1987 cité par 24). Les anomalies parfois notées sont des anomalies de conformation (de la tête, du flagelle...) et des anomalies acrosomiales (24).

### **3. Fécondation, gestation**

#### **a) Fécondation et période fertile**

Peu de choses sont connues sur la maturation des ovocytes et la fécondation, mais on peut considérer une fois de plus que ce que l'on connaît chez le chien peut s'appliquer au loup.

Le spermatozoïde du chien pénètre rapidement l'ovocyte immature et forme le pronucléus mâle mais la réelle fécondation (fusion des deux pronuclei) doit attendre que l'ovocyte soit mature. L'ovocyte n'est mature que deux ou trois jours après l'ovulation ce qui arrive deux jours environ après le pic de LH.

Après l'ovulation, l'ovocyte survit environ deux-trois jours et les spermatozoïdes du chien peuvent rester fertiles 6 jours dans les voies génitales de la femelle.

D'un accouplement 9-10 jours après le pic de LH résulte rarement une gestation et dans les rares fois où la fécondation réussit, la portée est composée seulement de un ou deux petits avec une gestation apparente qui dure 55-57 jours environ. Un accouplement deux jours avant le pic de LH est également rarement fertile et s'il y a gestation elle peut durer 68 jours ou plus.

Compte tenu de ces observations, on déduit que le pic de fertilité est obtenu pour des accouplements naturels de 0 à 5 jours après le pic de LH (8).

#### **b) Durée de gestation, taille des portées**

La gestation chez le loup dure 62 jours +/- 4 jours (47). Les portées chez le loup sont composées en moyenne de 6 louveteaux (1 à 13 petits), qui pèsent environ 300-500 grammes à la naissance. Il semble que les primipares, en particulier lorsqu'elles sont jeunes, aient des portées plus réduites (43).

### **c) Variations hormonales au cours de la gestation**

Un jour ou deux avant la mise bas le taux plasmatique de progestérone chute en dessous de 3ng/mL, et la prolactine augmente. La concentration de prolactine est plus importante chez les femelles qui vont allaiter (20-50 ng/mL) que chez les femelles présentant une pseudo-gestation (10-20 ng/mL). Après le sevrage la prolactine chute rapidement et retrouve son niveau de concentration basale (environ 3 ng/mL) (24).

### **d) Diagnostic de gestation**

La gestation chez le chien peut être diagnostiquée par de nombreux tests : l'augmentation du volume de l'utérus est palpable à partir de 20-25 jours, l'échographie peut être réalisée à partir de 19-22 jours (mise en évidence des ampoules fœtales, puis des battements cardiaques) et la radiographie peut être réalisée à partir de 45-48 jours. Ces méthodes peuvent également être appliquées chez le loup (28).

Parce que les louves en gestation ou en pseudo-gestation ont les mêmes profils hormonaux, un diagnostic de gestation basé sur les concentrations hormonales (notamment sur la concentration en progestérone) est compliqué.

Des mesures des mamelles peuvent également nous donner une idée du statut reproducteur des louves sauvages, bien qu'il n'existe pas d'index précis. Une étude réalisée par Mech (24) en 1993 a montré une différence significative entre les louves qui ont eu des louveteaux dans l'année ou précédemment et entre les louves de moins d'un an ou les louves qui n'ont jamais eu de louveteaux. Les résultats des mesures des mamelles inguinales sont les suivants: 1.6 +/- 0.018 cm pour les louves reproductrices et 0.6 +/- 0.009 cm pour les louves non reproductrices.

## **B. Comportements sociaux et accès à la reproduction**

### **1. Comportement lors de la saison de reproduction**

A tous les changements saisonniers hormonaux correspondent des changements comportementaux qui touchent aussi bien les femelles que les mâles. En effet, en automne l'augmentation de la sécrétion de la testostérone chez les mâles et des œstrogènes chez les femelles, amorce une séquence de différentes phases physiologique et comportementales.

Chez les femelles les différentes phases du cycle de reproduction peuvent être reconnues sur le terrain.

#### **Pré-pro-œstrus :**

Il se déroule à la fin de l'automne ou au début de l'hiver avant que les femelles aient des pertes sanguines. Durant cette période, il n'est pas inhabituel pour le futur couple d'exprimer un intérêt l'un envers l'autre en vue d'un futur accouplement. Par exemple, durant les deux mois précédant l'oestrus, les couples dorment à distance des autres loups de la meute (35). La femelle reproductrice est suivie de beaucoup plus près par le mâle reproducteur. Ils se montrent également très affectueux l'un envers l'autre, ils vont par exemple se frotter le nez, se lécher...

Le double marquage (le mâle urine à l'endroit où la femelle vient d'uriner) devient plus fréquent. Rothman et Mech (1979) ont observé en suivant pendant un hiver des loups munis de colliers radio-émetteurs que les couples marquent plus souvent que les loups seuls et les couples formés plus récemment marquent également plus que les couples anciennement établis (43).

On a supposé que ce double marquage encourage la synchronisation de la reproduction et informe les autres membres de la meute. Les marquages répétitifs effectués par le mâle pendant cette période révèlent un taux important de testostérone (avant même que la femelle n'entre en pro-oestrus).

### **Pro-oestrus :**

La phase de pro-oestrus commence lorsque des pertes sanguines vaginales apparaissent. Le taux plasmatique d'œstrogènes augmente durant cette phase et les mâles adultes deviennent très attentifs à l'odeur de l'urine et de la vulve de leur compagne. Ce moyen de communication est particulièrement efficace chez les loups sexuellement naïfs et les couples nouvellement formés (3).

La femelle en pro-oestrus va faire la cour au mâle, en général elle va se pavaner, se frotter et se serrer contre le mâle, elle va placer son cou sur le dos de celui-ci, va lui donner des petits coups de tête, etc... Ce type de comportement peut être assimilé à de la sollicitation active.

Cependant la fréquence des sollicitations de la femelle envers le mâle varie énormément en fonction de l'individu, les femelles qui sollicitent le plus ne sont pas forcément les plus attractives (43).

### **Oestrus :**

Chez les canidés, l'oestrus est la phase du cycle où la femelle accepte l'accouplement.

Lors de la parade nuptiale, le mâle domine la femelle, elle observe une attitude soumise, reste figée. Parfois elle interrompt son immobilisme en effectuant une course soudaine, entraînant le mâle derrière elle. Les comportements de jeux à connotation sexuelle sont de plus en plus fréquents tels que monter l'un sur l'autre, se jeter sur le dos, se bousculer, se frotter l'un contre l'autre (le mâle frotte son cou sur le dos de la femelle, la femelle courbe la tête sous le cou du mâle). La louve va montrer des dispositions croissantes à l'accouplement en s'immobilisant lorsque le loup essaie de la couvrir, en autorisant le mâle à lui lécher les parties génitales. Ce rituel peut durer plusieurs jours, jusqu'à ce que la femelle cède.

Une femelle non réceptive peut mordre, grogner, rester coucher, et essaie de repousser le mâle. En revanche lorsque la femelle est réceptive, elle découvre sa vulve gonflée en plaçant sa queue sur le côté.

Si un mâle est inattentif, une femelle en oestrus peut se montrer insistante en se frottant contre lui, en se battant contre lui et même parfois en lui montant dessus (43).

Au cours de l'accouplement, les deux animaux restent attachés l'un à l'autre pendant 15 à 30 minutes. Ce phénomène est provoqué par le gonflement des bulbes caverneux et la contraction du sphincter vaginal. Pendant cette phase de la copulation, le mâle peut descendre de la femelle et les deux animaux se retrouvent dos à dos liés par leurs organes génitaux. La fonction de ce lien serait de stimuler le transport du sperme directement dans l'utérus. L'éjaculation a lieu pendant la pénétration mais aussi pendant la phase d'attachement. Les autres loups profitent parfois de ce moment pour harceler le couple. Un coït fertile suppose que les animaux ne se séparent pas pendant un certain temps, la conception est beaucoup plus fréquente lorsqu'il y a un lien copulatoire (44).

Le nombre de copulations par oestrus varie selon les individus, cela peut aller de une à onze, avec une moyenne de six pour cinq femelles observées en captivité tout au long de leurs chaleurs (Packard 1980 cité par 43).

### **Métoestrus :**

En métoestrus les femelles, qu'elles soient gestantes ou non (pseudo-gestantes), présentent des changements comportementaux (construction de la tanière) et physiques. Elles perdent leurs poils au niveau du ventre et leurs mamelles vont gonfler.

Malgré de nombreuses spéculations il n'a jamais été prouvé que les louves en pseudo-gestation s'occupent des nouveaux nés, (allaitement par exemple). Bien que l'on puisse obtenir du lait des mamelles de ces femelles, pendant le métoestrus, la sécrétion est probablement non fonctionnelle. Tous les cas de coopération à l'élevage de louveteaux concernant l'allaitement, impliquaient des femelles qui avaient toutes été gestantes (43).



## 2. Stratégies de reproduction

L'unité sociale de base parmi les loups est le couple reproducteur fréquemment appelés couple alpha . Cependant on retrouve fréquemment quelques variations autour de cette unité : un mâle et deux femelles matures ; le mâle mature avec un de ses fils de l'année précédente et une nouvelle compagne ; une femelle mature avec un nouveau compagnon, et son jeune frère. Mais il peut y avoir de multiples autres combinaisons.

Par deux fois, des auteurs ont observé des groupes composés uniquement de mâles : il s'agirait sûrement de groupes temporaires en attente de trouver une femelle. Ballard et al. ont observé une meute de trois mâles qui a occupé un territoire de 3077 km<sup>2</sup> en Alaska pendant près d'un an. Dans le Montana, des loups mâles séparés de leur meute de naissance sont restés ensemble de juin à septembre avant d'être rejoints par un loup d'âge et de sexe inconnu (34).

La meute la plus inhabituelle jamais rencontrée fut une meute de la population réintroduite à Yellowstone. Pendant l'été 2001-2002 trois nouvelles meutes se sont formées à partir de loups s'étant dispersés de quatre meutes. Une de ces nouvelles meutes était constituée de quatre femelles et deux mâles. Le printemps suivant, cette meute a produit deux portées, élevées chacune dans une tanière différente, la meute fut alors constituée de 6 adultes et 4 louveteaux (34).

La meute s'agrandit ensuite naturellement avec la descendance du couple de reproducteurs. Les descendants restent en général de 10 à 54 mois avec leurs parents avant de se disperser, sauf circonstances particulières (19).

La composition de la meute peut varier également avec l'acceptation de loups étrangers à la meute.

Pour comprendre les différentes stratégies de reproduction du loup, il faut avant tout comprendre que chaque loup, dès qu'il devient mature est un reproducteur potentiel, et qu'il aura toujours tendance à essayer de se reproduire. Des études sur des meutes captives ou sauvages ont montré que la plupart des jeunes loups diffèrent leurs premières saisons de reproduction tant qu'ils sont encore présents dans leur meute de naissance. Cette stratégie est considérée maintenant comme le résultat naturel de la pression de compétition pour la

reproduction (40). Pour réussir à se reproduire, les loups qui se sont dispersés doivent trouver un loup du sexe opposé et un territoire avec suffisamment de ressources alimentaires.

Au sein d'une population saturée, lorsque tous les territoires sont occupés, les seules façons alors de trouver des possibilités de se reproduire sont :

- attendre que les perspectives de reproduction s'ouvrent avec par exemple la mort d'un des loups du couple reproducteur dans la meute natale ou les meutes voisines.
- usurper la place d'un reproducteur
- se reproduire en plus du couple dominant
- se découper un territoire parmi les territoires déjà établis.

#### **a) Portées multiples**

Les multiples portées au sein d'une meute sont moins rares que ce que l'on pourrait croire. Plutôt que d'attendre d'avoir la possibilité de remplacer le couple reproducteur ou de former leur propre meute, quelques loups matures se reproduisent en plus du couple dominant en restant dans leur meute natale.

Lors de portées multiples, le plus souvent les femelles reproductrices sont soit une mère et sa fille soit deux sœurs, car il est très rare qu'une étrangère soit adoptée, à moins que la femelle reproductrice meurt. Le mâle se reproduisant avec la femelle supplémentaire, est le plus souvent le mâle dominant même si la femelle est sa propre fille.

Les croisements de loups apparentés ont toujours été considérés comme communs parmi les loups sauvages. Cependant des études génétiques récentes sur les paires de reproducteurs de la population de la forêt Supérieure Nationale (Minnesota) et du parc national du Denali (Alaska) ont montré que les paires étaient très rarement apparentées (34).

Si ce n'est pas le mâle dominant, les accouplements supplémentaires peuvent être le fait de loups adoptés ou de loups présents temporairement au sein de la meute. Cela permet peut-être d'expliquer le rôle des loups adoptés et pourquoi la majorité sont des mâles. Dans le parc du Denali un mâle adopté a quitté sa nouvelle meute après un an et a été observé, à proximité, avec une femelle mature probablement issue de la meute. Ils ont eu une portée l'année suivante sur un territoire adjacent (34).

Mais il semble que l'intérêt pour les femelles matures ne soit pas toujours le motif apparent pour inciter un mâle à rejoindre une nouvelle meute. Un mâle suivi par radio émetteur, âgé de 10 mois au début des observations, est resté dans sa meute de naissance jusqu'à juin, puis il a rejoint une paire de reproducteurs avec leurs louveteaux, il est resté avec eux jusqu'au mois de janvier et sur leur territoire jusqu'au mois de juillet. La meute ne possédait pas de femelles matures lorsqu'il les a rejoints et il est parti lorsque les femelles sont devenues matures (34).

Lorsque le mâle reproducteur meurt et est remplacé par un nouveau mâle extérieur à la meute, des croisements consanguins sont évités.

Pour les raisons suivantes il semble logique de suggérer que des portées multiples surviennent particulièrement lorsque la nourriture est abondante. Les femelles gestantes requièrent beaucoup de nourriture pour produire des louveteaux et les loups matures ont plus tendance à rester dans la meute si la nourriture ne manque pas, les agressions sont moins importantes.

Beaucoup d'études ont souligné l'importance des facteurs sociaux et comportementaux concernant la dispersion. Ces facteurs sont effectivement grandement impliqués mais derrière eux se cache le stress lié à l'alimentation, la compétition sociale varie en fonction de l'abondance en nourriture (19).

### **b) Usurper la place d'un reproducteur**

Plusieurs cas d'usurpation de la place du reproducteur (mâle ou femelle) ont été observés. Dans la forêt supérieure nationale (Minnesota), une femelle âgée de 3 ans s'est accouplée avec son « beau père » un an après que sa mère se fut accouplée avec lui et eut quitté la meute, on ne sait pas si la mère est partie volontairement ou si elle a été chassée. Sur l'île d'Ellesmere, une louve de trois ans a remplacé sa mère au statut de reproductrice, la mère quand à elle est restée parmi la meute en tant qu'auxiliaire (30).

Il ne fait pas de doute qu'il s'agit de la stratégie la plus périlleuse pour obtenir le statut de reproducteur. Cette stratégie a été parfois observée en captivité, où des jeunes loups sont entrés en compétition avec leur père pour se reproduire avec leur mère. De tels combats en captivité sont parfois mortels, ce qui est rare en milieu sauvage, le loup rejeté ayant la possibilité de s'enfuir.

### **3. Influence sociale et régulation du comportement reproducteur**

Dans un groupe composé de loups adultes femelles et mâles, les intérêts sexuels peuvent déclencher de nombreux conflits pendant la saison de reproduction.

La femelle alpha décourage les autres femelles plus ou moins toute l'année en exerçant sa domination alors que le mâle alpha va interférer plus spécifiquement pendant la période de reproduction sur les interactions sexuelles de ses subordonnés par des agressions (14).

#### **a) Choix du partenaire (observations en captivité)**

Pendant la saison de reproduction on observe non seulement de la compétition entre les membres de la meute, mais aussi des préférences très prononcées entre certains individus. La compétition entre les membres de la meute est influencée par les différences relatives de dominance et les relations particulières qui existent parmi les membres de la meute. Ces préférences ne sont pas forcément corrélées au rang social des individus. Dans une de ses études de 1967 sur des loups en captivité, Rabb a noté que le mâle alpha préférait une femelle subordonnée et repoussait systématiquement toutes les sollicitations sexuelles de la femelle alpha. La femelle alpha s'est alors rabattue sur le mâle bêta. Le mâle alpha a conservé cette préférence pour la femelle subordonnée pendant plusieurs années et a manifesté cette préférence même lorsqu'il a perdu sa position de dominant (30).

Schotté et Ginsburg (1987) quant à eux rapportent une préférence nette entre le mâle alpha et la femelle alpha mais cela n'empêcha pas la femelle de s'accoupler avec d'autres mâles (cité par 14).

Derix et Van Hoof ont étudié sur plusieurs années (1977 à 1980) le comportement social pendant la période de reproduction d'une meute élevée en captivité aux Pays-Bas, au zoo de Burgers à Arnhem (14). Ils ont mis en évidence l'existence de relations sexuelles préférentielles, et les ont étudiées en détails. Pour déterminer le degré de préférence ils ont utilisé les comportements « suivre sexuellement » pour les mâles et « présence active » pour les femelles. Les mâles, en particulier de haut rang, montrent de fortes préférences pour certaines femelles.

**Tableau 2** : Schéma hiérarchique au sein de la meute du zoo de Burgers à Arnhem de 1977 à 1980 (14).

	1977	1978	1979	1980
Males	1 Hector	Hector	Hector	Pluis
	2 Pluis	Pluis	Pluis	Vlek
	3 Vlek	Vlek	Vlek	Kojak
	4 Jasper	Jasper	Kojak	Allegaar
	5 Kojak	Kojak	Dorus	Jasper
	6 Friend	Ukkel	Jasper	Dorus
	7 Ukkel	Friend	Friend	Friend
	8 Dorus	Dorus	Allegaar	
	9	Allegaar		
Females	1 Geeloog	Geeloog	Geeloog	Geeloog
	2 Witje	Witje	Witje	Witje
	3 Rooie	Els	Rooie	Els
	4 Els	Rooie	Els	Rooie
	5 Muis	Sonja	Muis	Muis
	6 Sonja	Muis	Loeki	Loeki
	7 Loeki	Loeki	Sonja	Sonja

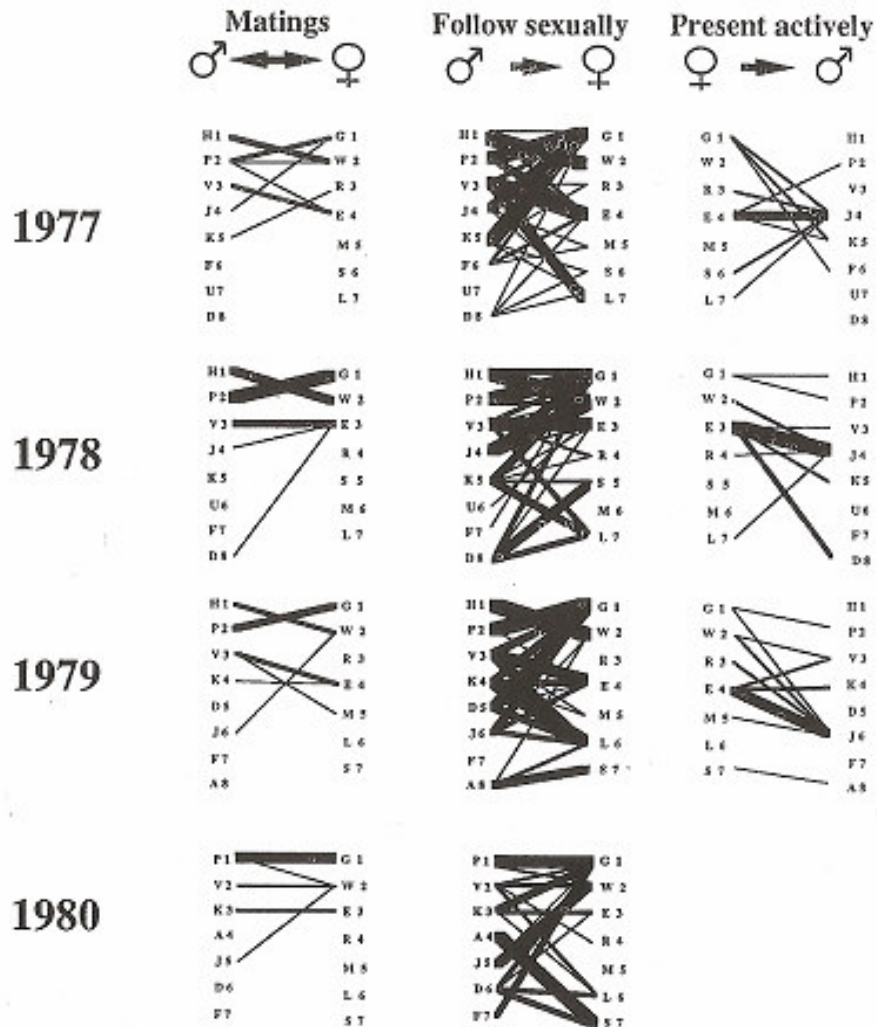
**Figure 5 :** Préférences entre les mâles et femelles, respectivement déterminées par les comportements « suivre sexuellement » et « présence active » (14).

A gauche : paires qui se sont accouplées.

Au milieu et à droite : préférences entre les mâles et femelles, respectivement déterminées par les comportements « suivre sexuellement » et « présence active ».

Les loups sont positionnés en fonction de leur rang social.

La fréquence est indiquée par l'épaisseur du trait.



Parmi les femelles, seule la femelle E qui est placée au troisième ou au quatrième rang selon les années, montre une très grande préférence pour le mâle nommé J. Malgré cela elle s'est accouplée une seule fois avec lui en 1978. D'autres femelles montrent également un intérêt pour lui, mais aussi pour d'autres mâles, notamment la femelle alpha qui montre des préférences pour les mâles J, K et F la première année, H et P la deuxième et P et J la troisième.

La distinction de préférence des mâles correspond à la distribution des copulations surtout pour les mâles de haut rang, alors que pour les femelles la correspondance est beaucoup plus faible. Sur un total de 52 accouplements observés entre 1977 et 1979, 26 ont lieu entre un mâle et une femelle qui expriment une préférence mutuelle, et 25 ont lieu en fonction des préférences du mâle. On n'a aucun accouplement impliquant un mâle qui ne soit pas intéressé, en revanche il est fréquent qu'un mâle s'accouple avec une femelle qui ne lui a montré aucun intérêt.

De 1977 à 1979, le mâle alpha a montré une forte préférence pour la femelle bêta et s'est accouplé préférentiellement avec elle. Sa mort en 1979 a provoqué une perturbation dans la distribution des préférences et des accouplements. Les mâles ont alors reporté leurs intentions sur la femelle bêta. Les mâles subordonnés les années précédentes ont été obligés de détourner leurs intentions sur des femelles qui présentaient moins d'intérêts pour eux. Les choix de partenaires des mâles résultent d'une part des opportunités, en fonction des réactions des autres mâles et d'autre part de la permissivité des femelles.

En comparaison avec les mâles, la fréquence d'activité sexuelle est très basse pour les femelles, qui font peu d'efforts pour initier des contacts sexuels. Néanmoins les femelles conservent une influence sur l'établissement des accouplements, les femelles peuvent rejeter activement certains mâles plus que d'autres.

La femelle alpha distribue ses intentions sexuelles à l'encontre de plusieurs mâles tandis que le mâle alpha montre une distribution sélective de ses intentions à l'égard de quelques femelles. On suppose que la femelle alpha adopte cette attitude dans le but de recruter des partenaires pour les futurs soins de ses petits, en créant une « illusion de paternité chez ses mâles ». La compétition entre les mâles s'en voit diminuée, compétition qui pourrait interférer sur la stabilité de la meute et donc sur la coopération interindividuelle dont elle est grandement dépendante pendant la période de soins de louveteaux (14).

Les études réalisées en captivité précisent ce qui se dessine en milieu sauvage. Il faut cependant garder à l'esprit qu'elles ne sont que partiellement représentatives de ce qui se passe dans la nature. En captivité les groupes de loups sont souvent des frères et sœurs et les comportements de dispersion ou de scission sont impossibles.

### b) Suppression de la reproduction

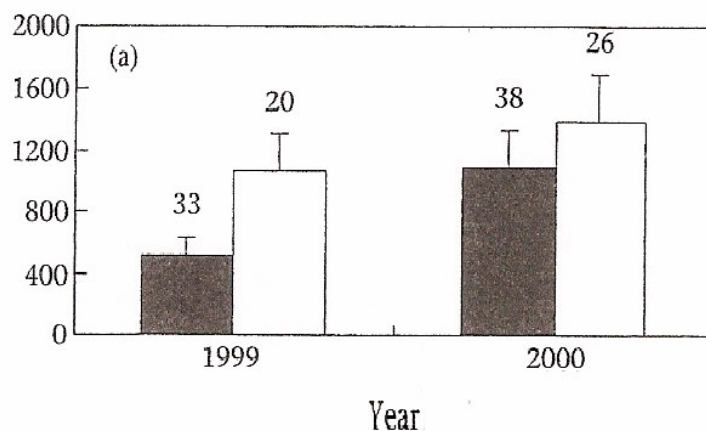
On a vu que certains individus sexuellement matures ne se reproduisent pas dans la meute. Pour expliquer ce phénomène, plusieurs hypothèses ont été avancées.

La première est que le stress social jouerait un rôle contraceptif. Lors de stress, l'organisme au bout de quelques minutes augmente sa sécrétion de glucocorticoïdes, qui vont alors détourner l'utilisation de l'énergie des processus physiologiques non nécessaires à la survie immédiate de l'organisme, comme la digestion, la croissance, et la reproduction. Les glucocorticoïdes peuvent être délétères si leur sécrétion se prolonge ou si elle se répète, ils peuvent entraîner une résistance moindre aux maladies, une infertilité...

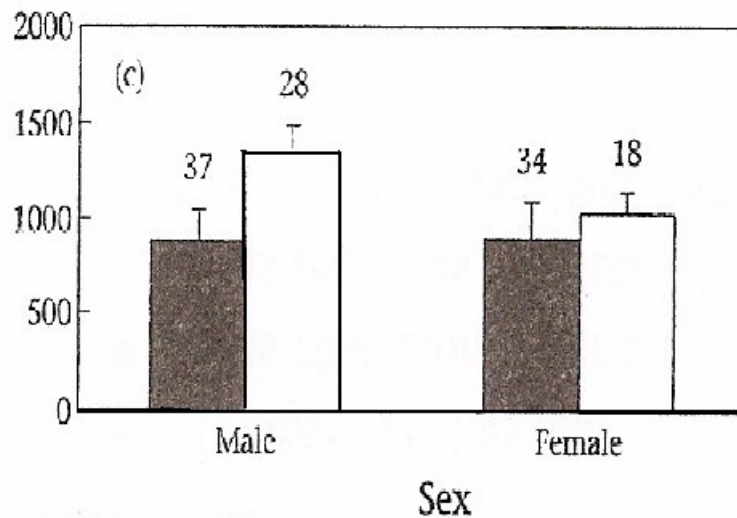
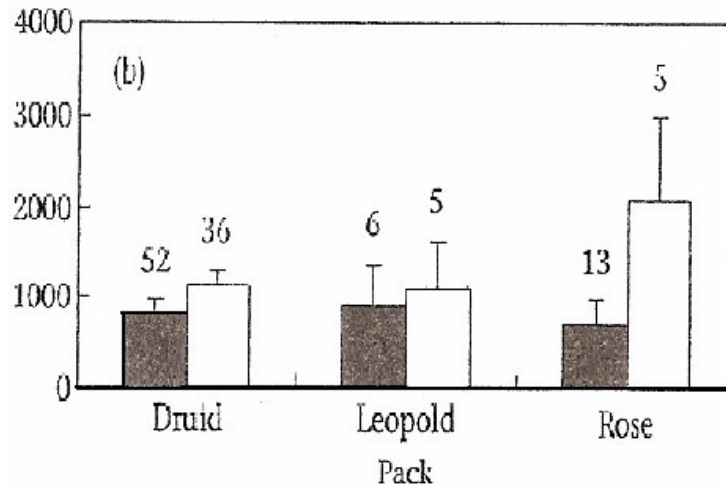
Jennifer Sands and Scott Creel ont comparé le rang social et le taux basal en glucocorticoïdes de loups appartenant à trois meutes sauvages du Yellowstone (46).

351 prélèvements fécaux ont été analysés par et 377 heures d'observations ont été effectuées.

**Figure 6 :** Différence de concentration fécales en moyenne en cortisol entre les dominants (□) et les dominés (■) en fonction de l'année, du sexe et de la meute à laquelle ils appartiennent. En ordonnée : glucocorticoïdes fécaux (ng cortisol/ g de matière sèche) (46).







Cette étude a révélé que contrairement à ce qu'on aurait pu croire, les loups dominants des deux sexes présentent des taux de glucocorticoïdes supérieurs à ceux des loups subordonnés. L'hypothèse que la reproduction puisse être supprimée par la médiation d'une élévation chronique de glucocorticoïdes peut être écartée. Cependant ces résultats nous laissent perplexes quant à la relation entre les interactions sociales et la sécrétion de glucocorticoïdes. Les agressions et les comportements agonistiques déterminent effectivement le rang social, mais les loups dominants ne sont pas plus impliqués que les loups subordonnés dans les conflits : ils les remportent simplement plus souvent. Il est alors possible que le taux élevé de glucocorticoïdes des dominants soit une conséquence de leur statut social et non de leur activité (46).

Le stress pourrait également intervenir en altérant les possibilités de mener à terme une gestation éventuelle (résorption embryonnaire, mort fœtale).

Finalement, un des éléments qui reste clé, pour ne pas dire le seul effectif, reconnu par la majorité des auteurs, est l'intervention comportementale afin de prévenir les accouplements. L'accès à la reproduction reste donc intimement lié aux tolérances de chacun. Les mâles et les femelles ne semblent pas intervenir de la même façon, les femelles exercent une pression continue sur les autres femelles pendant l'année, alors que les mâles se montrent plus agressifs pendant la saison de reproduction, cette augmentation de l'agressivité est probablement liée à l'augmentation de testostérone au début de l'hiver.

Avant de s'intéresser à l'élevage des louveteaux le caractère saisonnier de la reproduction, avec un seul cycle ovulatoire par an (monoestrus) mérite que l'on s'y attarde, afin de comprendre sa valeur adaptative.

Une des origines de ce monoestrus est la longueur de la phase lutéale, lorsque le corps jaune régresse enfin, la fenêtre saisonnière permettant la relance de l'activité ovarienne est terminée. La limite de la saison de reproduction est notamment due à l'augmentation saisonnière de la sécrétion de prolactine qui inhibe la sécrétion des gonadotropines et des hormones sexuelles.

Cette particularité peut paraître comme un désavantage, car le monoestrus ne donne qu'une chance de se reproduire par saison, alors que les espèces dont la reproduction est caractérisée par des cycles successifs d'oestrus et d'ovulations sans anoestrus (polyoestrus) ont plusieurs opportunités de se reproduire par saison. Il est donc crucial pour le loup de s'assurer un accès à la reproduction. La longueur du pro-oestrus, période d'attraction sexuelle, permet d'optimiser les chances de conception. Cette période permet d'établir et de renforcer les liens de la paire. La longueur de l'oestrus, quant à elle, permet la réalisation de nombreuses copulations.

Les causes ultimes de ce type de reproduction sont à relier au système social. L'absence de polyoestrus permet d'éviter à la femelle une fois gestante de passer son temps à empêcher ses subordonnées de s'accoupler ce qui pourrait compromettre la stabilité de la meute. D'autre part, l'apparition des chaleurs synchrones découragerait les mâles reproducteurs à se disperser.

Le monoestrus peut être relié également au caractère généralement monogame de la reproduction du loup. Le risque de gestation multiple dans une meute est considérablement diminué du fait de la longueur du pro-oestrus et de l'oestrus. On comprend vite les bénéfices que peut tirer une femelle de la participation de tous les membres de la meute aux soins des louveteaux. Sans opportunité d'inséminer d'autres femelles, le mâle reste avec sa compagne et participe aux soins des louveteaux ; à terme, cela permet d'optimiser l'espérance de vie des petits (14).

## **C. Elevage « pluri parental » des louveteaux**

### **1. Naissance des louveteaux, et phases de développement**

Les phases de développement sont quasi les mêmes que celles du chiot. La classification de période de développement du chiot (celle de Scott et Fuller 1965) est ainsi utilisée pour le louveteau. Ces auteurs reconnaissent quatre périodes de développement : la période néonatale (de la naissance au moment où les yeux s'ouvrent (12-14 jours)), une période de transition (de l'ouverture des yeux au vingtième jour), la période de socialisation (du vingtième jour au soixante dix-septième jour), et la période juvénile (de la douzième semaine à la maturité).

A ces différentes phases de sociabilisation, Packard fait correspondre la phase où les louveteaux sont dépendants du lait de leur mère, la phase de transition alimentaire et la phase où les louveteaux sont complètement sevrés. Les durées de ces phases sont aléatoires car elles vont dépendre de la disponibilité en nourriture et de la taille de la portée (43).

En comparaison avec les autres canidés, les loups ont des portées de petite taille mais avec de gros louveteaux. Il y a de nombreuses discussions autour de cette observation, les gros louveteaux sont plus résistants par exemple face à un temps humide et froid, cependant de gros louveteaux impliquent que la mère se nourrisse plus pour subvenir aux besoins de ses petits.

### **a) La période néonatale**

Avec leurs yeux fermés les louveteaux tout juste nés ressemblent beaucoup à des chiots berger allemand. Ils sont de couleur sombre avec parfois une tâche de blanc sur la poitrine. Ils ont les oreilles qui retombent et la face assez ronde.

Les louveteaux ont une démarche non coordonnée, mais suffisante pour ramper jusqu'à leur mère contre laquelle ils se blottissent, attirés par la chaleur.

Dans les heures qui suivent leur naissance ils ont le réflexe de téter lorsque quelque chose qui ressemble à une tétine touche leurs lèvres. Les louveteaux, dès qu'ils ont ingurgité leur dose de lait, s'endorment puis une fois réveillés, recommencent à téter.

La mère lèche leur partie périnéale pour stimuler l'élimination des fèces et de l'urine. Elle mange les excréments de ses petits afin de garder la tanière propre jusqu'à ce que les louveteaux soient assez grands pour être capables de sortir (26).

A la naissance, les louveteaux n'agissent en fait que par réflexes : lorsqu'ils tètent, lorsqu'ils crient quand ils sont bousculés par la mère, lorsqu'ils gémissent quand ils ont froid, qu'ils sont isolés ou lorsqu'ils ont faim.

Au fur et à mesure que les louveteaux se développent, des simples réflexes vont se transformer en des gestes de routine. Par exemple, le réflexe d'uriner lorsque la mère leur lèche leur zone périnéale va devenir un geste de "soumission passive" chez les jeunes et les adultes (17).

### **b) La période de transition**

Les yeux des louveteaux s'ouvrent à l'âge de 12-14 jours quand leurs mouvements sont assez coordonnés pour qu'ils puissent se lever et marcher. Au début, les louveteaux explorent la partie de la tanière où ils ont nés, puis ils vont peu à peu, aller de plus en plus loin. Parfois ils arrivent à atteindre l'entrée de la tanière pour observer le monde extérieur. Les louveteaux à la naissance sont assez démunis, leurs sens auditif et visuel sont peu développés comparés à l'olfaction et au toucher. Leurs sens, leur taille ainsi que leur coordination musculaire vont particulièrement se développer pendant cette période de transition. La plupart des connections neuronales dans le cerveau se développent dans les premières semaines de vie et elles vont être déterminées par les interactions des louveteaux entre eux et avec leur mère.

Pendant la première phase de développement les louveteaux apprennent à reconnaître les individus familiers, et en particulier les membres de la meute (43).

### **c) La période de socialisation**

Au bout du 20-24ème jour après la naissance, les louveteaux sont de plus en plus mobile et sortent de plus en plus de la tanière et de plus en plus loin. Ils vont commencer à manger de la nourriture solide. A ce stade, ils sont capables de téter leur mère debout et ne tètent que toutes les 5 heures et environ pendant 3 minutes. Dans les deux semaines suivantes, ils vont passer la majorité du temps dehors, et vont avoir de nombreux contacts avec les autres adultes.

Jusqu'à 5 semaines d'âge, les déplacements des louveteaux sont assez limités, en moyenne inférieurs à 500 mètres. Lorsque les louveteaux sont trop loin de la tanière ou lorsque la portée est déplacée d'une tanière à une autre, les femelles les prennent dans leur gueule. Aucun loup mâle n'a été observé transportant les louveteaux dans leur gueule.

A partir de 5 semaines d'âge, les louveteaux sont suffisamment débrouillards pour se mettre à l'abri de potentiels prédateurs. Ils sont assez grands pour suivre les adultes sur des courtes distances mais encore assez légers pour pouvoir être portés par les femelles. Leur système sensoriel a fini de se développer et leur système gastrique leur permet de digérer de la nourriture solide, leur mâchoire n'est cependant pas assez puissante pour pouvoir manger de gros morceaux de viandes (43).

De la cinquième semaine d'âge à la dixième, on passe de louveteaux hautement dépendants de leur mère, faisant leurs premiers pas, à des louveteaux actifs, apprenant continuellement de leur environnement social et physique.

Dans la meute de l'île d'Ellesmere, dès l'âge de 9 semaines, les louveteaux ne tétaient plus que pendant une minute et l'intervalle entre chaque tétée avait augmenté pour atteindre en moyenne dix heures. A la dixième semaine, les louveteaux n'ont plus tété, mais ils recevaient environ l'équivalent de deux régurgitations en nourriture par jour (43).

Le moment exact du sevrage va dépendre en fait de l'abondance en nourriture. Lorsque que, pendant cette période, la nourriture vient à manquer, les louveteaux ont encore accès au lait de leur mère, même si à long terme leur croissance peut en être ralentie.

## **2. La tanière et autres soins indirects**

Les soins aux louveteaux se divisent en deux sortes de soins, les soins directs et les soins indirects. Les loups s'occupent des louveteaux de manière indirecte en participant à la préparation de la tanière, à la défense de la tanière ou à l'apport de nourriture à la femelle reproductrice, et de manière directe en délivrant directement de la nourriture aux petits. Cette distinction est importante car lorsqu'il s'agit des soins indirects, tous les louveteaux de la tanière sont servis de la même manière alors que il s'agit des soins directs, l'apport de nourriture peut être inégale entre les louveteaux.

### **a) Construction de la tanière**

Les préparatifs commencent bien avant la naissance des louveteaux, la tanière peut être creusée dès l'automne. Les adultes et les jeunes, mâles et femelles des années précédentes qui ne se sont pas dispersés participent tous à la construction de la tanière. Certaines tanières sont systématiquement utilisées par la meute d'une année sur l'autre. Un mois avant la mise bas, les femelles gestantes sont retrouvées le plus souvent près de la future tanière. Elles sont accompagnées la plupart du temps par les autres membres de la meute, mais l'implication du reste de la meute varie très fortement en fonction des individus (31).

L'expérience peut influencer le choix du site de la tanière, mais l'expérience n'est pas un pré-requis nécessaire pour assurer le succès de sa construction. Zimen (1981) rapporte l'exemple d'une femelle élevée à la main qui lors de sa première gestation, a creusé plusieurs trous à des endroits différents de l'enclos, préférentiellement à des endroits sableux, et préférentiellement sous des souches d'arbres. En effet ces choix se révèlent judicieux : d'une part le sable est plus facile à creuser et d'autre part, l'enchevêtrement des racines protégera le toit de la tanière de tout écroulement (43).

La tanière est située habituellement loin des frontières du territoire, afin d'éviter des rencontres hostiles avec des loups d'autres meutes. Dans les forêts supérieures du Minnesota, seulement 11% des 29 tanières repérées sont situées à moins d'un kilomètre des frontières du territoire. C'est dans cette zone qu'ont lieu 56% des attaques mortelles par des loups d'autres meutes (Ciucci and Mech 1992 cité par 43).

La plupart du temps, le site est choisi de manière à ce que la tanière se retrouve le plus au centre du territoire possible, excepté s'il existe une particularité géographique qui influence le choix, par exemple une rivière ou un passage très emprunté. La plupart des tanières destinées à la naissance des louveteaux sont localisées près de l'eau (26).

La distance entre la tanière et les meutes voisines va donc varier en fonction de la taille du territoire. La superficie du territoire, qui augmente avec la latitude en Amérique du Nord, dépend de l'abondance de la nourriture, notamment de la proie principale et du nombre d'individus que compte la meute. Parmi la population de loups du sud de l'Alaska, les distances entre les différentes tanières sont en moyenne de quarante cinq kilomètres (Ballard and Dau 1983 cité par 43).

Les caractéristiques des tanières varient selon la localisation : tout dépend de ce qui est disponible sur le territoire. Chaque meute s'adapte aux particularités du terrain.

Ainsi dans les zones forestières, les tanières seront en majorité construites en dessous des racines d'arbres. Dans la toundra du cercle arctique on a observé une meute qui utilisait une crevasse présente dans une arête rocheuse et parfois une grotte. Au nord de la ligne d'arbres de l'Alaska la plupart des tanières sont localisées dans les falaises de sables. Lorsque l'épais tapis de végétation est intact, le plafond du terrier est plus solide, et la tanière est plus facile à construire. Alors que si la végétation est éparse, le toit peut s'affaisser plus facilement. Il arrive que des terriers appartenant à d'autres espèces telles que le blaireau, le renard ou le castor soient utilisés après agrandissement (43).

Les louveteaux vivent à l'intérieur de la tanière et aux alentours pendant les huit premières semaines, mais il arrive que leur mère les change de logis au cours de cette période. De la huitième semaine à la vingtième semaine, les louveteaux restent dehors sur un petit territoire qui inclut un ou plusieurs " nids " où ils se blottissent les uns contre les autres, des aires de jeux et tout un réseau de sentiers. Ce petit territoire est nommé « site de rendez-vous », Murie (1944) a été le premier à utiliser ce terme pour désigner l'endroit où la meute se repose et se réunit pendant l'été et au début de l'automne. Les louveteaux qui sont trop petits pour suivre les adultes à la chasse attendent au site de rendez-vous. Ils sont soit laissés seuls, soit accompagnés d'un adulte, le plus souvent la femelle reproductrice. Différents sites de rendez-vous peuvent être utilisés successivement (43).

## **b) Défense des louveteaux**

La défense de la tanière et des louveteaux fait partie également des soins indirects. L'agressivité envers les intrus, que ce soit de la part du mâle reproducteur ou des mâles non reproducteurs, augmente pendant cette période.

Lors de mouvements suspects autour de la tanière, les loups pour se défendre poussent de longs hurlements. Packard (cité par 43) rapporte que lors de ses observations de la meute de l'île Ellesmere, un loup de moins d'un an a hurlé 85 fois avant que la louve et ses quatre petits quittent une prairie ouverte pour rejoindre leur tanière située dans une grotte.

Tous les membres de la meute participent aux soins des nouveaux-nés mais pas toujours de manière égale : Harrington suggère que les meutes de grandes tailles sont plus efficaces pour défendre la tanière des prédateurs. Des observations de la population réintroduite dans le Yellowstone, ont montré que le genre, l'âge et l'affiliation dans la meute ont une influence sur le temps de présence autour de la tanière.

## **3. Les soins directs**

Pendant le premier mois des louveteaux, la mère est la seule à contribuer directement aux soins des louveteaux, en les allaitant, en leur apportant de la chaleur et en maintenant la tanière sèche et propre.

Ensuite lorsque les louveteaux sortent de la tanière, tous les membres de la meute peuvent s'occuper directement d'eux en leur apportant de la nourriture notamment par l'intermédiaire de régurgitations, ou en participant à leur éducation.

### **a) Les régurgitations**

Un des aspects des soins parentaux typiques des carnivores et notamment du loup est la régurgitation de nourriture des loups à leurs louveteaux et à la femelle reproductrice.

Les louveteaux sollicitent la régurgitation en léchant et en reniflant le museau du loup, qui va alors régurgiter soit directement devant le louveteau, soit après s'être éloigné parfois



jusqu'à 400 mètres. Ce stimulus semble être infaillible lorsque l'estomac du loup donneur est plein. Il arrive parfois que le loup donneur régurgite directement dans la gueule du louveteau. Les adultes peuvent eux-mêmes appeler les louveteaux par des petits gémissements sourds.

Lorsque les petits des autres années sont encore présents dans la meute ils peuvent être sollicités et délivrer des régurgitations (43).

De nombreuses informations sur les régurgitations ont été obtenues grâce à des observations de meutes en captivité réalisées notamment par Fentress (40). Parmi les individus de deux meutes captives, seul le mâle n'a jamais sollicité de régurgitations. Dans une meute où deux femelles avaient mis bas, le mâle reproducteur a régurgité presque tout à une femelle de moins d'un an. Dans une autre meute, le mâle régurgitât d'abord aux jeunes de moins d'un an, et non à la femelle gestante. Lorsqu'elle mit bas, il la nourrit ; puis lorsque les louveteaux sont sortis de la tanière les régurgitations leur furent destinées. Les juvéniles nourrissent éventuellement les louveteaux mais jamais la mère. En revanche ils sont souvent nourris par les adultes.

Mech a été le premier à étudier le comportement de régurgitations sur une meute vivante à l'état sauvage : la meute de l'île d'Ellesmere dans les territoires du Nord Ouest canadien. Pendant six étés de 1988 à 1996, Mech a relevé tous les transferts visibles de nourriture régurgitée, en notant le nombre de régurgitations, le receveur et le donneur (30).

La meute a toujours utilisé la même aire de rendez vous chaque été, et la même tanière ou des tanières à proximité de la première. Sur 9 ans, six adultes et six portées de louveteaux ont été observés : 168 régurgitations furent observées. « Mom » a été la femelle reproductrice de 1986 à 1989, puis est devenue une louve auxiliaire. Sa fille « Whitey » l'a remplacée et a donné naissance à des portées de 1990 à 1996. Les louvarts ne sont jamais restés plus de trois étés dans la meute.

De manière générale, tout loup revenant d'une sortie est salué avec empressement par tous les louveteaux et souvent par les autres membres présents. Dans 76% des cas le loup régurgite à la rencontre du receveur, dans le reste des cas ils sont suivis sur 10 à 800 mètres avant de régurgiter. Il arrive parfois que les loups régurgitent dans des caches alimentaires (quatre fois au cours de l'étude, par le mâle et la femelle reproductrice lorsque les louveteaux étaient dans la tanière). Les loups peuvent régurgiter plusieurs fois par épisode, notamment suite à des sollicitations intenses. Deux fois dans 24% des cas, et trois à cinq fois dans 12%

des cas. Ils arrivent parfois que les loups ré-ingèrent leur propre régurgitation. En moyenne les régurgitations correspondent à 1.25 kilogramme de nourriture.

Les louveteaux sont plus susceptibles de recevoir des régurgitations (81%), que les femelles reproductrices (14%) ou les auxiliaires (6%). On n'a jamais observé de mâle dominant sollicitant une régurgitation. La femelle reproductrice a régurgité surtout à ses petits, mais aussi aux auxiliaires et dans une cache. Quelques fois les auxiliaires ont régurgité pour les autres auxiliaires et pour la femelle reproductrice. Le mâle rapporte 57 % des régurgitations aux louveteaux, 32% pour sa partenaire et les 10% restant partagés entre les auxiliaires et les caches. Les auxiliaires ont réalisé davantage de transferts de nourriture qu'ils n'en ont bénéficiés.

**Tableau 3** : Composition de la meute de l'île d'Ellesmere, étudiée par Mech,(30).

Year	No. of pups	Breeders		Auxiliaries	
		Female	Male	Female	Male
1988	4	Mom	Left Shoulder	Whitey	Grey Back
1990	1	Whitey	Left Shoulder	Mom	—
1991	2	Whitey	Left Shoulder	Mom	—
1992	3	Whitey	Left Shoulder	—	—
1994	1	Whitey	Left Shoulder	Explorer	Grey Back II
1996	2	Whitey	Left Shoulder	—	—

**Note:** No data were collected in 1989; no pups were produced in 1993 or 1995.

**Tableau 4** : Nombre de régurgitations en fonction du statut du loup (30).

Year	Breeder <sup>a</sup>		Auxiliaries		Total
	Female	Male	Female	Male	
1988	46 <sup>b</sup> (47)	18 <sup>c</sup> (18)	21 (21)	13 <sup>c</sup> (13)	98
1990	2 (10)	15 (75)	3 (15)	—	20
1991	3 (38)	4 (50)	1 (13)	—	8
1992	6 (50)	6 (50)	—	—	12
1994	0	8 (40)	3 (15)	6 (30)	17
1996	4 (31)	9 (69)	—	—	13
Total	64	60	28	19	168
Mean <sup>d</sup>	10 (27)	10 (27)	7 (19)	10 (26)	9
Mean <sup>e</sup>	6 (24)	7 (31)	5 (20)	6 (24)	6

**Note:** A few regurgitations in a given bout may have been missed because of occasional visual obstruction during observation. Values in parentheses are percentages.

<sup>a</sup>No significant difference between male and female over 6 years (Wilcoxon's signed-rank test,  $z = -0.67$ ,  $P = 0.5$ ).

<sup>b</sup>Value contributed to significance of  $\chi^2$  goodness-of-fit test ( $\chi^2 = 26.49$ ,  $P < 0.001$ ); higher than expected by chance (Freeman-Tukey deviate,  $z = 3.69$ ).

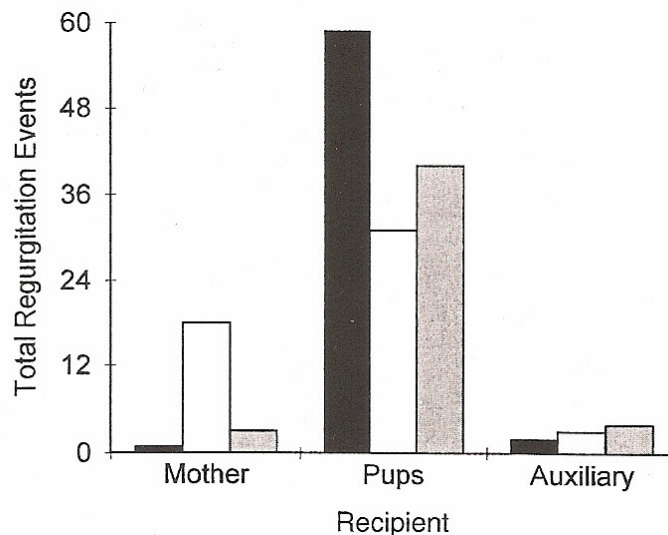
<sup>c</sup>Values lower than expected by chance ( $z < 12.961$ ).

<sup>d</sup>Average number of regurgitations per wolf per year.

<sup>e</sup>Average number of regurgitation bouts per wolf per year.

Il semble que les loups peuvent intentionnellement choisir leur receveur ; l'étude de Mech montre en effet une distribution différentielle. Cependant il est difficile de dissocier cette distribution à l'intensité des sollicitations.

**Figure 7:** Distribution des loups donneurs et des loups receveurs de régurgitations dans une meute observée pendant six étés. Parmi les loups donneurs les barres noires représentent la mère reproductrice, les barres blanches le mâle reproducteur, et les barres grises les auxiliaires (30).



## **b) Education « pluri parentale » des louveteaux**

Les soins des louveteaux par les membres de la meute ne vont pas se limiter à l'apport de nourriture, ils englobent également l'éducation des jeunes comprenant l'apprentissage de la chasse et l'apprentissage des règles sociales. Tous les loups de la meute vont prendre part à l'éducation des louveteaux. Les louveteaux non disciplinés sont vite rappelés à l'ordre par des comportements agonistiques (grognements...), ou par des morsures inhibées. Les louveteaux apprennent vite comment se comporter avec chaque membre de la meute. Le groupe se montre généralement très tolérant et patient avec les louveteaux alors qu'ils le sont beaucoup moins vis-à-vis des louvarts qui sont fréquemment menacés (43).

## **4. Déterminisme du comportement « parental »**

Mech a étudié le comportement de femelles en pseudo gestation dans deux meutes sauvages, la meute de l'île d'Ellesmere et une meute du parc du Yellowstone (31).

« Whitey » de la meute de l'île d'Ellesmere, lors des deux années où elle n'a pas eu de portée (1993 et 1995) a été observée à plusieurs reprises visitant son ancienne tanière, recrusant une entrée et dormant à proximité. En revanche, aucun développement des mamelles n'a été noté.

Dans une meute réintroduite du Yellowstone, une femelle a montré la première année des signes de chaleurs mais n'a pas été gestante. En revanche, pendant la période où des femelles réintroduites dans la même région ont mis bas, elle a visité à plusieurs reprises des tanières de coyote inoccupées, qu'elle a agrandies avec l'aide du mâle et d'un louvart.

Ces observations montrent que les femelles en pseudo-gestation présentent également un comportement maternel. On note aussi que le mâle participe à l'édification de la tanière même s'il n'en prend pas l'initiative.

Mech a émis l'hypothèse que ce comportement était fonction des hormones reproductrices, telles que les oestrogènes ou la progestérone. En effet toutes les femelles matures subissent les mêmes changements hormonaux pendant la phase lutéale, qu'elles soient gestantes ou non.

Pour vérifier son hypothèse, une étude a été effectuée par Kreeger sur des louves captives de 2 ans ovariectomisées (31). Trois femelles ont été ovariectomisées vers l'âge d'un an le 6 mai 1994. Le printemps suivant, une seule a présenté un léger saignement vaginal, mais aucune n'a présenté de comportement sexuel. Le 20 et 21 juin 1994 les deux louves qui n'avaient pas présenté de saignements ont creusé une large tanière. Ces observations suggèrent donc que ce comportement n'est pas fonction de la sécrétion d'oestrogènes et de progestérone, puisque certaines femelles ovariectomisées préparent une tanière comme si elles allaient prochainement mettre bas.

Une autre modification endocrinienne pourrait également expliquer l'apparition de ce comportement chez tous les membres de la meute y compris les mâles. En effet, l'augmentation saisonnière du taux plasmatique de prolactine sécrétée par l'hypophyse est présente chez tous les membres de la meute, elle pourrait expliquer le comportement paternel et le comportement de l'ensemble du groupe ou du moins interférer dans son déterminisme.

Mais les données sont encore insuffisantes pour valider cette hypothèse et l'observation de cas de construction de tanière en automne tente à réfuter les hypothèses concernant la prolactine. Des auteurs avancent également que si le mâle reproducteur et les jeunes loups de la meute creusent là où la femelle gestante creuse, cela reflète simplement l'attention qu'ils lui portent. Le déterminisme physiologique du comportement parental reste en fait encore très incertain.

Enfin on peut s'interroger sur la finalité de la participation d'individus non reproducteurs aux soins des louveteaux. L'hypothèse principale est celle de Hamilton : selon lui les comportements sociaux ont tous une finalité génétique, la finalité d'un comportement ne serait pas reliée à l'individu mais à la propagation des gènes de cet individu. En effet, le degré de parenté entre un subordonné et ses jeunes frères et sœurs est identique à celui qu'il aurait avec sa propre descendance dans un cadre de monogamie sur plusieurs années successives. C'est donc la meilleure façon que possède un jeune loup de promouvoir les gènes qu'ils partagent avec ses parents si les perspectives de reproduction en dehors de la meute ne sont pas idéales (40).

De cette organisation de la reproduction découlent d'autres bénéfices indirects pour les subordonnés, cela leur permet d'accroître leurs liens sociaux avec les autres membres de la meute et d'acquérir de l'expérience lorsqu'ils seront eux mêmes reproducteurs (43).

Après avoir décrit la biologie de la reproduction du loup en soulignant les différences physiologiques et comportementales avec le chien et avant d'étudier les différentes méthodes disponibles pour réguler la population des loups des parcs zoologiques, nous allons nous intéresser à ce qui se passe dans le milieu naturel, à la dynamique de la population sauvage.

## **II. Régulation de la population d'une meute en milieu naturel**

### **A. Diminution du nombre d'individus**

#### **1. Dispersion**

La dispersion est définie comme le mouvement qu'effectue un animal de son territoire d'origine au territoire où il va pouvoir se reproduire s'il survit et trouve un partenaire. La dispersion joue un rôle majeur dans la diversité génétique, la régulation, la distribution spatiale, la taille, la longévité, la composition et l'organisation sociale de nombreuses populations (34).

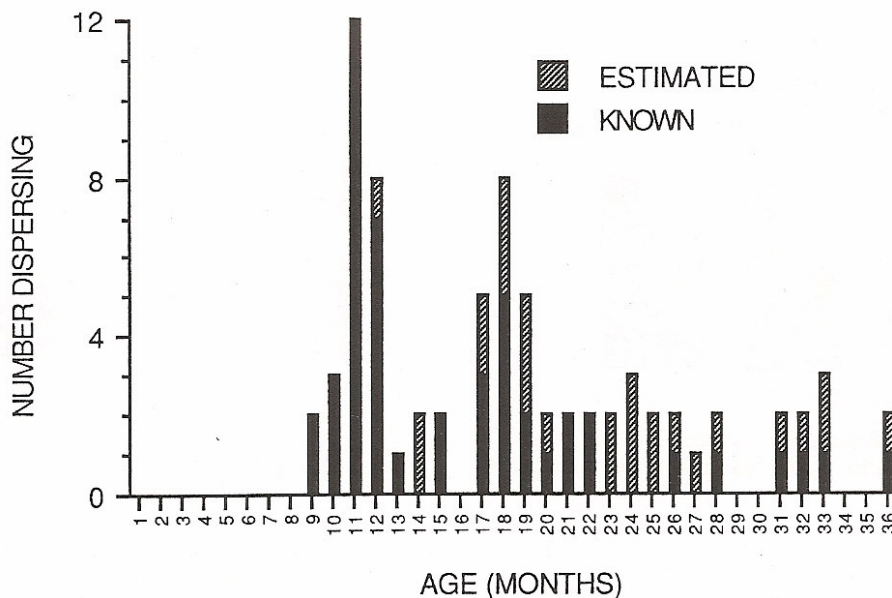
De nombreuses hypothèses ont été proposées pour expliquer la finalité de la dispersion chez les mammifères parmi lesquelles la compétition pour la reproduction et la compétition pour les ressources alimentaires. Des observations de meutes sauvages ont montré que les changements physiologiques, l'augmentation des agressions entre les membres de la meute, l'augmentation de la pression sociale, le manque de nourriture associé à une augmentation de la densité, l'absence d'opportunité pour se reproduire et la charge parasitaire sont des éléments déclencheurs de la dispersion, mais il ne s'agit que de spéculations (19).

Il est évident que les ressources alimentaires jouent un rôle dans la dispersion. Les jeunes loups restent dans leur meute natale, pour profiter de l'approvisionnement en nourriture de leurs parents et pour optimiser leur consommation de nourriture pendant leur croissance. Ils auront donc tendance à rester avec leurs parents jusqu'à ce qu'un événement les force à partir. La priorité des parents est de nourrir les louveteaux les plus jeunes, et s'il reste assez de nourriture les plus vieux peuvent alors se nourrir. Lorsque la nourriture se fait rare, les adultes arrêtent de nourrir les petits dès l'âge de cinq mois, ils sont alors physiquement capables de survivre par eux-mêmes. Cette période correspond au moment où les parents augmentent leur consommation pour préparer la venue d'une nouvelle portée. Lors des rares années où il n'y a pas de naissance, les parents continuent à nourrir les louveteaux des années précédentes (19).

Au sud-ouest du Québec, lorsque les orignaux (*Alces alces*) se font plus rares, les jeunes loups (surtout des femelles) ont tendance à se séparer de la meute, ils effectuent des excursions de plus de 5 kilomètres en dehors de leur territoire et le plus souvent en direction des territoires où la densité des orignaux est plus importante. Sur l'île Royale, de nombreux loups quittent leur meute quand le nombre de proies décline. Lors de période de sous-nutrition les agressions peuvent augmenter au sein des meutes, les jeunes loups subordonnés peuvent alors être contraints à partir. Les agressions augmentent également lorsque le stress social augmente lors de la période de reproduction, période où une majorité des loups se disperse (34).

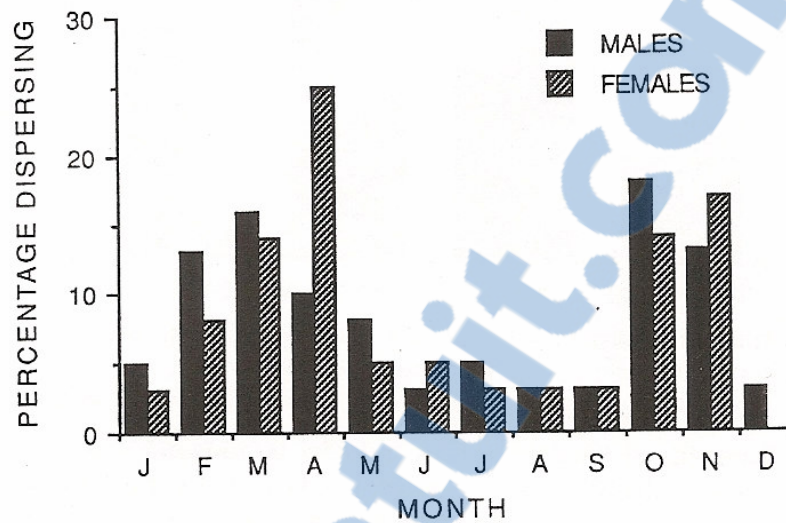
Mech et ses collaborateurs ont examiné les routes de dispersion de loups munis de radio émetteurs au sein de 21 meutes de la forêt Nationale Supérieure au Minnesota, de 1969 à 1989 (19). Au total, 316 loups ont été capturés, munis d'un émetteur et suivis pendant 21 ans par radio ; 75 ont été identifiés comme étant des disperseurs et parmi eux presque autant de femelles que de mâles (36 femelles et 39 mâles). 8% des disperseurs étaient des adultes, 75% des jeunes et 16 % des louveteaux. La plupart des loups quittent la meute vers l'âge de 11-12 mois, un deuxième pic de dispersion est présent à l'âge de 17-19 mois, seuls quelques uns se dispersent à l'âge adulte. La dispersion a lieu surtout en février-avril puis en octobre-novembre.

**Figure 8 :** Age (en mois) de dispersion de 48 loups d'âge connu et 27 loups d'âge estimé. Forêt Nationale Supérieure, 1969-1989 (19).





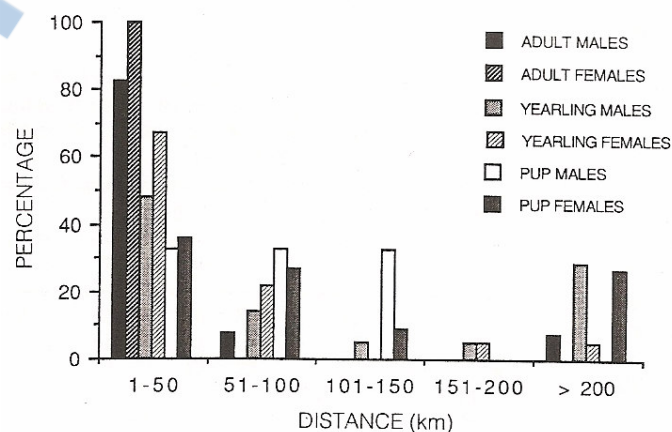
**Figure 9** : Mois de dispersion de 39 mâles et 36 femelles. Forêt Nationale Supérieure, 1969-1989 (19).



Les adultes ont tendance à parcourir des distances assez courtes pour se rendre dans les territoires voisins, alors que les louveteaux parcourent soit des courtes distances soit des longues distances.

Les louvarts et les louveteaux qui parcouraient de courtes distances ont plus de chances de se trouver un nouveau territoire, ce qui reflète probablement la disponibilité d'endroits libres dans les territoires avoisinants.

**Figure 10** : Distance parcourue au cours de la dispersion en fonction de la classe d'âge. Forêt Nationale Supérieure du Minnesota, 1969-1989 (19).



Le succès de dispersion est mesuré à travers trois paramètres : l'installation sur un territoire, l'accouplement, et l'élevage de louveteaux. Un loup est considéré installé lorsqu'il est accepté sur le territoire d'une meute ou s'il s'est établi sur un territoire libre. Les adultes ont le plus haut taux de succès à l'accouplement et l'élevage de louveteaux, alors que les louvarts ont un taux moyen de succès à l'accouplement et un taux faible de succès à l'élevage et les louveteaux ont des taux tous les deux faibles.

**Tableau 5 :** Pourcentage de succès d'installation sur un territoire (settled), d'accouplement (paired) et d'élevage de louveteaux (dennded), en fonction de la classe d'âge (19).

Age of dispersal	Settled		Paired		Dennded	
	%	n	%	n	%	n
Adult	83	18	87	15	67	15
Yearling	68	31	61	28	31	26
Pup	67	12	25	8	25	8

Il n'est pas rare que de futurs disperseurs effectuent des excursions en dehors de leur territoire natal avant de se disperser réellement. Dans l'étude menée par Mech, le nombre d'excursions varie entre 0 et 5 par loup dispersé : 47 % des disperseurs n'ont pas effectué d'excursions, 31% ont effectué une excursion, 11% deux excursions et 11% trois excursions ou plus. La durée de ces excursions varie entre 2 et 40 jours, et la distance parcourue varie entre 8 et 71 kilomètres.

Sur les 48 loups dispersés dont l'âge était connu, seules six paires de loups étaient de la même portée et aucun d'entre eux ne se sont dispersés ensemble. Deux paires de frères et sœurs ont quitté en même temps leur territoire natal mais sont partis dans des directions opposées. Les autres frères et sœurs se sont dispersés à cinq-six mois d'intervalles. Des louveteaux nés dans la même meute sur plusieurs années consécutives, ont montré des

grandes variations dans les caractéristiques de leur dispersion que ce soit la direction, la distance ou le moment choisi, chacun utilise sa stratégie pour répondre aux opportunités de l'environnement. Une autre étude a montré que sur 14 portées nées sur plusieurs années, seuls deux frères d'années différentes se sont dispersés dans la même direction et à la même distance et se sont peut être associés pour former une nouvelle meute.

Il semble donc qu'il existe de grandes variations des caractéristiques de chaque dispersion, et que ces variations ne sont pas liées aux gènes des disperseurs. Cette plasticité leur permet de s'adapter et de s'ajuster aux opportunités environnementales et sociales (34).

## **2. Mortalité**

### **a) Causes de mortalité**

#### **(1) Absence de nourriture**

Les louveteaux sont les premiers touchés par le manque de nourriture. Dans de nombreuses régions, les louveteaux survivent bien pendant l'été, probablement grâce à l'abondance temporaire de nourriture variée. La survie des louveteaux est directement reliée à la biomasse des proies, en effet plus les proies sont importantes, plus elles seront accessibles. Une étude a comparé le taux de survie des louveteaux pendant l'été dans différentes régions des Etats-Unis en fonction du nombre d'ongulés par loup : le taux de survie des louveteaux est doublé (0.89 contre 0.48) lorsque le nombre d'ongulés est quatre fois plus important. Au nord-est du Minnesota, le taux de survie des louveteaux diminue lorsque la population de cerfs décline (18).

L'automne est une période critique pour les louveteaux, leur consommation de nourriture est à leur maximum à un moment où le nombre de proies et leur vulnérabilité diminuent (18).

## **(2) L'homme**

Au fil des années, l'homme a utilisé tous les moyens pour se débarrasser des loups. Avec ces programmes d'élimination, la population de loups a été réduite de plus de 60% en quelques années. Dans certains cas, les programmes de contrôle ont éliminé des meutes entières.

Depuis lors, le loup est légalement protégé dans la plupart des régions du monde : dans le Wisconsin depuis 1986, les causes de mort dues à l'homme sont passées de 28% à 4% en moyenne par année. Dans les populations de loups protégées, les loups sont parfois encore tués par l'homme illégalement pour protéger leurs troupeaux, leurs animaux de compagnie ou pour d'autres raisons. Les loups peuvent enfin être tués accidentellement, lorsqu'ils sont pris dans des pièges destinés à d'autres animaux sauvages (18).

## **(3) Maladies**

Les maladies telles que le parvovirus canin, la rage, la maladie de carré, les encéphalites et les parasites (la gale sarcoptique, la dirofilariose) peuvent être également des causes de mortalités, mais il existe très peu de données sur l'importance de leur participation au taux de mortalité. Comme on l'a vu précédemment, les louveteaux en général survivent bien pendant l'été ; cependant si le parvovirus canin est présent, leur survie peut-être beaucoup plus faible (Mac and Goyal 1995 cité par (18)). Une étude réalisée en Espagne concernant l'influence des maladies virales sur la dynamique des populations des carnivores sauvages a montré que 62% des loups prélevés étaient porteurs d'anticorps dirigés contre le virus de la parvovirose et 18.7% étaient porteurs d'anticorps dirigés contre le virus de la maladie de Carré (48).

## **(4) Accident**

Les loups peuvent être victimes d'accidents naturels tels que les avalanches, les chutes dans un ravin ou d'accidents dus à l'activité de l'homme (trains, voitures...).

## **(5) Animaux sauvages**

Les loups n'ont pas de prédateur, mais il leur arrive parfois d'être tués par d'autres animaux sauvages comme les ours bruns et noirs. Ils arrivent également qu'ils soient tués lors d'accident de chasse par des proies de grande taille tels que les orignaux et les cerfs. Enfin les loups peuvent être tués lors de combats intra spécifiques (18).

### **b) Mortalité néonatale**

Parce que les louveteaux restent cachés dans leur tanière jusqu'à l'âge de 10-24 jours, il est impossible de mesurer la mortalité néonatale. La première observation que l'on puisse réaliser sans déranger les louveteaux et les adultes est de compter les louveteaux lorsqu'ils émergent la première fois de leur tanière. Il est cependant très difficile, voire impossible d'observer régulièrement ensuite les louveteaux autour de la tanière. Les données sur la mortalité des louveteaux sont souvent issues d'une comparaison du nombre de louveteaux sur le site de la tanière ou aux « sites de rendez-vous » entre l'été et l'automne. Une approche alternative consiste à comparer la taille des portées fœtales sur des cadavres et la taille des portées en automne.

Le taux de mortalité des plus jeunes reste le plus souvent inconnu pour deux autres raisons : premièrement les jeunes loups ne sont souvent pas assez grands pour être capturés et être équipés de radio-émetteurs avant l'âge de 4-6 mois et deuxièmement les études sont souvent menées par observations aériennes qui ne sont possible qu'en hiver, lorsque les loups ont déjà atteint l'âge de 6 mois.

Devant ces difficultés, la majorité des taux de mortalité des loups rapportés ne considèrent que la population de loups âgés de 4-8 mois et plus. Les taux de mortalité annuelle seraient plus importants si la population de loups de moins de six mois d'âge était prise en compte car la mortalité des louveteaux excède généralement souvent celle des adultes à la fin du printemps et en été (18).

### **c) Taux de mortalité**

Sur l'île royale où les loups sont à l'abri de la présence humaine, le taux annuel de mortalité entre 1971 et 1995 est principalement dû au manque de nourriture et aux conflits intra-spécifiques et est en moyenne de 23,5 % (de 0% à 57% selon les années).

Dans la forêt Nationale Supérieure du Minnesota, de 1968 à 1976 le taux annuel de mortalité varie entre 7% et 65%. 58% de cette mortalité est provoquée par des causes naturelles, principalement des affrontements et le manque de nourriture.

Enfin dans le parc national de Denali en Alaska, la mortalité annuelle est en moyenne de 27% et peut varier de 13% à 41%. De 1986 à 1994 plus de 81% de la mortalité résultait de cause naturelle.

Pour résumer, le taux de mortalité des loups à l'état sauvage est en moyenne de 25% par an. Ce taux reste relativement important même si le loup est aujourd'hui légalement protégé. Les deux causes de mortalités observées les plus importantes depuis sa protection sont les affrontements intra spécifiques et le manque de nourriture (18).

### **d) Influence de la dispersion**

Dans de nombreuses études, les loups qui se dispersent ont un taux de survie moins important que les loups du même âge qui restent dans leur meute. Les disperseurs traversent de nouvelles régions, dont ils ne connaissent pas la distribution des proies, ils doivent effectuer plus d'efforts pour attraper des proies. De plus, ils sont plus exposés au danger que les autres loups, en traversant des territoires étrangers ils peuvent se faire attaquer et ont plus de chances de rencontrer des chasseurs ou se faire renverser par une voiture ou un train (18).

## **B. Augmentation du nombre d'individus**

### **1. Reproduction**

Le principal facteur de l'augmentation de la population d'une meute est la reproduction. Parce que la classe d'âge la plus importante dans la meute et dans la population de loup est composée des jeunes nés dans l'année, il est facile de comprendre que les changements de population annuels sont hautement dépendants du sort des louveteaux. Une étude dans le nord du Minnesota a montré que les changements annuels de population d'un printemps à l'autre sont hautement corrélés avec le nombre moyen de louveteaux par meute de l'automne précédent (cité par 18). Il a été observé la même chose dans le Parc National du Denali et la Forêt Nationale Supérieure. Dans la population de loups de l'île Royale où ni l'immigration ni l'émigration n'intervient dans les changements de populations, la relation entre le pourcentage de louveteaux et le changement de population était seulement de 35% (18). La mortalité influence probablement plus la dynamique des populations isolées que la reproduction car les taux de mortalité varient énormément d'une année sur l'autre.

Du fait de leur fort potentiel à se reproduire, les loups peuvent résister à un taux de mortalité important.

### **2. Immigration**

L'immigration peut être également un facteur d'accroissement de la population. Le succès de l'immigration va dépendre du statut des reproducteurs des populations des territoires adjacents.

Ce phénomène a été spécialement observé dans les zones où un programme de contrôle a été conduit. Des disperseurs de régions adjacentes peuvent rapidement suppléer les couples de reproducteurs. En produisant des grandes portées, ils peuvent recoloniser la zone et en deux ou quatre années, occuper à nouveau la région où ils avaient été rejetés. On peut se demander pourquoi certains loups seuls arrivent parfois à se joindre à des meutes déjà formées tandis que d'autres se font chasser, attaquer voire tuer. Il semble que les loups âgés de 1 à 3 ans se font plus facilement accepter. La majorité des adoptés sont des mâles, et les

adoptions ont lieu le plus souvent entre février et mai. Des études en captivité ont montré que l'intensité de l'agressivité variait en fonction du rang et de l'âge des loups impliqués (18).

L'incidence de l'adoption est difficile à mesurer : une étude basée sur la génétique a montré que 9 meutes sur 27 provenant de trois régions différentes possédaient des individus adoptés (cité par 18). Ces résultats ne sont que des estimations, en effet tous les loups de toutes les meutes n'ont pas été prélevés et des loups adoptés peuvent rester de quelques jours à plus d'une année au sein de la meute.

Une étude sur l'impact des effets de croisements consanguins sur une population a montré l'influence de l'immigration dans la variabilité génétique d'une population.

Les effets des croisements consanguins sont difficiles à étudier sur une population sauvage. Afin de montrer les effets délétères de la consanguinité, Jannikke Räikkönen a étudié la population contemporaine de la péninsule scandinave (45).

Les loups étaient très nombreux en Scandinavie, mais à la suite d'une chasse intensive, la taille de la population a décliné passant en dessous de 10 individus dans les années 70, puis s'est éteinte. Le loup est ensuite devenu une espèce protégée, et une première portée a vu le jour en 1983, la population s'est alors renouvelée et sa taille a augmenté. A l'hiver 2004-2005, la population était composée d'une centaine de loups. Des analyses génétiques ont montré que seule une paire d'individus immigrés de l'est était à l'origine de la population contemporaine. Depuis, seul un mâle a immigré de l'est en 1990 et a contribué à augmenter la variabilité génétique. De ce fait la population actuelle est uniquement issue du croisement de trois loups.

Pour cette étude, les squelettes de loups de trois populations ont été comparés:

- la population contemporaine de Scandinavie soit 52 squelettes provenant d'individus morts à partir de 1984.
- la population historique, 30 squelettes issus d'individus morts entre 1832 et 1979.
- une population de l'est, 84 squelettes issus d'individus morts entre 1800 et 2003.



Pour chaque squelette, chaque vertèbre présente a été examinée et les anomalies congénitales et leurs localisations ont été décrites. Des malformations congénitales de la colonne vertébrale ont été retrouvées de façon plus fréquente dans la population contemporaine et notamment au niveau de la jonction lombosacrée. La jonction lombosacrée étant présente sur la plupart des squelettes, un test statistique, le test de Fisher a pu être appliqué afin de savoir si la différence des anomalies lombosacrées entre les trois populations était significative.

L'anomalie la plus fréquente est la sacralisation de la dernière vertèbre lombaire, on parle alors de vertèbres transitionnelles, la dernière vertèbre lombaire présente les caractéristiques des vertèbres du segment suivant, ici du sacrum.

**Tableau 6** : Fréquence des anomalies transitionnelles de L7 dans trois populations différentes (45).

Anomalies lombosacrées	Population historique	Population contemporaine	Groupe de l'est (Finlande)
N	25	49	74
Sacralisation bilatérale	0	2	1
Sacralisation unilatérale	0	3	0
Total des altérations transitionnelles de L7	0	5	1
% de loups examinés	0	10.2	1.3

La fréquence de la présence de vertèbres transitionnelles au niveau lombosacré est plus importante parmi la population contemporaine (10.2%) que parmi la population de l'est (1.3%).

Cette anomalie peut avoir une incidence clinique importante, il a été prouvé chez le chien que cette anomalie pouvait être reliée au syndrome de la queue de cheval, avec des signes cliniques tels que la parésie ou la paralysie. Ce syndrome résulte d'une compression, un déplacement ou une destruction des nerfs de la queue de cheval. Une vertèbre transitionnelle peut conduire à une instabilité et donc induire une dégénérescence du disque

intervertébral et une hernie de ce disque. Chaque mouvement du loup lorsqu'il va sauter, courir, va augmenter cette instabilité, et augmenter l'intensité de la douleur.

Lorsque cette anomalie ou d'autres sont présentes (ex : hémivertèbres), la variété des mouvements et leur flexibilité vont être réduits, et peut avoir un impact sur la survie des loups.

Les croisements sanguins auront des conséquences plus sévères sur les loups sauvages qu'en captivité. Les animaux plus faibles en milieu sauvage ne survivront pas alors qu'en captivité ils peuvent survivre grâce la disponibilité de la nourriture et aux soins vétérinaires.

Cette étude nous donne un exemple des effets délétères qui peuvent résulter de croisements consanguins. Dans le milieu sauvage, l'arrivée de loup étrangers dans des meutes déjà constituées est capitale pour augmenter la variation génétique, et à long terme assurer la survie de la population.

En milieu captif, l'impossibilité de se disperser associée à des faibles taux de mortalité (abondance de la nourriture et présence de soins vétérinaires), conduit irrémédiablement à une augmentation de la population.

Maîtriser la reproduction apparaît donc comme une nécessité afin de limiter la surpopulation. Mais la maîtrise de la reproduction va permettre également d'empêcher les croisements consanguins qui ne sont pas sans conséquences.

### **III. Maîtrise de la reproduction chez le chien domestique (*Canis familiaris*).**

#### **A. Contraception temporaire**

##### **1. Techniques classiques utilisées chez la chienne**

Deux modalités de contraception sont envisageables : on peut d'une part prévenir l'oestrus par un traitement réalisé en anoestrus visant à éviter l'apparition des chaleurs, on peut d'autre part interrompre les chaleurs par un traitement administré au début de l'oestrus.

##### **a) Androgènes**

###### **(1) Mode d'action**

Les androgènes ont des propriétés antigonadotropes et permettent de ce fait le blocage de la libération de GnRH (*Gonadotrophin-releasing hormone*). Il ne va pas se produire de croissance folliculaire et donc pas de manifestation oestrale. Ces molécules possèdent des propriétés androgéniques qui sont à l'origine d'effets secondaires non négligeables. Les effets possibles directs sur les ovaires n'ont jamais été étudiés (11).

###### **(2) Effets secondaires**

- Lors d'administration prolongée, 15 à 20% des chiennes ont présenté des signes de masculinisation (hypertrophie clitoridienne) et des fréquentes leucorrhées vaginales (13).
- Des troubles du comportement ont été notés : troubles du comportement sexuel avec des chevauchements des congénères et une augmentation de l'agressivité.
- Une étude a montré que 15 % de chiennes traitées pendant plus de neuf ans présentaient un fibrome ovarien (13).
- Les androgènes peuvent provoquer une rétention hydrosodée : ils sont donc contre

indiqués lors de néphropathie ou d'hépatopathie. Par ailleurs une étude a montré que la mibolérone induisait une diminution du taux de cholestérol (27).

- Enfin ce traitement est à proscrire chez les chiennes gestantes car il provoque une masculinisation des fœtus femelles.

### (3) Molécule utilisée

#### ▪ La mibolérone

La mibolérone ou 7 $\alpha$ , 17 diméthyl, 19 nortestostérone est commercialisée seulement aux Etats-Unis (Cheque drops®) sous la forme d'une solution à ajouter à la nourriture. Une administration quotidienne par voie orale au moins 30 jours avant la date présumée des chaleurs prévient l'apparition des chaleurs. L'anoestrus doit être vérifié par l'historique de la chienne et une cytologie vaginale.

Un traitement commencé en fin d'anoestrus peut être inefficace avec un pro-oestrus qui débute dans les trente premier jours du traitement. La posologie requise va dépendre du poids et de la race de la chienne (15).

Intervalle de poids (kg)	Dose de mibolérone ( $\mu$ g/jour)
0.5 à 12	30
13 à 30	60
25 à 50	120
$\geq$ 50	180
Berger allemand ou croisé berger allemand	180

La raison pour laquelle la posologie nécessaire pour le berger allemand ou croisé berger allemand est plus élevée que les autres espèces n'est pas connue.

L'efficacité de la mibolérone dans la prévention de l'oestrus a été prouvée en traitement continu sur une période supérieure à cinq ans, bien qu'il soit recommandé de ne pas l'utiliser pendant plus de deux années consécutives sur le même animal. Le retour des chaleurs se produit généralement 2 à 3 mois après l'arrêt du traitement, mais il a été observé qu'il pouvait survenir de un mois à sept mois après la fin du traitement.

*Remarque* : Des injections hebdomadaires de propionate de testostérone (110 mg en intramusculaire) ou des comprimés de méthyltestostérone (25 mg par semaine) sont utilisés pour prévenir l'oestrus chez les greyhounds (16). Les chiennes greyhounds ne peuvent pas courir lorsqu'elles sont en oestrus car elles attirent les mâles et ne peuvent pas courir lorsqu'elles sont au début du métoestrus (10 semaines après le début du pro-oestrus), car leurs performances sont diminuées par la présence d'un taux élevé de progestérone dans le sang. Les effets anabolisants de la testostérone ne sont pas assez marqués pour augmenter les performances de course. Cependant cette molécule ne doit pas être administrée dans les 7 jours qui précèdent la course. De cette utilisation prolongée de la testostérone résulte souvent un anoestrus prolongé ou permanent chez les femelles greyhounds (13).

## **b) Progestatifs**

### **(1) Mode d'action**

Les progestatifs ont eux aussi des propriétés anti-gonadotropes, mais ils ont également une activité antioestrogénique permettant une action directe sur l'appareil génital : les récepteurs oestrogéniques présents au niveau de la muqueuse utérine sont bloqués ce qui induit une suppression des manifestations de chaleurs.

L'histologie des organes génitaux de chiennes soumises à un traitement progestatif montre des ovaires quiescents avec des follicules atrésiques ; l'absence d'un corps jaune est notée dans la majorité des cas (27).

## (2) Effets secondaires

- Lors d'utilisation de progestatifs, on note une augmentation de la fréquence d'hyperplasie glandulokystique de l'endomètre ainsi que d'infections utérines. En effet l'activité progestative des molécules peut entraîner une prolifération de l'endomètre qui aboutit parfois à une hyperplasie définitive, des dilatations kystiques apparaissent au niveau des glandes endométriales, les glandes perdent leur uniformité de taille et de configuration. On parle alors de complexe hyperplasie glandulokystique de l'endomètre qui va favoriser l'apparition ultérieure d'endométrites et de pyomètre

- D'autres effets secondaires peuvent être observés comme un développement mammaire. Une lactation de pseudo gestation peut parfois apparaître à l'arrêt du traitement. Un traitement prolongé peut provoquer une acromégalie, une résistance à l'insuline (par blocage des récepteurs à l'insuline), un diabète sucré, une hépatomégalie et des tumeurs mammaires.

- Lors d'administration à des femelles gestantes, une masculinisation des fœtus femelles a également été notée, les progestatifs peuvent également empêcher le déclenchement du part.

L'administration de plus de deux traitements consécutifs n'est pas conseillée, toutes répétitions du traitement, ou surdosages sont à proscrire car les effets des progestatifs sont cumulatifs (13).

L'addition d'œstrogène à une thérapie progestative chez les canidés, stratégie efficace pour diminuer les effets secondaires chez les primates, non seulement n'améliore pas mais exacerbe les effets secondaires induits par les progestagènes. C'est pour cette raison qu'il est conseillé d'éviter d'administrer des progestagènes pendant le pro-oestrus et l'oestrus, période où la concentration en œstrogènes endogènes est haute.

### (3) Principales molécules utilisées

- **Acétate de delmadinone** (Tardak ®)

L'acétate de delmadinone est un progestatif de synthèse, il possède 40 fois l'activité de la progestérone, il est également doué d'une très puissante activité anti-androgénique. Il peut être utilisé chez la femelle pour prévenir l'oestrus.

Il est commercialisé en France sous forme de suspension injectable. Chez la chienne l'administration par voie sous-cutanée au plus tôt doit avoir lieu 5 mois après les dernières chaleurs et au plus tard 4 semaines avant la date prévue des prochaines chaleurs. Les injections de rappel ont ensuite lieu tous les quatre à six mois. Avant de pratiquer l'injection, il est recommandé de réaliser un frottis vaginal et de s'assurer de l'absence totale d'érythrocytes dans le prélèvement. La dose recommandée est de 2 à 2,5 mg/kg soit 0,2 à 0,25 mL/kg (56).

Ce progestatif est d'une bonne efficacité pour prévenir les chaleurs (99 % de réussite). Les chaleurs réapparaissent trois à sept mois après la fin du traitement.

L'acétate de delmadinone est peu utilisé comme contraceptif chez la chienne ; il est surtout utilisé chez le mâle pour traiter l'hypersexualité et l'hypertrophie de la prostate. Par conséquent ses effets secondaires sont très peu connus seules de la polyphagie et de la polydipsie ont été observées dans les premiers jours qui suivent l'administration.

- **Acétate de mégestrol**

(Canipil ®, Pilucalm ®, Oepochaleurs ®, Pill'kan ®)

C'est un progestatif à action anti-oestrogénique et anti-ovulatoire/antigonadotrope puissante permettant la prévention des chaleurs ou l'interruption d'un oestrus qui a débuté depuis moins de quatre jours, sans compromettre la reproduction ultérieure. Il exerce également une action sur les zones limbiques contrôlant la faim, la soif et le comportement. Aux Etats-Unis il est le seul progestatif commercialisé, sous le nom d'Ovaban ® (15).

La seule voie d'administration est la voie orale, sous forme de comprimés ou de sucres.

L'utilisation d'acétate de mégestrol est contre indiquée en cas de diabète, de tumeur mammaire, d'hépatopathie, d'affection utérine et lors du premier oestrus. Enfin, des modifications du comportement (polyphagie, agressivité ou apathie) ont été rapportées (11).

- Prévention de l'oestrus

La posologie nécessaire pour prévenir l'oestrus est de 0.55 mg/kg/j pendant 32 jours en commençant 2 semaines avant la date de présumée de l'oestrus (15). Si le traitement débute trop tôt pendant l'anoestrus, il n'y aura pas de report significatif des chaleurs. En revanche s'il commence trop tard la chienne peut entrer en pro-oestrus et une posologie supérieure devra être utilisée.

Le retour des chaleurs a lieu 4 à 6 mois après l'arrêt du traitement.

- Interruption de l'oestrus

La posologie est de 2,2mg/kg/j pendant 8 jours, en commençant les trois premiers jours du pro-oestrus (13). Une autre posologie est également recommandée 2,2mg/kg/j pendant quatre jours suivi de 0.55 mg/kg/j pendant seize jours (11).

Le pro-oestrus doit être détecté précocement. Or chez certaines chiennes les premiers signes externes du pro-oestrus (en particulier les écoulements sanguins) ne sont observables que tardivement. Une chienne qui a un pro-oestrus inférieur à 4 jours ou supérieur à 20 jours n'est pas une bonne candidate pour un traitement oral avec l'acétate de mégestrol.

Il est préférable d'isoler la chienne ensuite pendant 3 à 8 jours, du moins jusqu'à la disparition des écoulements sanguins. En effet une saillie fécondante est possible pendant les premiers jours du traitement, la suppression du pro-oestrus est effective dans les 3 à 8 jours qui suivent le début du traitement. Dans ce cas là, il faut interrompre le traitement et faire avorter la chienne.

De la même façon, un nouveau cycle reprendra 4 à 6 mois après la fin du traitement.



## ▪ Acétate de médroxyprogestérone

Comprimés : Perlutex comprimés ®, Supprestral Comprimés ®, Controlestrel ®.

Suspension injectable : Depo-promone ®, Gynécalm ®, Supprestal ®

Il s'agit d'un dérivé direct de la progestérone, il a trois actions principales une action anti-gonadotrophique, une action anti-oestrogénique, et une action sur l'endomètre. Il est utilisé pour la prévention et la suppression de l'oestrus par voie orale ou par voie parentérale.

Il est peu soluble dans les solutions aqueuses : une seule injection en intramusculaire forme un dépôt qui maintient une concentration circulante efficace pendant plusieurs mois. Ce niveau maintenu constant inhibe les pics de LH et FSH et donc empêche l'ovulation.

### - Prévention de l'oestrus

Per os, pour retarder l'apparition des chaleurs, la posologie est de 0.5mg/kg par jour aussi longtemps que l'effet désiré est recherché. Il est recommandé de commencer le traitement 5 à 10 jours avant la date présumée des chaleurs. Les chaleurs réapparaissent 2 à 16 semaines après l'arrêt du traitement (13).

Par voie parentérale (voie sous-cutanée ou intramusculaire), la posologie est de 2 à 5 mg/kg. L'injection doit être réalisée 2 à 4 semaines avant l'apparition présumée de l'oestrus. Un rappel peut être réalisé quatre-six mois après, la durée est à adapter selon la période interoestrals de la chienne (13).

L'efficacité du produit pour prévenir l'oestrus est bonne, seules 4.5% des chiennes reviennent en chaleurs avant six mois.

### - Interruption de l'oestrus

Per os la posologie est de 2 mg/kg/j pendant cinq jours puis 1 mg/kg/j pendant cinq jours supplémentaires. Attention, il n'est pas rare de constater un effet rebond avec une réapparition des chaleurs 8 à 15 jours après la fin du traitement (27).

Par voie parentérale, son utilisation pour interrompre l'oestrus est très discutée du fait du risque fréquent de métropathies. La dose est doublée et l'administration est réalisée pendant la sécrétion d'oestrogènes (27).

Lors d'injection sous-cutanée, une décoloration des poils avec parfois une alopecie peut apparaître au lieu d'injection.

En raison des effets secondaires (hyperplasie kystique de l'endomètre, tumeurs mammaire, diabète, acromégalie...) l'acétate de médroxyprogestérone a été retiré du marché aux Etats-Unis mais reste largement utilisé dans les autres pays (13). Les effets secondaires seraient liés aux surdosages et à l'administration de ce traitement en dehors de l'anoestrus, d'où la discussion autour de son utilisation pour interrompre l'oestrus.

▪ **Proligestone** (Delvostéron ®)

La proligestone fait partie d'une série de stéroïdes de synthèse plus récente à action anti-gonadotrope. Des études approfondies ont prouvé l'innocuité et l'efficacité de cette molécule, les effets secondaires sont beaucoup moins marqués que pour l'acétate de médroxiprogesterone. Elle a une action anti-gonadotrope importante mais aussi une activité progestative et anti-oestrogénique.

Elle est présentée sous forme de suspension aqueuse.

Elle peut être administrée aussi bien en anoestrus qu'en pro-oestrus (dans les 3 premiers jours) avec un minimum d'effets secondaires sur l'endomètre. Elle est utilisée pour prévenir ou supprimer les manifestations d'oestrus. La voie d'administration est la voie sous-cutanée stricte, au niveau du cou ou à la face interne de la cuisse. Le dosage est déterminé en fonction du poids, 10 à 30 mg/kg (13).

- Prévention de l'oestrus

Il faut traiter en préférence en anoestrus. Il est conseillé de faire une injection trois mois après la première, puis quatre mois après, puis tous les cinq mois. 90% des femelles reviennent en chaleurs dans les 12 mois qui suivent la dernière injection (dont la plupart dans les 6 à 9 mois).

- Suppression de l'oestrus

Pour bloquer les manifestations de l'oestrus, il faut intervenir dès que possible au cours des 3 premiers jours du pro-oestrus. Malgré la disparition des signes d'oestrus (en 3 à 5 jours), il est indispensable d'empêcher tout contact avec un mâle pendant 5 à 7 jours après l'injection.

Dans de rares cas une réaction douloureuse passagère ou une décoloration des poils avec parfois une alopécie et une sclérose de la peau peuvent être observés à l'endroit de l'injection. Le respect de la voie sous-cutané stricte et le massage de la zone d'injection permettent d'éviter au maximum ces effets (56).

## **2. Techniques classiques de contraception utilisées chez le mâle**

Pour être efficace, une contraception masculine doit réduire le nombre de spermatozoïdes fertiles pour créer un état réversible d'infertilité.

Les progestatifs (acétate de mégestrol, acétate de delmadinone, et acétate de médroxyprogestérone) inhibent l'excrétion de FSH et LH et donc interfère sur la production de la testostérone et sur la spermatogenèse. Cependant, tous les progestatifs commercialisés possèdent une AMM uniquement pour lutter contre l'hypersexualité, l'agressivité et l'hypertrophie de la prostate, mais en aucun cas pour supprimer la spermatogenèse.

La testostérone ou certains androgènes synthétiques pourraient être également utilisés, par rétrocontrôle négatif ils inhibent la sécrétion des hormones androgènes. Cependant les effets secondaires qu'ils provoquent, (notamment une forte augmentation de l'agressivité du chien) expliquent qu'ils ne soient pas utilisés.

Les propriétaires recherchant généralement un moyen de lutter contre l'hypersexualité de leur chien plutôt qu'un moyen réellement contraceptif, il existe très peu d'informations (doses, intervalles d'administration) sur l'utilisation des progestatifs pour supprimer la spermatogenèse (6).

### 3. Nouvelles techniques et voies de recherches

#### a) Méthodes vaccinales

Une des nouvelles approches est d'envisager la prévention ou l'interruption de la gestation par des mécanismes immunologiques. L'avantage d'une telle pratique est que les vaccins *a priori* ne possèdent pas de composants pharmacologiquement actifs, il y a donc peu de risques de modifications endocriniennes ou métaboliques.

De nombreux vaccins anti-fertilité ont été étudiés chez le chien et la chienne. Les chiens peuvent être immunisés contre la LH endogène par injection de LH bovine mélangée à un adjuvant. Cependant les adjuvants utilisés, comme l'adjuvant complet de Freund déclenchent des irritations et des lésions de la peau et l'efficacité contraceptive est très variable (13).

L'immunisation contre la GnRH a également été étudiée. Les titres en anticorps obtenus étaient insuffisants pour prévenir l'oestrus chez toutes les chiennes, mais permettaient de réduire l'incidence de l'oestrus. Chez les mâles on a observé des grandes variations interindividuelles et des variations de la longueur de l'effet (15).

Par ailleurs, une immunisation anti-gamètes a été envisagée, la cible potentielle de l'œuf la plus étudiée est la zone pellucide (ZP). La zone pellucide est une couche mucopolysaccharide acellulaire qui entoure l'ovocyte mature et le zygote, elle apparaît au stade du follicule secondaire préantral. La zone pellucide joue un rôle physiologique dans la liaison avec le spermatozoïde pendant les premiers stades de la fécondation, elle bloque aussi la polyspermie, et protège mécaniquement le zygote jusqu'à l'implantation. La zone pellucide représente une cible attractive hautement immunogène et contient des antigènes spécifiques. Elle est composée de trois glycoprotéines majeures : ZP1, 2 et 3. Le développement de vaccin s'est fait à partir de ZP3 d'origine porcine (21).

Les anticorps dirigés contre la zone pellucide bloquent la pénétration des spermatozoïdes, ils pourraient également bloquer la sortie de l'embryon de la zone pellucide au cas où il y aurait eu fécondation.

L'immunisation contre les protéines de la zone pellucide a montré une efficacité limitée, théoriquement l'immunisation bloque la pénétration de l'ovocyte par les spermatozoïdes sans affecter l'ovulation et le comportement lié à l'oestrus. Les études sur le

chien ont révélé des effets additionnels comme des altérations de la fonction ovarienne ou des affections auto-immunes de l'ovaire, avec une diminution des ovocytes. De plus lors de traitement à long terme une suppression des cycles et une possible infertilité permanente ont été rapportées. Ces effets secondaires ne sont pas surprenant dans la mesure où l'antigène cible est présent sur les ovocytes ovariens.

Jusqu'à aujourd'hui, aucun protocole d'immunisation chez le chien n'a fait l'objet d'essais cliniques poussés (15).

### **b) Analogues agonistes de la GnRH**

Une administration constante à doses faibles d'analogues de la GnRH permet de repousser l'apparition de l'oestrus chez la chienne et de supprimer les fonctions de reproduction chez le chien mâle.

Elle conduit à une occupation permanente des récepteurs par les analogues, d'où une absence de stimulation pulsatile des gonadotrophines et à terme provoque la suppression de la sécrétion de LH et FSH. Cette administration continue d'analogue de GnRH supprime les cycles ovariens chez les femelles et bloque la cascade hormonale débouchant sur la production de testostérone et sur la spermatogenèse chez les mâles (13).

La GnRH fut d'abord isolée, séquencée et synthétisée au début des années 70. Les efforts initiaux ont permis la synthèse d'agonistes très efficaces : une substitution de un ou deux acides aminés seulement donne des analogues qui ont une capacité deux à trois cents fois supérieure à celle de la molécule originale.

Ces matériaux peptidiques ne sont efficaces qu'administrés par voie parentérale. Donc d'un point de vue pratique, le problème d'une administration continue pendant une longue période se pose. En 1985, McRae et al. ont testé avec succès l'administration de nafarelin en utilisant des mini-pompes osmotiques, des implants sous cutanés de Silastic® et de polyactide co-glycolide.

Mais ce n'est qu'à partir de 2001, qu'une étude de Trigg et al. a permis de développer une nouvelle forme d'implant, plus facile à utiliser, bio-compatible, délivrant une concentration continue de deslorelin (49). Les recherches de Trigg ont prouvé l'efficacité de

la deslorelin à long terme et son innocuité pour une suppression réversible de la fonction de reproduction chez les mâles et les femelles. Aucune réaction inflammatoire n'a été observée sur le site de l'implantation. Les implants sont placés dans la région interscapulaire, ils mesurent 2 cm de long et 2.3 mm de long. Ces implants relarguent des doses supérieures à 1 µg par jour sur une période de plus d'un an.

Chez les chiens la concentration plasmatique de testostérone a diminué à une concentration inférieure à 1 ng/mL de 6 à 25 jours après l'implantation et elle est restée à ce niveau pendant 3 mois à 2,7 ans. La durée des effets est dose-dépendante mais varie également en fonction des individus. Pour des chiens ayant reçus des doses supérieures à 2.5mg/kg, l'efficacité a été supérieure à 12 mois. Chez tous les chiens traités, la stéroïdogénèse est redevenue normale, accompagnée d'une restauration du volume des testicules et un retour des caractéristiques normales du sperme après la disparition des effets de l'implant.

Les chiennes ont été testées à plusieurs stades du cycle reproducteur : en dioestrus, en oestrus et en anoestrus. Quelque soit le moment où l'implant est posé, on retrouve la même efficacité. Les chiennes non gestantes ont présenté un comportement d'oestrus 4.5 à 7.5 mois après la pose de l'implant et les femelles gestantes de 8 à 10 mois après la mise bas.

L'étude a prouvé l'innocuité de l'administration de la deslorelin chez les chiennes à mi-gestation, la mise bas s'est déroulée normalement et la viabilité des chiots est identique à celle des autres chiots nés au centre de recherche.

La deslorelin quelle que soit la dose, augmente la durée moyenne de l'interoestrus et il est possible de supprimer les chaleurs pendant près de 27 mois.

**Tableau 7 :** Durée du report ( en mois) de l'oestrus chez 52 chiennes après la mise en place d'un implant d'analogue de la GnRH pendant l'anoestrus, le dioestrus et la gestation (49).

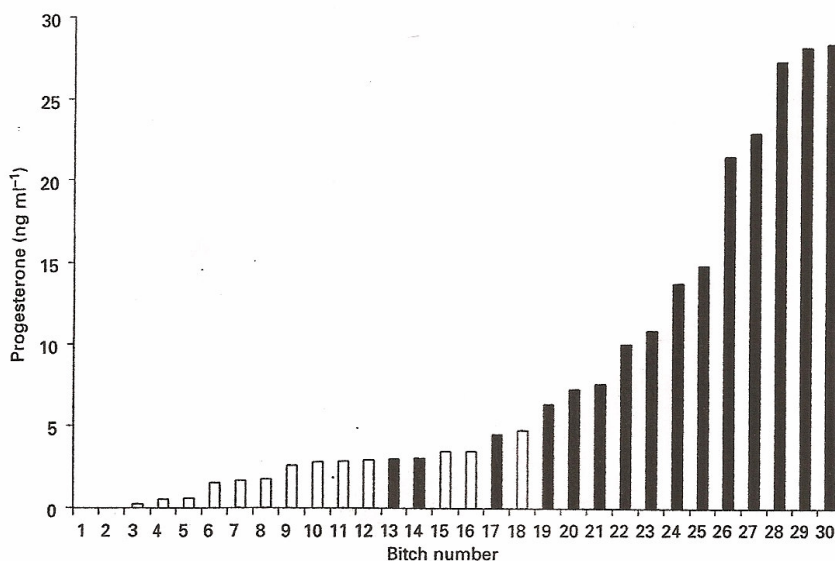
Status of bitch	Dose of GnRH analogue (mg per dog)			
	0	3	6	12
Anoestrus	nd	10.0	13.9± 1.9	nd
Dioestrus	5.5±0.5	10.7±1.4	14.6±3.5	15.5±1.7
Pregnant	8.5±1.5	nd	20.4±3.4	19.6±2.5

Values are mean ± sem (month)

nd: no data collected

Chez toutes les chiennes traitées par la deslorelin pendant l'anoestrus et certaines chiennes traitées en dioestrus, un pro-oestrus et un oestrus ont été observés dans les quatre à huit jours qui ont suivi le début du traitement. Il résulte d'une stimulation initiale déclenchée par l'agoniste de la GnRH sur la sécrétion de gonadotrophines. Aucune des chiennes en dioestrus qui avaient une concentration plasmatique en progestérone supérieure à 5 ng/mL n'a eu d'oestrus induit (Cf. Figure 11).

**Figure 11** : Effets de la concentration plasmatique en progestérone au moment de l'implantation sur l'incidence d'induction d'un oestrus. Chaque barre représente un individu. Oestrus induit (□) et absence d'oestrus induit (■) (49).



A la suite de ces observations, Wright a entrepris des recherches afin de savoir si le pro-œstrus œstrus induit par l'administration d'un analogue de la GnRH en anoestrus pouvait être inhibé par l'administration de progestagènes et si ce pro-œstrus œstrus était fertile. Les résultats de l'étude ont montré clairement que l'utilisation d'un progestagène (acétate de mégestrol) permettait de supprimer l'oestrus induit. L'effet est dépendant de la dose d'acétate de mégestrol administrée. La dose optimale obtenue suite à l'étude est l'utilisation de 2mg d'acétate de mégestrol par jour administré une semaine avant et une semaine après la mise en place de l'implant.

Quatre chiennes ayant reçu seulement l'implant de GnRH se sont accouplées et deux ont été gestantes : les deux chiennes ont avorté au bout de 40 jours environ de gestation. L'administration continue de deslorelin supprime la sécrétion de LH puis supprime la phase lutéale et empêche ainsi une gestation viable. Lorsque l'implant est mis en place après environ trente jours de gestation, la gestation est menée à terme normalement (étude de Trigg), l'effet de la GnRH ne se faisant sentir qu'après quarante jours d'administration.



### **c) Analogues antagonistes de la GnRH**

Pour obtenir un pouvoir antagoniste élevé, il a été nécessaire de substituer à la GnRH six à huit des dix acides aminés initiaux : le coût par dose unitaire a donc été considérablement augmenté. Cependant par rapport aux agonistes, les analogues antagonistes de la GnRH ont un effet immédiat : les gonadotrophines et les stéroïdes gonadiques déclinent jusqu'à des taux très bas en deux heures avec une seule administration. Parce qu'un usage à long terme à doses élevées pose des problèmes économiques et médicaux, ils sont utilisés ponctuellement sous forme d'injection unique dans le but d'interrompre l'oestrus et la gestation (6).

Pour interrompre l'oestrus, une seule injection pendant les premiers jours du pro-oestrus suffit, mais le retour en chaleur intervient régulièrement entre 18 et 23 jours après l'injection.

### **d) Stérilet ou dispositif intra-utérin (DIU)**

#### **- Mécanisme d'action**

Le DIU entraîne un traumatisme de l'endomètre qui réagit par une réaction inflammatoire non spécifique caractérisée par un envahissement cellulaire (polynucléaires, lymphocytes, macrophages et plasmocytes), qui est très défavorable à l'implantation de l'œuf. Une augmentation de la perméabilité vasculaire entraîne une libération d'histamine, de prostaglandines et d'enzymes protéolytiques qui s'opposent également à l'implantation. Ces perturbations pourraient également entraîner un retard de maturation de l'endomètre rendant impossible la nidation. L'apparition de stérilets bioactifs au cuivre ou à d'autres ions métalliques a permis de potentialiser ces effets. Le cuivre ne semble avoir qu'une activité locale, aucune observation ne fait état d'une accumulation systémique (27).

### - **Mise en place**

Lors des premiers essais, le dispositif devait être mis en place par laparotomie longitudinale basse pré-pubienne. Le cathétérisme du col par le vagin étant très difficile à réaliser, on ne pouvait envisager une mise en place fiable et atraumatique que par voie utérine.

En 1997, Nagle a mis au point un dispositif pouvant être mis en place par voie vaginale à l'aide d'un vaginoscope, d'un cervicoscope et d'un dilateur cervical. Lorsque le stérilet est muni d'un fil de retrait en nylon, le fil doit être coupé à 5 cm à l'intérieur du vagin, il pourra être facilement retiré à l'aide d'un vaginoscope. Cependant le fil favoriserait l'apparition d'endométrites en servant de support pour la remontée des germes en particulier pendant la phase d'oestrus (39).

### - **Effets secondaires**

Lors de la première étude de 1991, des métrorragies ont été remarquées de façon inconstante sur les chiennes équipées de DIU, particulièrement après la pose du dispositif, pendant l'oestrus (augmentation des pertes en durée et en quantité) et lors de cas d'endométrites aiguës.

Des endométrites aiguës ont été observées, mais seulement chez les chiennes possédant un stérilet équipé d'un fil de retrait.

Les études menées par Naggle en 1997 (39) et Volpe en 2001 (51) n'ont pas montré d'effets secondaires.

### - **Bilan**

Son efficacité, sa réversibilité et l'absence d'effets secondaires systémiques font du DIU un procédé intéressant pour la contraception. Il est conseillé de le remplacer tous les deux ans, les électrolytes utilisés ayant une durée de vie de deux ans, l'effet mécanique sera en revanche toujours présent.

Cependant, ce procédé ne supprime pas le comportement de chaleurs, ce qui est souvent le principal but recherché par les propriétaires. Par ailleurs la mise en place du dispositif nécessite une anesthésie ce qui peut également décourager les propriétaires.

## **B. Contraception définitive**

Les méthodes contraceptives peuvent être séparées en 2 grandes catégories : les méthodes réversibles précédemment abordées et les méthodes contraceptives permanentes appelées aussi stérilisation.

La stérilisation est définie comme une procédure chirurgicale aboutissant à une perte irréversible du potentiel reproductif.

Chez l'animal, les méthodes irréversibles comprennent essentiellement la castration (mâle et femelle), la vasectomie, la ligature des trompes et l'ovariohystérectomie.

Le risque chirurgical, les effets secondaires et comportementaux ainsi que la perte définitive de matériel génétique font que ces méthodes doivent être utilisées avec beaucoup de discernement.

### **1. Période d'intervention**

On ne doit pas stériliser un animal trop jeune, pas avant cinq-six mois, car les hormones sexuelles sont nécessaires à sa croissance.

Chez la chienne, réaliser une stérilisation avant la puberté rend l'intervention plus aisée et diminue ainsi la probabilité de risques opératoires. Cependant cela augmenterait le risque d'obésité, d'incontinence et de vulvite juvénile sans que cela ne soit prouvé. Par conséquent il est conseillé de stériliser les chiennes après le premier oestrus. La période conseillée pour stériliser est trois mois après l'oestrus, le corps jaune est alors inactif et la vascularisation est minimale. Par ailleurs, le moment idéal pour stériliser une chienne si l'on ne désire pas qu'elle se reproduise et que l'on suspecte qu'elle se soit accouplée est 20 jours après l'oestrus. Enfin, il est déconseillé d'opérer dans les deux mois qui suivent l'administration d'un traitement hormonal contre la pseudo-gestation.

Un chien mâle doit être stérilisé préférentiellement après la puberté, avant la puberté il aura une silhouette de chien femelle (6).

## **2. Méthodes de stérilisation utilisées chez la femelle**

### **a) Techniques de stérilisation**

#### **(1) Ovariectomie**

Cette opération consiste en l'exérèse des deux ovaires. Deux voies d'abord sont possibles, on peut réaliser une laparotomie médiane moyenne (sur la ligne blanche) ou une laparotomie par les flancs. L'avantage de la laparotomie sur la ligne blanche est de pouvoir inspecter le reste de la cavité abdominale et notamment le tractus génital, si l'utérus a un aspect douteux on peut toujours réaliser une ovariohystérectomie.

##### **- Premier temps : la laparotomie**

La laparotomie médiane s'effectue sur l'animal en décubitus dorsal; l'incision cutanée débute sur l'ombilic et s'étend sur quelques centimètres en direction du pubis. Après avoir dégagé la ligne blanche du tissu sous-cutané et du tissu conjonctif, on la saisie à l'aide d'une pince à dents de souris, pour la ponctionner à l'aide de la pointe d'un bistouri. On insère alors la sonde cannelée puis on incise la ligne blanche sur la totalité de l'incision cutanée.

La laparotomie par les flancs s'effectue sur l'animal en décubitus latéral. L'incision cutanée est réalisée à mi-distance entre la pointe de la hanche et la partie la plus convexe de l'hypochondre sous les muscles lombaires et selon une direction oblique d'avant en arrière. L'incision musculaire s'effectue aux ciseaux, plan par plan dans les sens des fibres musculaires, le péritoine est ensuite ponctionné.

##### **- Deuxième temps : exérèse des ovaires**

Dans le cas de la laparotomie médiane, après avoir placé deux écarteurs, on recherche une des cornes de l'utérus soit à l'aide d'un crochet ou des doigts, soit à vue. La corne utérine va servir alors de fil conducteur jusqu'à l'ovaire. L'ovaire est extériorisé délicatement, le ligament suspenseur étant très court et très solide, il est possible de le distendre entre deux doigts ou de le couper à l'aide de ciseaux en faisant très attention à l'artère ovarique.

Dans le cas de la laparotomie latérale, l'abord des ovaires est beaucoup plus aisé, en revanche la chienne devra être retournée en cours d'opération afin d'atteindre le deuxième ovaire.

On positionne des pinces limitatives autour de l'ovaire (l'une en avant et l'autre en arrière) après avoir ponctionné le ligament large. Ensuite on réalise l'hémostase des artères et veines ovariennes et utérines. Pour cela on pose des ligatures, une sur le ligament suspenseur de l'ovaire qui contient l'artère ovarienne et une sur l'artère utérine que l'on positionne sur la trompe utérine. On incise alors sur les pinces et on retire l'ovaire. Il est conseillé de faire l'ablation complète de l'ovaire et de la bourse ovarique.

On traite ensuite le deuxième ovaire, puis on suture la plaie de la laparotomie (36).

## **(2) Ovariohystérectomie**

Cette opération consiste en l'exérèse des deux ovaires et de l'utérus. La voie d'abord est la laparotomie médiane moyenne (sur la ligne blanche). L'incision va s'étendre de l'ombilic au deux tiers de la distance qui sépare l'ombilic du pubis (correspond à la localisation du col utérin).

Pour le traitement des deux pédicules ovariens, on procède de la même façon que pour une ovariectomie.

Trois pinces de Doyen sont placées sur l'utérus, une caudale (proche du vagin), une moyenne et une plus crâniale (proche du corps utérin). Les artères et veines utérines sont ligaturées de chaque coté entre les pinces 1 et 2 en réalisant un point dans la paroi de l'utérus, ensuite le col est ligaturé par une ligature transfixante, soit en utilisant un des points des ligatures des artères et veines utérines soit en effectuant un nouveau point dans la paroi de l'utérus. On incise alors le col entre les pinces deux et trois. Le moignon utérin, après avoir été désinfecté est suturé par un surjet enfouissant en prenant un morceau de l'omentum (favorise la cicatrisation et évite une adhérence entre le moignon et la vessie).

Après réintégration du moignon utérin, la plaie de laparotomie est refermée (36).

## **(3) Ligature et section des trompes**

La ligature section des oviductes rend la fécondation impossible en interdisant tout contact entre l'ovule issu des ovaires et les spermatozoïdes qui remontent le tractus génital.

Le creux du flanc est la voie d'abord conseillée, afin de pouvoir extérioriser la bourse ovarique. Au niveau de la bourse il faut mettre en évidence la trompe utérine qui se trouve

dans la bourse ovarique médialement à l'ovaire. Pour accéder à la trompe il est fréquent d'ouvrir la bourse à l'aide de ciseaux à iridectomie, celle-ci est alors disséquée sur un à deux centimètres. Après avoir ligaturé les deux extrémités de la portion disséquée, à l'aide de fils irrésorbables, une résection d'environ un demi-centimètre de trompe utérine est réalisée (27).

NB : Une variante consiste à ligaturer et sectionner le sommet des cornes utérines.

Quelque soit le type de l'intervention, une antibiothérapie à spectre large est conseillée pendant cinq jours.

## **b) Indications / contre indications**

### **- Indications**

Chez la chienne, les indications relatives d'une stérilisation sont : lorsque le propriétaire ne souhaite pas que son animal se reproduise, pour empêcher l'apparition des chaleurs, ou pour prévenir l'apparition de tumeur. L'exérèse de l'utérus est indiquée lors de suspicion de gestation avancée (supérieure à trois semaines), il s'agit alors d'une opération de convenance. Il existe aussi des indications absolues, c'est le cas lors d'affections du tractus génital (kystes et tumeurs ovariennes, affections utérines septiques ou non) ou dans le cas de maladies systémiques (diabète, épilepsie...) où l'on n'arrive pas à stabiliser l'animal tant qu'il existe une activité ovarienne et/ou utérine (6).

### **- Contre indications**

L'animal doit être en bon état général, un examen médical doit être effectué avant l'anesthésie.

Ces interventions ne doivent pas être pratiquées pendant l'oestrus, le tractus génital est en pleine expansion et une vascularisation très développée augmente la probabilité de complications opératoires. Lorsqu'une ovariectomie est réalisée seule cela augmente le risque d'apparition de pyomètre consécutif à l'opération (6).

### **c) Avantages / inconvénients**

#### **- Avantages**

##### **Ovariectomie**

L'ovariectomie conduit à une suppression totale des périodes d'oestrus ; la chienne ne subit plus de modifications morphologiques, physiologiques et comportementales inhérentes à l'oestrus. L'efficacité de cette méthode même si elle n'est pas absolue est excellente, de plus elle est immédiate. Cette intervention prévient le développement de certaines tumeurs mammaires chez la chienne en particulier lorsqu'elle est pratiquée avant le deuxième oestrus (41).

##### **Ovariohystérectomie**

L'ovariohystérectomie présente les avantages et inconvénients de l'ovariectomie avec quelques différences. Tout risque de pathologies utérines est écarté. L'hystérectomie seule est déconseillée en raison d'infection et de perforation du moignon vaginal (41).

##### **Ligature et section des trompes**

La ligature des trompes présente la même efficacité pour empêcher la conception, en revanche cette méthode n'entraîne aucun désordre hormonal et n'induit aucune modification physiologique et comportementale.

#### **- Inconvénients**

Il existe toujours des risques liés aux gestes opératoires, on n'est jamais à l'abri de saignements ou d'hémorragies au cours de l'intervention. Aux Etats-Unis, on rapporte des complications sur 7,3 % des interventions (15). Une étude sur les complications d'ovariohystérectomie a montré que près de la moitié des complications sont liées à l'exérèse incomplète du tissu ovarien, d'où la nécessité de toujours ouvrir la bourse ovarique pour vérifier qu'on a enlevé l'ovaire dans son intégralité. Les autres complications incluent des dommages sur les viscères adjacents comme le rein ou les uretères ou une infection du moignon utérin. Par ailleurs 4,1% des interventions sont accompagnées d'incidents anesthésiques (15).

En perturbant l'équilibre endocrinien de l'organisme, l'ovariectomie et l'ovario-hystérectomie présentent certains effets secondaires, dont les principaux sont les suivants : prédisposition à l'obésité, incontinence et alopecie endocrinienne (36).

Enfin ces trois méthodes sont définitives, il n'y a pas de retour en arrière possible et on supprime à jamais le potentiel reproductif de l'animal.

### **3. Méthodes de stérilisation utilisées chez le mâle**

#### **a) Techniques de stérilisation**

Il existe deux possibilités chirurgicales pour interrompre l'activité sexuelle des mâles: la castration qui consiste à retirer les testicules et la vasectomie qui correspond au retrait des canaux déférents. Chez le chien, on intervient le plus souvent en région préscrotale, les interventions en région scrotale impliquent l'exérèse complète du scrotum, le scrotum étant une zone très inflammatoire.

#### **(1) Orchiectomie préscrotale**

Les interventions préscrotales à testicules découverts sont réservées le plus souvent aux animaux de plus de 20 kg, ceux dont la taille du pédicule vasculaire est importante. Le terme à « testicules couverts » indique que la tunique vaginale n'est pas incisée, alors que lors d'intervention à « testicules découverts », elle est incisée. La castration à testicules découverts entraîne plus de risque septique et plus de risque d'hernie inguinale, qui reste très rare chez les carnivores. En revanche, elle permet un accès direct au plexus veineux et permet donc une hémostase de meilleure qualité (27).

#### **Temps opératoire :**

L'animal est couché en décubitus dorsal. Après avoir préparé le site opératoire et placé le testicule en position ante-scrotale, la peau et le tissu sous-cutané sont incisés sur toute la longueur testiculaire, sur le raphé médian. Les enveloppes testiculaires (fascia spermatique, tuniques vaginales externe et interne) sont incisées alors les unes après les autres. Une fois le



testicule extériorisé, on traite le ligament testiculaire afin de séparer le testicule de sa tunique, soit par déchirement en prenant entre deux compresses ligament et tunique soit par incision du ligament. On ligature séparément le plexus vasculaire et le canal déférent ou si le plexus n'est pas trop gros on peut le ligaturer en masse par une transfixante avec le canal déférent. Après avoir positionné une pince au dessus des ligatures, on incise les 2 cordons (vasculaire et canal déférent). On suture ensuite les tuniques vaginales avec des points séparés ou un surjet. Le second testicule sera traité de la même manière.

Lors de la castration à testicules couverts, les tuniques vaginales ne sont pas incisées, le cordon spermatique qui contient le pédicule vasculaire et le canal déférent est ligaturé par une ligature transfixante prenant appuie sur le muscle crémaster et une deuxième ligature prenant tout en masse.

Les plans sous-cutané et cutané sont ensuite refermés (36).

## (2) Vasectomie

Cette opération consiste à ligaturer les canaux déférents pour empêcher les spermatozoïdes de se mélanger au liquide séminal. La stérilité ne suit pas immédiatement l'opération, la fécondité persiste tant qu'il reste des spermatozoïdes actifs dans le liquide séminal, soit pendant 2 à 3 mois.

### **Temps opératoire :**

On incise les plans sous-cutané et cutané en position médiane et préscrotale ou de part et d'autre du fourreau en regard des anneaux inguinaux. De la même façon que pour une orchiectomie, on extériorise le canal déférent, on effectue alors une double ligature sur le canal. Puis on enlève 5 mm à 1cm de canal déférent au minimum, sinon le canal peut cicatriser et se réperméabiliser. Les tuniques vaginales sont ensuite refermées.

On traite le deuxième canal déférent de la même façon.

## **b) Indications et contre indications**

### **- Indications**

Chez le chien la stérilisation peut avoir trois visées. Il peut s'agir d'une opération de convenance pratiquée sur des animaux non reproducteurs dont le comportement sexuel dérange les propriétaires. Il peut s'agir d'une opération prophylactique, afin d'éviter les tumeurs hormono-dépendantes qui concernent les testicules, l'épididyme, la prostate, l'anus ou la région périnéale ou afin d'éviter les hernies périnéales et différentes affections du tractus génital (orchites, torsions, abcès et hyperplasie de la prostate...). Il peut s'agir enfin d'une stérilisation à visée thérapeutique comme dans le cas d'hernie inguinale (36).

### **- Contre indications**

L'état général de l'animal est toujours à prendre en compte, en particulier lorsqu'il s'agit d'une opération de convenance : on opère exclusivement un animal en bonne santé.

## **c) Avantages et inconvénients**

### **- Avantages**

Comme chez la femelle, la stérilisation à l'avantage d'être presque à cent pour cent efficace. La vasectomie présente l'avantage de ne pas modifier la sécrétion des hormones sexuelles, donc ne pas interférer sur le comportement sexuel des mâles. L'éjaculat est d'aspect habituel puisque constitué en majeure partie des sécrétions de la prostate et des vésicules séminales, glandes anatomiquement localisées après la zone de ligature. La vasectomie est cependant une opération plus simple et plus sûre que la ligature des trompes chez la femelle.

### **- Inconvénients**

Les risques inhérents à l'opération chirurgicale sont toujours présents (hémorragie, anesthésie...).

Il s'agit de méthodes contraceptives définitives.

### **Remarque : Stérilisation chimique**

La stérilisation chimique consiste à injecter un agent nécrosant injecté directement dans les testicules, la fonction de reproduction du mâle est supprimée définitivement.

Aux Etats-Unis un agent nécrosant est commercialisé depuis peu, il s'agit d'une solution de gluconate de zinc neutralisée par l'arginine (Neutersol®). Le laboratoire décrit une efficacité de 99.6% et pour réaliser l'injection une anesthésie est nécessaire dans seulement 24% des cas (57).

L'utilisation du Neutersol® est préconisée seulement chez les chiens de 3 mois à 10 mois, mais il a été montré que les injections étaient efficaces également chez les chiens plus âgés (42) ainsi que chez le chat. L'agent nécrosant entraîne la formation d'un tissu cicatriciel qui empêche le passage des spermatozoïdes des tubes séminifères dans l'épididyme. A terme on observe une atrophie des testicules, des épидидymes, des tubules séminifères et de la prostate.

L'acquisition de la stérilité n'est pas immédiate : de la même manière que pour une vasectomie le chien reste fertile tant que persiste dans le liquide séminale des spermatozoïdes, c'est-à-dire environ deux à trois mois.

La testostérone n'est pas complètement éliminée, une étude a montré que la concentration sérique de testostérone diminuait de 41 à 52 %. Cette diminution si elle a un effet sur le comportement, ne permet pas de prévenir l'apparition d'affections hormono-dépendantes comme les affections de la prostate, les tumeurs testiculaires ou péri-anales.

Pour réaliser les deux injections, le chiot doit être placé sur le dos et doit rester immobile pendant l'injection, une injection intrascrotale ou dans la paroi du scrotum peut entraîner une irritation, une ulcération voir une nécrose du scrotum. La dose à injecter dans chaque testicule est fonction de la largeur du testicule, un calibre est fourni avec la solution. L'injection doit être lente, une injection trop rapide entraînant une contraction des tubes séminifères.

Les effets secondaires sont peu nombreux, on note des effets locaux (douleur scrotale, irritation, gonflement, ulcération scrotale) et des effets systémiques avec parfois des vomissements une minute à quatre heures après l'injection, de l'anorexie, de la léthargie et de

la diarrhée dans les sept jours qui suivent l'injection. Les vomissements peuvent être prévenus par une diète de 12 heures avant l'injection.

Cette technique permet de s'affranchir dans la majorité des cas de l'anesthésie et des risques associés. L'intervention est simple et rapide à réaliser.

Néanmoins le coût de cette méthode reste élevée, le prix est identique à celui d'une castration (57).

### **C. Interruption médicale de gestation**

L'interruption de gestation chez la chienne est indiquée pour :

- des raisons de convenance si la gestation n'est pas souhaitée.
- des raisons médicales.
- des raisons zootechniques.

#### **1. Avortement précoce**

Avant toute chose, il est nécessaire d'évaluer le risque de gestation sur la chienne présentée, les statistiques montrent que moins de 60% des saillies accidentelles et non programmées sont fécondantes (13).

Il est possible de déterminer si la chienne a déjà ovulé en réalisant des frottis vaginaux et un dosage de la progestéronémie sanguine. Et il est possible d'apprécier le risque de fécondation après une saillie en tenant compte également de la survie possible des spermatozoïdes (5 à 8 jours) dans le vagin et l'utérus de la chienne (37).

## a) Utilisation d'oestrogènes

Les oestrogènes vont empêcher le transport des ovocytes, des spermatozoïdes et empêcher la nidation. Chez les carnivores, la période de vie libre de l'embryon est très longue.

- **Molécules utilisées**

- Le benzoate d'oestradiol

C'est l'oestrogène utilisé en Europe, ses précautions d'emploi sont à respecter scrupuleusement. Le moment d'intervention conseillé est de 8 à 15 jours après la saillie. La posologie est de 0.1 mg/10kg sans jamais dépasser 0.5 mg par chienne. Trois injections intramusculaires ou sous-cutanée sont nécessaires à 48 heures intervalles. La chienne doit être séparée du mâle pendant le traitement car une saillie peut être fécondante entre les injections. Cette molécule est efficace à 100% (27).

En France le benzoate d'oestradiol est commercialisé sous le nom de Mesalin®, le laboratoire conseille de l'administrer 3, 5 et 7 jours après la saillie, et en tout cas jamais au début de l'oestrus (56).

- Le cypionate d'oestradiol

Très utilisé aux Etats-Unis, le cypionate d'oestradiol possède une longue durée d'action, une seule injection en intra musculaire est nécessaire.

La posologie recommandée est de 44 µg/kg sans jamais dépasser 1mg par chienne. Il est recommandé de l'administrer pendant l'oestrus, en se référant aux informations du frottis vaginal pour obtenir la plus grande efficacité. Si le frottis suggère un début de pro-oestrus, la saillie n'aura pas été fécondante les oestrogènes n'ont pas à être utilisés. Si le frottis vaginal suggère la fin du pro-oestrus, l'injection doit être réalisée 1 à 3 jours après afin que la période de protection couvre la période de l'oestrus et l'ovulation. Enfin si le frottis montre un oestrus tardif ou le début du dioestrus, les oestrogènes sont déconseillés (13).

Un contrôle est conseillé quatre semaines après pour vérifier l'efficacité du traitement.

- **Effets secondaires**

Chez la chienne, 15% des avortements provoqués par les oestrogènes sont suivis de métropathies (hyperplasie kystique de l'endomètre et pyomètre) qui nécessitent le plus souvent une ovario-hystérectomie (27). Une autre étude a montré que 25 à 50 % des chiennes présentées pour une endométrite ont reçu des oestrogènes dans les six mois précédant la consultation (13).

On observe souvent un retour en chaleur après les injections. Des risques de métrorragie et de toxicité médullaire avec des anémies arégénératives ont aussi été notés.

Ce traitement n'est pas anodin, il est déconseillé de le réaliser sur de chiennes destinées à la reproduction compte tenu de ses effets sur l'utérus.

Les oestrogènes sont peu à peu abandonnés en raison de leurs échecs, et des nombreuses complications provoquées par leur utilisation, l'avortement précoce est réalisé de plus en plus à l'aide d'antiprogestérone.

#### **b) Utilisation des antagonistes de la progestérone**

Le maintien de la gestation est hautement dépendant de la sécrétion lutéale de la progestérone. En se fixant sur les récepteurs de la progestérone, les antagonistes de la progestérone interdisent l'action de la progestérone, et vont provoquer l'interruption de la gestation. L'antagoniste de la progestérone utilisé en France est l'aglépristone (Alizine®).

L'administration doit avoir lieu à la fin des chaleurs, deux injections sous-cutanées à 24 heures d'intervalles sont nécessaires à la posologie précise de 10mg/kg soit 0.33ml/kg d'alizine (56).

Il est recommandé de réaliser l'injection à la face interne de la cuisse, car le produit peut modifier la couleur du poil. Parfois une douleur au moment de l'injection et une inflammation au niveau des sites d'injections peuvent apparaître.

Exceptionnellement des échecs ont été observés, il est recommandé de réaliser un contrôle par échographie entre 20 et 30 jours plus tard afin de confirmer l'absence de fœtus dans l'utérus (37).

De l'anorexie et une congestion mammaire ont également été notés.

Le coût de la synthèse de l'aglépristone étant assez élevé, l'utilisation de cette molécule sur un animal de grande taille est onéreuse.

## **2. Avortement tardif**

L'avortement n'est alors plus pratiqué sur une simple suspicion de gestation, la gestation est confirmée par un examen échographique (à partir de 20 jours) ou par un dosage de relaxine (à partir de 28 jours).

### **a) Utilisation des antiprogestérones**

L'aglépristone peut être utilisée également pour un avortement tardif de la même façon que pour un avortement précoce jusqu'à 45 jours de gestation.

L'élimination du fœtus est obtenue dans les sept jours qui suivent la seconde injection, elle s'accompagne alors des mêmes manifestations physiologiques que lors de la mise bas.

Le pourcentage d'échec est cependant d'environ 5%, aucun effet toxique n'est observé mais la gestation n'est pas interrompue. Il est donc nécessaire de contrôler les résultats 10 jours après par échographie. En cas d'échec le traitement peut être renouvelé ou il est possible d'utiliser des prostaglandines (37).

### **b) Utilisation des prostaglandines F2 $\alpha$**

- **Mode d'action**

Classiquement utilisées chez les animaux de rente pour la maîtrise de la reproduction ou le traitement de certaines affections de l'appareil génital, les prostaglandines sont des puissants lutéolytiques qui provoquent la régression fonctionnelle et morphologique du corps jaune. Elles ont en plus des effets utérotoniques, provoquant des contractions utérines qui assurent l'élimination des fœtus (13).

Chez la chienne, le maintien de la gestation est dépendant de la sécrétion lutéale de progestérone tout au long de la gestation. Une lutéolyse prématurée met donc fin à cette sécrétion et entraîne l'avortement. Les prostaglandines sont efficaces pendant la deuxième moitié de gestation. Le corps jaune quand il est jeune est réfractaire aux prostaglandines : chez les canidés, cette période peut durer jusqu'à 30 jours après le pic de LH alors qu'elle n'est que de 4-5 jours chez les ruminants.

L'utilisation de prostaglandine chez la chienne présente des difficultés, la chienne est plus résistante aux effets lutéolytiques et plus sensible aux effets secondaires.

Par ailleurs les PGF<sub>2</sub>α sont contre-indiquées chez les chiennes qui présentent des affections rénales et cardiaques.

- **Posologie**

Le cloprosténol est classiquement utilisé, il s'agit d'un analogue de la PGF<sub>2</sub>α. Trois injections en sous-cutané sont nécessaires à 48 heures d'intervalles et à la posologie de 2.5µg/kg. Seules les chiennes confirmées gestantes entre 30 et 45 jours après la saillie subiront ce traitement. La préparation commerciale (Estrumate®) doit être diluée au 1/10<sup>e</sup> dans du sérum physiologique isotonique et il faudra injecter 0.1 mL/kg de la solution obtenue (37).

- **Effets secondaires**

L'apparition d'effets secondaires immédiats après l'injection explique que son usage soit discuté.

Les effets secondaires se manifestent par un important ptialisme, des vomissements, de la diarrhée, de l'hyperpnée, de la tachycardie, de l'ataxie, des halètements, des mictions, de l'anxiété et des dilatations ou contractions pupillaires. Ces effets peuvent être minorés voire supprimés par une prémédication adaptée, administrée quinze minutes avant les injections :

Soit par l'administration de l'association :

- Atropine 0.25mg/10kg
- Prifinial® (Bromure de prifinium): anti-diarrhéique et anti-spasmodique 1ml/10kg
- Vogalene® (Métopimazine) 5mg/10kg.

Soit par une administration unique d'Estocelan® (butylscopolamine et dipyrone) : anti-spasmodique et antalgique à la posologie de 1 à 2 ml/10kg.



- **Résultats**

L'efficacité est complète, l'expulsion du fœtus est effective entre cinq et sept jours après la dernière injection et il est prudent d'associer un traitement antibiotique pour prévenir une éventuelle affection utérine (37). Cependant il est conseillé de réaliser un contrôle échographique comme après tout traitement abortif.

Il n'existe pas d'autorisation de mise sur le marché (AMM) pour leur utilisation en tant qu'abortif chez les carnivores, leur utilisation est donc sous la responsabilité du vétérinaire. Ils sont utilisés chez les chiennes de grande taille, pour une raison de coût.

### c) Utilisation d'antiprolactine

- **Mode d'action**

La régulation du maintien du corps jaune est sous la dépendance de facteurs lutéolytiques et lutéotropes. Chez la chienne, les facteurs lutéotropes sont la LH et la prolactine.

La prolactine augmente à partir du trentième jour après la fin de l'oestrus que la chienne soit gestante ou non. Ce taux reste élevé jusqu'au sevrage chez la chienne gestante, et il revient à son taux initial beaucoup plus tôt chez la chienne non gestante.

La sécrétion de la prolactine est régulée par deux facteurs, le PIF (*prolactin inhibiting factor*) ou dopamine et le PRF (*prolactin releasing factor*) dont le médiateur principal est la sérotonine. Deux possibilités existent alors pour diminuer la sécrétion de la prolactine, l'utilisation de dopaminergiques (Cabergoline et Bromocriptine) ou l'utilisation d'anti-sérotoninergiques (Méteergoline) (8).

- **Bromocriptine**

La bromocriptine n'est pas utilisée car son administration est associée à de nombreux effets secondaires tels que des vomissements, de l'anorexie et de la léthargie. De plus, elle n'est efficace qu'à 50%.

- **Cabergoline**

La cabergoline présente moins d'effets secondaires par voie orale (seulement 3% de vomissements sont observés), elle doit être utilisée à la posologie de 5µg/kg par jour per os pendant neuf jours pendant la deuxième partie de la gestation (dés 40 jours). Elle est

commercialisée en France sous le nom de Galastop®, mais possède un AMM seulement pour lutter contre la lactation de pseudo gestation. Dans tous les cas, l'expulsion foetale s'accompagne d'écoulements vulvaires glaireux ou séro-sanguinolents.

- **Méteergoline**

Il n'existe pas à ce jour d'étude sur l'éventuelle action abortive de la méteergoline. La dose émétisante est beaucoup plus élevée que la dose thérapeutique. Elle est utilisée actuellement uniquement pour interrompre la lactation (Contralac®).

*Remarque :* on peut associer à ce protocole des injections de closprosténol (analogue des PGF2 $\alpha$ ) à la posologie de 1  $\mu$ g/kg SC une heure après la cabergoline) pour accentuer les effets de celle-ci, et pouvoir intervenir dès 25 jours de gestation. Le closprosténol est alors utilisé à une posologie qui ne déclenche pas d'effets secondaires.

### **3. Autres techniques d'interruption de gestation**

#### **a) Epostane**

L'épostane est un bloqueur de la synthèse des stéroïdes par inhibition compétitive au niveau du système enzymatique hydroxystéroïde déshydrogénase isomérase. Il bloque la transformation de la pregnolone en progestérone.

Il doit être administré par voie orale à la posologie de 50 mg par jour pendant sept jours dès les premiers jours du dioestrus déterminé par cytologie vaginale. Aucun effet secondaire n'est connu. Cependant il n'existe pas suffisamment d'études cliniques pour confirmer son efficacité et son innocuité sur un large éventail de races, afin de conseiller son administration (13).

## b) Antagonistes de la GnRH

Les antagonistes de la GnRH agissent par compétition sur les récepteurs de la GnRH et vont provoquer la suppression de LH et FSH puis le déclin des stéroïdes ovariens. Une seule injection d'antagonistes de la GnRH entraîne la suppression de la fonction lutéale et l'interruption de la gestation. L'injection est plus efficace lorsqu'elle est réalisée en milieu de gestation. Les antagonistes peuvent être administrés en les associant avec un analogue des PGF2 $\alpha$  2 à 4 jours après l'oestrus.

Les antagonistes restent très chers à fabriquer et leur commercialisation est très peu probable (13).

### Remarque : Utilisation des corticoïdes

Les corticoïdes peuvent être abortifs lorsqu'ils sont utilisés à haute dose. L'injection de 5mg/kg en intra musculaire deux fois par jour pendant 7 à 10 jours à partir du trentième jour de gestation. Les corticoïdes ne sont jamais utilisés dans cette intention, il s'agit plus d'un effet secondaire de leur utilisation (13). Peu d'informations existent sur leurs effets abortifs.



## **IV. Etude de la maîtrise de la reproduction du loup en captivité**

### **A. Bilan des différentes méthodes de maîtrise de la reproduction disponible pour le loup en captivité**

#### **1. Méthodes utilisées chez le chien**

L'anatomie et la physiologie de la reproduction du chien et du loup sont quasiment identiques, la chienne et la louve présentent le même cycle reproducteur accompagné du même profil hormonal. Ainsi il est possible d'envisager d'appliquer au loup les mêmes techniques contraceptives que chez le chien. Ces différentes techniques pouvant être médicales (androgènes, progestatifs, analogues agonistes de la GnRH) ou chirurgicales.

Cependant, les quelques différences qui existent entre la physiologie de la reproduction du loup et du chien (âge du premier oestrus, reproduction saisonnière avec un seul oestrus, durée du pro-oestrus) doivent être prises en compte dans l'application de ces différentes méthodes.

Des systèmes de délivrance des traitements contraceptifs plus adaptés à l'administration à des animaux sauvages ont été développés tels que l'implant d'acétate de mélengestrol et plus récemment l'implant de deslorelin (suprelorin®).

Ces deux méthodes n'étant pas utilisées chez le chien nous allons étudier en détails leur protocole d'utilisation.

## **2. Méthodes contraceptives utilisées sur les animaux sauvages en captivité et protocole d'utilisation.**

### **(1) Implants d'acétate de mélangestrol (MGA®)**

- **Généralités**

Parmi les différentes méthodes utilisées pour réguler la reproduction chez les animaux sauvages, la contraception hormonale des femelles par des implants MGA® est la plus utilisée.

Ces implants sont fabriqués sous forme de seringues de 3, 6 ou 12 mL. Une anesthésie générale est nécessaire pour l'insertion et le retrait de l'implant, ce qui représente l'inconvénient majeur de cette méthode contraceptive.

Il est recommandé de remplacer les implants tous les deux ans bien que l'efficacité puisse être supérieure (jusqu'à 3 à 5 ans). La durée d'efficacité variant en fonction de l'espèce et de l'individu, il est préférable de renouveler l'implant avant la fin de la durée théorique d'efficacité. Parmi les cas rapportés d'utilisation sur des animaux de la famille des canidés, la durée moyenne d'efficacité était d'environ 23 mois.

Si une gestation est désirée, ils peuvent être retirés : le taux circulant d'acétate de mélangestrol chute alors rapidement et une ovulation pourra survenir normalement dans les jours qui suivent mais il existe, une fois encore, de grandes variations individuelles. Son utilisation chez les canidés a montré une réversibilité de 12 mois en moyenne (durée entre le retrait de l'implant et la gestation (55)).

- **Mode d'action**

L'acétate de mélangestrol comme les autres contraceptifs progestatifs, agit en bloquant l'ovulation, en provoquant un épaissement de la glaire cervicale et en interférant avec la fécondation et l'implantation. Une étude sur l'utilisation de 1430 implants (toutes espèces confondues) sur 24 mois a montré une efficacité de 99% et aucun échec n'a été noté chez les canidés (5).

La croissance folliculaire peut cependant se poursuivre et est parfois accompagnée d'une sécrétion d'oestrogènes suffisante pour provoquer un comportement d'oestrus. L'ovulation peut se produire mais elle ne sera pas suivie d'une gestation.

- **Effets secondaires**

Pour limiter l'apparition des effets secondaires des progestatifs (hyperplasie glandulo-kystique, pyomètre, diabète sucré...) le traitement doit commencer avant l'apparition des signes du pro-oestrus. Il n'est pas recommandé de les utiliser pendant plus de quatre ans. Les progestatifs ne devront jamais être utilisés chez des femelles gestantes, ils peuvent prolonger la gestation, provoquer des avortements, diminuer ou supprimer les contractions utérines nécessaires à une mise bas normale. Les progestatifs doivent être utilisés uniquement sur des femelles dont le statut est connu.

- **Utilisation sur les animaux à reproduction saisonnière**

Le traitement doit débiter un mois au minimum avant le début de la saison de reproduction. Il est recommandé chez les canidés de mettre en place l'implant deux mois avant le début de l'oestrus afin d'éviter une exacerbation des effets secondaires liée aux oestrogènes endogènes.

- **Stérilisation**

Les implants doivent être conservés au réfrigérateur à une température de 4°C. Avant l'insertion, les implants doivent être stérilisés à l'oxyde d'éthylène et laissés dégazer à température ambiante au moins deux semaines. Un dégazage insuffisant peut induire une réaction tissulaire provoquée par le gaz résiduel. Ils ne doivent pas être autoclavés, la chaleur pouvant modifier leur structure et de même ils ne doivent pas être stérilisés par des solutions antiseptiques, des substances chimiques pouvant être absorbées.

- **Insertion**

Les implants doivent être insérés de préférence entre les omoplates et en intramusculaire si possible. Si une insertion sous-cutanée est préférée, un tunnel doit être créé par dissection mousse pour y placer l'implant.

La migration de l'implant peut être contrôlée en suturant l'implant sur place au moment de l'insertion. Un transpondeur ou un fil inox (radio opaque) peut être inséré à l'intérieur de l'implant pour confirmer sa présence et sa localisation.

Pour éviter les pertes d'implants, l'implant doit être correctement stérilisé, l'insertion doit être effectuée de manière stérile et les animaux doivent être séparés de leurs congénères le temps de la cicatrisation.

- **Latence d'efficacité**

Bien qu'il y ait des variations individuelles, le niveau seuil en principe actif est atteint dans les 1 à 3 jours qui suivent une insertion intramusculaire et dans la semaine après une insertion sous-cutanée. Cependant la suppression des follicules pré-ovulatoires est difficile, si la phase du cycle reproducteur au moment de l'insertion n'est pas connue il est conseillé de prévoir un délai supplémentaire.

Remarque : Il existe un autre implant à base de progestagènes, l'implant Norplant II®, qui contient 70 mg de Levonorgestel. On possède très peu de données sur son utilisation, il a été utilisé sur très peu d'espèces et exclusivement chez les félidés (5).

## **(2) Agoniste de la GnRH, implant de deslorelin**

- **Généralités**

Comme tout agoniste de la GnRH, la deslorelin va d'abord stimuler le système hypophysaire avant de supprimer temporairement l'activité endocrinienne. Chez les femelles



la deslorelin induit donc un oestrus et une ovulation avant de supprimer les chaleurs ; chez les mâles, elle provoque une augmentation temporaire de l'excrétion de testostérone et de production de sperme avant de les supprimer. Chez le mâle, cette stimulation peut s'accompagner d'une augmentation de l'agressivité et de l'intérêt sexuel. Bien que la deslorelin soit un contraceptif efficace chez les mâles, son utilisation est conseillée en première intention chez les femelles, car il est plus facile chez elles d'en vérifier l'efficacité. La suppression du comportement d'oestrus et l'absence de stéroïdes ovariens dans les fèces est plus simple à contrôler que l'absence de production de sperme. La deslorelin est plus utilisée chez les mâles pour contrôler l'agression.

- **Insertion**

Les implants doivent être également conservés au réfrigérateur à une température de 4°C.

Il est recommandé d'insérer l'implant entre les deux épaules, le site doit être tondu et nettoyé de manière chirurgicale. L'implant est livré avec l'appareil pour l'insérer (seringue) et il suffit d'enfoncer la seringue à l'intérieur d'un pli de peau maintenu entre le pouce et les doigts.

- **Latence d'efficacité**

Il est important de séparer les animaux de sexe opposé ou d'utiliser une méthode alternative contraceptive pendant la période de stimulation. Les femelles traitées par la deslorelin restent fertiles pendant les trois semaines qui suivent la pose de l'implant. Les mâles peuvent rester fertiles deux mois ou plus, jusqu'à ce que le sperme résiduel dégénère (de la même façon qu'une vasectomie).

- **Suppression de l'oestrus/ovulation induit**

L'oestrus et l'ovulation induits peuvent être évités par un traitement supplémentaire à base de progestatifs :

- Des comprimés d'acétate de mégestrol peuvent être administrés par voie orale pendant 15 jours, 7 jours avant l'insertion de l'implant et 8 jours après.
- L'utilisation de Dépo-provera® est déconseillée car le relargage constant d'acétate de médroxyprogestérone peut interférer avec l'efficacité de la deslorelin.
- Chez les femelles qui possèdent encore un implant de MGA® efficace, l'implant peut être laissé en place 2-3 semaines après l'insertion de l'implant mais il devra être retiré ensuite pour éviter qu'il interfère avec la deslorelin.

- **Utilisation sur les animaux à reproduction saisonnière**

Chez les femelles, les agonistes de la GnRH peuvent induire un oestrus et une ovulation même en dehors de la saison de reproduction. Chez les mâles, la deslorelin peut transitoirement stimuler la production de testostérone en dehors de la saison de reproduction. Le traitement chez le mâle doit débiter deux mois avant la saison de reproduction pour prévenir l'initiation de la spermatogenèse. Il semblerait que la suppression de la production de sperme est plus facile à obtenir lorsqu'elle n'a pas encore débuté.

- **Effets secondaires**

En général, les effets sur le poids des animaux sont identiques à ceux d'une ovariectomie ou d'une castration. Les premières observations ont montré un gain de poids, en particulier chez les femelles. Les mâles ont tendance à perdre de la masse musculaire et à moins que celle-ci soit remplacée par du gras, à perdre du poids. (55).

Les agonistes de la GnRH ne devront pas être administrés pendant la gestation, pouvant provoquer un avortement.

Leur utilisation sur des individus non matures peut empêcher la fermeture des cartilages de croissance épiphysaires des os longs, les animaux seront alors plus grands.

- **Utilisation de la deslorelin chez le loup**

H.J Bertschinger et ses collaborateurs ont étudié l'utilisation de la deslorelin, sur les divers carnivores sauvages en Afrique de Sud et aux États-Unis dont le loup gris (*Canis lupus*) et le loup rouge (*Canis rufus*).

Les mâles ont reçu chacun un implant de 6 mg de deslorelin en décembre, sur sept loups rouges et cinq loups gris, le traitement s'est révélé inefficace pour contrôler le comportement sexuel et la spermatogenèse lors de la saison de reproduction suivante. Quinze mois plus tard quatre des cinq loups gris ont montré une production de sperme normale, et le cinquième bien qu'il soit en bonne santé fut azospermique. Commencé trop tard, le traitement a été inefficace, la spermatogenèse débutant dès décembre.

Sur dix femelles traitées début décembre avec 6 mg de deslorelin, toutes ont présenté un oestrus immédiatement après la mise en place de l'implant, ont été réceptives et se sont accouplées 6-8 semaines avant la saison normale de reproduction. Deux femelles ont été gestantes, une a avorté après 30 jours de gestation, l'autre a mis bas mais a perdu sa portée par manque de soins maternels. Aucune des femelles n'a ensuite présenté d'oestrus pendant la saison de reproduction (7).

Remarque : Utilisation d'agonistes de la GnRH sous forme injectable, l'acétate de leuprolide (Lupron®).

L'acétate de leuprolide est une formulation injectable qui agit de la même manière que la deslorelin. A l'origine il était utilisé dans le cadre de traitement contre le cancer de la prostate, le produit est cher.

La latence d'efficacité est identique à celle de la deslorelin, trois semaines chez les femelles, et deux mois ou plus chez les mâles.

L'oestrus et l'ovulation induits peuvent être évités de la même manière, par un traitement à base de progestatifs. Le Lupron® peut être administré lorsque l'animal a reçu une injection de progestatifs, il n'existe pas d'interférence. Le Lupron® est disponible sous

différentes formulations avec une durée d'efficacité allant d'un mois à six mois, la durée d'efficacité varie considérablement selon les individus.

### **(3) Où obtenir ces produits ?**

Devant le succès de l'élevage en captivité, l'association des zoos américains (AZA) a fondé un groupe de recherche sur les méthodes de contraception applicables aux animaux exotiques vivant en captivité. Ce groupe de recherche nommé *AZA Wildlife Contraception Center Research Program* conseille les zoos et les aide à choisir les méthodes de contraception appropriées et adaptées à chaque espèce.

Ce programme a élaboré des recommandations d'utilisation des différentes méthodes pour chaque grande famille d'animaux sauvages. Il fournit les produits aux institutions zoologiques, parfois par l'intermédiaire d'un laboratoire et en contre partie l'utilisateur fournit un rapport annuel sur les observations réalisées suite à l'utilisation de ces molécules. Ce programme permet d'accumuler des données et d'améliorer les connaissances sur l'utilisation des méthodes contraceptives sur les animaux sauvages.

Les implants d'acétate de mélangestrol peuvent être obtenus auprès du laboratoire Zoopharm. Chaque prescription doit être accompagnée d'un protocole d'utilisation et d'une autorisation délivrée par l'*AZA Wildlife Contraception Center*. Pour obtenir cette autorisation il faut remplir un formulaire (Cf. Annexe 4) et l'adresser à Sally Boutelle.

Les implants de deslorelin ainsi que la solution injectable d'acétate de leuprolide peuvent être retirés directement auprès de l'*AZA Wildlife Contraception Center* en leur remettant une demande d'agrément.

Les implants MGA® coûtent entre 180 et 240 dollars et les implants de deslorelin, de 25 à 50 dollars selon les modèles (55).

Ces implants n'étant pas encore commercialisés en Europe, une autorisation de l'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) est nécessaire pour les importer.

Remarque : Il est possible également d'importer ces produits sans passer par l'intermédiaire de l'AZA, de pays où les implants sont commercialisés. Par exemple des implants d'agonistes de la GnRH sont commercialisés pour leur utilisation chez la chienne en Australie et en Nouvelle Zélande par le laboratoire Peptech.

## **B. Critères à prendre en compte pour choisir une méthode contraceptive appropriée**

De nombreux paramètres sont à considérer pour choisir la méthode contraceptive la plus adaptée à la situation à laquelle on est confrontée. Kirkpatrick et Turner ont défini les caractéristiques d'une méthode idéale de contrôle de fertilité sur des animaux sauvages (9) :

- Un haut degré d'efficacité (pour les animaux exotiques au moins 80%).
- Une innocuité pour l'animal et l'administrateur (notamment absence d'effet toxique pour les femelles en gestation).
- Une flexibilité dans la durée d'action (méthode réversible) dans le but de préserver l'intégrité reproductive et génétique des animaux cibles.
- Un coût abordable : la méthode doit être peu onéreuse à préparer et à appliquer.
- Un minimum ou une absence de répercussions sur l'organisation sociale ou le comportement des animaux.
- La méthode devrait pouvoir être administrée à distance sans avoir à capturer ou immobiliser l'animal, de préférence avec une seule application.

Avant de développer certaines de ces caractéristiques, il est nécessaire avant tout de prendre en compte la réglementation en vigueur en France concernant la maîtrise de la reproduction des animaux sauvages maintenus en captivité.

## 1. Réglementation

Avant 2004, les établissements détenant des animaux d'espèces non domestiques étaient soumis à la réglementation définie dans l'arrêté du 21 août 1978 (publié dans le Journal Officiel du 14 octobre 1978). Aucun article de l'arrêté ne faisait référence à l'activité de reproduction et à sa maîtrise, cependant l'article 9 concernant les soins vétérinaires, interdisait l'usage de pratique chirurgicale modifiant le comportement (58).

Depuis 2004, l'arrêté de 1978 a été abrogé par un nouvel arrêté, l'arrêté du 25 mars 2004 (publié dans le journal officiel du 1 avril 2004) fixant les règles générales de fonctionnement et les caractéristiques générales des installations des établissements zoologiques à caractère fixe et permanent. L'article 18 du chapitre 3 concernant les conduites d'élevages des animaux s'intéresse directement aux activités de reproduction (58):

"Les activités de reproduction ne peuvent être entreprises que si les responsables de l'établissement ont l'assurance que les animaux issus de ces activités seront élevés dans des lieux et des conditions qui respectent la réglementation relative à la protection de la nature. A défaut, ces activités sont limitées par des moyens appropriés qui préservent l'intégrité physique des animaux chaque fois qu'il est possible d'utiliser de telles méthodes".

Cet article préconise la réalisation d'un contrôle de la reproduction afin de maintenir des conditions de vie adéquates et l'utilisation de méthodes qui respectent, dans la mesure du possible, l'intégrité physique des animaux. Les méthodes réversibles (médicales: implants, injections, vaccins ou chirurgicales réversibles) sont donc à préférer aux méthodes chirurgicales non réversibles (castration, vasectomie et ligature des trompes). La réglementation n'interdit l'utilisation d'aucune méthode de maîtrise de la reproduction, s'il n'est pas possible d'utiliser des méthodes réversibles, on a donc la possibilité de mettre en place des méthodes chirurgicales définitives. La seule obligation est de mettre en oeuvre les moyens nécessaires pour éviter une surpopulation.

## **2. Réversibilité de la méthode**

Dans la plupart des situations, on peut penser que le choix d'une méthode définitive est le plus adapté, ces méthodes sont les plus simples à mettre en œuvre ne nécessitant qu'une seule intervention et la surpopulation dans les parcs semble être un problème durable. Cependant les circonstances peuvent changer, et le choix d'une méthode réversible est alors nécessaire. Si la mortalité venait à augmenter brutalement suite à une maladie, les groupes d'animaux n'auront plus la possibilité de se renouveler si tous les animaux sont stérilisés. Choisir une méthode temporaire permet de conserver l'intégrité de la fonction reproductive, et permet de supprimer l'activité de reproduction pendant un temps souhaité et ré-initier cette activité lorsqu'on le désire.

D'autre part, les parcs zoologiques, bien qu'ils ne puissent pas se permettre d'avoir des portées de louveteaux chaque année, souhaitent avoir régulièrement des naissances, d'une part pour renouveler leur cheptel et d'autre part pour le public, la présence de petits attirant les visiteurs.

Il faut alors s'assurer du temps de réversibilité de la méthode choisie, les méthodes temporaires dont le temps de réversion est le plus prédictible sont les traitements administrés par voie orale (dès l'arrêt du traitement) ou les implants d'acétate de mélangestrol (dès le retrait de l'implant, le taux d'hormones chute en dessous de son niveau d'efficacité). Les injections retardes et les implants de deslorelin ont un temps de réversion plus variable. De plus, les implants de deslorelin sont difficiles à retirer du fait de leurs petites tailles et de leurs biodégradabilités.

## **3. Modification du comportement de reproduction**

La contraception a un impact non seulement sur l'individu qui reçoit le traitement mais aussi sur le groupe social dans lequel il vit. La majorité des méthodes contraceptives utilisées chez les femelles en supprimant totalement l'apparition des chaleurs supprime le comportement de reproduction. Les méthodes utilisées chez le mâle qui suppriment la sécrétion de testostérone (hormone responsable du marquage urinaire, de l'intérêt vis-à-vis

des femelles et de la défense du territoire) entraînent également une modification du comportement et perturbent peut être chez le loup les relations de dominance.

L'influence de cette suppression sur le comportement des loups mérite d'être étudiée attentivement. Chez les loups, la période de reproduction est la base du développement des liens sociaux, et même en est la base. Les méthodes qui suppriment l'ovulation et l'oestrus peuvent empêcher la formation du couple, et même provoquer la dissolution de la meute.

De plus l'influence de l'absence de louveteaux au sein de la meute doit être considérée. Les louveteaux, en particulier chez les loups en captivité, apportent un enrichissement du milieu.

Au Parc Alpha, le seul enclos où les loups se reproduisent ne bénéficie pas d'un enrichissement artificiel alors que dans les autres enclos où des comportements de stéréotypies sont apparus, un enrichissement est effectué chaque jour par les soigneurs (pistes olfactives et petites proies cachées).

Cependant, il a été observé à court terme que certains couples de loups où le mâle était vasectomisé, restaient liés malgré tout (5). La présence de louveteaux n'est peut être pas indispensable au maintien de leurs liens.

Les méthodes qui ne suppriment pas le comportement de reproduction sont la vasectomie et ligature des trompes ainsi que l'immunisation contre les protéines de la zone pellucide. Bien qu'il ait été noté que chez certaines espèces, les progestagènes parfois ne suffisent pas à supprimer totalement la croissance des follicules et l'oestrus, chez le loup les progestagènes sont administrés avant que la croissance des follicules ne débute et le comportement d'oestrus n'est jamais conservé. Enfin les agonistes de la GnRH induisent les mêmes effets qu'une gonadoectomie.



#### **4. Administration du traitement**

La voie d'administration du traitement est un critère très important dans le choix de la méthode contraceptive. Tout système de délivrance de drogue ne permettant pas de garantir l'administration de la dose complète ne devra pas être utilisé.

Les traitements par voie orale peuvent être difficile à administrer efficacement, individuellement ou à un groupe d'animaux. Pour les administrer, on peut envisager de mélanger le traitement à la nourriture, cependant le goût et l'aspect de l'aliment peuvent être altérés et les animaux peuvent alors consommer moins de nourriture que ce qui était attendu et ne pas ingérer la dose requise. Lorsque le traitement est mélangé à l'aliment pour un groupe, la concentration du traitement n'est pas forcément la même dans toute la ration, et même si elle l'est les animaux qui occupent un rang social bas, peuvent ne pas consommer la dose requise chaque jour. Pour un traitement contraceptif on ne peut pas se permettre d'augmenter les doses, les effets secondaires n'étant pas négligeables et étant souvent dose-dépendants. D'autre part tous les individus de la meute vont subir le traitement, les femelles mais aussi les mâles et les individus non matures or il est déconseillé de leur administrer un tel traitement.

Au Parc Alpha, le seul traitement oral que les loups reçoivent régulièrement est la vermifugation. Comme tous les loups sont concernés, le vermifuge est répandu sur la viande.

Chez les animaux sauvages, les traitements par voie injectable sont administrés par voie intra musculaire à l'aide d'un fusil hypodermique ou d'une sarbacane. Il faudra donc s'assurer que le volume nécessaire ne soit pas trop important pour la fléchette. Le nombre d'injections doit être limité pour ne pas perturber les animaux.

## **C. Application à la meute du Parc Alpha**

### **1. Présentation du Parc Alpha**

Le Parc Alpha a été créé en juin 2005 au cœur du parc national du Mercantour. Ce parc n'est pas un parc zoologique traditionnel, il a été créé pour être un lieu de débat sur la présence du prédateur au sein même du parc national. Alors que le loup avait disparu de France en 1930 après une extermination systématique, le loup est revenu en 1992 naturellement en France dans le parc du Mercantour en provenance de la région Ligure en Italie. Désormais une cinquantaine de loups, répartis en 4 meutes, chassent dans le parc national du Mercantour et sa périphérie.

Au cours de la visite du parc, la cohabitation de l'homme et du loup est présentée comme un fait acquis et inévitable, et ce sont les avantages et les inconvénients de cette cohabitation qui sont abordés. Tous les points de vue sont présentés, à travers un spectacle audiovisuel qui présente l'expérience de quatre personnages fictifs, deux bergers de génération différente, un ethnologue et un garde louvetier. Le ton se veut le plus neutre possible afin que les visiteurs, suite à leur visite repartent avec leur propre point de vue sur les problèmes liés au retour du loup (54).

Sur un site clôturé d'une dizaine d'hectares les visiteurs peuvent observer trois meutes vivant en semi-liberté. Le site est resté le plus naturel possible et les loups ne sont visibles du public qu'à travers des points d'observation, des affûts qui se veulent le plus discret possible. Tous les loups présents sont nés en captivité et proviennent de République Tchèque, de Lettonie, du Danemark et d'Italie.

#### **a) Présentation des meutes**

La première meute, nommée la meute du « Boréon », est composée de deux sœurs issues de portées différentes, arrivées le 30 juin 2005. Elles sont de la sous-espèce italienne (*Canis lupus italicus*), sous espèce présente à l'état sauvage dans le Parc du Mercantour. Un mâle de la même sous-espèce les a rejointes en octobre 2007.

La deuxième meute, la meute des « Erps » n'est plus composée que de deux loups gris européens, un mâle et une femelle qui n'ont jamais manifesté jusqu'à aujourd'hui de comportement reproducteur. Ils étaient à l'origine trois, une des femelles en juin 2006 est morte à la suite d'une morsure de vipère.

Enfin, la troisième meute la meute du « Pélago » composée de huit loups (4 mâles et 4 femelles) possède une hiérarchie très structurée. A sa tête on retrouve le couple alpha, Discrète et Thor, suivent ensuite Showset et Attila, deux mâles subordonnés au couple alpha, mais haut placés dans la hiérarchie. Attila tente régulièrement de prendre la place du loup dominant. Jumelle, une femelle est proche de Thor et Attila mais reste un peu en retrait des autres. Enfin Marquise et Karkulka, deux femelles et Shadow un mâle, sont constamment soumis aux autres loups, ce sont les loups omégas. Après trois années de reproduction, la meute a donné naissance à 16 louveteaux issus de 3 portées. Fin 2007, la meute du Pélago était composée de 24 individus.

### **b) Bilan de reproduction de la meute du Pélago**

Discrète est la seule femelle à avoir mis au monde des louveteaux.

En 2005 et 2006 aucune étude sur le comportement de reproduction n'a été réalisée, les seules informations connues sont des observations ponctuelles des soigneurs.

#### **Suivi de reproduction de l'année 2005 :**

Trois femelles sur quatre (Discrète, Marquise et Jumelle) ont présenté un comportement de chaleurs entre mi février et début mars.

Des accouplements ont été observés le 3 et 4 mars, Jumelle et Discrète ont été observées s'accouplant.

Le 17 avril du sang en quantité importante a été observé, dessinant sur la neige un trajet sinusoïdal, des prélèvements ont été alors réalisés. Les résultats des analyses ont montrés qu'il ne s'agissait pas de sang en nature, le nombre de leucocytes n'étant pas assez important. La présence de cellules épithéliales et d'une flore bacillaire importante oriente le résultat en

faveur de débris de lochies. Cependant il ne s'agit que d'une suspicion d'avortement et rien ne permet de le confirmer.

Discrète a mis au monde cinq louveteaux le 9 mai 2005.

### **Suivi de reproduction de l'année 2006 :**

Deux louvardes, âgées d'environ 10 mois, ont présentées des signes de chaleurs. Des traces de sang ont été observées à partir du 23 janvier.

Thor et Discrète ont essayé de s'accoupler à plusieurs reprises sans réussite le 22 février.

Un accouplement entre Discrète et Attila accompagné d'un lien copulatoire a été observé le 26 février.

De la même façon que l'année précédente une abondante trace de sang a été observée début avril, l'analyse des prélèvements a montré les mêmes caractéristiques microscopiques que les précédentes analyses, un avortement est également soupçonné.

Discrète a donné naissance à sept louveteaux (quatre mâles et trois femelles) le 28 avril 2006. On ne sait pas avec certitude qui est le père des louveteaux, Discrète a été vue aussi bien avec Attila qu'avec Thor.

### **Suivi de reproduction de l'année 2007 :**

- Interactions sexuelles :

Des interactions sexuelles ont été observées principalement chez cinq loups de la meute. Discrète dès début février a attiré l'attention des mâles et en particulier de Showset et Attila. La majorité du temps Attila et Showset la suivaient de très près lors de ses déplacements au sein de l'enclos, ils repoussaient les autres mâles qui tentaient de s'approcher d'elle. Thor semblait en retrait par rapport à ces deux loups. Du début à la fin du mois de février, Attila et Showset ont tenté de monter Discrète sans succès, la plupart du temps ils étaient repoussés par Discrète elle-même ou parfois Thor intervenait. Discrète a commencé à solliciter Thor dès le 11 février, il est resté assez indifférent, du moins au début.

Alias (louve issue de la portée de 2005) est la seule femelle, autre que la femelle dominante, à avoir exprimé un comportement d'oestrus. Attila a été observé à plusieurs reprises léchant les parties génitales d'Alias. Elle a sollicité plusieurs fois Thor qui est resté

indifférent. Elle a ensuite sollicité Showset, et ils se sont accouplés le 5 mars, Thor et Discrète ont essayé de les séparer sans succès, le 6 mars ils ont tenté de s'accoupler à nouveau mais Thor les a séparés.

- Accouplements observés :

Discrète et Thor se sont accouplés le 25, 27 et 28 février.

Showset et Alias se sont accouplés une seule fois le 5 mars.

Pour résumer, seules deux femelles ont présenté un comportement d'oestrus, les deux loups dominants mâle et femelle sont restés relativement indifférents aux sollicitations des autres loups, et ont essayé, parfois sans succès, d'empêcher les autres accouplements.

Discrète a donné naissance à 4 louveteaux (2 mâles et 2 femelles) le 9 mai 2007.

Toutes ces informations ne proviennent que d'observations ponctuelles, elles permettent juste de se faire une idée de ce qui se passe au sein de la meute pendant la saison de reproduction. Elles ne permettent pas de réaliser un bilan complet de la reproduction, des événements importants ont pu être ignorés.

Il est très difficile de réaliser un vrai suivi de reproduction d'une meute vivant en semi liberté telle que la meute du Pélago. Afin de réaliser un suivi de reproduction complet, il faudrait pouvoir observer 24 heures sur 24 la meute au complet pendant toute la saison de reproduction, pour ne passer à côté d'aucun événement important. Au parc alpha il n'est pas possible de mettre en place une telle étude, tous les recoins de l'enclos n'étant pas visible de l'extérieur ou des caméras.

Un suivi hormonal nous donnerait également des informations sur le statut reproducteur des différents loups de la meute, notamment pour les femelles. Ce suivi ne peut pas être réalisé par des analyses sanguines car chaque prise de sang nécessiterait une anesthésie. Il existe une méthode non invasive qui consiste à doser les hormones sexuelles dans les fèces par méthode immunologique ou par HPLC (chromatographie liquide haute performance) (23 et 10). Mais pour savoir à qui appartiennent les fèces récoltées, il est nécessaire soit d'utiliser des colorants alimentaires, on est alors confronté aux problèmes de

leur donner individuellement de la nourriture, soit on est contraint de les observer attentivement (52).

## **2. Utilisation pratique des différentes méthodes envisagées sur la meute du Pélago**

### **a) Quels individus traiter ?**

Il n'existe pas d'étude actuellement sur l'effet de la stérilisation sur le statut hiérarchique. Mais étant donné que le statut reproducteur chez le loup est intimement lié à son statut social on ne peut que supposer qu'un animal stérilisé n'occupera plus sa position de dominant. Les méthodes de maîtrise de la reproduction n'épargnant pas l'excrétion des hormones stéroïdiennes doivent donc être appliquées dans la mesure du possible à l'ensemble des loups du même genre si l'on veut que la contraception soit efficace. Si l'on traite par exemple seulement la femelle dominante, une femelle subordonnée pourra prendre sa place et se reproduire. De la même façon un mâle stérilisé ne pourra faire face à la compétition et perdra sa place de dominant, les mâles traités seront plus vulnérables vis à vis des autres mâles et ne pourront faire face à la compétition pour accéder aux femelles.

### **b) Méthodes définitives**

#### **(1) Moment de l'intervention**

- **Gonadectomie :**

Chez la louve qui présente un seul cycle par an, la croissance est quasi terminée avant l'apparition du premier œstrus. Par ailleurs, les louves ont la possibilité de se reproduire dès l'âge de 10 mois s'il n'y a pas de contraintes sociales. Au Parc Alpha deux femelles de moins d'un an ont présenté des chaleurs. Afin d'éviter une gestation, l'opération peut être réalisée à

la fin de l'automne ou au début de l'hiver dès l'âge des sept-huit mois, avant la période de reproduction.

- **Vasectomie ou ligature des trompes :**

Les sécrétions hormonales n'étant pas modifiées par ces interventions, la croissance n'influe sur le choix du moment d'intervention. Dans tous les cas, il est préférable d'intervenir hors de la saison de reproduction d'une part pour éviter une reproduction non désirée et d'autre part pour faciliter l'intervention (les organes étant moins irrigués). Les spermatozoïdes persistent deux mois après l'intervention, il est donc important d'intervenir avant le début de la spermatogenèse.

## (2) Réalisation

- Les techniques opératoires sont identiques à celles utilisées chez le chien et la chienne. Le parc alpha possède une salle réservée aux soins vétérinaires proche des enclos, où les opérations chirurgicales peuvent se dérouler dans de bonnes conditions.

- Anesthésie :

Dans la littérature, divers protocoles sont utilisés (Cf annexe 2).

Au Parc Alpha ainsi qu'au Parc de sainte Lucie (12) l'association tilétamine/zolazépam (Zolétil®) est utilisée lors des interventions courantes.

## (3) Avantages

La stérilisation permanente est dans la plupart des cas l'approche la plus efficace, qui nécessite une seule manipulation. Cette technique entraîne très peu d'effets secondaires, un gain de poids, et très rarement de l'incontinence.

#### **(4) Inconvénients**

Il s'agit d'une opération chirurgicale, elle s'accompagne donc de risques anesthésiques et per-opératoires.

La stérilisation entraîne enfin la disparition du comportement de reproduction au sein de la meute, ce qui n'est pas sans conséquence.

#### **(5) Bilan**

La gonadoectomie requiert que tous les animaux du même genre soient opérés pour être efficace, cette méthode est très rarement envisagée du fait de la perte définitif du potentiel reproducteur, et de la disparition du comportement de reproduction.

La ligature des trompes ou la vasectomie présente au moins l'avantage de conserver les caractères sexuels. En général, la vasectomie est préférée à la ligature des trompes pour la facilité de l'intervention.

Les hormones reproductrices étant toujours sécrétées et en particulier la testostérone chez le mâle, intervenir sur le mâle dominant semblerait suffisant. Dans un parc zoologique, où ce moyen de maîtrise de la reproduction a été choisi, seul le mâle dominant a subi une vasectomie, et l'année suivante deux femelles ont mis bas. Au parc Alpha dans une meute où la hiérarchie semble bien établie et stable, d'autres mâles autres que le mâle alpha ont été vu s'accoupler avec la femelle dominante. Bien qu'il ne soit pas nécessaire de vasectomiser tous les mâles, il peut être intéressant d'observer la hiérarchie de la meute, afin d'éviter d'opérer les mâles les plus subordonnés. Dans la meute du Pélago, compte tenu des observations, Thor, Attila et Showset devraient subir l'opération.

La vasectomie est la méthode la plus utilisée dans les parcs zoologiques pour maîtriser la reproduction du loup, et en principe tous les mâles sont traités pour être certain de l'efficacité de la méthode.

La vasectomie reste cependant à ce jour une méthode irréversible.

#### Remarque vasectomie réversible :

Cette technique a été utilisée récemment chez les rongeurs de laboratoire et l'homme avec beaucoup de succès (90% de taux de succès sur plus de 4000 cas : Silber et Grotjan



2004) mais elle a été testée sur très peu d'espèces exotiques, elle est encore considérée comme expérimentale. Cette technique permet de retrouver une fécondité par une simple vasovasostomie (55).

### **c) Méthode temporaire**

#### **(1) Contraceptifs administrés par voie orale**

##### **(a) Molécules utilisables et protocoles d'utilisations :**

Les molécules utilisées chez la chienne peuvent être utilisées chez la louve :

- La Mibolérone (androgène) peut être utilisée, à raison d'une administration journalière pendant 30 jours au moins, un mois avant la date présumée du prochain oestrus.
- L'acétate de mégestrol, doit être administré à la dose de 0.55 mg/kg (*l'AZA wildlife contraception center research program* recommande la dose de 1mg/kg chez les canidés) par jour pendant 32 jours, deux semaines avant la date présumée des chaleurs.

On suppose que pour ces deux molécules l'oestrus est reporté jusqu'à la saison de reproduction suivante, il n'existe pas d'étude sur l'utilisation de ces molécules chez le loup.

- Enfin l'acétate de médroxyprogestérone doit être administré quotidiennement à la posologie de 0.5 mg/kg, 5 à 10 jours avant l'oestrus présumé. L'oestrus est reporté de 2 à 16 semaines chez la chienne après la fin du traitement. Il sera donc nécessaire de l'administrer à la louve pendant toute la saison de reproduction.

##### **(b) Avantages**

La contraception orale est une méthode efficace qui ne nécessite pas d'anesthésie pour être mise en place, facilement et rapidement réversible, et qui présente moins d'effets

secondaires que les autres voies d'administration. Les comprimés sont facilement disponibles puisqu'ils sont utilisés couramment chez le chien domestique.

### **(c) Inconvénients**

Le principal inconvénient (et pas des moindres) réside dans la difficulté à faire prendre quotidiennement un comprimé à chaque femelle fertile. Les échecs de cette méthode sont d'ailleurs dus en grande partie à des défauts de prise du traitement. Il semble très difficile d'administrer un traitement par voie orale individuellement sur des loups maintenus en semi-liberté, l'enclos étant grand, et les loups ayant peu l'habitude de l'homme.

L'unique façon de traiter individuellement un loup est d'essayer d'attirer son attention à travers le grillage et de lui lancer un appât qui contient le comprimé. Cette façon de procéder requiert un travail énorme de la part des soigneurs, l'administration est au minimum de trente jours, et il suffit qu'une louve soit très craintive pour que cela pose encore plus de difficultés.

Un autre inconvénient est l'apparition d'effets secondaires néfastes tels que l'hyperplasie glandulo-kystique, le pyomètre, les tumeurs mammaires et le diabète sucré. Ils ne devront pas être administrés plus de deux années consécutives pour éviter un effet d'accumulation des doses.

### **(d) Bilan**

L'administration par voie orale d'un contraceptif à des loups vivant en semi-liberté est très compliquée à mettre en place et demande une grande implication des soigneurs. Cette méthode me semble trop difficile à utiliser en pratique pour être retenue. Un seul échec dans l'administration quotidienne du traitement peut compromettre l'efficacité du traitement.

Cependant si une molécule devait être utilisée, il est préférable d'utiliser l'acétate de mégésterol. L'utilisation de la mibolérone n'est pas conseillée chez les animaux sauvages car elle pourrait augmenter l'agressivité et l'acétate de médroxyprogestérone requiert une administration plus longue.

## **(2) Contraceptifs hormonaux utilisés par voie injectable**

### **(a) Molécules utilisables et protocole d'utilisation**

Les molécules disponibles sont parmi les progestatifs, l'acétate de delmadinone, l'acétate de médroxyprogestérone et la proligestone, et parmi les agonistes de la GnRH, l'acétate de leuprolide.

- L'acétate de delmadinone nécessite une seule injection en intramusculaire ou en sous-cutané au moins un mois avant la date présumée du pro-oestrus à la posologie de 2 à 2.5 mg/kg, les chaleurs réapparaissent chez la chienne 3 à 7 mois après.

- L'acétate de médroxyprogestérone, à raison d'une injection en intramusculaire ou en sous-cutané (2 à 5 mg/kg) deux à quatre semaines avant le pro-oestrus. L'injection est efficace 6 mois chez la chienne.

- La proligestone, avec une injection de 10 à 30 mg/kg en sous cutané pendant l'anoestrus. L'injection doit être renouvelée trois mois après, quatre mois après, puis tous les cinq mois chez la chienne.

Pour ces molécules, nous n'avons aucune donnée sur leur utilisation chez le loup, on peut supposer compte tenu des résultats obtenus chez la chienne qu'une injection est efficace jusqu'à la prochaine saison de reproduction. L'*AZA Contraception Center* recommande de renouveler l'injection d'acétate de médroxyprogestérone tous les deux mois chez les espèces à reproduction saisonnière mais ne précise pas si c'est également le cas pour les espèces monoestrales.

- L'acétate de leuprolide (Lupron®) doit être injecté en intramusculaire pendant l'anoestrus un mois avant le début du pro-oestrus, l'injection est alors normalement efficace pendant six mois mais la durée d'efficacité est malheureusement très variable en fonction des individus. Comme tous les agonistes de la GnRH, il induit un oestrus qui peut être supprimé par un traitement progestatif adéquat. Soit par un traitement oral administré quotidiennement sept jours avant et huit jours après l'injection, soit par une injection de médroxyprogestérone

réalisée au moins deux semaines avant. Si la louve possède déjà un implant d'acétate de mélangestrol, il devra être retiré trois semaines après l'injection d'acétate de leuprolide. Si on n'intervient pas pour éviter l'apparition de l'oestrus induit, les louves pourront s'accoupler et les louves éventuellement gestantes avorteront après quarante jours de gestation sous l'effet de l'acétate de leuprolide.

### **(b) Avantages**

La contraception injectable présente l'avantage d'un effet prolongé, d'une mise en place pratique sans nécessiter d'anesthésie. L'injection peut être réalisée à distance par téléinjection à l'aide d'un fusil hypodermique. Le Lupron® a l'avantage de ne pas présenter les effets secondaires inhérents à l'utilisation de progestatifs. Les produits sont faciles à se procurer, les progestatifs sont commercialisés en France pour leur utilisation sur le chien, on peut se procurer l'acétate de leuprolide auprès de l'*AZA Contraception Center*.

### **(c) Inconvénients**

L'inconvénient d'opter pour cette voie de contraception est le défaut d'information de son utilisation sur des espèces à mono-oestrus et à reproduction saisonnière. On ne possède aucune donnée sur les intervalles d'injections à respecter. Mais si l'on se fie à ce que l'on observe chez la chienne, on peut tenter de réaliser la première année quelle que soit la molécule choisie une seule injection, qui a priori devrait suffire, tout en contrôlant pendant la saison de reproduction l'apparition éventuelle d'un oestrus accompagné ou non d'accouplement. En fonction des observations on peut entreprendre alors un traitement pour interrompre la gestation et adapter le traitement contraceptif l'année suivante en multipliant les injections si une ne suffit pas.

D'après le laboratoire qui commercialise la proligestone en France il n'existe pas de contre-indication à son utilisation par voie intramusculaire, seule la durée d'efficacité pourrait être réduite du fait d'une résorption moins longue.

De la même façon que par voie orale il n'est pas conseillé d'utiliser les progestatifs plus de deux années consécutives.

#### **(d) Bilan**

L'acétate de médroxyprogestérone est le contraceptif le plus utilisé sur les animaux sauvages en captivité, il peut être utilisé sur les louves en tentant une seule injection la première année.

La proligestone peut également être utilisée, elle présente l'avantage de présenter moins d'effets secondaires, en revanche sa durée d'efficacité est plus incertaine.

L'acétate de leuprolide semble plus intéressant à utiliser suite à l'utilisation d'un implant d'acétate de médroxyprogestérone mis en place depuis deux ans. On peut difficilement l'utiliser directement car on ne peut toujours pas traiter facilement les louves oralement même si le traitement sur la durée est plus court (15 jours), et réaliser une injection d'acétate de médroxyprogestérone deux semaines auparavant est inintéressant car l'injection du progestatif à lui aussi a priori un pouvoir contraceptif à long terme.

### **(3) Les implants contraceptifs**

#### **(a) Molécules utilisables et protocole d'utilisation**

Deux molécules sont disponibles sous forme d'implants l'acétate de mélengestrol (MGA), un progestatif et la deslorelin (Suprelorin®), un agoniste de la GnRH.

- L'implant d'acétate de mélengestrol doit être mis en place deux mois avant le début de la saison de reproduction. L'implant devra être retiré chirurgicalement au bout de deux ans, même si quelque fois la durée d'efficacité peut être supérieure, jusqu'à 3 à 5 ans.
- Les implants de deslorelin chez les femelles de la même façon doivent être mis en place deux mois avant le début du pro-oestrus, et au moins deux mois avant la saison de reproduction chez le mâle, ils seront alors efficaces alors pendant une saison de reproduction.

Comme tout agoniste, il va induire chez la louve un oestrus même si l'on se trouve en dehors de la saison de reproduction. Cet oestrus pourra être évité en administrant 7 jours avant et 8 jours après de l'acétate de mégestrol ou si un implant de MGA® est déjà en place il devra

être retiré trois semaines après la mise en place de l'implant de deslorelin. Il n'est pas recommandé d'utiliser l'acétate de médroxyprogestérone sous forme injectable pour supprimer l'oestrus induit, il peut interférer avec l'action de la deslorelin. De la même façon que pour l'injection de Lupron®, on peut laisser les louves s'accoupler et avorter ensuite.

#### **(b) Avantages**

L'utilisation d'implants est une méthode contraceptive satisfaisante fournissant une contraception à long terme efficace et réversible. La mise en place des implants nécessite une anesthésie et une capture mais cela requiert une seule intervention pour une contraception efficace au maximum pendant deux ans.

#### **(c) Inconvénients**

L'anesthésie et la chirurgie nécessaires à la pose et au retrait de l'implant font partie des risques spécifiques de cette méthode contraceptive.

Les effets secondaires inhérents à l'utilisation de progestatifs sont toujours présents, il est donc conseillé de ne pas les utiliser plus de quatre années consécutives. Ces effets secondaires en altérant l'utérus peuvent jouer sur la réversibilité du traitement.

#### **(d) Bilan**

Bien que l'utilisation de l'implant de deslorelin soit la méthode recommandée en première intention chez les canidés par l'*AZA Wildlife Contraception Center*, son utilisation est difficile à mettre en pratique chez la louve en captivité. Administrer un traitement par voie orale est quasiment impossible et l'utiliser après un implant de MGA® nécessite deux captures et deux anesthésies à trois semaines d'intervalles. En revanche son utilisation chez le mâle est intéressante, ne nécessitant qu'une intervention par an.

L'implant de MGA® est plus facile à mettre en place chez la femelle, la durée d'efficacité est plus longue mais les effets secondaires ne sont pas négligeables.

#### **d) Interruption médicale de gestation**

L'interruption de gestation peut être utilisée lorsqu'un traitement contraceptif a échoué (perte d'un implant, absence de prise orale, échec d'une seule injection) ou lorsqu'aucun moyen contraceptif n'a été utilisé et que des louveteaux ne sont pas désirés.

Les oestrogènes ne seront pas envisagés, leur utilisation entraîne trop d'effets néfastes sur l'utérus et elle peut provoquer un retour en chaleur après l'injection.

L'utilisation de l'alizine ne pourra être retenue, elle ne peut s'administrer que par voie sous-cutanée stricte, la voie intra-musculaire entraînant des risques de nécrose et une forte douleur lors de l'injection. Il n'est donc pas possible de l'administrer à distance.

Seule l'utilisation des prostaglandines F2 $\alpha$  est envisageable, elles sont utilisables dès trente jours de gestation, trois injections à 48 heures d'intervalles seront nécessaires.

##### **• Avantages**

Ce traitement (PGF2 $\alpha$ ) présente l'avantage d'être très efficace, l'efficacité est de 100%.

Les prostaglandines F2 $\alpha$  sont faciles à obtenir, puisqu'elles sont commercialisées en France pour leur utilisation chez les ruminants.

L'utilisation de l'interruption de gestation permet de ne pas interférer sur le comportement de reproduction de la meute.

##### **• Inconvénients**

Les prostaglandines immédiatement après l'injection déclenchent des effets secondaires tels que des vomissements, du pyalisme, de la diarrhée...etc.

Il est possible de réaliser un diagnostic de gestation à distance uniquement que lorsque la gestation est assez avancée, par l'observation du développement des mamelles, et une augmentation du volume abdominal. Si l'on veut entreprendre un traitement abortif, en étant certain que la louve est pleine, on ne peut le réaliser qu'en fin de gestation, le traitement

sera alors accompagné des mêmes risques liés à la mise bas et le taux d'échecs sera plus important. Les avortements peuvent être alors réalisés arbitrairement, en administrant un traitement abortifs aux femelles que l'on a observées s'accoupler, sans savoir réellement si elles sont gestantes et on aura toujours la possibilité de réitérer le traitement s'il n'a pas été efficace.

- **Bilan**

Seule l'utilisation des prostaglandines F2 $\alpha$  est envisageable, malgré les nombreux effets secondaires associés.

L'interruption de gestation semble être une alternative intéressante, n'entraînant pas de modifications de comportement. Cependant le protocole reste lourd, nécessitant trois injections à 2 jours d'intervalle, il n'est pas toujours évident de flécher des animaux plusieurs jours consécutifs.



## **D. Autres alternatives pour réguler la taille d'une meute**

### **1. Division de la meute**

Cette stratégie mime le plus ce qui se passe à l'état sauvage. En milieu sauvage, lorsque la taille d'une meute est trop importante, les plus jeunes le plus souvent se dispersent pour aller coloniser de nouveaux territoires, il arrive même parfois qu'une meute se divise en plusieurs groupes.

En captivité, l'idéal serait de pouvoir enlever une partie de la meute, par exemple les louvarts (jeunes d'un an) et les déplacer soit dans un nouvel enclos pour former une nouvelle meute soit dans un autre parc.

Mais à l'heure actuelle il est difficile de trouver des parcs qui cherchent à augmenter leurs effectifs, la plupart des institutions étant confrontées au même problème.

### **2. Euthanasie des louveteaux**

Cette méthode pose souvent des problèmes éthiques, mais elle est la solution utilisée en dernier recours pour réguler l'excès d'animaux. Son utilisation est même conseillée par le code éthique de la "World Association of Zoos and Aquariums" (WASA), qui préconise que l'euthanasie doit être préférée aux conditions de vie inadéquates (59). Dans les parcs zoologiques, elle est la méthode la plus souvent utilisée.

Si l'on choisit cette alternative, théoriquement il serait préférable d'euthanasier les animaux à l'âge auquel ils quittent le groupe dans le milieu sauvage c'est-à-dire vers l'âge de un an, un an et demi. Cette méthode permettrait de mimer exactement ce qui se passe en milieu sauvage et de perturber ainsi le moins possible la meute. Cependant il est beaucoup plus traumatisant pour le personnel du parc d'euthanasier des loups qu'ils côtoient depuis plus d'un an, que des louveteaux.

En pratique les louveteaux sont euthanasiés le plus tôt possible, dès qu'il est possible

de les capturer, quand ils sortent de la tanière.

Cette méthode donne la possibilité de laisser un ou deux louveteaux, pour maintenir un enrichissement de l'environnement pour les loups captifs et pour le public.

### **3. Séparation des sexes**

La seule autre méthode proposée pour éviter la reproduction consiste à séparer les mâles et les femelles adultes soit en les gardant dans des groupes unisexes, soit en les séparant pendant la période de reproduction pour les espèces à reproduction saisonnière.

Cette méthode n'est malheureusement pas envisageable pour une espèce aussi sociable que le loup. Une séparation même temporaire de la meute peut créer des troubles très importants au niveau du comportement social et peut désorganiser la hiérarchie de la meute.

De plus pour envisager une telle méthode, le parc doit posséder des enclos supplémentaires pour accueillir une partie de la meute, ce qui est rarement le cas.

## CONCLUSION

L'euthanasie des louveteaux est la méthode la plus utilisée actuellement pour réguler la population des loups captifs en France. Devant ce constat il semble nécessaire d'étudier les méthodes de maîtrise de la reproduction, permettant une alternative à l'utilisation parfois abusive de l'euthanasie.

Le bilan des méthodes de maîtrise de la reproduction disponibles pour le loup nous permet de conclure qu'il n'existe pas aujourd'hui, de méthode idéale rassemblant toutes les caractéristiques définies par Kirkpatrick et Turner (8). Aucune méthode réversible n'entraînant pas d'effets secondaires délétères sur l'organisme, ni de répercussions sur l'organisation sociale, et d'application aisée, n'est disponible.

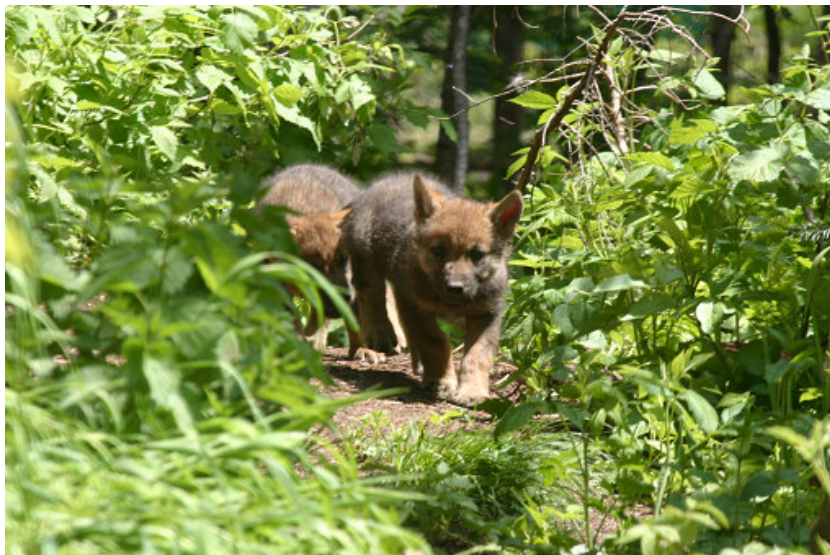
Les procédures chirurgicales du fait de leur innocuité et de la nécessité d'une seule intervention semblent être les méthodes les plus satisfaisantes, et en particulier la vasectomie en n'entraînant pas de modifications du comportement reproducteur. Cependant la réglementation préconise l'utilisation de méthodes réversibles.

Parmi les méthodes temporaires, les méthodes nécessitant une délivrance du traitement par voie orale ne peuvent être retenues devant l'impossibilité de l'administrer efficacement. En ce qui concerne l'utilisation de progestagènes, trois méthodes ne nécessitant qu'une seule intervention semblent convenir, l'injection d'acétate de médroxyprogestérone, l'injection de proligestone et l'implant d'acétate de mélengestrol. Néanmoins les effets secondaires inhérents à l'utilisation de progestagènes limitent le nombre d'utilisations possibles. Concernant l'implant de deslorelin, l'utilisation chez le mâle reste la plus intéressante. L'utilisation des analogues de la GnRH chez la femelle devra être réservée en deuxième intention, suite à l'utilisation d'un traitement à base de progestagènes.

Toutes les méthodes temporaires envisagées entraînent cependant une suppression du comportement de reproduction et sûrement une altération des comportements sociaux au sein de la meute. Néanmoins on ne dispose pas aujourd'hui de données sur la répercussion de l'absence du comportement de reproduction sur l'organisation sociale, des études mériteraient d'être menées à ce sujet.

On peut donc s'interroger, face à l'absence de méthodes temporaires ne modifiant pas le comportement, de la pertinence de l'utilisation de méthodes contraceptives. La suppression de la fonction de reproduction au sein de la meute n'altérerait-elle pas plus le bien être animal, que la pratique de l'euthanasie sur les louveteaux afin de permettre aux adultes de mener une vie normale ?

Si aujourd'hui il n'existe pas de solution idéale, le développement des méthodes immuno-contraceptives ou de la vasectomie réversible laisse entrevoir des alternatives plus satisfaisantes.



Crédit Photo : Parc Alpha

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que  
**Melle Claudie, Marie , Geneviève RASCLE**  
a été admis(e) sur concours en : 2002  
a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 14 Juin 2007  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Jacques DUCOS de LAHITTE, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,  
autorise la soutenance de la thèse de :  
**Melle Claudie, Marie , Geneviève RASCLE**  
intitulée :  
« *Maîtrise de la reproduction du loup en captivité : Application pratique sur une meute du parc alpha (Parc du  
Mercantour) »*

Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Jacques DUCOS de LAHITTE

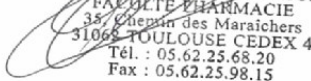


Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Gérard CAMPISTRON

Professeur G. CAMPISTRON  
SERVICE PHYSIOLOGIE-HÉMATOLOGIE  
FACULTE PHARMACIE  
38, Chemin des Maraichers  
31068 TOULOUSE CEDEX 4  
Tél. : 05.62.25.68.20  
Fax : 05.62.25.98.15



Vu le : 18 MARS 2008  
Le Président  
de l'Université Paul Sabatier  
Professeur Jean-François SAUTEREAU





## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**





**1- Asa C.S.**

Physiological and Social Aspects of reproduction of the wolf and their implications for contraception.

In Ecology and conservation of wolves in a changing world.

Ed. Carbyn, Fritts Seip, 1995.

**2- Asa C.S., Seal U.S., Plotka ED, Letellier M.A., Peterson E.K.**

Pinealectomy or superior cervical ganglionectomy do not alter reproduction in the wolf (*Canis lupus*).

Biol Reprod, 1987, 37(1), 14-21.

**3- Asa C.S., Seal U.S., Plotka E.D., Letellier M.A., Mech L.D.**

Effect of anosmia on reproduction in male and female wolves (*Canis lupus*).

Behaviour Neural Biol, 1986, 46(3), 272-84.

**4-Asa C.S., Zaneveld L.J.D., Munson L., D.V.M., Callahan M. and Byers A.P.**

Efficacy, safety and reversibility of a bisdiamine as a male-directed oral contraceptive in gray wolves (*Canis lupus*).

Journal of zoo and wildlife medicine, 1996, Vol 27(4), 501-506.

**5- Asa C.S. and Porton I.J.**

Wildlife contraception.

Issues, Methods, and applications.

Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 2005, 256p.

**6- Allen W. Edward**

Fertility and obstetrics in the dog.

Library of Veterinary Practice.

Blackwell Scientific Publications BSAVA, 1992.

**7- Bertschinger H.J., Asa C.S., Calle P.P., Long J.A., Bauman K., DeMatteo K., Trigg T.E., and Human A.**

Control of reproduction and sex related behaviour in exotic wild carnivores with the GnRH analogue deslorelin: preliminary observations.

Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 2001, 5, 275-283.

**8- Berthelot Xavier**

Cours reproduction des carnivores domestiques. 2ème cycle, 2ème année.

Ecole Vétérinaire de Toulouse, 2004.

**9- Bourry Olivier**

Etude des méthodes de contraception chez le chimpanzé (*Pan troglodytes*), bilan et perspectives au centre de primatologie du CIRMF Gabon.

Thèse Med. Vet., Nantes, 2002, 193p.

**10- Brown J.L, Graham L.H, Wielebnowski N, Swanson W.F, Wildt D.E and Howard G**

Understanding the basic reproductive biology of wild felids y monitoring of faecal steroids

Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 2001, 57, 71-82.

**11- Burke Thomas J.**

Small Animal Reproduction and Infertility, A Clinical Approach to Diagnosis and Treatment. Use of progestins, Androgens for control of reproduction. Saunders, 1986.

**12- Combettes Lemaire Catherine.**

“Les loups du Gevaudan” Structure, Fonctionnement et intérêt du Parc à Loups de Sainte-Lucie (Lozère).  
Thèse Med. Vet, Alfort, 2000, 119 p.

**13- Concannon P. W**

Reproductive endocrinology, contraception, and pregnancy termination in dogs. Section XII—The Reproductive System, Chapter 124, 1625-1635. Textbook of Veterinary Internal Medicine, Fifth Edition, 2004, Saunders.

**14- Derix Ruud R.W.M. and Van Hoof Jan A.R.A.M**

Male and female partner preferences in a captive wolf pack (*Canis lupus*): specificity versus spread of sexual attention. Behaviour, 1995, 132 (1-2).

**15- Ettinger S.J., Feldman E.C.**

Contraception and pregnancy Termination, Volume 2, Chapter 250. Textbook of Veterinary Internal Medicine, Sixth Edition, 2004, Elsevier Saunders, 1669-1675.

**16- Feldman E.C. and Nelson R.W.**

Induced abortion, pregnancy prevention and termination, and mismating, chapter 22. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. Third Edition, 2004, Saunders.

**17- Fox M.V.**

Socio-ecological implications of individual differences in wolf litters: A developmental and evolutionary perspective. Behaviour, 1972, 41, 298-313.

**18- Fuller T.K., Mech L.D. and Cochrane J.F.**

Wolf population dynamics. Wolves : Behavior, Ecology and Conservation. Edited by L.David Mech. and Luigi Boitani. Chicago and London: The university of Chicago press, 2003, 448p.

**19- Gese E.M. and Mech L.D.**

Dispersal of wolves (*Canis lupus*) in northeastern Minnesota, 1969-1989. Can. J. Zool., 1991, 69, 2946-2955.

**20- Goldberg Jacques**

Les sociétés animales: communication, hiérarchie, territoire, sexualité. Edition : Delachaux et Niestlé, 1998, 240p.

- 21- Gonzalez A., Allen A.F.**  
Immunological Approaches to Contraception in Dogs.  
Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 1989, 39.
- 22- Goritz F., Quest M., Hildebrandt Th., Meyer H.H.D., Kolter L., Elger W. and Jewgenow K.**  
Control of reproduction with anti-progestin and oestrogens in captive bears.  
Journal of Reproduction and fertility Supplement, 2001, 57, 249-254.
- 23- Hoffmann U. and Möstl E.**  
Oestrogen concentrations in the faeces of bitches  
Journal of Reproduction and fertility Supplement, 2001, 57, 67-70.
- 24- Kreeger T.J.**  
The Internal Wolf : Physiology, Pathology, and Pharmacology.  
Wolves : Behavior, Ecology and Conservation. Edited by L.David Mech. and Luigi Boitani.  
Chicago and London: The university of Chicago press, 2003, 448p.
- 25- Kreeger T.J., D.V.M., Ph.D., Callahan M., B.S., and Berkel B.S.**  
Use of medetomidine for chemical restraint of captive gray wolves (*Canis lupus*).  
Journal of zoo and wildlife medicine, 1996, Vol 27 Issue 4.
- 26- Landry Jean-Marc**  
Le loup. Biologie, moeurs, mythologie, cohabitation, protection.  
Les sentiers du naturaliste. Edition : Delachaux et Niestlé, 2006, 240p.
- 27- Leblanc Sylvie**  
Maîtrise de la reproduction chez la chienne: état actuel et perspectives.  
Thèse Med. Vet., Toulouse, 1994, 73 p.
- 28- Le frapper Eric**  
Contribution à l'étude de la hiérarchie sociale du loup.  
Thèse Med. Vet., Nantes, 1993,
- 29- Lewis J.**  
Contraceptive guidelines for the tiger EEP.  
<http://www.eep.org/>.
- 30- Mech L.D., Wolf P.C. and Packard J.M.**  
Regurgitative food transfer among wild wolves.  
Can. J. Zool., 1999, 77, 1192-1195.
- 31- Mech L.D. et al.**  
Denning Behaviour of Non-Gravid Wolves.  
Can. Field. Nat., 1995, 110, 343-45.
- 32- Mech L.D.**  
Alpha Status, Dominance, and Division of Labor in Wolf Packs.  
Can. J. Zool., 1999, 77, 1196-1203.

**33- Mech L.D.**

Leadership Behavior in Relation to Dominance and Reproductive Status in Gray Wolves, *Canis lupus*.  
Can. Field. Nat., 2000, 114, 259-63.

**34- Mech L.D. and Boitani L.**

Wolf Social Ecology.  
Wolves : Behavior, Ecology and Conservation. Edited by L.David Mech. and Luigi Boitani.  
Chicago and London: The university of Chicago press, 2003, 448 p.

**35- Mech L.D., Knick S.T.**

Sleeping distance in wolf pairs in relation to the breeding season.  
Behavioral and Neural Biology, 1986, Vol 46, Issue 3, 272-284.

**36- Menaud-Collard Patricia**

Cours chirurgie. 2ème cycle 2ème année.  
Ecole vétérinaire de Toulouse, 2004.

**37- Mimouni Philippe, Dumon Christian**

Vade-Mecum de pathologie de la reproduction chez le chien.  
Edition : Med'com, 2005.

**38- Munson L., Bauman J.E., Asa C.S., Jöchle W. and Trigg T.E.**

Efficacy of GnRH analogue deslorelin for suppression of oestrous in cats.  
Journal of reproduction and Fertility Supplement, 2001, 57, 269-273.

**39- Naggle C.A., Turin E.**

Contraception in bitches by non surgical insertion of an intrauterine device.  
Veterinaria Argentina, 1997, 14, 414-420.

**40- Néault Patrice**

Entre Chien et Loup: Etude Biologique et Comportementale.  
Thèse Med Vet, Toulouse, 2003, 423 p.

**41- Okkens A.C., Koorstia H.S. and Nickel R.F.**

Comparison of long term effects of ovariectomy versus ovariohysterectomy in Bitch  
Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 1997, 51,227-231

**42- Oliviera E.C.S., Moura M.R., Valdemiro A.S.**

Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs  
<http://www.sciencedirect.com/>, 2007.

**43- Packard J.M**

Wolf behaviour: Reproductive, Social and Intelligent.  
Wolves: Behavior, Ecology and Conservation. Edited by L.David Mech. and Luigi Boitani.  
Chicago and London: The university of Chicago press, 2003, 448p.

**44- Pagneux Arnaud**

Comparaison comportementale du loup et du chien.  
Thèse Med. Vet., Lyon, 2002, 312 p.

**45- Rääkkönen J., Bignert A., Mortensen P. and Fernholm B**

Congenital defects in a highly inbred wild wolf population (*Canis Lupus*).  
<http://www.sciencedirect.com/>, 2006.

**46- Sands J., Creel S.**

Social dominance, aggression and faecal glucorticoid levels in a wild population of wolves, *Canis lupus*.  
Department of Ecology, Montana State University  
Animal Behaviour, 2004, 67, 387-396.

**47- Seal U.S., Plotka E.D., Packard J.M. and Mech L.D.**

Endocrines Correlates of Reproduction in the Wolf. I. Serum Progesterone, Estradiol, and LH during the Oestrous Cycle.  
Biology of reproduction, 1979, 21, 1057-1066.

**48- Sobrino R., Arnal M.C., Luco D.F., Gortazar C.**

Prevalence of antibodies against canine distemper virus and canine parvovirus among foxes and wolves from Spain.  
<http://www.sciencedirect.com/> 2007.

**49- Triggs T.E., Wright P.J., Armour A.F., Williamson P.E., Junaidi A., Martin G.B., Doyle A.G., and Walsh J.**

Use of a GnRH analogue implant to produce reversible long term suppression of reproductive function in male and female domestic dogs.  
Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 2001, 57, 263-268

**50- Trinite Karine**

Organisation sociale et comportements du loup.  
Thèse Med. Vet., Alfort, 2002, 68 p.

**51- Volpe P.B., Izzo M., Russo M., and Ianetti L.**

Intrauterine device for contraception in dogs.  
The Veterinary Record, 2001, 149: 77-79.

**52- Walker S.L., Waddell W.T., and Goodrowe K.L.**

Reproductive Endocrine Patterns in Captive Female and Male red Wolves (*Canis Rufus*) Assessed by Fecal and Serum Hormone Analysis.  
Zoo Biology, 2002, 21, 321-335.

**53- Wright P.J., Verstegen J.P., Onclin K., Jöchle W., Armour A.F., Martin G.B. and Triggs T.E.**

Suppression of the oestrous responses of bitches to the GnRH analogue deslorelin by progestin.  
Journal of Reproduction and Fertility Supplement, 2001, 57, 263-268.

**54- Parc Alpha**

<http://www.alpha-loup.com/alpha.php>

**55- AZA Wildlife Contraception Center at the Saint Louis ZOO**

Contraception Recommendations Updated June 2007.

<http://www.stlzoo.org>

**56- Dictionnaire Médicaments Vétérinaires**

et des produits de Santé Animale commercialisés en France.

Les Editions du Point Vétérinaire, 2007, 14ème Edition.

**57- Neutersol® Injectable Solution (Zinc Gluconate Neutralized by Arginine) Chemical Sterilant.**

<http://www.acc-d.org>

**58- Code de l'environnement**

<http://www.legifrance.gouv.fr/>

**59- L'Association mondiale des zoos et des aquariums, ou World Association of Zoos and Aquariums (WAZA)**

<http://www.waza.org>

# **ANNEXES**





**Annexe 1 : Récapitulatif des méthodes classiques utilisées chez la chienne  
pour prévenir l'apparition de l'oestrus et supprimer l'oestrus.**

	Principe actif	Nom déposé	Voie d'administration et posologie	Remarques
Prévention de l'apparition de l'oestrus	Mibolérone	Cheque drops® (Etats-Unis)	Administration per os quotidienne durant 30 jours pendant l'anoestrus.	Retour des chaleurs : 2 à 3 mois
	Acétate de delmadinone	Tardak®	Injection SC ou IM 2 à 2,5mg/kg en fin d'anoestrus	Retour des chaleurs : 3 à 7 mois 99% de réussite
	Acétate de mégestrol	Canipil® Pilucalm® Opochaleurs® Pill'kan®	per os 0.55 mg/kg/j pendant 32 jours en commençant 2 semaines avant l'oestrus présumé	Retour des chaleurs : 4 à 6 mois
	Acétate de médroxyprogestérone	<b>Comprimés :</b> Perlutex® Supprestal® Controlestril®  <b>Suspension injectable :</b> Depo-promone® Gynécalm® Supprestal®	Per os 0.5 mg/kg/j 5-10 jours avant l'oestrus présumé.  Injection SC ou IM 2 à 5 mg/kg 2 à 4 semaines avant l'oestrus présumé.	Retour des chaleurs 2 à 16 semaines après l'arrêt du traitement.  Possibilité de rappel : 5-6 mois après

	Proligestone	Delvostéron®	SC stricte 10 à 30 mg/kg Injection à 3, 4 et 5 mois puis tous les cinq mois.	Efficacité pendant 12 mois après la dernière injection
Suppression de l'oestrus	Acétate de mégestrol	Canipil® Pilucalm® Opochaleurs® Pill'kan®	per os : 2,2mg/kg/j pendant 8 jours, en commençant les trois premiers jours du pro-oestrus.	Eviter tout contact avec un mâle pendant 3 à 8 jours.
	Acétate de médroxyprogestérone	<b>Comprimés :</b> Perlutex® Supprestal® Controlestril®  <b>Suspension injectable :</b> Depo-promone® Gynécalm® Supprestal®	Per os : 2 mg/kg/j 5 jours puis 1 mg/kg/j 5 jours.  Utilisation controversée	Parfois observation d'un effet rebond : réapparition des chaleurs 8 à 15 jours après.
	Proligestone	Delvostéron®	SC stricte 10 à 30 mg/kg pendant les 3 premiers jours du pro-oestrus	Eviter tout contact avec un mâle pendant 5- 7 jours.

## **Annexe 2 : Principaux protocoles anesthésiques utilisés chez le loup (12, 25)**

### **Benzodiazépines seules :**

- Tilétamine/zolazépam (Zoléttil®) : 5-10 mg/kg en intra-musculaire.

### **$\alpha 2$ agonistes seuls :**

- Médétomidine (Domitor®): 0.05mg/kg en IM. L'effet de la médétomidine peut être réversée par l'atipamézole (Antisedan®).

### **Association benzodiazépine et $\alpha 2$ agonistes :**

- 2 mg/kg de xylazine (Rompun®) et 4mg/kg de tilétamine/zolazépam (Zoléttil®) en IM.

Le volume à injecter est faible, la réversion de la xylazine par l'atipamézole est possible même si la tilétamine n'est pas complètement métabolisée.

### **Association $\alpha 2$ agonistes et anesthésiques dissociatifs :**

- 0.06mg/kg de médétomidine (Domitor®) et 4 mg/kg de kétamine (Imalgène®) par voie IM.

Il n'est pas possible de réverser l'effet de l'anesthésie par l'atipamézole tant que la kétamine n'est pas complètement métabolisée. Le volume utilisé est assez important.

- 1.8mL du mélange d'Hellabrun (pour un loup de 40 kg) par voie IM. Ce mélange est obtenu en diluant 1 flacon de xylazine 500mg (Rompun®) dans 4mL de Imalgène 100® (kétamine).

Ce mélange est peu efficace sur les animaux stressés ou excités et des réactions paradoxales peuvent être observées. Une réversion partielle de l'anesthésie est possible par l'atipamézole.

Remarque :

Il existe un antagoniste pour les  $\alpha_2$  agonistes, l'atipamézole (Antisédan®), la dose optimale d'atipamézole est:

- 5 fois la dose de médétomidine employée pour la sédation.
- 1mg d'atipamézole pour 20mg de xylazine.
- il est conseillé d'utiliser 1.5 mL d'atipamézole, pour 1mL du mélange d'Hellabrun employé.

### **Annexe 3 : Parcs animaliers où l'on peut observer des loups**

#### **Principaux parcs à loups en France:**

Le parc des loups du Gévaudan (Lozère) Sainte Lucie  
48100 Saint-Léger-de-Peyre  
Tel : 04 66 32 09 22  
Fax : 04 66 32 83 65

Centre Alpha (Alpes maritimes)  
06450 Le Boréon Saint Martin Vésubie  
Tel : 04 93 02 33 69  
Fax : 04 93 02 05 46

Le parc de Courzieu (Rhone)  
69690 Courzieu France  
Tel : 04 74 70 96 10  
Fax : 04 74 70 86 83

La maison des loups (Ariège)  
09110 Les Forges Orlu  
Tel/fax : 05 61 64 02 66

#### **Parcs zoologiques français (liste non exhaustive) :**

Parc de Sainte Croix,  
Rhodes, Moselle.

Domaine de la Boubansais,  
Pleugueneuc, Ile-et-Vilaine.

Les loups de Chabrières,  
Guéret, Creuse.

Parc zoologique des Abrets,  
Les Abrets, Isère.

La cité des oiseaux,  
Carcassonne, Aude.

Zooland Park,  
La Teste, Gironde.

Zoo de la Barben,  
La Barben, Bouches du Rhône.

Zoo de la Boissière du Doré,  
La Chatagneraie, Loire Atlantique.

Zoo de Jurques,  
Jurques, Calvados.

Parc de Gramat,  
Gramat, Lot.

Parc de l'Auxois,  
Arnay-sous-Vitteaux, Côtes-d'Or.

Refuge de l'Arche,  
Château-Gontier, Mayenne.

Domaine de Ménez-Meur,  
Hanvec, Finistère.

Parc du Cezallier,  
Ardes-sur-Couze, Puy-de-Dôme.

Parc Animalier des Pyrénées,  
Argelès-Gazost, Hautes-Pyrénées.

Zoo de Mulhouse,  
Mulhouse, Haut-Rhin.

Zoo de la Flèche,  
La Flèche, Sarthe.

Parc de Thoiry,  
Thoiry-en -Yvelines, Yvelines.

Natur'Zoo de Mervent,  
Mervent, Vendée.

Parc du Reynou,  
Limoges-Le Vigen, Haute-Vienne.

Château du Colombier,  
Salles la Source, Aveyron.

Parc zoologique de Lisieux,  
Lisieux, Calvados.

Zoo de La Palmyre,  
Les Mathes, Charente-Maritime.

African Safari, Parc Zoologique,  
Plaisance du Touch, Haute-Garonne.

Parc du Lunaret,  
Montpellier, Hérault.

Parc de la Haute Touche,  
Obterre, Indre.

Parc Zoologique de Saint Martin  
Saint Martin la Plaine, Loire.

Planète sauvage,  
Port saint-Père, Loire-atlantique.

Parc du Pont-Scorff,  
Kerruisseau, Morbihan.

Zoo d'Amnéville,  
Amnéville, Moselle.

Parc Zoologique du Bouy,  
Ambert, Puy-de Dôme.

Parc Animalier des Angles,  
Les Angles, Pyrénées-Orientales.

Domaine Zoologique de Pescheray,  
Le Breil-sur-Mérize, Sarthe.

Zoo de Vincennes,  
Paris, XIIe.

Zoodyssée de la forêt de Chizé,  
Villiers-en-Bois, Deux-Sèvres.

La Louverie,  
Le Castellet, Var.

Les Bois de Saint Pierre  
Smarves, Vienne.

Safari de Peaugres,  
Peaugres, Ardèche.

Château de Moidière  
Bondefamille, Isère.

Touroparc,  
Romanèche-Thorins, Saône-et-Loire.

Le Pal,  
Dompierre-sur-Besbre, Allier.

**Annexe 4 : Formulaire permettant la collecte d'informations lors d'utilisation d'implants MGA® (55) :**

INSTITUTION: \_\_\_\_\_ DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

RESPONDENT: \_\_\_\_\_ PHONE/EMAIL \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

=====

**ANIMAL INFORMATION:** (Please circle answers where appropriate.)

GENUS \_\_\_\_\_ SPECIES \_\_\_\_\_ SUBSPECIES \_\_\_\_\_  
COMMON NAME: \_\_\_\_\_

***E.***

ID#: \_\_\_\_\_ NAME: \_\_\_\_\_ STUDBOOK #: \_\_\_\_\_

BIRTHDATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_ SEX: FEMALE / MALE

WEIGHT: \_\_\_\_\_ lb / kg (actual / estimate)

HAS INDIVIDUAL EVER HAD OFFSPRING? Yes / No DATE OF MOST RECENT BIRTH (M/D/Y): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

-----  
=====

**METHOD:** (Please circle answers where appropriate.)

**IMPLANT:** MGA IMPLANT  
BRAND \_\_\_\_\_

IMPLANON  
OTHER: \_\_\_\_\_

**INJECTION:** DEPO-PROVERA

LUPRON  
PZP  
OTHER: \_\_\_\_\_

**ORAL:** BC PILLS-

MGA LIQUID  
OVABAN  
MEGACE

OTHER: \_\_\_\_\_

BIRTH CONTROL START DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_  
(the date when "this" bout/method was started)

MATE ACCESS (with birth control): START DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_ END DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**DOSE:** \_\_\_\_\_ g / mg / µg ROUTE: IM / SQ LOCATION ADMINISTERED:  
\_\_\_\_\_  
-----  
=====

**IF MGA IMPLANT:**

IMPLANT #: \_\_\_\_\_

METHOD OF STERILIZATION: ETHYLENE OXIDE  
OTHER: \_\_\_\_\_

DID IT INCLUDE A MICROCHIP? YES / NO WAS THE IMPLANT SUTURED IN PLACE?  
YES / NO

=====

WAS COPULATION OBSERVED BY STAFF PRIOR TO BIRTH CONTROL? YES / NO

WAS COPULATION OBSERVED BY STAFF DURING BIRTH CONTROL? YES / NO

FOR PRIMATES - SEXUAL SWELLING DURING BIRTH CONTROL: ABSENT / NORMAL /  
REDUCED

PLEASE NOTE ANY BEHAVIORAL OR PHYSICAL CHANGES

OVER → → →

→ → →

Survey - Page 2

Contraception

**CONTRACEPTION TERMINATED:** DATE ENDED (M/D/Y): \_\_\_\_\_ **Animal**  
**ID#** \_\_\_\_\_

IF IMPLANTED (MGA OR IMPLANON), WAS THE IMPLANT(S) PHYSICALLY  
RECOVERED/REMOVED? YES / NO

**REASON FOR TERMINATION:**

- **REPLACED/CHANGED METHOD:** Date \_\_\_\_\_ (This indicates the end of one  
contraceptive bout and the start  
of another. Please fill out a blank contraceptive form with the new contraceptive information.)
- **MEDICAL** - DETAILS: (Include  
date) \_\_\_\_\_
- **LOST** (Date \_\_\_\_\_)
  - CONFIRMED or PRESUMED
  - DETAILS: \_\_\_\_\_
- **REPRODUCTION/ALLOW TO BREED** (planned birth)
  - DATE PLACED WITH MATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_
  - IF SUCCESSFUL, DATE OFFSPRING BORN (M/D/Y): \_\_\_\_\_
  - FATE OF OFFSPRING: LIVE BIRTH / STILLBIRTH / ABORTION
    - IF ABORTION - IF POSSIBLE PLEASE APPROXIMATE GESTATIONAL AGE  
OF FETUS \_\_\_\_\_
- **OTHER** - DETAILS: (i.e. removed/transfer of  
mate) \_\_\_\_\_

=====

**UNPLANNED BIRTHS:** [Defined as a birth that was not planned (ie. contraceptive method was not



purposefully ended for reproduction).]

**DATE OFFSPRING BORN (M/D/Y):** \_\_\_\_\_

**FATE OF OFFSPRING:** LIVE BIRTH / STILLBIRTH / ABORTION -

- IF ABORTION - IF POSSIBLE PLEASE APPROXIMATE GESTATIONAL AGE OF FETUS

\_\_\_\_\_

CONTRACEPTIVE METHOD CONFIRMED IN PLACE AT TIME OF CONCEPTION? YES / NO

CONTRACEPTIVE METHOD CONFIRMED IN PLACE AT TIME OF BIRTH? YES / NO

=====

**IF ANIMAL TRANSFERRED:** DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_

NAME OF RECEIVING INSTITUTION: \_\_\_\_\_ (please include address if not AZA accredited)

CONTRACEPTIVE METHOD IN USE WHEN TRANSFERRED? YES / NO - PRESUMED / CONFIRMED

**IF ANIMAL DIED:**

DATE (M/D/Y): \_\_\_\_\_ REPRODUCTIVE TRACT SENT TO DR. LINDA MUNSON? YES / NO

PLEASE NOTE THE CAUSE OF DEATH (IF KNOWN) AND ANY ABNORMALITIES NOTED AT THE TIME OF NECROPSY:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

=====

=====

**ADDITIONAL COMMENTS** (For example, possible side-effects or problems associated with contraceptive.):

**MAIL OR E-MAIL COMPLETED SURVEY FORMS TO:**

Sally Boutelle, Program Coordinator; Saint Louis Zoo; Forest Park - 1 Government Drive; Saint Louis

MO - USA 63110, [contraception@stlzoo.org](mailto:contraception@stlzoo.org)



Toulouse, mai 2008

NOM : RASCLE

Prénom : Claudie

**TITRE : Maîtrise de la reproduction du loup en captivité: application pratique sur une meute du Parc Alpha (Parc du Mercantour).**

RESUME :

Ce travail décrit tout d'abord la biologie de la reproduction du loup (*Canis lupus*), en soulignant les différences physiologiques et comportementales avec le chien.

Dans une seconde temps, après un rappel des différentes méthodes contraceptives et abortives utilisées chez le chien, l'auteur étudie leur utilisation sur des loups captifs. L'utilisation de méthodes définitives (chirurgicales), bien qu'aisée, entraîne une perte du potentiel reproductif et une diminution de la diversité génétique. Pour les méthodes temporaires (médicales), différents traitements hormonaux sont disponibles tels que les progestatifs et les analogues agonistes de la GnRH. Le choix des différentes voies d'administration et leur faisabilité en parc zoologique sont ensuite discutés. L'interruption de gestation, plus difficile à mettre en oeuvre, permet de conserver le comportement de reproduction des animaux et d'éviter les répercussions sur l'organisation sociale.

Pour finir, l'auteur décrit les alternatives disponibles pour contrôler la taille d'une meute captive : la division de la meute, la séparation des mâles et des femelles et l'euthanasie des louveteaux.

MOTS-CLES : Loup, *Canis lupus*, Canidés, Captivité, Reproduction, Stérilisation, Contraception, Progestatifs, Analogue GnRH.

**ENGLISH TITLE: Control of reproduction in captive wolves: application on a wolf pack of Parc Alpha (Parc du Mercantour).**

ABSTRACT :

At first this study describes the reproduction of the wolf especially highlighting physiological and social differences between wolf and domestic dog.

Then, after a summary of the use on domestic dogs of contraceptive and abortive methods, the author describes its use on captive wolves. Use of permanent methods (surgery) are easy to realise but represents al loss of reproductive potential and a loss of genetic variability. Concerning the reversible methods (medical techniques), the author enumerates diverse hormonal treatments as progestin and analogues of the GnRH. Then, choice of different administration routes is discussed. Pregnancy termination remains a complex procedure, however reproduction behaviour is conserved and disruptions of the social system are avoided.

In conclusion, the author describes captivity the pack size regulation possibilities such as pack split, male and female separation or euthanasia of pup.

KEYWORDS : Wolf, *Canis lupus* ,Canids, Captivity, Reproduction, Contraception, Synthetic progestin, Analogues of GnRH.