Année 2010

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REPRODUCTION CHEZ LA CHIENNE : ANALYSE DES DOSSIERS DES CHIENNES SUIVIES AU CENTRE D'ETUDE EN REPRODUCTION DES CARNIVORES DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT DE 2005 A 2008

THESE

Pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

Alexandra, Anne-Gabrielle ESPAREL épouse LABATUT

Née le 8 mars 1983 à Paris 14^{ème} (Seine)

JURY

Président : M. Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : M. FONTBONNE Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort Assesseur : M. GRANDJEAN

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur: M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

Directeurs honoraires: MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles, TOMA Bernard Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Bernard, CRESPEAU François LE BARS Henri, MOUTHON Gilbert, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques,

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : Mme COMBRISSON Hélène, Professeur - Adjoint : Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

- UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mme ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henry, Maître de conférences*

- UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE

Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur

M. FREYBURGER Ludovic, Maître de conférences

- UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE

Mme COMBRISSON Hélène, Professeur* M. TIRET Laurent, Maître de conférences

Mme STORCK-PILOT Fanny, Maître de conférences

- UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur M. TISSIER Renaud, Maître de conférences* M. PERROT Sébastien, Maître de conférences

- **DISCIPLINE**: ETHOLOGIE M. DEPUTTE Bertrand, Professeur

-UNITE D'HISTOLOGIE, ANATOMIE PATHOLOGIQUE

M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur * Mme BERNEX Florence, Maître de conférences

Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences M. REYES GOMEZ Edouard, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE VIROLOGIE

M. ELOIT Marc, Professeur *

Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences

- UNITE DE GENETIQUE MEDICALE ET MOLECULAIRE

M. PANTHIER Jean-Jacques, Professeur Mme ABITBOL Marie, Maître de conférences*

- UNITE DE BIOCHIMIE

M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences* M. BELLIER Sylvain, Maître de conférences

- DISCIPLINE : ANGLAIS

Mme CONAN Muriel, Professeur certifié

- DISCIPLINE: EDUCATION PHYSIQUE ET SPORTIVE

M. PHILIPS, Professeur certifié

DEPARTEMENT D'ELEVAGE ET DE PATHOLOGIE DES EQUIDES ET DES CARNIVORES (DEPEC)

Chef du département : M. POLACK Bruno, Maître de conférences - Adjoint : M. BLOT Stéphane, Professeur

- UNITE DE MEDECINE

M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur*

Mme CHETBOUL Valérie, Professeur

M. BLOT Stéphane, Professeur

M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences

Mme BENCHEKROUN Ghita, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE CLINIQUE EQUINE

M. DENOIX Jean-Marie, Professeur

M. AUDIGIE Fabrice, Professeur*

Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier

Mlle CHRISTMANN Undine, Maître de conférences

Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel

Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel M. CARNICER David, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE

Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Professeur

(rattachée au DPASP)

M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences

M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences*

M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP)

M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences

Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP)

Mme DEGUILLAUME Laure, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)

- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS

Mme Françoise ROUX, Maître de conférences

- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

M. FAYOLLE Pascal, Professeur *

M. MOISSONNIER Pierre, Professeur

M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences

M. NIEBAUER Gert, Professeur contractuel

Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences

Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérangère, Maître de conférences (rattachée au DPASP)

M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences

M. JARDEL Nicolas, Praticien hospitalier

- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE

 $\label{eq:main_model} \mbox{Mme BEGON Dominique, Professeur*}$

Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier

- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE

Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences

- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

M. CHERMETTE René, Professeur *

M. POLACK Bruno, Maître de conférences

M. GUILLOT Jacques, Professeur

Mme MARIGNAC Geneviève, Maître de conférences

Mme HALOS Lénaïg, Maître de conférences (rattachée au DPASP)

M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier

- UNITE DE MEDECINE DE L'ELEVAGE ET DU SPORT

M. GRANDJEAN Dominique, Professeur

Mme YAGUIYAN-COLLIARD Laurence, Maître de conférences contractuel

- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION

M. PARAGON Bernard, Professeur

DEPARTEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES ET DE LA SANTE PUBLIQUE (DPASP)

Chef du département : M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOUR Barbara, Professeur

- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES

M. BENET Jean-Jacques, Professeur*

Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Professeur

Mme DUFOUR Barbara, Professeur

Melle PRAUD Anne, Maître de conférences contractuel

- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

M. BOLNOT François, Maître de conférences *

M. CARLIER Vincent, Professeur

Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences

- DISCIPLINE : BIOSTATISTIOUES

M. DESQUILBET Loïc, Maître de conférences contractuel

- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE

M. COURREAU Jean-François, Professeur

M. BOSSE Philippe, Professeur

Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur

Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences

M. ARNE Pascal, Maître de conférences

M. PONTER Andrew, Professeur*

- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences

Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP)

M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences

M. ADJOU Karim, Maître de conférences *

M. BELBIS Guillaume, Maître de conférences contractuel

REMERCIEMENTS

Au Professeur,

De la faculté de Médecine de Créteil, Qui nous fait l'honneur de présider le jury de thèse.

Hommage respectueux.

A Monsieur Alain Fontbonne,

Maître de conférences à l'ENVA,

Qui me fait l'honneur de diriger cette thèse,

Pour m'avoir guidée dans ce travail et pour le temps consacré à la correction de cette thèse,

Sincères remerciements.

A Monsieur Dominique Grandjean,

Professeur à l'ENVA,

Qui a accepté de participer au jury de cette thèse,

Pour sa disponibilité et sa rapidité,

Sincères remerciements.

A Pierre,

Pour son aide précieuse, sa patience et ses encouragements.

A ma famille,

Pour son soutien et son affection.

A tous mes amis,

Pour tous ces bons moments passés ensemble.

A mes confrères, Laetitia Cathenoz, Christelle Marsan, Florence Doucet, Claire Vannimenus et Anthony Bartolo,

Dont le travail m'a considérablement éclairée.

A toute l'équipe du CERCA,

Pour son aide et sa bonne humeur.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX 7 -
LISTE DES FIGURES - 9 -
LISTE DES ANNEXES 11 -
GLOSSAIRE 13 -
INTRODUCTION 15 -
PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique 17 -
I – Physiologie de la reproduction chez la chienne 17 -
1 – La puberté 17 -
2 – Le cycle sexuel de la chienne 18 -
2.1 – Les différentes phases du cycle 18 -
2.1.1 – Le pro-æstrus 18 -
2.1.2 – L'œstrus 19 -
2.1.3 – Le metœstrus ou diestrus 20 -
2.1.4 – L'anœstrus 20 -
2.2 – Particularités des chaleurs 21 -
2.3 – Variations de la fréquence des chaleurs 21 -
2.3.1 – En fonction de la race 21 -
2.3.2 - Facteurs physiologiques pouvant modifier la fréquence des chaleurs 21 -
2.3.3 - Facteurs pathologiques pouvant modifier la fréquence des chaleurs 22 -
2.4 – Notions de fertilité, prolificité, mortinatalité, sex-ratio, durée de gestation 22 -
2.4.1 – Fertilité 22 -
2.4.2 – Prolificité 22 -
2.4.3 – Mortinatalité 22 -
2.4.4 – Sex-ratio 23 -
2.4.5 – Durée de gestation 23 -
3 – Endocrinologie de la reproduction 24 -
3.1 – Les hormones antéhypophysaires 24 -
3.1.1 – FSH: Folliculo-Stimulating Hormone 24 -
3.1.2 – LH: Luteinizing Hormone 24 -
2.1.2 Prolocting

3.2 – Les hormones gonadiques	- 25 -
3.2.1 – Les œstrogènes	- 25 -
3.2.2 – La progestérone	- 25 -
3.2.3 – La relaxine	- 26 -
II – Données actuelles sur la reproduction assistée de la chienne	- 27 -
1 – Rappel sur la physiologie des gamètes	- 27 -
1.1 – Le gamète femelle	- 27 -
1.2 – Le gamète mâle	- 27 -
1.3 – Période optimale de fertilité	- 27 -
2 – Méthodes de détermination du moment de l'accouplement	- 29 -
2.1 – Les différents critères utilisés en pratique	- 29 -
2.1.1 – Critères subjectifs	- 29 -
2.1.1.1 Le nombre de jours après le début des chaleurs	- 29 -
2.1.1.2 L'acceptation du mâle par la femelle	- 30 -
2.1.1.3 L'acceptation de la chienne par le mâle	- 30 -
2.1.1.4 L'aspect des écoulements vulvaires	- 30 -
2.1.2 – Critères objectifs	- 31 -
2.1.2.1 La mesure de la résistivité du mucus vaginal	- 31 -
2.1.2.2 Les frottis vaginaux	- 31 -
2.1.2.3 Les dosages hormonaux	- 32 -
2.2 – Frottis vaginaux	- 33 -
2.2.1 – Modifications cytologiques de l'épithélium vaginal	- 33 -
2.2.2 – Réalisation et lecture du frottis	- 34 -
2.2.2.1 Réalisation d'un frottis	- 34 -
2.2.2.2 Lecture	- 35 -
2.2.3 – Intérêts et limites	- 36 -
2.3 – Dosage de la progestérone	- 36 -
2.3.1 – Evolution de la progestéronémie au cours du cycle	- 36 -
2.3.2 – Réalisation pratique	- 36 -
2.3.3 – Intérêts et limites	- 37 -
2.4 - Relation avec le pic de LH (Luteinising Hormone)	- 38 -
2.5 – L'échographie ovarienne	- 38 -
2.6 – Endoscopie vaginale	- 41 -
3 – L'insémination artificielle canine : matériels, méthodes et résultats	- 42 -
3.1 - Récolte du sperme	- 42 -

3.2 – Techniques d'insémination	43 -
3.2.1 – L'insémination par voie intra-vaginale	43 -
3.2.2 – L'insémination par voie intra-utérine	46 -
3.3 – Indications des différents modes d'insémination	47 -
3.3.1 – L'insémination en semence fraîche	47 -
3.3.2 – L'insémination en semence réfrigérée	48 -
3.3.3 – L'insémination en semence congelée	48 -
3.4 - Résultats comparés	49 -
DELIVIEME DADTIE : For by the CEDICA do 1000 \$ 2000	£1
DEUXIEME PARTIE : Evolution du CERCA de 1990 à 2008	
I – Le CERCA	
1 – Présentation	
1.1 – Historique	
1.2 – Clientèle	
1.3 – Services proposés	
2 – Protocole des suivis de chaleurs et inséminations artificielles	
2.1 – Protocole des suivis de chaleurs	
2.2 – Protocole des inséminations artificielles	
II – Résultats de 1990 à 2002	
1 – Les critères de choix des dossiers inclus dans les études	
2 – Les résultats de reproduction	
2.1 – Fertilité	
2.1.1 – Fertilité en fonction de l'âge	
2.1.2 – Fertilité en fonction de la race	
2.1.3 – Fertilité en fonction du mode d'insémination	
2.1.4 – Fertilité en fonction du nombre d'insémination	
2.2 – Prolificité	
2.2.1 – Prolificité en fonction de la race	
2.2.2 – Prolificité en fonction du mode d'insémination	
2.2.3 – Prolificité en fonction du nombre d'insémination	57 -
2.3 – Mortinatalité	57 -
2.3.1 – Mortinatalité en fonction de la race	57 -
2.3.2 – Mortinatalité en fonction du mode d'insémination	58 -
2.4 – Sex-ratio	58 -
2.4.1 – Sex-ratio en fonction de la race	58 -

2.4.2 – Sex-ratio en fonction du mode d'insémination	- 58 -
3 – Conclusions	- 58 -
TROISIEME PARTIE : Etude et analyse des dossiers du CERCA	- 59 -
I – Matériel et méthodes	
1 – Saisies et traitements des données	- 59 -
2 - Critères de choix des dossiers inclus dans l'étude	- 60 -
II – Résultats obtenus pour la période 2005-2008	- 62 -
1 – Bilan d'activité du CERCA	- 62 -
1.1 – Nombre de suivis	- 62 -
1.1.1 – Fréquentation	- 62 -
1.1.2 – Nombre de suivi par chienne	- 63 -
1.1.3 – Nombre de suivi par race	- 63 -
1.1.4 – Nombre de suivi par classes d'âge	- 64 -
1.2 - Conduite du protocole de suivi de chaleurs	- 65 -
1.2.1 – Nombre de visites en fonction du mode d'insémination	- 65 -
1.2.1.1 Nombre de visites par suivi avec saillie naturelle	- 65 -
1.2.1.2 Nombre de visites par suivi avec insémination artificielle	
1.2.1.3 Nombre de visites par suivi sans suite	
1.2.2 – Nombre de dosages en fonction des années étudiées	
1.2.3 – Issues du suivi des chaleurs en fonction des années étudiées	
1.3 – Historiques des chiennes sur le plan de la reproduction	
2 – Résultats de reproduction	- 71 -
2.1 – Fertilité	
2.1.1 – Fertilité et âge	
2.1.2 – Fertilité et race	
2.1.3 – Fertilité et mode d'insémination	
2.1.4 – Fertilité et nombre d'insémination	
2.1.5 – Fertilité et gestation précédente	
2.2 – Prolificité	
2.2.1 – Prolificité et âge	
2.2.2 – Prolificité et race	
2.2.3 – Prolificité et mode d'insémination	
2.2.4 – Prolificité et nombre d'insémination	
2.3 – Mortinatalité	
2.3.1 – Mortinatalité et âge	- 80 -

2.3.2 – Mortinatalité et race	81 -
2.3.3 – Mortinatalité et mode d'insémination	82 -
2.4 – Sex-ratio	83 -
2.4.1 – Sex-ratio et âge	83 -
2.4.2 – Sex-ratio et race	84 -
2.4.3 – Sex-ratio et mode d'insémination	85 -
3 – Etude de la progestéronémie au cours des chaleurs	86 -
III – Discussion	87 -
1 – Protocole	87 -
2 - Résultats	88 -
2.1 – Bilan d'activité	88 -
2.1.1 – Fréquentation	88 -
2.1.2 – Nombre de dosages par suivi	88 -
2.1.3 – Issue des suivis de chaleurs	89 -
2.2 – Résultats de reproduction	90 -
2.2.1 – Fertilité	90 -
2.2.1.1 Résultats	90 -
2.2.1.2 Variations en fonction du mode de reproduction	90 -
2.2.1.3 Variations en fonction de la race	91 -
2.2.2 – Prolificité	92 -
2.2.2.1 Résultats	92 -
2.2.2.2 Variations en fonction du mode de reproduction	92 -
2.2.2.3 Variations en fonction de la race	92 -
2.2.3 – Mortinatalité	92 -
2.2.4 – Sex-ratio	92 -
2.3 – Progestéromémie	93 -
CONCLUSION	04
CONCLUSION	74 -
BIBLIOGRAPHIE	95 -
ANNEXES	99 -

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Age moyen à la puberté pour quelques races	- 17 -
Tableau II: Durées de gestation pour quelques races	
Tableau III: Fertilité et mode d'insémination de 1990 à 2002	- 56 -
Tableau IV: Fertilité et nombre d'insémination de 1990 à 2002	
Tableau V: Prolificité et mode d'insémination de 1990 à 2002	- 57 -
Tableau VI: Prolificité et nombre d'insémination de 1990 à 2002	- 57 -
Tableau VII: Mortinatalité et mode d'insémination de 1990 à 2002	- 58 -
Tableau VIII: Nombre de suivis par chienne	- 63 -
Tableau IX: Répartition des suivis par groupes de races	- 63 -
Tableau X: Nombre de suivis par modes d'insémination et par année étudiée	
Tableau XI : Fertilité et âge de 2005 à 2008	- 71 -
Tableau XII : Fertilité et race de 2005 à 2008	- 72 -
Tableau XIII : Fertilité et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 73 -
Tableau XIV : Fertilité et nombre d'insémination de 2005 à 2008	- 74 -
Tableau XV : Fertilité et gestation précédente	- 75 -
Tableau XVI : Prolificité et âge de 2005 à 2008	- 76 -
Tableau XVII : Prolificité et race de 2005 à 2008	
Tableau XVIII : Prolificité et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 78 -
Tableau XIX : Prolificité et nombre d'insémination de 2005 à 2008	- 79 -
Tableau XX : Mortinatalité et âge de 2005 à 2008	
Tableau XXI : Mortinatalité et race de 2005 à 2008	- 81 -
Tableau XXII : Mortinatalité et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 82 -
Tableau XXIII : Sex-ratio et âge de 2005 à 2008	- 83 -
Tableau XXIV : Sex-ratio et race de 2005 à 2008	
Tableau XXV : Sex-ratio et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 85 -
Tableau XXVI : Récapitulatif du nombre d'IAF et d'IAC depuis 1990	- 89 -
Tableau XXVII : Fertilité et mode d'insémination de 1990 à 2008	- 90 -
Tableau XXVIII : Fertilité observées dans quelques études récentes (en pourcentage)	- 91 -

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique des variations de concentrations hormonales durant	
le cycle sexuel chez la chienne	- 26 -
Figure 2: Répartition de la durée entre le début de l'écoulement vulvaire et l'ovulation	
chez 35 chiennes	- 28 -
Figure 3: Répartition de la durée d'acceptation du mâle par la femelle après l'ovulation	
chez 37 chiennes	- 28 -
Figure 4: Relation entre la date présumée de l'ovulation et le nombre de jours depuis le début des chaleurs chez 278 chiennes	20
Figure 5: Les différentes catégories de cellules au cours du cycle	
Figure 6: Les cellules du frottis vaginal en coloration de Harris-Shorr	
Figure 7: Technique d'échographie ovarienne	
Figure 8: Ovaire en prœstrus	
Figure 9: Ovaire en période pré-ovulatoire	
Figure 10: Ovaire post-ovulation : disparition des follicules	
Figure 11: Appareil d'endoscopie vaginale	
Figure 12: Muqueuse vaginale lors du præstrus vue par endoscopie	
Figure 13: Muqueuse vaginale lors de l'œstrus vue par endoscopie	
Figure 14: Pistolet Osiris : détail des différents composants	
Figure 15 : Insémination intra-vaginale avec le pistolet souple Osiris	
Figure 16: L'insémination intra-utérine par technique scandinave	
Figure 17 : Protocole d'un suivi de chaleurs chez la chienne	
Figure 18:Nombre de suivis par mois (1651 suivis)	- 62 -
Figure 19 : Répartition des suivis par groupes de races	
Figure 20 : Nombre de suivis par classes d'âge (1532 suivis)	
Figure 21: Nombre moyen de dosages par suivi en fonction du mode d'insémination	- 67 -
Figure 22: Nombre moyen de dosages par suivi en fonction des années étudiées	- 68 -
Figure 23: Répartition des modes d'insémination par année étudiée	- 69 -
Figure 24: Répartition des chiennes en fonction de leur nombre de mise à la reproduction	- 69 -
Figure 25: Résultats de la dernière saillie	- 70 -
Figure 26 : Fertilité et âge de 2005 à 2008	- 71 -
Figure 27 : Fertilité et race de 2005 à 2008	- 72 -
Figure 28 : Fertilité et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 73 -
Figure 29 : Fertilité et nombre d'insémination de 2005 à 2008	
Figure 30 : Prolificité et âge de 2005 à 2008	- 76 -
Figure 31 : Prolificité et race de 2005 à 2008	- 77 -
Figure 32 : Prolificité et mode d'insémination de 2005 à 2008	- 78 -
Figure 33 : Prolificité et nombre d'insémination de 2005 à 2008	
Figure 34 : Mortinatalité et âge de 2005 à 2008	
Figure 35 : Mortinatalité et race de 2005 à 2008	
Figure 36 : Mortinatalité et mode d'insémination de 2005 à 2008	
Figure 37 : Sex-ratio et âge de 2005 à 2008	
Figure 38 : Sex-ratio et race de 2005 à 2008.	
Figure 39 : Sex-ratio et mode d'insémination de 2005 à 2008	
Figure 40 : Jour d'ovulation par rapport au pic de LH	

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I: DOSSIER TYPE DES FEMELLES AU CERCA

ANNEXE II : RESULTATS DE FECONDITE D'APRES LES STATISTIQUES DE LA SOCIETE CENTRALE CANINE EN 1996

ANNEXE III: TESTS DE DOSAGE DE LA PROGESTERONE ET DE LH

ANNEXE IV : REALISATION D'UN FROTTIS VAGINAL : PRELEVEMENT ET COLORATION

ANNEXE V : L'INSEMINATION ARTIFICIELLE : PRELEVEMENT, ANALYSE ET ENVOI DE LA SEMENCE

GLOSSAIRE

CERCA : Centre d'Etudes en Reproduction des CArnivores (anciennement Centre d'Etude en Reproduction Canine Assistée)

CERREC : Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et Elevage des Carnivores

CIAC: Centre d'Insémination Artificielle Canine

ENVA: Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

ENVL : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

ENVN : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

IA: Insémination Artificielle

IAC : Insémination Artificielle en semence Congelée

IAF: Insémination Artificielle en semence Fraîche

IAR : Insémination Artificielle en semence Réfrigérée

INTRODUCTION

Depuis de nombreuses années, la reproduction canine fait l'objet d'une attention particulière, tant de la part des éleveurs des chiens de race (sélection de caractères et de phénotypes particuliers, choix des meilleurs reproducteurs, productivité optimale) que de la part des vétérinaires devant faire face à ces exigences.

L'apparition de l'insémination artificielle et du dosage de la progestérone comme témoin de l'ovulation marque un tournant majeur dans cette quête d'optimisation, permettant de surmonter à la fois les barrières spatio-temporelle (choix des reproducteurs au niveau mondial) et physiologiques (chez certaines races comme les brachycéphales) de la reproduction.

De nombreux auteurs se sont déjà penchés sur le sujet de la reproduction canine et ont étudié les méthodes de détection du moment optimal de fécondation et des protocoles de fécondation. Les résultats ont permis à d'autres études de comparer ces techniques et de sélectionner les plus fiables et les plus performantes

Notre étude est la suite des thèses de L. Cathenoz et C. Marsan (Alfort 1996), de F. Doucet et C. Vannimenus (Alfort 2001) et de A. Bartolo (Alfort 2004) qui ont analysé les résultats de reproduction des chiennes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores (CERCA) à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1990 à 2002; elle analyse les dossiers de 2005 à 2008.

La première partie est un rappel, tiré de sources bibliographiques, sur la physiologie et les techniques de maîtrise de la reproduction chez la chienne. La deuxième partie résume les résultats des trois thèses précédentes. Enfin la troisième partie analyse de 2005 à 2008 le bilan d'activité du CERCA, les suivis de chaleurs et les résultats de reproduction en fonction du type d'insémination, de la race et de l'âge. La discussion fait l'interprétation des résultats et les compare à ceux obtenus dans les études précédentes lorsque cela est possible.

PREMIERE PARTIE: Etude bibliographique

I - Physiologie de la reproduction chez la chienne

1 - La puberté

La puberté correspond à la mise en route du cycle sexuel. Elle se traduit chez la chienne par l'apparition des premières chaleurs, qui surviennent en général entre 6 et 15 mois (42), les petites races étant généralement plus précoces (avant 9 mois). Cependant l'étude rétrospective de Doucet et Vannimenus (25) sur différentes races ne reflète pas cette donnée (Cf. Tableau I). Selon une étude (4), l'âge de la puberté serait également influencé par le poids corporel et les conditions d'environnement.

Tableau I: Age moyen à la puberté pour quelques races

Source : Doucet et Vannimenus (25)

Race	Age moyen aux premières chaleurs (en mois)
Berger Allemand	8,9
Rottweiller	9,4
Shar Pei	9
Dogue Allemand	12,3
Bouledogue	9,2
Colley	10,1
Dobermann	9,3
Lévriers	15,6
Westy	9
Léonberg	10,6
Cavalier King Charles	7,75
Braques	11,5
Yorkshire	10,6
Labrador	11,7
Golden Retriever	11,1
Chow-chow	7
Boxer	10,6
Carlin	7 ,5
Cocker	11,7
Lhassa-Apso	10
Terre-Neuve	13,1

Les premières chaleurs peuvent passer quasiment inaperçues extérieurement : on parle alors de chaleurs silencieuses (moins ou pas de saignements vulvaires, vulve peu ou pas dilatée, mâles peu ou pas attirés). Les propriétaires ont ainsi l'impression que leur chienne arrive plus tardivement à la puberté (35).

Les chaleurs « blanches » (4), ou faux-œstrus, peuvent apparaître au moment des premières chaleurs. Il s'agit d'un développement vulvaire et de pertes de courte durée, mais sans ovulation. L'œstrus normal a lieu plusieurs semaines plus tard.

Une puberté tardive (au-delà de deux ans) n'empêche pas d'être saillie lors de son premier œstrus.

2 - Le cycle sexuel de la chienne

La chienne appartient à une espèce mono-oestrienne : elle n'a qu'une seule période de chaleurs par cycle, de durée variable. Elle a une à deux ovulations par an, avec un intervalle allant de 5 à 12 mois ; la majorité des chiennes ayant un interœstrus entre 5 et 7 mois (22)(62).

2.1 – Les différentes phases du cycle

Le cycle oestral de la chienne se divise en plusieurs phases déterminées par la physiologie ovarienne : des particularités anatomiques, cliniques et comportementales caractérisent chacune des quatre phases (35)(42).

2.1.1 – *Le pro-æstrus*

Première phase du cycle, elle marque le début des chaleurs. Sa durée moyenne est de 10 jours, avec des variations selon les auteurs (5 à 15 jours selon Guérin et coll. (42), 5 à Plus de 20 jours selon Fontbonne (35), 3 à 15 jours selon Dumon (26)). Elle varie d'une chienne à l'autre mais aussi d'un cycle à l'autre pour une même chienne.

Un premier pro-œstrus prolongé (plus de 3 semaines) peut faire soupçonner une insuffisance de stimulation pituitaire nécessaire à la maturation folliculaire (1). Il existe cependant une prédisposition raciale pour les pro-œstrus chez le Berger Allemand et le Shar-Peï (43).

Le pro-œstrus se caractérise cliniquement par un gonflement oedémateux de la vulve et des pertes sanguines vulvaires d'origine utérine abondantes et fluides (35).

Sur le plan anatomique, le pro-œstrus correspond à la phase de maturation folliculaire (les follicules ovariens passent de 1 à 4 mm et libèrent des hormones, dont essentiellement des oestrogènes). L'utérus est congestionné, sa muqueuse vaginale est rouge, oedématiée et présente des plis profonds et arrondis.

Sur le plan comportemental : les mâles sont attirés par l'odeur de l'urine et des sécrétions vaginales qui contiennent des phéromones. Durant cette phase, la chienne refuse en général l'accouplement, mais la plupart commencent à accepter la saillie au moment du pic de LH, c'est-à-dire en moyenne 2 jours avant l'ovulation (Cf. conséquences plus loin). Le comportement de pro-œstrus est le résultat de l'augmentation de la concentration sanguine en oestrogènes sécrétées par les cellules de la granulosa des follicules en croissance (22).

2.1.2 - L'æstrus

Il couvre la période de l'ovulation et constitue la phase d'acceptation du mâle. Sa durée est également variable (3 à 8 jours selon Guérin et coll. (42), 3 à 30 jours avec une moyenne de 7 jours selon Fontbonne (35), 3 à 10 jours selon Dumon (26)).

L'ovulation est spontanée et survient 2-3 jours après le début de l'acceptation du mâle par la femelle (soit 48 heurs après le pic de LH) (35)(42), et dure de 12 à 24 heures selon l'étude (35), 24 à 48 selon les études (22) et (26), en fonction du nombre de follicules mâtures qui se rompent ; elle est concomitantes sur les deux ovaires.

Les cellules libérées lors de l'ovulation sont des ovocytes I non fécondables ; ceux-ci subissent une maturation de 2 à 7 jours (moyenne de 3 jours) selon l'étude de Fontbonne (35), 36 à 48 heures selon Dumon (26), dans les oviductes, avant d'être réceptifs et de pouvoir être fécondés par un spermatozoïde.

Par conséquent, la chienne devient fécondable au minimum 2 jours après l'ovulation donc 4 jours après la décharge de l'hormone LH. La période fécondable se situe donc dans la deuxième moitié de l'æstrus.

Cliniquement, la dilatation et l'œdème vulvaire sont au maximum. Les écoulements vulvaires séro-hémorragiques s'éclaircissent, sont moins abondants, un peu muqueux et se tarissent dans la plupart des cas. Cependant, certaines chiennes continuent à perdre du sang tout au long des chaleurs (35).

L'endomètre utérin se développe et se prépare ainsi à la nidation. Au niveau du vagin, on observe une muqueuse rose, avec des plis profonds et serrés, dont la surface est desséchée.

Durant l'æstrus, la femelle adopte un réflexe de posture particulier, le « signe d'Amantéa » : l'attouchement de la région périnéale provoque l'extension du tronc, le relèvement de la croupe, l'élévation de la queue qui est déviée latéralement du coté opposé à la stimulation, l'élévation et l'ouverture de la vulve (35).

Ce comportement réceptif lors de l'œstrus est lié à la baisse importante en oestrogènes, et à l'augmentation simultanée en progestérone dans le sang (22).

2.1.3 – Le metæstrus ou diestrus

Cette phase dite du corps jaunes sécrétant, ou phase lutéale, dure environ deux mois (60-65 jours selon l'étude (42) et jusqu'à 110-140 jours selon les études (18) et (26) dans lesquelles les auteurs considèrent que le début du métœstrus correspondant à la phase sécrétante du corps jaune est appelé diœstrus et dure 60 à 80 jours). Une particularité de l'espèce canine est que le corps jaune est toujours fonctionnel durant cette période, que la femelle soit gravide ou non.

Le gonflement vulvaire diminue et les pertes vulvaires disparaissent ; on observe parfois une courte période de 4-5 jours avec réapparition de pertes sanguines foncées, glaireuses, filantes et nauséabondes, mais ce cas de figure est rare (35).

La sécrétion de progestérone par le corps jaune détermine une augmentation de taille de l'utérus ainsi que la multiplication et la croissance des glandes de l'endomètre qui sécrètent du mucus en grande quantité (pouvant générer un pyomètre dans les cas extrêmes). A cette phase de prolifération et de sécrétion de l'endomètre va succéder la desquamation puis la restauration de la paroi utérine. La progestérone provoque également un arrêt des contractions de l'utérus, ce qui permet l'implantation des embryons suivie de la gestation.

Durant le métœstrus, le vagin est rose, la surface est humide et il présente des plis séparés et peu profonds. La muqueuse est lisse et on peut observer des plages congestives.

L'ardeur sexuelle disparaît, la chienne est plus calme et présente parfois un appétit augmenté. Le début de métœstrus peut se définir par le premier refus du mâle par la femelle.

Le métœstrus peut se traduire, lorsque la femelle n'est pas gestante, par une pseudogestation : on observe alors, au bout de trois semaines – un mois, un élargissement du ventre en arrière des côtes, et parfois un durcissement et une turgescence des tétines.

2.1.4 - L'anæstrus

Il correspond à une période de repos sexuel. Sa durée, de 4-5 mois, est variable selon les races et peut aller jusqu'à des extrêmes de 2 à 10 mois, sans cause ni conséquence pathologique selon Dumon (26). C'est la régularité de cette phase d'un cycle à l'autre qui optimise la fonction de reproduction ; on observe en effet que les chiennes irrégulières souffrent plus souvent de troubles de la reproduction. De plus, l'involution utérine est totale en deux mois environ ; des chaleurs trop rapprochées seraient donc moins favorables à une bonne reproduction.

Cette période de repos sexuel est responsable de grandes variations de la durée globale du cycle.

La chienne étant en repos sexuel, la vulve est petite et peu dilatée, il n'y a plus de pertes vulvaires ; le repos sexuel ovarien est suivi d'involution puis de repos utérin.

La femelle est calme et ne présente plus d'ardeur sexuelle.

Remarque: l'interœstrus

Celui-ci recouvre les phases de métœstrus et d'anœstrus. Il correspond à l'intervalle entre deux périodes de chaleurs successives. L'interœstrus normal dure entre 5 et 7 mois (26 à 36 semaines selon l'étude (4)), cette variation étant à la fois inter et intra-raciale.

Un interœstrus de durée inférieure à 3 mois ou supérieur à 12 mois est considéré comme anormal. En cas de gestation, sa durée est légèrement prolongée.

Selon Allen (1), un interœstrus de durée inférieur à 4 mois suppose que l'ovulation n'a pas lieu ou que la phase lutéale est courte ; l'endomètre n'a alors pas le temps de se reformer après la phase lutéale ; dans ce cas, l'anœstrus peut être prolongé par l'administration d'androgènes. Inversement, un interœstrus de trop longue durée peut être normal et en rapport avec une insuffisance saisonnière.

2.2 – Particularités des chaleurs

L'étude de Badinand et Fontbonne (8) effectuée sur plusieurs chiennes au cours de cycles successifs a démontré l'existence d'une variation importante entre les cycles. Ainsi la durée du cycle chez les chiennes est variable dans les deux tiers des cas ; la période de chaleurs n'est de même, pas identique d'un cycle à l'autre chez une même chienne, dans environ 44% des cas.

2.3 – Variations de la fréquence des chaleurs

2.3.1 – En fonction de la race

La durée moyenne d'un cycle est de 6 mois mais ce chiffre peut être sujet à de grandes variations en fonction de la race.

Les races de type Rottweiller et Berger Allemand ont fréquemment des cycles de 4,5 mois et à l'inverse, les races dites « primitives » type basenji ont souvent des cycles d'une durée d'un an. Colley et Labradors ont souvent des cycles d'une durée supérieure à 8 mois.

2.3.2 – Facteurs physiologiques pouvant modifier la fréquence des chaleurs

L'âge est un paramètre important à prendre en compte puisque, comme nous l'avons déjà vu, les jeunes chiennes ont parfois des chaleurs atypiques et les chiennes âgées peuvent connaître des cas de figure allant de l'allongement de la durée du cycle à leur raccourcissement par rapport à leur durée habituelle.

Au sein de la meute, comme par exemple e, liberté ou chez les chien de chasse, il est fréquent d'observer des chaleurs synchronisées, un grand nombre de chiennes exprimant leurs chaleurs en même temps. Les chiennes très dominées peuvent être inhibées dans leur comportement de chaleurs, mimant des cycles très long.

Les traitements hormonaux comme les progestagènes allongement la durée du cycle, et un traitement à l'Alizine ND (Aglépristone) dans le cadre d'un avortement ou du traitement médical du pyomètre, au contraire raccourcit la durée du cycle.

2.3.3 – Facteurs pathologiques pouvant modifier la fréquence des chaleurs

Les pathologies ovariennes sont les premières causes de variations pathologiques de la fréquence des chaleurs chez la chienne. Ainsi, des kystes folliculaires ou des tumeurs de la granulosa sécrétant des oestrogènes en trop grande quantité se manifesteront par des hyperæstrus (chiennes « nymphomanes ») alors que des kystes lutéaux (rares) ou des tumeurs de la granulosa sécrétant une trop grande quantité de progestérone entraîneront plutôt des anæstrus.

Les cycles anovulatoires ou les insuffisances lutéales se manifesteront par des chaleurs rapprochées.

Une résorption embryonnaire ou fœtale entraı̂nera un relargage de $PGF2\alpha$ dans la circulation sanguine puis une lutéolyse qui raccourcira la durée du cycle.

2.4 – Notions de fertilité, prolificité, mortinatalité, sex-ratio, durée de gestation

2.4.1 – Fertilité

La fertilité est, au sens strict, la capacité pour la femelle d'avoir des ovocytes fécondés.

En pratique, elle est impossible à calculer et on la définit comme étant le pourcentage de mises bas sur le nombre de chiennes saillies ou inséminées au cours d'une période de chaleurs.

La fertilité moyenne des chiennes est de 72,5%. Elle est certainement un peu inférieur, toutes les saillies non suivies de gestation n'étant pas toujours déclarées (10). On note des écarts importants entre les races (45 à 89%): les races Dogue Allemand, Léonberg, Chowchow et Terre-Neuve ont une fertilité faible (moins de 60%) alors que les races Berger Allemand, Shar Pei, Bulldog anglais, Doberman, Lévriers, Labrador et Golden Retriever par exemple ont une bonne fertilité (supérieure à 80%) (25).

2.4.2 – Prolificité

C'est le nombre de chiots nés par portée. Elle est en moyenne de 4,8 (10) avec des extrêmes allant de 2 à 9 chiots par portée : la prolificité varie de 3,3 pour les chiens du 9^{ème} groupe (chiens de compagnie) à 6 pour les chiens du 7^{ème} groupe (chiens d'arrêt).

2.4.3 – Mortinatalité

C'est le nombre de morts fœtales, c'est-à-dire le nombre de chiots morts avant la naissance. Certains auteurs incluent également dans leurs calculs les chiots décédés dans les 24h suivant la naissance (25).

On l'exprime en pourcentage de chiots morts sur le nombre total de chiots nés.

2.4.4 - Sex-ratio

C'est l'indice de masculinité. Il est défini comme étant le rapport entre le nombre de naissances mâles sur le nombre de naissances total (en pourcentage) On peut également la calculer en posant le rapport mâles nés sur femelles nées.

2.4.5 – Durée de gestation

La gestation est l'intervalle de temps séparant la fécondation des gamètes et la mise bas, pendant lequel se développe le fœtus.

Elle semble très variable (de 57 à 70 jours) (54 à 77 jours (44) s'il on prend comme intervalle le jour de la saillie jusqu'à la mise bas). En fait, les variations observées dans la durée de vie des gamètes ne permettent pas une appréciation précise de cette durée (26).

Si l'on se réfère au moment de l'ovulation la gestation a une durée normale de 61 à 63 jours (25). Selon l'étude (44), 73% des gestations ont une durée comprise entre 60 et 68 jours (Cf. Tableau II (18)).

Tableau II: Durées de gestation pour quelques races

Source: Cathenoz et Marsan (18)

Race	Durée de la gestation (en jours)
Berger Allemand	60
Boxer	63
Colley	62-64
Danois	60-65
Golden Retriever	62-64
Lévriers	62-64
Yorkshire	62

De plus, une portée nombreuse écourte légèrement la gestation probablement à cause de facteurs fœtaux responsables de l'initiation de la mise bas. Il existe ainsi une corrélation négative entre la durée de la gestation et la taille de la portée lorsque celle-ci est inférieure à 7 chiots (44).

3 – Endocrinologie de la reproduction

Comme de nombreuses espèces domestiques, la chienne a une activité sexuelle cyclique avec une ovulation spontanée au cours du cycle. Le déroulement du cycle sexuel est sous contrôle hormonal, lequel fait intervenir le système nerveux central, l'adénohypophyse et les gonades (5)(57).

La glande pituitaire joue un rôle dans la mise en route de la puberté, en influençant le relargage des hormones FSH (folliculo stimulating hormone), LH (luteinizing hormone) et la prolactine.

L'hypothalamus contrôle la libération des gonadotrophines par la glande pituitaire, par l'intermédiaire de substances spécifiques stimulatrices et inhibitrices. Ainsi, l'hormone GnRH (gonadotrophines releasing hormone) stimule la libération à la fois de FSH et LH.

Enfin, des neurotransmetteurs spécifiques interviennent dans la régulation de la libération des hormones pituitaires : la noradrénaline stimule la libération de FSH et LH ; la sérotonine inhibe la sécrétion basale de LH ; la dopamine intervient dans le contrôle de la libération de prolactine.

Il existe deux systèmes contrôlant la sécrétion de FSH et LH:

- l'un est responsable de la sécrétion continue basale de gonadotrophines et stimule la croissance des éléments germinaux et endocriniens des ovaires
- l'autre contrôle la sécrétion massive de gonadotrophines (particulièrement LH) responsables de l'ovulation.

3.1 – Les hormones antéhypophysaires

3.1.1 – FSH: Folliculo-Stimulating Hormone

Cette hormone est libérée par l'hypophyse pendant la majeure partie du pro-œstrus. Sa concentration est plus faible lors du pro-œstrus que lors de l'anœstrus, suite à un rétrocontrôle négatif déclenché par les oestrogènes (22). Elle stimule la croissance des follicules ovariens.

3.1.2 – LH: Luteinizing Hormone

Elle est sécrétée par vagues par les cellules basophiles de l'antéhypophyse, à intervalles de 1 à 7 heures (22). L'augmentation de leur fréquence signe le début du procestrus.

Le pic de libération de LH survient généralement en fin de pro-œstrus ou en début d'œstrus; il est relativement long (48 heures, 24 à 72 heurs selon Concannon et al. (22)) et déclenche la maturation, la lutéinisation et l'ovulation des follicules ovariens 2 jours plus tard (48-72 heures selon Allen (1), 36-50 heures selon Concannon et al. (22)).

Elle transforme les follicules sécrétant les oestrogènes en corps jaunes sécrétant la progestérone (22) : le pic de LH représente donc la transition entre le phase folliculaire et le phase lutéale du cycle.

Cette hormone est également lutéotrophique : elle permet le maintien du corps jaune (1). Une concentration basale d'hormone LH est nécessaire pour la sécrétion de progestérone durant la phase lutéale du cycle.

3.1.3 - Prolactine

Elle est produite et sécrétée par l'hypophyse. Son effet sur la glande mammaire est amorcé par l'action des oestrogènes et de la progestérone, et consiste à stimuler la production lactée. Sa concentration sanguine s'élève lors de la baisse du taux de progestérone, après 35 à 40 jours de gestation. Elle est multipliée par cinq durant la seconde moitié de la gestation, et seulement par deux chez les chiennes non gravides.

Chez certaines chiennes, la prolactine engendre des symptômes de lactation de pseudo-gestation. Chez les chiennes allaitantes, le taux plasmatique de prolactine reste élevé longtemps après la parturition.

La prolactine est en outre une hormone lutéotrophique : sa suppression engendre la lutéolyse et la fin de la gestation. D'où l'usage d'anti-prolactiniques dans la seconde partie de la gestation comme molécules abortives.

3.2 – Les hormones gonadiques

3.2.1 – Les æstrogènes

Ce sont des hormones stéroïdes sécrétées par les follicules ovariens durant le proœstrus. Leur concentration atteint un pic de 50-100 pg/mL en fin de pro-æstrus (24 à 48 heures avant le pic de LH (1)), et diminue durant et après le pic de LH et l'æstrus (22).

Les oestrogènes activent l'axe hypothalamo-hypophysaire et la décharge de LH.

L'imprégnation oestrogénique est responsable des modifications survenant lors du pro-œstrus : pertes vaginales, kératinisation des cellules de l'épithélium vaginal et amincissement de la muqueuse vaginal, modification de consistance du mucus cervical, gonflement de la vulve et production de phéromones (1).

3.2.2 – La progestérone

C'est une hormone stéroïde normalement sécrété par le corps jaune ovarien et les follicules mûrs (cellules de la thèque externe)(1).

La lutéinisation préovulatoire est une particularité propre à la chienne : la sécrétion de progestérone débute quelques jours avant l'ovulation (au moment du pic d'oestrogènes), atteint un maximum de sécrétion lors de trois premières semaines de métœstrus, quel que soit l'état physiologique de la chienne (gravide ou non), puis au bout de 40 jours (22), le taux de progestérone décline progressivement jusqu'à un taux basal qui persiste pendant une à deux semaines (environ 60-70 jours après l'ovulation) avec une chute brutale 24-48 heures avant le terme chez la femelle gravide.

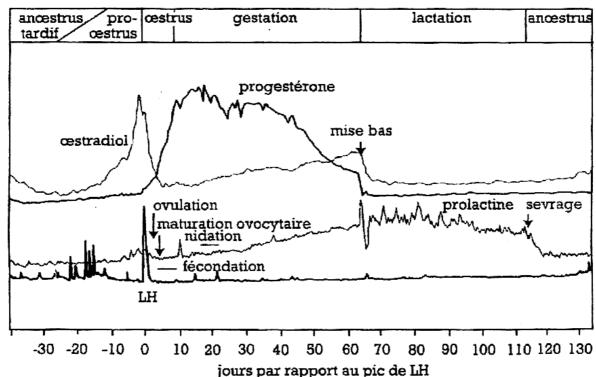
3.2.3 – *La relaxine*

C'est la seule hormone spécifique de la gestation connue dans l'espèce canine (22). Elle est détectable dès 20 à 30 jours de gestation et atteint un pic vers 40-50 jours, puis décline avant la parturition, chute encore après la mise bas et reste à un niveau faible durant la lactation. Durant la gestation, ce sont les ovaires (corps jaunes) et le placenta qui assurent le maintien du taux de relaxine circulant.

Cette hormone agit en synergie ave les autres hormones gonadiques : en renforçant l'action de la progestérone, elle inhibe les contractions utérines en fin de gestation et provoque la dilatation du corps utérin et le relâchement des ligaments sacro-iliaques et pubiens ; elle stimule la croissance de la glande mammaire, en renforçant l'action des oestrogènes couplée à celle de la progestérone.

La Figure 1 montre l'évolution du taux de progestérone, d'œstradiol, de LH et de prolactine au cours du cycle sexuel.

Figure 1 : Représentation schématique des variations de concentrations hormonales durant le cycle sexuel chez la chienne



Source: Farstad et Andersen Berg (29)

II – Données actuelles sur la reproduction assistée de la chienne

1 – Rappel sur la physiologie des gamètes

1.1 – Le gamète femelle

L'ovulation survient chez la plupart des chiennes entre 48 et 72 heures après le début de l'œstrus. Sa durée oscille entre 1 et 4 jours (45) et dépend du nombre d'ovocytes primaires libérés. Ceux-ci ne sont pas fécondables ; ils doivent d'abord subir la première division méiotique les transformant en ovocytes secondaires, environ 60 heures après l'ovulation (61) (2-3 jours selon Concannon et al. (22), jusqu'à 5 jours selon Jeffcoate et Lindsay (45)(46)) : c'est la phase de maturation. A ce stade, ils ont parcouru les deux tiers de l'oviducte.

Les ovocytes secondaires restent fécondables jusqu'à 108 heures après l'ovulation, soit sur une période de 48 heures (45)(46)(61), voire 2 à 3 jours (4)(22)(41). Jeffcoate et Lindsay (46) estime cette même période fertile possible pendant 1 à 8 jours. Ainsi, les accouplements réalisés en fin d'œstrus (7-8 jours après le pic de LH) sont souvent fertiles.

Les ovocytes atteignent la partie distale de l'oviducte en 3 à 8 jours, puis migrent dans l'utérus le neuvième jour.

1.2 – Le gamète mâle

Les spermatozoïdes restent fertiles dans l'appareil reproducteur femelle pendant environ 5 jours (61) (4 à 6 jours selon les études (16), (41) et (45), 6 à 7 jours ou plus selon les études (4) et (22) et seulement 24 heures selon Bouchard (15)).

La période d'accouplement pendant laquelle la fécondation est possible est donc d'environ 7 jours (16)(61).

1.3 – Période optimale de fertilité

En raison de la longue période de fertilité des gamètes mâles et femelles chez le chien, la période de 7 heures requise pour la capacitation n'apparaît pas être un facteur significatif pour la fertilisation (61). Toutefois, compte tenu du temps de survie des ovules et des spermatozoïdes, la période optimale d'accouplement ou d'insémination artificielle se situe 1 à 3 jours après l'ovulation (62).

L'ovulation chez la chienne présente de très grandes variations : elle peut survenir à n'importe quel moment de l'œstrus (22). Certaines chiennes pourront ainsi être saillies 2-3 jours avant le pic de LH, d'autres jusqu'à 4-5 jours après. La période fertile est d'autant plus longue que la semence est de très bonne qualité (4) (Cf. Figures 2 et 3).

Le pic de fertilité en saillie naturelle est obtenu pour des saillies ayant lieu entre 0 et 5 jours après le pic de LH; pour les inséminations artificielles en semence congelée, ce pic de fertilité est obtenu avec des inséminations réalisées 4 à 5 jours après le pic de LH (la durée de vie des spermatozoïdes décongelés étant plus courte) (22).

Bien qu'il ne soit pas toujours indispensable de définir avec précision la période de fertilisation optimale, ceci devient important si la semence du chien est peu fertile ou lorsque l'insémination est réalisée en semence congelée, afin de ne pas effectuer un accouplement trop décalé (45).

Figure 2: Répartition de la durée entre le début de l'écoulement vulvaire et l'ovulation chez 35 chiennes

Source: Tsutsui (61)

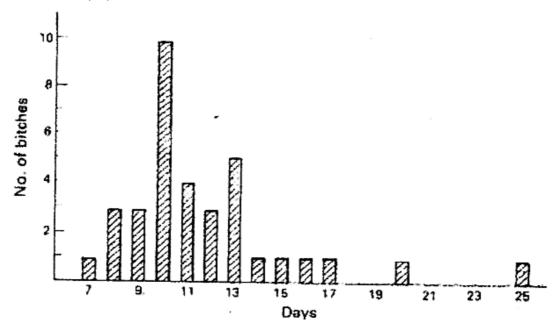
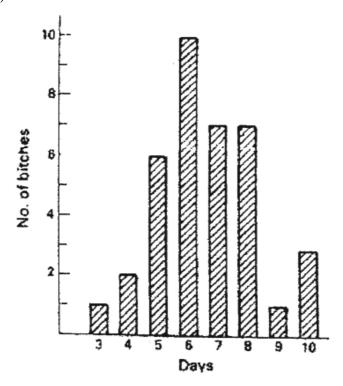


Figure 3: Répartition de la durée d'acceptation du mâle par la femelle après l'ovulation chez 37 chiennes

Source: Tsutsui (61)



2 – Méthodes de détermination du moment de l'accouplement

La période optimale pour faire saillir une chienne est loin d'être facile à repérer. Il faut pour cela prendre en compte les différents critères, plus ou moins précis, qui aident à déterminer le moment de l'ovulation, et tenir compte des paramètres physiologiques des gamètes mâles et femelles.

Pour cela, éleveurs et propriétaires s'appuient souvent sur des critères assez subjectifs et pu fiables ou pas assez précis ; des critères plus objectifs, du domaine des vétérinaires, sont désormais disponibles afin de permettre un suivi plus précis du cycle sexuel de la chienne et d'éviter les erreurs dues aux variations raciales et individuelles.

2.1 – Les différents critères utilisés en pratique

2.1.1 – Critères subjectifs

2.1.1.1 Le nombre de jours après le début des chaleurs

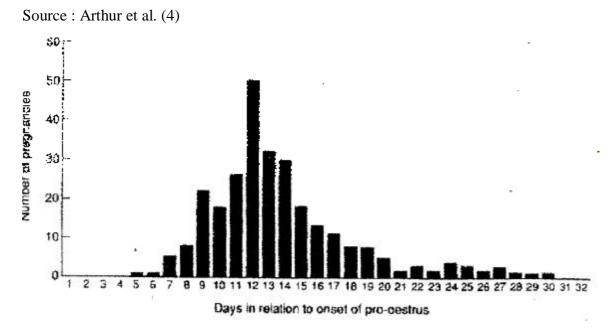
Il est courant de dire qu'une chienne est fécondable le $10^{\text{ème}}$ ou le $11^{\text{ème}}$ jour après le début des chaleurs, avec des variations allant de 10 à 15 jours. Cependant, il a été démontré que 30 à 40% des chiennes sont fécondables en dehors de cet intervalle (Cf. Figure 4).

Ainsi les chiennes dites précoces sont souvent des femelles qui commencent à perdre du sang à la commissure vulvaire quelques jours après le début réel des chaleurs, et qui apparaissent donc décalées aux yeux de l'éleveur.

A l'inverse, certaines races sont plutôt tardives et considérées comme ayant un œstrus prolongé, telles les lévriers qui sont généralement prêtes vers le 18ème à 25ème jours de leurs chaleurs, sans que cela ne soit pour autant inquiétant pour l'éleveur.

Enfin, ce critère n'est pas répétable d'un cycle à l'autre : une même chienne peut être fécondable le $16^{\text{ème}}$ jour d'un cycle et $16^{\text{ème}}$ du cycle suivant. La période optimale de saillie peut ainsi varier du $5^{\text{ème}}$ au $30^{\text{ème}}$ jour apparent des chaleurs (4).

Figure 4: Relation entre la date présumée de l'ovulation et le nombre de jours depuis le début des chaleurs chez 278 chiennes



2.1.1.2 L'acceptation du mâle par la femelle (35)

Ce critère est, pour plusieurs raisons, le plus mauvais :

- Tout d'abord, la plupart des chiennes commencent à accepter l'accouplement 2 jours avant l'ovulation, c'est-à-dire 4 à 5 jours minimum avant leur période fécondante.
- Certaines chiennes (de race Berger Allemand notamment) acceptent l'accouplement plus d'une semaine, alors que la femelle n'est fécondable que 48 heures.
- D'autres n'acceptent le mâle qu'une demi-journée sur toute la période des chaleurs
- Enfin, certaines chiennes acceptent le mâle alors qu'elles ne sont pas prêtes et le refusent au moment optimal.

2.1.1.3 L'acceptation de la chienne par le mâle (35)

Ce critère ne peut être valable qu'en présence d'un chien expérimenté effectuant régulièrement des saillies. Mais certains étalons auront tendance à saillir toute femelle qui leur sera présentée. Les mâles dominés, ma socialisés ou inexpérimentés, quant à eux, ne parviennent pas à s'accoupler au moment optimal. L'environnement semble également jouer un rôle important, et il est préférable d'amener la femelle chez le mâle que l'inverse.

2.1.1.4 L'aspect des écoulements vulvaires (35)

Les pertes vulvaires s'atténuent pendant l'œstrus, il est rare qu'une chienne prête à la saillie perde encore beaucoup de sang très coloré et foncé, mais certaines chiennes et certaines

races (par exemple les Chow-chow) perdent du sang tout au long des chaleurs, sans aucune diminution apparente au moment optimal; un tel critère es dans ce cas totalement inutile.

2.1.2 – Critères objectifs

Des techniques visant à préciser de manière plus étroite la période optimale de fécondation se sont développées depuis une quinzaine d'années.

2.1.2.1 La mesure de la résistivité du mucus vaginal

La conductance électrique du mucus vaginal se modifie au cours des chaleurs : il existe une relation entre la variation de la résistivité des sécrétions vaginales et le pourcentage de cellules kératinisées lors des chaleurs (16)(18).

La conductance augmente lors du pro-oestus, jusqu'à atteindre un maximum au moment du pic d'hormone ovulante LH. La mesure de cette conductance est prise au moyen d'une sonde (ohm-mètre) introduite au fond du vagin de la chienne en chaleurs (28).

La thèse de Clero D. de 2009 (19) montre que l'on peut détecter le moment de l'ovulation à 24 heures près dans 73% des cas si la sonde est insérée à 6,5 cm de l'entrée du vagin. Il y a parfois un décalage entre la chute de résistivité et l'ovulation réelle. Dans 5% des cas l'ovulation n'est pas détectable. Cette technique, simple, donne de bons résultats si on l'associe aux dosages de progestérone, mais nécessite l'achat d'une sonde. Cependant, elle donne des résultats moins précis que les frottis vaginaux et est peu utilisée en pratique.

2.1.2.2 Les frottis vaginaux

Les frottis vaginaux consistent à effectuer un prélèvement de cellules vaginales à l'aide d'un écouvillon introduit dans la partie antérieure du vagin, puis à l'étaler sur une lame où l'on procède à sa coloration après fixation (42)(43).

Les cellules de l'épithélium vaginal se modifient sous l'influence des hormones activées pendant les chaleurs, notamment les oestrogènes libérés lors du pro-œstrus. La kératinisation des cellules, évaluée par les frottis vaginaux, donne une image de l'imprégnation oestrogénique de la chienne.

La cytologie vaginale permet donc au praticien de déterminer approximativement le pro-æstrus, l'æstrus et de début du diæstrus, et de donner une estimation du moment de l'ovulation. L'indice éosinophilique est un bon indicateur du moment de l'æstrus, mais pas de l'ovulation (24).

Un frottis isolé est très difficile à interpréter, c'est l'évolution des frottis vaginaux qui est important, d'où la notion de suivi de chaleurs chez la chienne.

2.1.2.3 Les dosages hormonaux

Ils sont beaucoup plus précis et plus fiables pour déterminer le moment de l'ovulation que la cytologie vaginale. Ainsi, l'ovulation aurait lieu 24-96 heures après le pic d'hormone LH, la maturation des ovocytes se ferait en 48-72 heures et ceux-ci resteraient fertiles durant 24-48 heures (9).

• Le dosage de la progestérone plasmatique (32)(43)(40)

Chez la chienne, il existe une lutéinisation des follicules pré-ovulatoires, qui se mettent à sécréter de la progestérone avant que l'ovulation ne se produise. Les concentrations plasmatiques de la progestérone augmentent vers le 6éme jour du cycle et suivent une courbe avec une pente ascendante brutale autour de l'ovulation (Cf.II.2.3.1), puis atteignent un plateau à des taux élevés en une dizaine de jours.

Le taux de progestérone est relativement important dans le sang, aussi est-il facilement dosable en pratique.

• Le dosage de l'hormone LH

Cette hormone est sécrétée sous forme d'une décharge d'environ 36 heures, survenant 48 heures avant l'ovulation (24) (1 à 4 jours selon Jeffcoate et Lindsay (46)), ce qui peut être un repère de choix pour définir les dates d'insémination : la période de fertilisation survient 4 à 7 jours après le pic de LH (9)(17).

Il existe un test utilisant une technique d'immunomigration (WITNESS LH[®], Synbiotics) et permettant de repérer le pic de LH (Cf Annexe III). Cependant le protocole nécessite d'effectuer des prélèvements quotidiens en fin de pro-œstrus afin de bien détecter le pic, cela est contraignant.

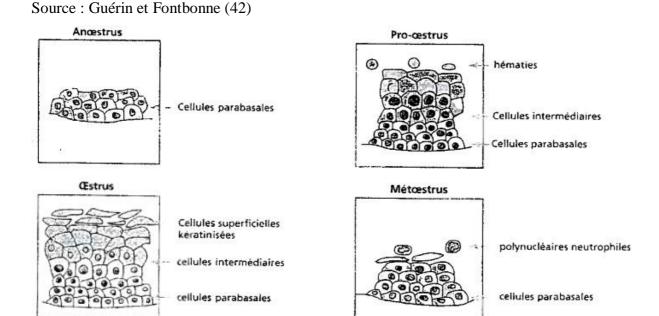
Selon Badinand et coll. (9), il semblerait que l'accroissement initial du taux de LH soit plus important que le pic de LH en lui-même.

2.2 – Frottis vaginaux

2.2.1 – Modifications cytologiques de l'épithélium vaginal

Les types de cellules visibles sur le frottis vaginal sont le résultat de l'action des oestrogènes sur l'épithélium vaginal, qui subit des modifications histologiques et cytologiques au cours du cycle sexuel (Cf. Figure 5) (16)(53).

Figure 5: Les différentes catégories de cellules au cours du cycle



Anœstrus

- Le frottis est sale et pauvre en cellules, la coloration est basophile (faible indice éosinophilique : IE≤10%) (42). Les cellules parabasales sont rondes, de petite taille et pourvues d'un noyau rond et volumineux (36).
 - Des polynucléaires neutrophiles sont présents en quantité faible à modérée.

• Pro-œstrus

- L'épithélium devient stratifié. Les cellules superficielles deviennent kératinisées.
- En début de pro-œstrus, le nombre de cellules augmente : les cellules parabasales disparaissent au profit des cellules intermédiaires basophiles (Cellules de grande taille, polygonales et possédant un noyau proportionnellement plus petit) ; la kératinisation des cellules se traduit par un début de coloration acidophile du frottis. Celui-ci prend un aspect sale en relation avec la présence de débris cellulaire et de mucus.

- En milieu de pro-œstrus, le frottis est sale et riche en cellules : le nombre de cellules intermédiaires non kératinisées diminue, celui de cellules superficielles à noyau pycnotique augmente (IE=50%).
- En fin de pro-œstrus, le frottis est assez propre, riche en cellules : les cellules vaginales sont essentiellement des cellules superficielles kératinisées à aspect anguleux et corné, à noyau pycnotique ou anucléés (IE>70%).
- Les polynucléaires neutrophiles, initialement présents en faible quantité, diminuent progressivement et sont absents en fin de pro-œstrus.
- Les érythrocytes sont nombreux durant toute cette période, traduisant les pertes vulvaires hémorragiques.

Œstrus

- La kératinisation est maximale ; 60-90% des cellules sont anguleuses, de coloration acidophile (IE≥80%) et prennent un aspect en pétale de maïs ; elles possèdent un noyau pycnotique ou en sont dépourvues ; ces cellules dites superficielles ont tendance à se regrouper. Cet aspect en amas est caractéristique du frottis vaginal en période d'œstrus ; il persiste 4 à 5 jours, puis les cellules se dispersent. Le fond du frottis est propre.
- En fin d'œstrus les cellules intermédiaires réapparaissent avec les polynucléaires neutrophiles. Les érythrocytes peuvent être absents, en faible quantité ou nombreux : ils n'ont pas de signification clinique.

Métœstrus

- En 24 à 48 heures les cellules disparaissent et sont remplacées par de nombreuses cellules intermédiaires puis parabasales, basophiles (IE≤20%).
 - Les polynucléaires neutrophiles affluent massivement à la fin de l'æstrus (36).

2.2.2 – Réalisation et lecture du frottis

2.2.2.1 Réalisation d'un frottis

• Le prélèvement

Le prélèvement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile de 15 centimètres de long légèrement humidifié avec du sérum physiologique afin de récolter plus de cellules. Celui-ci est introduit dans la vulve, d'abord verticalement puis progressivement basculé à l'horizontale et enfoncé jusqu'au milieu du vagin. Après quelques mouvements de rotations, il est retiré lentement vers l'arrière.

Le prélèvement est étalé sur une lame propre en roulant l'écouvillon ; on réalise ainsi 3 voire 4 lignes parallèles (Cf. Annexe IV).

• Fixation et coloration

Le frottis est immédiatement fixé par de l'alcool à 70° ou par un mélange alcool-éther, puis coloré.

La méthode trichrome de Harris-Shorr (Cf. Annexe IV) utilisée au CERCA permet de différencier les cellules selon leurs affinités tinctoriales : les cellules kératinisées acidophiles apparaissent en rouge-orange, et les basophiles en bleu (Cf. Figure 6). On peut ainsi calculer l'index éosinophilique ou index de kératinisation (pourcentage de cellules kératinisées).

La coloration au May-Grünwald-Giemsa (MGG) permet de bien visualiser les hématies et les polynucléaires, mais ne permet pas de calculer l'index éosinophilique.

2.2.2.2 Lecture

A l'examen macroscopique l'aspect de l'écouvillon peut apporter une indication rapide (36)(42) : un écouvillon rose ou rouge est caractéristique de la chienne en chaleurs, probablement en pro-æstrus. Si l'écouvillon est marron « sale », la chienne entre en métæstrus (nombreux polynucléaires sur le frottis). Si l'écouvillon est très propre : la chienne peut être en æstrus comme en anæstrus, on ne peut pas conclure.

A l'examen microscopique l'observation se réalise en deux temps. Au grossissement 100 pour déterminer la coloration dominante, le nombre de cellules, leur regroupement ...et au grossissement 400 pour identifier les cellules observées (couleur, taille, forme, aspect du noyau) et calculer l'index éosinophilique.

petite cellule intermédiaire cellules novau rond de la fosse taille variable, (en général deux fois clitoridienne plus grande que les cellules parabasales), formes ronde, ovale ou angulaire. cellule superficielle les cellules cellule parabasale sans noyau superficielles - forme ronde. - ratio cellule sont noyau large, noyau cytoplasme superficielle les plus grandes les plus petites cellules plus élevé que cellules à noyau les cellules intermédiaires. épithéliales présentent pycnotique épithéliales. sur le frottis vaginal. cytoplasme basophile (bleu) Les bords . des cellules cellule superficielle sont plats cellule parabasale en colonne avec silhouette ou plies. (cellules longues à noyaux excentrés) nucléaire cellules caractéristiques du métæstrus grande cellule intermediaire : plus grande que les cellules parabasales et intermédiaires. cellules lysées noyau d'aspect semblable, - contours anguleux, cytoplasme acidophile globules rouges ou basophile selon le stade des chaleurs de la chienne. polynucléaires

Figure 6: Les cellules du frottis vaginal en coloration de Harris-Shorr

Source: Mialot et al. (50)

2.2.3 – Intérêts et limites

Les frottis vaginaux sont simples à réaliser et peu onéreux. La lecture du frottis reste cependant un caractère subjectif, et on observe souvent des discordances entre l'image du frottis et le stade réel du cycle de la chienne (41). Les frottis vaginaux s'avèrent être de bons indicateurs du déroulement des chaleurs, mais sont insuffisants pour la détermination de la période ovulatoire; leur utilisation reste donc indissociable des dosages de progestérone (53)(64).

2.3 – Dosage de la progestérone

La mesure de la progestéronémie, effectuée tous les deux jours, fournit une indication précise sur une ovulation imminente.

2.3.1 – Evolution de la progestéronémie au cours du cycle

Le taux plasmatique de cette hormone passe de moins de 1 ng/mL (valeur de base inférieure à 0,5 ng/mL selon l'étude (43) lors de l'anœstrus et du pro-œstrus à une valeur comprise entre 2 et 4 ng/mL (1 à 2,5 ng/mL selon Fontbonne (32)) au moment du pic de LH.

Au moment de l'ovulation, le taux de progestérone sanguine s'élève significativement jusqu'à des valeurs atteignant 4 à 10 ng/mL. On considère que l'ovulation a bien lieu lorsque la valeur seuil minimale a été dépassée, ou lorsque la concentration de progestérone plasmatique atteint $5,44 \pm 0,93$ ng/mL par la technique de radio-immunoassay (15), $4,9 \pm 1,0$ ng/mL par le kit de progestérone ELISA selon Bouchard (1991)(15).

L'ovulation estimée grâce à un suivi échographique associée à des dosages très réguliers de progestérone est de $6,12 \pm 2,12$ ng/mL.

Après l'ovulation, le taux de progestérone continue d'augmenter. Une valeur de 15 ng/mL semble suffisante pour maintenir une gestation, et celui-ci s'élève généralement audelà de 50-80 ng/mL dans un délai de 4 à 20 jours (32).

Selon Guérin (41)(43), le profil général de la courbe est constant pour 83% des chiennes. La progestéronémie est donc un témoin fiable de l'ovulation.

2.3.2 – Réalisation pratique

Les prélèvements sanguins sont effectués tous les deux à trois jours. On prélève du sang à la jugulaire, voire à la veine céphalique ou saphène externe, sur tube hépariné. Le sang est ensuite centrifugé et l'on récupère le plasma.

Il existe plusieurs méthodes pour la mesure de cette hormone (3)(41) :

- Un kit quantitatif destiné à mesurer les concentrations plasmatiques de progestérone chez les bovins, utilisant un test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) fut utilisé chez la chienne (OVUCHECKND, Eurobio). Il permet des mesures au-delà de valeurs témoins, avec une fiabilité excellente, mais nécessite un appareil de lecture optique pour lequel il faut

comparer les valeurs obtenues avec les valeurs d'un laboratoire de référence, pour bien interpréter les résultats.

Bien que rapide à interpréter et demandant peu d'entraînement, le temps requis pour la procédure et l'équipement rendent cependant cette technique peu abordable pour les cliniques vétérinaires traitant peu de cas de reproduction (15).

- Plus récemment, des kits de tests ELISA qualitatifs rapides (ou semi-quantitatifs) ont été développés (PREMATEND, Vétoquinol), produisant un changement de couleur lors du passage d'une progestéronémie de base à une progestéronémie élevée signalant l'imminence de l'ovulation. L'échantillon à doser est comparé à deux plasmas témoins, correspondant au début de l'augmentation du taux de progestérone (moment du pic de LH) et à la valeur seuil supérieure du moment de l'ovulation (10 ng/mL). On procède au premier accouplement 24 à 48 heures après le franchissement de cette valeur. Ce test est très utile en pratique courante et représente une bonne alternative entre les deux autres méthodes.

Enfin, actuellement on dose la progestérone par des tests radio-immunologiques. La valeur de la progestéronémie prise comme témoin de l'ovulation est estimée à 5,44 ng/mL (43).

2.3.3 – Intérêts et limites

En pratique, en raison du coût des dosages de la progestérone, on utilise cette méthode conjointement avec les frottis vaginaux. Il est ainsi inutile de débuter les dosages tant que la chienne est encore en pro-œstrus ; de même, la mesure du taux de progestérone ne permettant pas de déterminer la fin de période de fécondabilité, un frottis vaginal montrant des signes avant-coureurs de métœstrus et un taux de progestérone élevé indiquent que la chienne n'est probablement plus fécondable.

La période optimale de fécondité survenant après la phase de maturation, il peut être utile de poursuivre le suivi de l'évolution de la progestérone au-delà de 10 ng/mL; en pratique, en raison de la survie assez longue des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles, le premier accouplement ou insémination peut se produire lorsque le dosage indique des valeurs supérieures à 15-20 ng/mL, et renouvelé 48 heures plus tard (32)(41)(43).

En routine, on réalise en moyenne deux à quatre dosages de progestérone par suivi de chaleurs (41).

Le dosage de progestérone devient incontournable lors (40) :

- de chaleurs discrètes ou silencieuses
- de l'utilisation de l'insémination artificielle : en semence fraîche (comportement anormal des lices (agressivité) ou des étalons (saillies intempestives)) ou en semence réfrigérée ou congelée (éloignement des deux reproducteurs...)
- d'anomalies du cycle : chiennes ayant été mises à la saillie à des dates traditionnelles et ne remplissant pas (40% des chiennes n'ovulent pas dans la fourchette de dates habituelles de 10-15 jours)
- de la reproduction de races où la césarienne est quasi-inévitable, afin de prévoir la date de l'intervention.

2.4 – Relation avec le pic de LH (Luteinising Hormone)

Le dosage de la concentration plasmatique de LH apparaît comme le meilleur indicateur de l'ovulation selon Wright (64). L'ovulation se situe en moyenne 48 heures après le pic de LH. Seulement cette méthode est très astreignante et nécessite un minimum de 2 prises de sang par jour très tôt dans le cycle. De plus ce dosage très spécifique est peu disponible et coûteux. C'est pourquoi le dosage de la progestérone émis est utilisé comme indicateur de l'ovulation. Si on se base sur la survenue du pic de LH, la période optimale d'insémination se situe approximativement le 4ème jour après le pic d'après Shimasu et al. (53).

2.5 – L'échographie ovarienne

L'échographie ovarienne nécessite l'utilisation d'échographes perfectionnés (avec des sondes de 7,5 à 12 MHz). Elle demande une technicité importante de la part de l'échographiste et surtout, n'est réalisable que sous la forme d'un suivi échographique et d'examens rapprochés. Le jour de l'ovulation peut ainsi être déterminé de manière précise mais nécessite un suivi journalier par échographie (36). En effet l'aspect d'un follicule préovulatoire est très proche d'un corps jaune en début d'évolution, d'où la nécessité d'échographier tous les jours. La figure 7 montre la position de la chienne pour réaliser cet examen.

Figure 7: Technique d'échographie ovarienne

Source: Fontbonne A.®



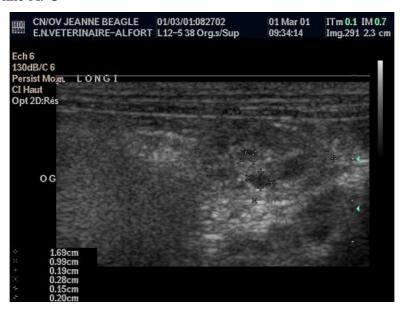
Les ovaires sont situés en position sous lombaire au niveau de la 3^{ème} ou 4^{ème} apophyse transverse lombaire, en regard du pôle crânial du rein (l'ovaire droit étant plus crânial que le gauche) et en contact avec la paroi abdominale. Les ovaires sont donc très superficiels.

En anœstrus les ovaires sont difficiles à observer.

Au début des chaleurs apparaissent de petits follicules de 2 à 3 mm (21). (Cf. Fig. 8).

Figure 8: Ovaire en præstrus

Source: Fontbonne A. ©

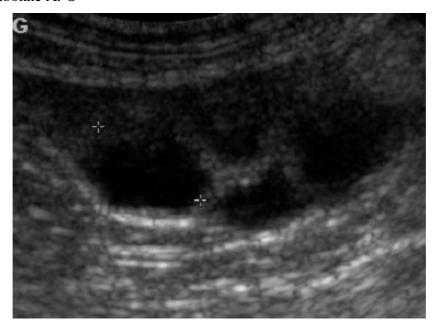


Les structures folliculaires ne sont pas encore bien délimitées et ont un aspect flou.

En période pré-ovulatoire, la paroi de l'ovaire est très fine et les follicules sont de grande taille environ 5 mm (21). (Cf. Figure 9 ci-dessous)

Figure 9: Ovaire en période pré-ovulatoire

Source: Fontbonne A. ©

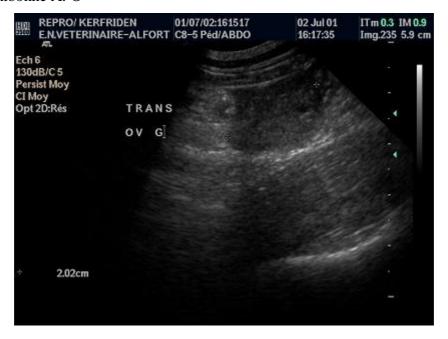


La paroi, très fine, donne une image à l'échographie appelée en « nid d'abeille » (en rapport à la ressemblance avec les alvéoles fabriquées dans la ruche, les follicules sont de grandes tailles : 6 à 9 mm (21).

Lorsque l'ovulation a eu lieu, on remarque la disparition de certaines cavités folliculaires. Le plus fréquemment, tous les follicules n'ovulent pas. Parfois on observe la présence de liquide intra folliculaire entre l'ovaire et la bourse ovarique. On est alors très proche de l'ovulation. (Cf. Figure 10)

Figure 10: Ovaire post-ovulation: disparition des follicules

Source: Fontbonne A. ©



Les follicules ont libéré les ovocytes et ne sont donc plus visibles.

Après ovulation, les corps jaunes sont visibles (paroi un peu plus épaisse).

L'échographie ovarienne est très intéressante pour détecter avec précision la date d'ovulation lors d'insémination en semence congelée (21).

2.6 – Endoscopie vaginale

L'examen par endoscopie permet d'observer l'aspect de la muqueuse vaginale au cours du cycle (56). La figure 11 est une photo d'une partie de l'endoscope, avec à gauche la partie introduite dans le vagin.

Figure 11: Appareil d'endoscopie vaginale

Source: Fontbonne A. ©



En effet les contours, les secrétions présentes, et la couleur de la muqueuse sont modifiés au cours du cycle.

En anœstrus cette méthode est déconseillée. En effet, la muqueuse est alors fragile et friable et facilement traumatisable par l'endoscope. Celle-ci est alors rose et lisse.

Lors du prœstrus, la muqueuse est œdématiée, rose, recouverte de sérosité et de sang. La lumière du vagin est réduite. (Cf. Figure 12 ci-dessous).

Figure 12: Muqueuse vaginale lors du præstrus vue par endoscopie

Source: Fontbonne A. ©



Lors de l'œstrus : La muqueuse est rosée, plissée (plis profonds) et la lumière vaginale est nette. (Cf. Figure 13 ci-dessous)

Figure 13: Muqueuse vaginale lors de l'æstrus vue par endoscopie

Source: Fontbonne A. ©



Lors du métœstrus : la muqueuse est rose et peu plissée.

En reproduction, l'endoscopie vaginale est très intéressante dans le suivi de chaleur et l'insémination. Elle permet l'observation des plis vaginaux et une insémination intra-utérine plus aisée. En effet, elle permet de visualiser directement l'ostium lors de l'insémination et est une méthode plus facile à maîtriser.

En projetant l'image de l'endoscope sur un écran, le propriétaire peut vérifier par luimême nos manipulations.

Cette technique permet de donner des indications sur le déroulement des chaleurs mais ne donne pas une évaluation précise du moment de l'ovulation.

3 – L'insémination artificielle canine : matériels, méthodes et résultats

Trois types d'inséminations sont regroupés sous le terme d'insémination artificielle : insémination en semence fraîche, insémination en semence réfrigérée ou insémination en semence congelée (35)(62).

3.1 – Récolte du sperme

La première étape est celle de l'examen du chien à prélever : tout d'abord général, celui-ci sera poursuivi par un examen andrologique approfondi : scrotum, testicules, épididymes, prostate, pénis et fourreau seront examinés avec soin. On veillera à ne pas prélever qu'un mâle en bonne santé et sans troubles apparents des organes reproducteurs.

La récolte du sperme nécessite l'utilisation de cônes de prélèvement en caoutchouc faisant office de vagins artificiels, adaptés à des tubes en plastiques stériles et incassables à usage unique de 15 mL. Ils seront posés sur un porte-tube préchauffé après récolte ; le prélèvement s'effectuant à l'aide de gants à usage unique qui évitent les infections zoonotiques comme la Brucellose pour le manipulateur (Cf. Annexe V).

Plusieurs cônes sont utilisés afin de fractionner le prélèvement selon les phases de l'éjaculat. L'insémination artificielle nécessite du matériel propre, voire stérile, dénué de tout pouvoir spermicide.

Après un contrôle qualitatif et quantitatif (62), celui-ci est réfrigéré, congelé ou inséminé directement, le plus rapidement possible, la durée de conservation des spermatozoïdes à température ambiante sans apports d'éléments nutritifs étant très limitée.

Selon le type d'insémination, le volume conservé varie : pour une insémination en semence fraîche, on ajoutera à la phase spermatique un volume variable de fraction prostatique ; pour une insémination en semence réfrigérée ou congelée, seule la fraction spermatique est conservée et diluée dans un milieu de conservation.

3.2 – Techniques d'insémination

Il existe deux manières pour inséminer : par voie intra-vaginale ou intra-utérine (7)(58).

3.2.1 – L'insémination par voie intra-vaginale

On utilise une sonde à usage unique en plastique souple, munie d'un petit ballonnet gonflable à son extrémité distale : le pistolet « Osiris » (50). Ce dispositif mime le gonflement des bulbes érectiles lors de la saillie, stimulant ainsi le péristaltisme vaginal ; il empêche de plus le reflux de la semence (Cf. Figure 14).

La sonde est introduite à la commissure vulvaire supérieure, verticalement, jusqu'au pli dorso-médian du vagin. Le ballonnet est alors gonflé pour garantir le maintien en place de la sonde. La semence est injectée grâce à une seringue ; l'animal est maintenu en position de brouette pendant une dizaine de minutes de façon à accélérer la pénétration des spermatozoïdes au travers du col de l'utérus par gravité (Cf. Figure 15). L'injection de 2 ou 3 mL d'air permet de vider totalement la sonde en fin d'injection. Celle-ci est ensuite retirée après dégonflement du ballonnet. La chienne est ensuite gardée au calme en évitant qu'elle n'urine pendant deux heures.

Figure 14: Pistolet Osiris : détail des différents composants

Source: Mialot et al. (50)

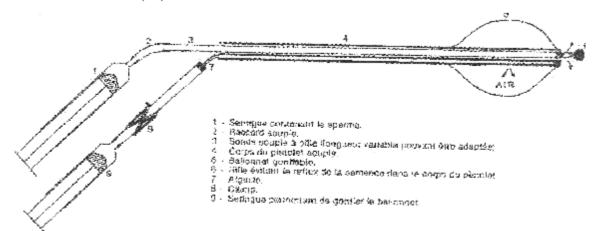
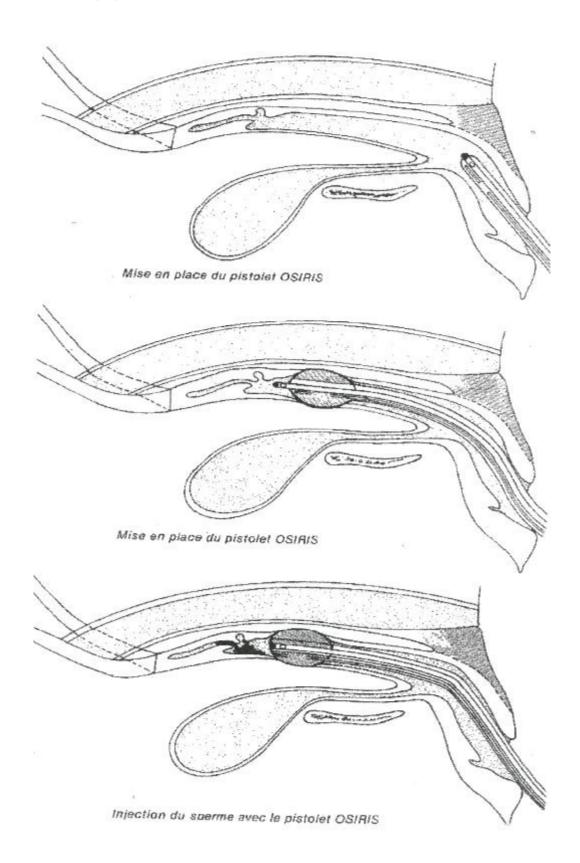


Figure 15 : Insémination intra-vaginale avec le pistolet souple Osiris

Source: Mialot (50)



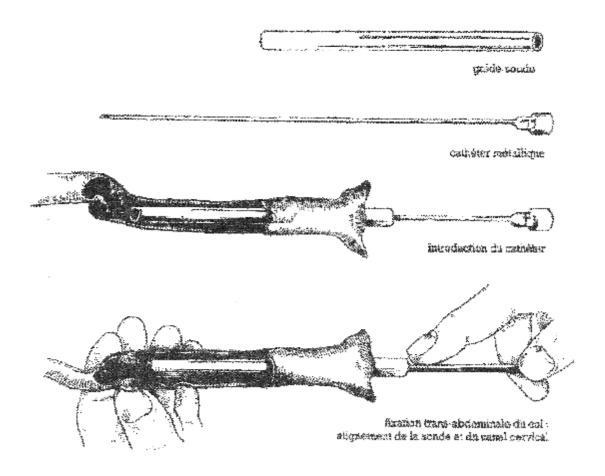
3.2.2 – L'insémination par voie intra-utérine

Elle est particulièrement intéressante pour la semence congelée, dont le pouvoir fécondant n'est maintenu que 12 à 24 heures. Il existe trois techniques : la technique scandinave ou norvégienne, la technique par endoscopie et la technique chirurgicale. Cette dernière peut se faire par laparoscopie (37) ou laparotomie et nécessite l'anesthésie générale.

La technique scandinave nécessite peu de matériel : le cathétérisme du col utérin se fait à l'aide d'un spéculum cylindrique creux en plastique rigide permettant de repérer le col et d'introduire la sonde intra-utérine métallique à l'extrémité mousse stérile (Cf. Figure 16). Cette technique est difficile à réaliser, le franchissement du col étant un obstacle dans cette espèce : le vagin est profond et courbé dorso-ventralement et le col utérin est accompagné postérieurement d'un repli du plafond vaginal de taille importante, qui détermine avec le plancher du vagin un « pseudo-cervix » (2)(23)(41). Pour la réalisation de cette technique, la chienne doit être très calme, ou au préalable tranquillisée, sans se coucher, afin d'obtenir un relâchement de l'abdomen facilitant le maintien du col par palpation trans-abdominale.

Figure 16: L'insémination intra-utérine par technique scandinave

Source: Guérin (41)



L'endoscopie permet de cathétériser le col utérin avec une sonde d'insémination, en visualisant le col au moment de l'insémination. L'endoscope (Cf. Figure 11) est introduit dans le vagin, et permet à l'opérateur de bien contrôler ses manipulations. La portion vaginale du cervix apparaît comme un tubercule distinct du pli dorso-médian, situé légèrement plus ventralement. L'orifice du col de l'utérus se trouve au centre d'une rosette dans la plupart des cas. Le cathéter est introduit dans l'ostium, puis poussé dans le canal cervical avec un mouvement de rotation. Il faut l'avancer le plus crânialement possible, mais sans forcer pour ne pas léser la muqueuse utérine qui est très fragile. La semence est inséminée lentement en gardant en vue le cathéter pour s'assurer qu'il n'y ait pas de reflux vaginal de semence. Si c'est le cas, la sonde peut être repositionnée. Il est conseillé d'insuffler ensuite une petite quantité d'air dans le cathéter pour vider complètement la sonde d'insémination (56)(63).

Ces techniques, bien qu'augmentant de manière sensible le taux de fertilité (15 à 20%) et la prolificité (plus d'un chiot par portée)(27) restaient lourdes et difficiles à réaliser en pratique courante et n'étaient pas utilisées à Alfort jusqu'en 1998. Depuis l'arrivée d'Alain Fontbonne au CERCA en septembre 2000, l'insémination intra-utérine par voie transcervicale a commencé à être pratiquée couramment (37). Actuellement cette méthode est tentée à chaque insémination, soit par sonde scandinave soit par endoscopie.

3.3 – Indications des différents modes d'insémination

Elles varient selon le mode d'utilisation du sperme (6)(10)(30)(35)(41)(39).

3.3.1 – L'insémination en semence fraîche

Le prélèvement est réalisé en présence de la chienne en chaleurs ou au pire eu présence d'un linge imprégné de son odeur. Après examen rapide, la semence est directement utilisée, sans autre préparation, dans un délai de 15 minutes (2) ; cette méthode ne permet qu'une seule insémination par éjaculat.

Elle peut être réalisée pour des raisons :

- comportementales : jeunes mâles inexpérimentés et maladroits, femelles dominantes et agressives envers le mâle dans certaines races (Chow-chow, Rottweiller), absence de libido de certains mâles (Molosses, Retrievers, Yorkshire).
- anatomiques : lésions vulvaires ou vaginales (tumeurs, ptose vaginale, vaginite ou vulvite, eczéma vulvaire ou périvulvaire...)(28), malformations (brides vaginales, sténose du vagin, septum vaginal) ou malpositions de la vulve (vulve atrésique des Colley, vulve barrée des Berger Picard), fracture ancienne de l'os pénien chez le mâle, douleurs articulaires de la colonne ou du bassin chez les animaux plus âgés, disproportion de format et de poids entre le mâle et la femelle (Brachycéphales (47) : Bulldog anglais, Mâtin de Naples, Mastiff), présence de longs poils sur l'arrière train de certains terriers et le Bobtail.
- sanitaires : contamination vénérienne de l'herpès virose (protection du mâle).

3.3.2 – L'insémination en semence réfrigérée

La semence de l'étalon est prélevée dans les heures ou les jours précédant la date d'insémination déterminée par le suivi de chaleurs de la chienne (33). La phase spermatique de l'éjaculat est diluée dans un milieu de conservation qui maintient le pouvoir fécondant des spermatozoïdes durant quelques jours : éléments tampons et nutritifs, antibiotiques et un cryoprotecteur (jaune d'œuf ou lait écrémé) qui protège les spermatozoïdes du choc thermique lors du refroidissement entre l'air ambiant et + 4°C. La semence est conditionnée dans un emballage isotherme (type bouteille thermos) et rapidement expédiée sous 24 heures (37) ou 48 heures (35).

Ses principales indications sont :

- l'éloignement géographique entre les deux reproducteurs
- doubler une insémination en conservant une partie de l'éjaculat au réfrigérateur lorsque le mâle donneur ne peut se déplacer
- l'existence d'une barrière sanitaire entre deux pays.

3.3.3 – L'insémination en semence congelée

Elle peut être pratiquée par des vétérinaires agrées mais les trois seules structures habilitées par le ministère de l'agriculture à conserver la semence des étalons en France sont le CERCA (Centre d'Etudes en Reproduction des CArnivores) à l'ENVA, le CERREC (Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et Elevage des Carnivores) à l'ENVL et le CIAC (Centre d'Insémination Artificielle Canine) à l'ENVN.

Les étalons sont prélevés en présence d'une chienne en chaleurs. La phase spermatique du sperme est diluée dans un milieu synthétique tamponné contenant du glycérol (protection des spermatozoïdes durant la congélation en évitant l formation de cristaux de glace à l'intérieur des spermatozoïdes et en leur apportant des nutriments nécessaires à la reprise de leur métabolisme lors de la décongélation). Le sperme est progressivement refroidi : de la température ambiante à 4°C ; puis jusqu'à -70°C dans les vapeurs d'azote ; puis à -196°C dans l'azote liquide. La semence se conserve quasi infiniment, sous forme de paillettes de 0.25 mL, 0,5 mL ou 1 mL, ou de pastilles.

Ses indications majeures sont (en raison du coût de la méthode) essentiellement génétiques :

- échanges internationaux, pour lesquels la durée d'acheminement du sperme dépasse 48 heures. L'autonomie des conteneurs pour la semence congelée est d'environ 1 semaine.
- barrière sanitaire imposant une quarantaine.
- indisponibilité d'un étalon de grande valeur génétique : maladie, exportation, accident, décès.
- sauvegarde de races à faible effectif en gardant une variabilité génétique et conservation du patrimoine génétique.

- retrempe : utilisation sur une lice de la semence de ses ascendants en vue de maintenir les caractères d'une lignée et la diversité génétique d'une race.

Cette méthode vise donc à l'amélioration des races et forme une véritable « épargne génétique ». Cependant, le sperme du chien étant relativement pauvre en spermatozoïdes et un certain nombre d'entre eux étant tués lors de la congélation, l'insémination en semence congelée ne permet pas de disséminer le potentiel génétique d'un chien comme c'est cas pour les bovins. Un éjaculat congelé de chien ne permet d'inséminer q'une ou deux chiennes.

3.4 – Résultats comparés

Après accouplement naturel, le taux de mise-bas est de 92%, d'après Million (51).

Lorsque le protocole de suivi des chaleurs et de technique d'insémination a été correctement suivi, les résultats de l'insémination en semence fraîche sont excellents, de 95 à 98% d'après Mimouni et Dumon (52), 87% d'après Nizanski (54), et 85% d'après Million (51). D'après Linde-Forsberg (48) et (49), il est seulement de 48 % après insémination intravaginale, et de 62 à 65% après insémination intra-utérine. La prolificité est de l'ordre de 5.7 chiots (43).

L'insémination en semence réfrigérée donne également d'excellents résultats, le taux de mise-bas après insémination artificielle est identique à celui obtenu en semence fraîche, si l'insémination est effectuée dans les deux jours suivant la récolte de la semence. Puis le taux de mise-bas diminue jusqu'à être nul au-delà de quatre jours après la récolte (Million (51); Mimouni et Dumon (52)). D'après Linde-Forsberg (48) et (49), le taux de mise-bas après insémination intra-vaginale est de 45%, alors que le taux de mise-bas après insémination intra-utérine est de 65%. Au vu de ces bons résultats et des possibilités d'éloignement qu'elle offre, elle est la technique d'avenir pour les éleveurs.

Pour l'insémination en semence congelée, les résultats atteignent 55% selon Bartolo (12), 50% selon Bénéchet (13). Le taux de mise-bas après insémination intra-vaginale est de 30 à 40% d'après Mimouni et Dumon (52), 35 à 37% d'après Linde-Forsberg (48) et (49) et 10% d'après Thomassen et al. (60). Par contre, le taux de mise-bas après insémination intra-utérine est de 60 à 65% d'après Mimouni et Dumon (52), 52 à 55% d'après Linde-Forsberg (48) et (49) et 75% d'après Thomassen et al. (60).

Etant donné la plus courte durée de vie de la semence congelée dans les voies génitales femelles, il est préférable de pratiquer cette insémination en fin d'æstrus (2) en déterminant le plus précisément possible le moment optimal par le dosage de la progestérone (29)(Cf. II.2.3).

DEUXIEME PARTIE: Evolution du CERCA de 1990 à 2008

I - Le CERCA

1 - Présentation

Avec le CERREC (ENVL) et le CIAC (ENVN), le CERCA (Centre d'Etudes en Reproduction des CArnivores), situé à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, est l'un des trois centres en France consacrés à la fertilité des carnivores domestiques et à l'amélioration des résultats par l'utilisation de l'insémination artificielle.

1.1 – Historique

Le CERCA fut à l'origine créé par le Professeur Théret en 1981 sous la dénomination de Banque de semence Canine, et était alors la seule structure française habilitée à récolter et à conserver la semence des chiens de races.

En 1989, ses domaines d'activités s'élargissent au suivi de la reproduction de la chienne, et il prend la dénomination CERCA.

En 1991, le dosage de la progestérone est utilisé pour le suivi des chaleurs, par la méthodes de dosage ELISA (OVUCHECK $^{\rm ND}$).

En 1996, le CERCA est intégré dans l'UMES (Unité de Médecine de l'Elevage et du Sport), dirigé par le Dr Dominique Grandjean.

En septembre 2000, Alain Fontbonne en prend la responsabilité, de retour de l'ENVL où il avait créé le CERREC.

1.2 – Clientèle

Les chiens et les chiennes présentés à la consultation au CERCA sont pour la plupart inscrits au LOF (seuls admis pour la congélation du sperme) et appartiennent essentiellement à des éleveurs (amateurs et professionnels) résidant en région parisienne.

Le dosage de la progestérone sur prélèvement sanguin et l'insémination en semence réfrigérée ou congelée ne nécessitent pas obligatoirement le déplacement du propriétaire au CERCA, qui reçoit chaque jour de nombreux prélèvements par colis postal.

1.3 – Services proposés

Le CERCA assure une optimisation de la reproduction. Les consultations sont variées, allant du simple suivi physiologique aux problèmes d'ordre pathologique. Voici une liste non exhaustive des motifs de consultation :

Pour les femelles :

- Suivi d'ovulation (frottis vaginal, dosage, échographie ovarienne, hospitalisation)
- Insémination artificielle

- Diagnostic de gestation
- Suivi de phase lutéale (dosage, supplémentation hormonale)
- Césarienne programmée
- Consultation pour infertilité (échographie, endoscopie vaginale, dépistage de maladies sexuellement transmissibles telles que la Brucellose canine ou l'Herpès Virose Canine, bactériologie vaginale et utérine)

Pour les mâles:

- Prélèvement et contrôle du sperme
- Conditionnement et/ou conservation du sperme
- Consultation pour infertilité

A ces consultations s'ajoute la permanence téléphonique assurée par l'équipe du CERCA tout au long de la journée. Les vétérinaires, les éleveurs, et les clients trouvent ainsi les conseils et informations dont ils ont besoin.

Enfin, le CERCA assure aussi une partie des consultations de pathologie de la reproduction et la formation des élèves vétérinaires.

1.4 – Documents employés

Pour chaque nouvel animal, le CERCA ouvre un dossier papier où sont consignés les dates et motifs des consultations, compte-rendu et résultats d'analyses. Depuis la création jusqu'en 2006 étaient aussi ajouté les fiches de suivi de chaleurs complétées à la main. Depuis juin 2006 ces fiches sont informatisées (Cf. Annexe I). Sur ces fiches sont inscrits les observations des frottis, les résultats des dosages de la progestérone, les résultats des échographies et le mode d'insémination (saillie naturelle ou insémination artificielle).

Les résultats de la fécondation (mise bas, nombre de chiots nés vivants ou morts, malformation...) sont plus difficiles à connaître puisque le CERCA n'est pas présent lors de la mise bas. Jusqu'en 2006 un questionnaire était envoyé aux propriétaires des lices (Cf. Annexe I).

2 - Protocole des suivis de chaleurs et inséminations artificielles

2.1 – Protocole des suivis de chaleurs

Le personnel du CERCA applique théoriquement le protocole suivant (Cf. Figure 17) : en considérant le premier jour des écoulements vulvaires comme le premier jour des chaleurs, on réalise un frottis vaginal vers le 5ème ou 6ème jour des chaleurs. En fonction de l'aspect du frottis évoquant un pro-œstrus ou un œstrus, on procède soit à un nouveau frottis 2 jours plus tard, soit à un dosage de la progestérone. Cependant, celui-ci a tendance à se généraliser et est effectué quasi-systématiquement, sans tenir compte du frottis vaginal. Ce dosage fut réalisé jusqu'en 1995 par le test de mesure quantitative OVUCHECKND; depuis 2000 il est effectué par un automate de dosage de la progestérone (ELECSYS, Roche diagnostics).

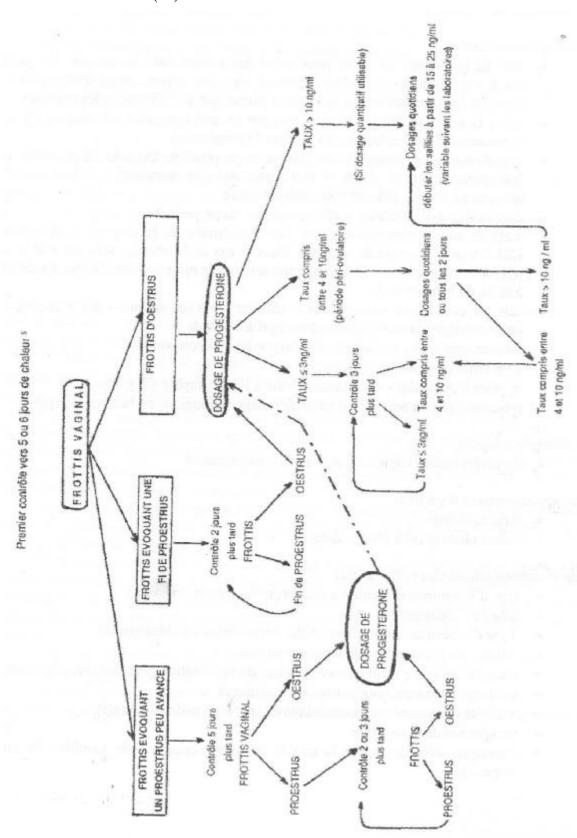
2.2 – Protocole des inséminations artificielles

Le CERCA pratique l'insémination par voie intra-vaginale ou par voie intra-utérine. Cette dernière voie est utilisée dès que possible et systématiquement lors d'insémination artificielle en semence congelée. La technique norvégienne est majoritairement utilisée mais l'endoscopie est de plus en plus employée. Depuis 2001, sur chaque chienne devant être inséminée, une insémination par voie intra-utérine est systématiquement tentée. La chienne peut être tranquillisée ou non et en cas d'échec la voie intra-vaginale est utilisée.

Les vétérinaires du CERCA utilisent soit de la semence fraîche lorsque le mâle est présent, soit de la semence réfrigérée envoyée par le vétérinaire ayant prélevé le mâle, soit de la semence congelée gardée sur place ou reçue d'un autre centre.

Figure 17: Protocole d'un suivi de chaleurs chez la chienne

Source: Fontbonne A. (32)



II – Résultats de 1990 à 2002

Cette partie fait le rappel des résultats des trois thèses précédentes. Elles portent toutes le même titre, seules les périodes d'études changent :

Dans la thèse de 1996, L. Cathenoz et C. Marsan ont étudié la période de 1990 à 1993 ; dans la thèse de 2001, F. Doucet et C. Vannimenus ont étudié la période de 1994 à 1998 et dans la thèse de 2004, A. Bartolo a étudié la période de 1999 à 2002.

Nous n'évoquons ici que les résultats les plus marquants.

1 – Les critères de choix des dossiers inclus dans les études

La thèse de 1996 n'avait gardé que les suivis de chaleurs suivis d'une saillie ou d'une IAF, 381 dossiers avaient été étudiés.

La thèse de 2001 avait gardé tous les suivis de chaleurs suivis d'une décision (pas de saillie, saillie naturelle ou IA), le nombre de dossiers gardés était de 1135.

Enfin la thèse de 2004 avait gardé tous les suivis de chaleurs des chiennes venus pendant la période d'étude. Il y avait 1649 dossiers. On note que les critères ont évolués : les IAC et IAR ont été incluses sur les deux dernières thèses. Le nombre de dossiers étudiés reflète de plus en plus le nombre de suivi de chaleurs réellement effectuées par le CERCA.

2 - Les résultats de reproduction

2.1 – Fertilité

2.1.1 – Fertilité en fonction de l'âge

La thèse de 1996 ne trouve pas de différence significative pour toutes les chiennes de moins de 8 ans. Pour la thèse de 2001 il y a une différence entre les chiennes de 1 an qui ont une fertilité de 89%, les chiennes de 7 ans et plus qui ont une fertilité de 54% et les chiennes entre 2 et 6 ans qui ont une fertilité aux alentours de 72%.

2.1.2 – Fertilité en fonction de la race

La thèse de 1996 ne trouve pas de différence significative entre les races, la moyenne étant de 76%. La thèse de 2001 voit la fertilité aller de 45 à 89% avec une moyenne à 75%. Enfin la thèse de 2004 montre une fertilité variant de 46 à 100% avec une moyenne à 73%. Les groupes 8, 9 et 10 ont une fertilité de plus de 80%.

2.1.3 – Fertilité en fonction du mode d'insémination

Le Tableau III résume les résultats récoltés dans les trois thèses. Les différences observées sont toutes significatives. On remarque que la saillie naturelle obtient toujours des meilleurs résultats. Le très bon résultat de 95% de réussite en saillie naturelle en 1996 s'expliquerait par le biais de la sélection des dossiers.

Tableau III: Fertilité et mode d'insémination de 1990 à 2002

17 1 111 / 1	Fertilité moyenne (en pourcentage)		
Mode d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	Thèse de 2004
Saillie naturelle	95	80	79
IAF	77		66
IAR	/	60*	50
IAC	/		56
Moyenne	86	72	73

^{* :} Tous les types d'insémination artificielle sont confondus pour cette étude.

2.1.4 - Fertilité en fonction du nombre d'insémination

Pour les résultats de 2001 il n'y a pas de différence significative alors que la thèse de 1996 trouve qu'à partir de 2 inséminations la fertilité est significativement plus élevée (Cf Tableau IV). Cependant la troisième insémination n'améliore pas les résultats de fertilité. La thèse de 2004 n'analyse pas ces résultats.

Tableau IV: Fertilité et nombre d'insémination de 1990 à 2002

N 1 10 / 1 /	Fertilité moyenne (en pourcentage)		
Nombre d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	
1	70,7	70,5	
2	82,6	72,9	
3 ou plus	78,8	73,2	
Moyenne	78	72	

2.2 – Prolificité

2.2.1 – Prolificité en fonction de la race

La thèse de 1996 voyait des races peu prolifiques (5 chiots): Shar Pei et Dogue de Bordeaux; des races très prolifiques (9 chiots): Labrador et Mâtin de Naples et la moyenne était de 6-7 chiots. La thèse de 2001 remarque des races peu prolifiques (Westy, Yorkshire, Carlin, Lhassa Apso, Terre-Neuve) et des races très prolifiques (Rottweiler, Dogue Allemand, Dobermann, Léonberg, Braque et Labrador). La moyenne est de 6 chiots. La thèse de 2004 voit la prolificité aller de 3,7 pour les chiens du groupe 9 à 9,3 pour les chiens du groupe 8, avec une moyenne de 5,4 chiots.

2.2.2 - Prolificité en fonction du mode d'insémination

L'écart de prolificité n'est pas significatif pour les résultats de 1996, alors que les résultats de 2001 sont significativement différents de un point en faveur de la saillie naturelle (Cf. Tableau V).

Tableau V: Prolificité et mode d'insémination de 1990 à 2002

Mode	Prolificité moyenne (nombre de chiots par portée)		
d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	Thèse de 2004
SN	6,4	6,6	4,9
IAF	5,7	5,6*	6,2
IAR	/		5,7
IAC	/		4,6
Moyenne	6	6,2	5,4

^{* :} Tous les types d'insémination artificielle sont confondus pour cette étude.

2.2.3 - Prolificité en fonction du nombre d'insémination

Les différences observées dans le Tableau VI ne sont pas significatives. La thèse de 2004 n'analyse pas ces résultats.

Tableau VI: Prolificité et nombre d'insémination de 1990 à 2002

	Prolificité moyenne (nombre de chiots par portée)		
Nombre d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	
1	6,0	6,5	
2	6,1	6,1	
3 ou plus	6,2	5,7	
Moyenne	6,1	6,2	

2.3 – Mortinatalité

2.3.1 – Mortinatalité en fonction de la race

La thèse de 1996 trouve une mortinatalité élevée pour les Matîn de Naples, les Dogue de Bordeaux et les Labrador.

2.3.2 – Mortinatalité en fonction du mode d'insémination

Les différences observées dans le Tableau VII ne sont pas significatives.

Tableau VII: Mortinatalité et mode d'insémination de 1990 à 2002

Mode	Mortinatalité (en pourcentage)		
d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	Thèse de 2004
SN	10,6	12,9	/
IAF	11,5		/
IAR	/	13,6*	/
IAC	/		/
Moyenne	11	13,2	13,2

^{* :} Tous les types d'insémination artificielle sont confondus pour cette étude.

2.4 – Sex-ratio

2.4.1 – Sex-ratio en fonction de la race

Les thèses de 1996 et de 2001 ne trouvent pas de différence significative entre les races.

2.4.2 – Sex-ratio en fonction du mode d'insémination

La thèse de 1996 ne trouvait pas de différence significative entre les deux modes d'insémination : sex-ratio de 1,05 pour la saillie naturelle et sex-ratio de 0,92 pour l'insémination artificielle.

La thèse de 2001 trouvait, de manière significative, que la saillie naturelle favorisait la naissance de chiots mâles (sex-ratio de 1,05) et que l'insémination artificielle favorisait la naissance de chiots femelles (sex-ratio de 0,9).

3 - Conclusions

Les conclusions des trois thèses mettaient en évidence le fait que la fréquentation du CERCA était grandissante.

Les frottis vaginaux, bien qu'indispensables en début de suivi de chaleurs, ne sont pas suffisants et le dosage de progestérone est le passage obligé vers la détermination du moment optimal d'insémination. Les analyses des courbes de progestérone plasmatique ont montré leurs variabilités d'une chienne à l'autre et d'un suivi de chaleurs à l'autre pour une même chienne : les dosages sont donc recommandés pour chaque suivi de chaleurs.

Les résultats des saillies naturelles semblaient toujours meilleurs aux autres types d'insémination. Ces trois thèses ont bien souligné le fait qu'il y avait un biais de sélection et que les résultats étaient propres à la clientèle du CERCA.

Les trois thèses, ne sont pas toutes unanimes quant aux paramètres ayant une influence sur les résultats de reproduction.

TROISIEME PARTIE : Etude et analyse des dossiers du CERCA

I - Matériel et méthodes

1 - Saisies et traitements des données

Les renseignements sur les chiennes et les suivis ont été obtenus grâce aux fiches « suivi de chaleurs »et aux dossiers CLOVIS. CLOVIS est le logiciel utilisé à l'ENVA comme base de données et pour la gestion de la clientèle ; on peut y retrouver tous les comptes-rendus des consultations et y faire des recherches par critères. De janvier 2005 à juin 2006 les fiches « suivi de chaleurs » étaient sur papier ; depuis juin 2006 toutes les informations sont sur des fiches au format « .doc ». La fiche d'information (Cf. Annexe I) renvoyée au propriétaire a permis d'avoir des informations essentielles quant aux résultats de la fécondation. Enfin il a été nécessaire de passer de nombreux appels téléphoniques afin de compléter au mieux chaque dossier.

A l'aide de tableaux dans le logiciel EXCEL, nous avons rassemblé les informations suivantes :

- Identité de la chienne
- nom
- race
- date de naissance précise ou approximative
 - Historique de la chienne sur le plan reproduction
- date du début du suivi de chaleurs (1^{ère} consultation)
- intervalle interœstrus
- nombre de gestations menées à terme
- chienne ayant déjà été mise à la reproduction : oui ou non
- nombre de tentative infructueuse et raisons possibles de ces échecs
 - Le suivi de chaleurs
- jour de l'ovulation : par rapport au début des chaleurs s'il est connu
- mode d'insémination : sans suite, saillie naturelle, IAF, IAR ou IAC
- date et nombre de saillie
- qualité, quantité et lieu de dépôt de la semence (intra-vaginale ou intra-utérine)
- examens complémentaires : échographie, endoscopie, bactériologie
- date et valeur des dosages de progestérone

- La gestation
- diagnostic de gestation (échographie, radiographie)
- suivi de phase lutéale
 - La mise bas
- date de mise bas
- mise bas naturelle ou par césarienne
- nombre de chiots vivants
- nombre de chiots mort-nés
- nombre de chiots femelles
- nombre de chiots mâles
- nombre de chiots nés naturellement
- nombre de chiots nés par césarienne

Nous avons traité et analysé les informations, les tableaux nous ont permis de trier les suivis selon certains critères pour chaque paramètre étudié, et d'éliminer les valeurs nulles. C'est pourquoi le nombre de suivi n'est pas le même pour chaque paramètre, certaines informations n'étant pas fournies par les propriétaires.

Les statistiques réalisées visent à déterminer si les relations entre les différents paramètres et les résultats sont significatives. Nous avons eu recours au test du χ^2 , le risque d'erreur accepté est de 5% (p<0,05).

2 - Critères de choix des dossiers inclus dans l'étude

Les chiennes incluses dans l'étude ont toutes été reçues en consultation entre janvier 2005 et décembre 2008. En outre, seuls ont été pris en compte des dossiers pour lesquels la chienne a été consultée au CERCA en vue d'un suivi de chaleurs et/ou d'une insémination artificielle. Les chiennes ayant été vues au moins une fois ont toutes été incluses dans l'étude. Les chiennes ayant déjà eu des problèmes d'infertilité et consultant spécialement pour ce trouble ne sont pas incluses dans l'étude.

L'envoi de sang par courrier rapide pour procéder à son dosage par le laboratoire est très fréquent et certains dossiers sont suffisamment complets pour qu'un suivi à distance puisse être effectué. Cependant, ces dossiers n'ont pas été inclus dans l'étude car les chiennes n'ont pas été examinées directement par le personnel du CERCA; le suivi étant assuré par un vétérinaire praticien extérieur à la structure.

Ainsi, nous avons informatisé 1655 dossiers exploitables correspondant à 1655 suivis de chaleurs. Une même chienne peut se retrouver plusieurs fois incluse dans l'étude si elle a été vue pour plusieurs chaleurs différentes.

Des résultats de mise bas restent indéterminés pour des causes variées : les propriétaires ne s'en souviennent plus ou ne les ont pas notés ou alors n'ont pas renvoyé la feuille d'information et ne sont pas joignables. Ces dossiers ne sont pas incluses dans l'étude des résultats de mise bas mais peuvent être analysés dans l'étude de la fréquentation ou des dosages de progestérone.

Selon les paramètres, nous obtenons donc des échantillons de taille variable mais suffisamment importante pour pouvoir les analyser.

II – Résultats obtenus pour la période 2005-2008

1 - Bilan d'activité du CERCA

1.1 – Nombre de suivis

1.1.1 - Fréquentation

Le nombre moyen de suivis chaque mois est de 34,4 avec un minimum de 7 en Août 2006 et un maximum de 55 en mars 2005. La Figure 18 montre le nombre de suivis par mois.

On note une baisse de la fréquentation de 20% pour les suivis de chaleurs : de 447 en 2006 on passe à 410 en 2007 puis à 352 en 2008. La baisse est significative (test du χ^2 =11,37>5,99, (ddl=2).

60 50 Nombre de suivis 40 30 20 10 janv-06 avr-06 anv-08 juil-05 juil-06 oct-05 oct-06 ianv-07 avr-07 Juil-07 avr-08 oct-07 Mois

Figure 18:Nombre de suivis par mois (1651 suivis)

1.1.2 – Nombre de suivi par chienne

Du 1^{er} janvier 2005 au 31 décembre 2008, nous avons recensé 1655 suivis de chaleurs avec 1239 chiennes différentes. Dans 75,9% des cas les chiennes ne viennent que pour un seul suivi (Cf. Tableau VIII).

Tableau VIII: Nombre de suivis par chienne

Nombre de suivi par chienne	Nombre de chiennes	Pourcentage
1	941	75,9
2	206	16,6
3	70	5,6
4	19	1,5
5	2	0,2
6	1	0,1
Total	1239	100

1.1.3 – Nombre de suivi par race

Nous connaissons la race pour 1642 suivis. Il y a 111 races représentées et les 5 races les plus fréquentes sont le Berger Allemand (153 suivis pour 102 chiennes), le Cavalier King Charles (145 suivis pour 101 chiennes), le Bouledogue Français (103 suivis pour 69 chiennes), le Golden Retriever (86 suivis pour 71 chiennes) et le Bulldog anglais (81 suivis pour 54 chiennes). Afin de simplifier la présentation des résultats, les races ont été regroupées par groupe selon le classement officiel de la Fédération Cynophile Internationale (Cf. Annexe II). Le Tableau IX montre le nombre de suivis par groupes de races sur les quatre années.

Tableau IX: Répartition des suivis par groupes de races

Groupe	Nombre de suivis	Pourcentage
I	315	19,2
II	533	32,5
III	192	11,7
IV	12	0,7
V	39	2,4
VI	5	0,3
VII	49	3,0
VIII	137	8,3
IX	326	19,9
X	34	2,1
Total	1642	100

La Figure 19 reprend les résultats du tableau IX afin de mieux visualiser les groupes de races les plus représentés.

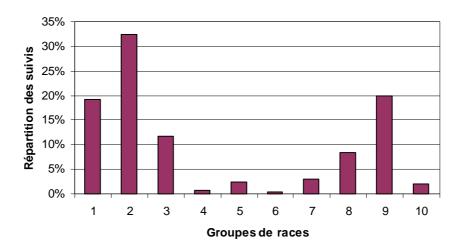


Figure 19 : Répartition des suivis par groupes de races

1.1.4 – Nombre de suivi par classes d'âge

La classe d'âge [1,5; 2[est l'ensemble des chiennes ayant entre 1,5 et 2 ans lors du début du suivi des chaleurs. La Figure 20 montre la répartition des suivis en fonction de l'âge des chiennes. Environ 75% des suivis concernent des chiennes de moins de 5 ans.

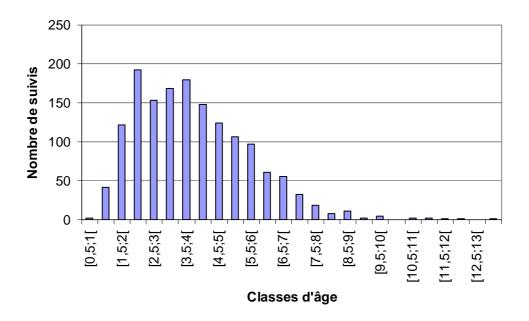


Figure 20 : Nombre de suivis par classes d'âge (1532 suivis)

1.2 – Conduite du protocole de suivi de chaleurs

Sur les 1655 suivis retenus pour cette étude, 77 suivis n'ont aucun dosage de progestérone. Les suivis sans dosages peuvent être :

- des suivis pour inséminations seulement, le suivi ayant été fait par un praticien extérieur au CERCA
- des suivis où le frottis vaginal montre que la chienne est en métœstrus
- des suivis interrompus

Pour 1578 suivis restant, soit 95,4%, il y a eu au minimum un dosage d'effectué

Un total de 4138 dosages a été réalisé pour ces 1578 suivis, avec en moyenne 2,62 dosages par suivi ; le minimum étant 1 dosage et le maximum étant 14 dosages.

505 chiennes, soit 32% des cas n'ont eu qu'un seul dosage au cours de leur suivi de chaleurs. Les raisons de ce dosage unique sont variés : le dosage montre que la chienne a déjà ovulé (48%), le suivi peut être interrompu (15%), la seule valeur de progestérone peut être suffisante pour estimer la date d'ovulation (37%).

Le nombre de visite est reflété par le nombre de dosage moyen par suivi. Pour chaque cas, les suivis sans dosage n'ont pas été inclus pour le calcul du nombre moyen de dosages.

1.2.1 – Nombre de visites en fonction du mode d'insémination

1.2.1.1 Nombre de visites par suivi avec saillie naturelle

651 suivis ont eu comme issue une ou plusieurs saillies naturelles. 14 n'ont pas eu de dosage de progestérone. 1565 dosages ont été effectués, soit une moyenne de 2,46 dosages par suivi. Le pourcentage de chiennes ayant eu une ou plusieurs échographies ovariennes au cours de ces suivis est de 8%.

1.2.1.2 Nombre de visites par suivi avec insémination artificielle

• Cas de l'insémination artificielle en semence fraîche

L'étude porte sur 653 suivis dont 21 n'ont pas eu de dosage de progestérone. 1740 dosages ont été réalisés, ce qui représente une moyenne de 2,75 dosages par suivi.

En tout, 941 inséminations en semence fraîche ont été réalisées au CERCA pour 531 suivis durant les 4 années d'études, ce qui représente une moyenne de 1,77 inséminations par suivi.

Le pourcentage de chiennes ayant eu une ou plusieurs échographies ovariennes au cours de ces suivis est de 10%.

• Cas de l'insémination artificielle en semence réfrigérée

L'étude porte sur 35 suivis. 132 dosages ont été réalisés, ce qui représente une moyenne de 3,77 dosages par suivi.

En tout, 48 inséminations en semence réfrigérée ont été réalisées au CERCA pour 32 suivis durant les 4 années d'études, ce qui représente une moyenne de 1,5 inséminations par suivi.

Le pourcentage de chiennes ayant eu une ou plusieurs échographies ovariennes au cours de ces suivis est de 34%.

• Cas de l'insémination artificielle en semence congelée

L'étude porte sur 76 suivis dont 3 n'ont pas eu de dosage de progestérone. 321 dosages ont été réalisés, ce qui représente une moyenne de 4,40 dosages par suivi.

En tout, 113 inséminations en semence congelée ont été réalisées au CERCA pour 68 suivis durant les 4 années d'études, ce qui représente une moyenne de 1,66 inséminations par suivi.

Le pourcentage de chiennes ayant eu une ou plusieurs échographies ovariennes au cours de ces suivis est de 66%.

1.2.1.3 Nombre de visites par suivi sans suite

114 suivis n'ont donné lieu à aucune saillie ni insémination, ce qui représentent 7,5% des suivis. Pour 5 d'entre eux il n'y a pas eu de dosages et 217 dosages ont été effectués pour les 109 autres suivis. Cela représente une moyenne de 1,99 dosages par suivi sans suite.

Nous avons pu classer les raisons de cette absence de saillie ou insémination en quatre catégories :

- 60% des suivis correspondaient à des chiennes en métœstrus (le suivi était donc réalisé trop tardivement),
- 27% correspondaient à des chiennes infertiles pour diverses raisons (endocriniennes, infectieuses, morphologiques, comportementales...),
- 8% montraient que le mâle était infertile (oligospermie, faible libido, inexpérimenté...)
- 5% des suivis étaient interrompus car la saillie était annulée.

En ce qui concerne le nombre d'inséminations faites pour un suivi en fonction du type d'insémination artificielle (semence fraîche, réfrigérée ou congelée), il n'y a pas de différence significative (test du $\chi^2=2,23<5,99$; ddl=2).

La Figure 21 résume les résultats du nombre moyen de dosages de la progestérone en fonction du mode d'insémination à l'issue du suivi de chaleur. Ce nombre reflète le nombre de fois où le propriétaire doit venir au CERCA pour le suivi.

La différence entre l'IAR et l'IAC n'est pas significative (test du $\chi^2=2,23<3,84$; ddl=1), mais les différences entre les autres catégories sont significatives : entre les suivis sans suite et les saillies naturelles (test du χ^2 =8,4>3,84 ; ddl=1), entre les saillies naturelles et les IAF (test du χ^2 =10,6>3,84 ; ddl=1) et entre les IAF et les IAR (test du χ^2 =12,3>3,84 ; ddl=1).

5 Nombre moyen de dosages 4,5 4 3,5 3 2,5 2 1,5

Saillie

naturelle

1 0,5

Sans suite

Figure 21: Nombre moyen de dosages par suivi en fonction du mode d'insémination

Mode d'insémination

IAF

IAR

IAC

1.2.2 – Nombre de dosages en fonction des années étudiées

Pour cette étude tous les modes d'insémination ont été confondus. On voit sur la Figure 22 l'évolution de l'utilisation du dosage, avec l'année 2006 qui se démarque par une forte utilisation du dosage. On fait, en 2008, 2,52 dosages de progestérone par suivi. Cependant les différences observées ne sont pas significatives (test du $\chi^2 = 1,28 < 7,81$; ddl=3).

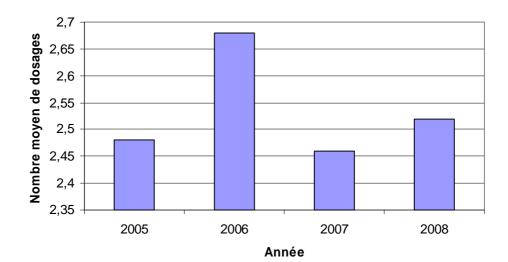


Figure 22: Nombre moyen de dosages par suivi en fonction des années étudiées

1.2.3 – Issues du suivi des chaleurs en fonction des années étudiées

Le Tableau X montre l'évolution au cours des 4 dernières années des issues des suivis de chaleur. Il y a une augmentation du nombre d'inséminations artificielles en semence réfrigérée et congelée ; avec une baisse du nombre de saillies naturelles. L'étude statistique entre les années 2005 et 2008 montre que les différences sont significatives (test du χ^2 =26,3>11,07 ; ddl=4) : il y a une augmentation significative du nombre d'IAR et d'IAC, et une baisse significative du nombre de saillie naturelle.

Modes d'insémination	2005	2006	2007	2008
Sans suite	30	30	27	27
Saillie Naturelle	190	197	157	107
IAR	5	7	9	14
IAF	156	171	183	143
IAC	12	17	20	27

Tableau X: Nombre de suivis par modes d'insémination et par année étudiée

La figure 23 montre la répartition en pourcentage des différents modes d'insémination.

Les pourcentages de suivis sans suite (SS) et de suivis avec IAF restent stable, le pourcentage de suivis avec saillie naturelle (SN) diminue. Les pourcentages de suivis avec IAR et de suivis avec IAC augmentent.

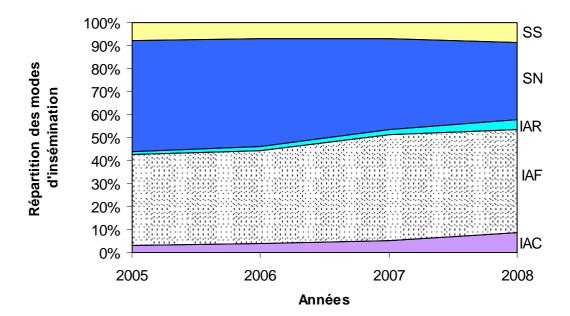
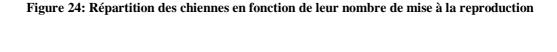
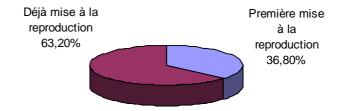


Figure 23: Répartition des modes d'insémination par année étudiée

1.3 – Historiques des chiennes sur le plan de la reproduction

Le pourcentage de chiennes qui n'ont jamais été mises à la reproduction avant ce suivi de chaleurs est de 36,8% (530/1439) (Cf. Figure 24).





Parmi les chiennes déjà mises à la reproduction, on s'est intéressé au résultat de leur dernière saillie. Les résultats ont montré que la saillie avait été suivie à 62,2% d'une gestation (407/654) (Cf. Figure 25).

Figure 25: Résultats de la dernière saillie



2 - Résultats de reproduction

Pour chaque paramètre étudié, le nombre de suivis peut être différent car nous n'avons pas toujours toutes les informations. Par exemple pour le premier paramètre, sur les 1655 suivis retenus, nous ne connaissons le résultat de fertilité que pour 583 suivis. Sur ces 582 suivis nous ne connaissons l'âge de la chienne que pour 552 suivis.

Quand deux paramètres sont étudiés les autres paramètres sont tous confondus. Par exemple nous allons étudier la fertilité en fonction de l'âge, toutes races et tous modes d'insémination confondus.

2.1 – Fertilité

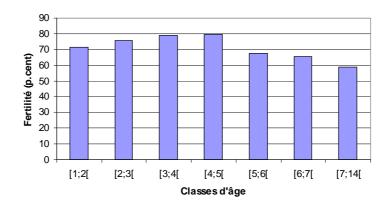
2.1.1 – Fertilité et âge

La classe d'âge [1; 2[est l'ensemble des chiennes ayant entre 1 et 2 ans lors du début du suivi des chaleurs. On connaît le résultat de la saillie pour 552 suivis. Dans le Tableau XI on voit que la fertilité moyenne est de 73,6%. Les différences observées entre les classes d'âge ne sont pas significatives (test du χ^2 =5,77<12,59 ; ddl=6). Cependant si l'on compare la classe [4; 5[et [7; 14[on a une différence significative (test du χ^2 =5,42>3,84 ; ddl=1) et donc la fertilité diminue pour les animaux de 7 ans et plus (Cf. Figure 26).

Classes d'âge Nombre de suivi Mise bas Fertilité moyenne (en pourcentage) 52 71,2 [1; 2[73 [2; 3[123 93 75,6 [3; 4[115 91 79,1 79,4 [4; 5[92 73 [5; 6[77 52 67,5 25 [6; 7[38 65,8 [7; 14] 34 20 58,8 Total 552 406 73,6

Tableau XI: Fertilité et âge de 2005 à 2008

Figure 26 : Fertilité et âge de 2005 à 2008



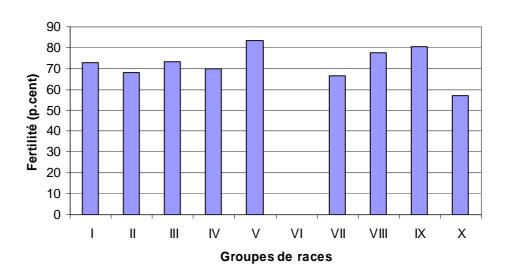
2.1.2 – Fertilité et race

On connaît le résultat de la saillie pour 583 suivis. On voit dans le Tableau XII que la fertilité moyenne est de 72,7%. Les différences observées ne sont pas significatives (test du χ^2 =6,85<15,50 ; ddl=8). La Figure 27 reprend les résultats du Tableau XII.

Tableau XII: Fertilité et race de 2005 à 2008

Groupes	Nombre de suivis	Mise bas	Fertilité moyenne (en pourcentage)
I	121	88	72,7
II	207	141	68,1
III	56	41	73,2
IV	10	7	70,0
V	18	15	83,3
VI	0		
VII	18	12	66,7
VIII	45	35	77,8
IX	101	81	80,2
X	7	4	57,1
Total	583	424	72,7

Figure 27 : Fertilité et race de 2005 à 2008



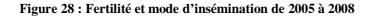
2.1.3 – Fertilité et mode d'insémination

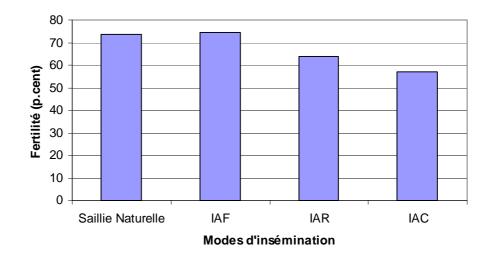
On connaît le résultat de la saillie pour 571 suivis (Cf. Tableau XIII). La fertilité moyenne est de 72,9%. Les différences observées ne sont pas significatives entre l'IAF et L'IAC (test du χ^2 =3,24<3,84; ddl=1) et entre la saillie naturelle et l'IAF (test du χ^2 =0,037<3,84; ddl=1).

Les fertilités en saillie naturelle et en insémination en semence fraîche sont comparables. Bien que les différences ne soient pas significatives on remarque tout de même que le passage à une semence réfrigérée fait baisser la fertilité à 63, 6% et que la semence congelée conduit à une mise bas dans 57,1% des cas. La Figure 28 reprend les résultats du Tableau XIII.

Modes d'insémination	Nombre de suivis	Mise bas	Fertilité moyenne (en pourcentage)
Saillie Naturelle	252	185	73,4
IAF	280	208	74,3
IAR	11	7	63,6
IAC	28	16	57,1
Total	571	416	72,9

Tableau XIII: Fertilité et mode d'insémination de 2005 à 2008





Pour les IAC on a pu comparer les deux techniques d'insémination intra-utérine : sur les 28 suivis dont nous connaissons le résultat, il y en a 5 qui ont été inséminés par endoscopie et 23 qui on été inséminés avec la technique scandinave. Les résultats de fertilité semble meilleurs pour la technique par endoscopie : 60% (3/5) contre 56% (13/23). L'analyse statistique n'est pas possible car les effectifs sont trop petits et donc nous ne pouvons pas savoir si cette différence est significative.

2.1.4 - Fertilité et nombre d'insémination

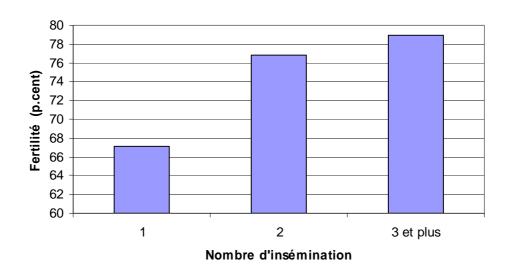
On connaît le résultat de la saillie pour 271 suivis (Cf. Tableau XIV). La fertilité moyenne est de 74,5%. Les différences observées ne sont pas significatives entre 1 et 2 inséminations (test du χ^2 =2,67<3,84 ; ddl=1). Cependant la différence semble exister, il serait donc avantageux de pratiquer deux inséminations plutôt qu'une.

Tableau XIV: Fertilité et nombre d'insémination de 2005 à 2008

Nombre d'insémination	Nombre de suivis	Mise bas	Fertilité moyenne (en pourcentage)
1	67	45	67 ,2
2	185	142	76,8
3 et plus	19	15	78,9
Total	271	202	74,5

La Figure 29 reprend les résultats du tableau ci-dessus.

Figure 29 : Fertilité et nombre d'insémination de 2005 à 2008



2.1.5 – Fertilité et gestation précédente

Parmi les chiennes suivies, nous sélectionnons deux groupes : celles qui avaient été gestantes lors de la dernière mise à la reproduction et celles qui n'avaient pas été gestantes. Les résultats sont résumés dans le Tableau XV ci-dessous. On connaît le résultat de la saillie pour 243 suivis. La fertilité moyenne est de 72,4%.

Tableau XV : Fertilité et gestation précédente

Gestation précédente	Nombre de suivis	Mise bas	Fertilité moyenne (en pourcentage)
Chiennes gestantes	143	108	75,5
Chiennes non gestantes	100	68	68,0
Total	243	176	72,4

Le test du χ^2 =1,69, il n'y a donc pas de différence significative entre les deux groupes en ce qui concerne la fertilité. (test du χ^2 =1,69<3,84 ; ddl=1)

2.2 – Prolificité

2.2.1 – Prolificité et âge

On connaît le nombre de chiots par portée pour 160 suivis (Cf. Tableau XVI). La prolificité moyenne est de 5,9 chiots. Les différences observées ne sont pas significatives entre les classes d'âge (test du χ^2 =2,15<11,07 ; ddl=5).

Tableau XVI : Prolificité et âge de 2005 à 2008

Classes d'âge	Nombre de mise bas	Nombre de chiots	Prolificité moyenne (minimum – maximum)
[1;2[21	141	6,7 (1-14)
[2;3[30	166	5,5 (1-13)
[3;4[37	200	5,4 (1-14)
[4;5[30	185	6,2 (1-12)
[5;6[19	109	5,7 (1-12)
[6;7[14	100	7,1 (1-12)
[7;14[9	54	6,0 (1-12)
Total	160	955	5,9 (1-12)

La Figure 30 reprend les résultats du tableau ci-dessus.

8 7 6 Prolificité 5 4 3 2 1 0 [1;2[[2;3[[3;4[[4;5[[5;6[[6;7[[7;14[Classes d'âge

Figure 30 : Prolificité et âge de 2005 à 2008

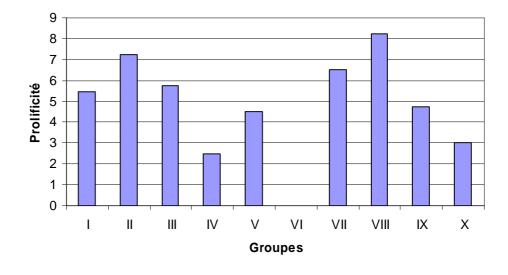
2.2.2 – Prolificité et race

On connaît le nombre de chiots par portée pour 166 suivis (Cf. Tableau XVII). La prolificité moyenne est de 5,9 chiots. Les différences observées sont significatives entre les groupes I, II, III et IX (test du χ^2 =15,69>7,81 ; ddl=3). La Figure 31 reprend les résultats du tableau.

Tableau XVII: Prolificité et race de 2005 à 2008

Groupes	Nombre de mise bas	Nombre de chiots	Prolificité moyenne (minimum – maximum)
I	40	218	5,5 (1-12)
II	48	348	7,3 (1-14)
III	12	69	5,8 (1-11)
IV	2	5	2,5 (1-4)
V	6	27	4,5 (1-8)
VI	0		
VII	4	26	6,5 (3-11)
VIII	12	99	8,3 (1-13)
IX	40	190	4,8 (1-8)
X	2	6	3 (2-4)
Total	166	988	5,9

Figure 31 : Prolificité et race de 2005 à 2008



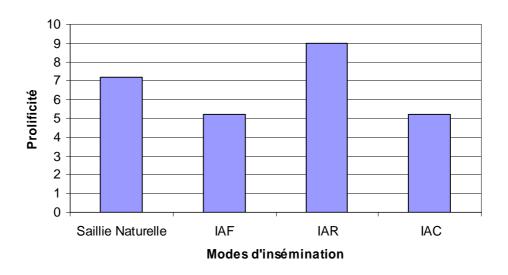
2.2.3 - Prolificité et mode d'insémination

On connaît le nombre de chiots par portée pour 159 suivis (Cf. Tableau XVIII). La prolificité moyenne est de 6,1 chiots. Les différences observées sont significatives entre la saillie naturelle et l'IAF (test du χ^2 =8,49>5,99 ; ddl=2). La Figure 32 reprend les résultats du tableau XVIII.

Tableau XVIII: Prolificité et mode d'insémination de 2005 à 2008

Modes d'insémination	Nombre de mise bas	Nombre de chiots	Prolificité moyenne (minimum-maximum)
Saillie Naturelle	73	519	7,2 (1-14)
IAF	77	397	5,2 (1-13)
IAR	3	27	9 (1-12)
IAC	6	31	5,2 (1-12)
Total	159	974	6,1

Figure 32 : Prolificité et mode d'insémination de 2005 à 2008



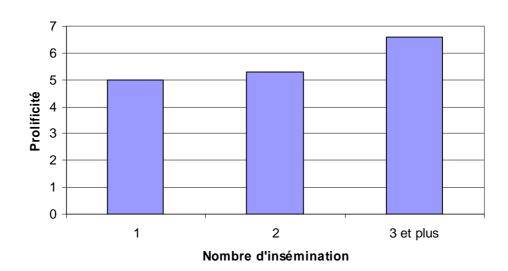
2.2.4 – Prolificité et nombre d'insémination

On connaît le nombre de chiots par portée pour 85 suivis (Cf. Tableau XIX). La prolificité moyenne est de 5,3 chiots. Les différences observées ne sont pas significatives selon le nombre d'insémination (test du χ^2 =2,35<5,99 ; ddl=2). La Figure 33 reprend les résultats du Tableau XIX.

Tableau XIX: Prolificité et nombre d'insémination de 2005 à 2008

Nombre d'insémination	Nombre de mise bas	Nombre de chiots	Prolificité moyenne (minimum-maximum)
1	23	115	5 ,0 (1-13)
2	52	273	5,3 (1-13)
3 et plus	10	66	6,6 (2-12)
Total	85	454	5

Figure 33 : Prolificité et nombre d'insémination de 2005 à 2008



Le nombre d'insémination semble augmenter la prolificité, surtout lorsque l'on fait 3 ou 4 inséminations.

Le manque de données ne permet pas d'analyser cette évolution pour chacun des modes d'insémination (IAF, IAR et IAC).

2.3 – Mortinatalité

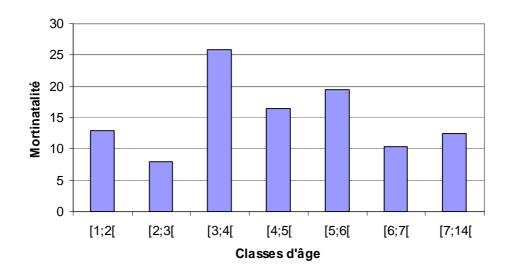
2.3.1 – Mortinatalité et âge

On connaît le nombre de chiots mort-nés pour 600 chiots mis bas (Cf. Tableau XX). La mortinatalité moyenne est de 16,3%. Les différences observées sont significatives entre les différentes classes d'âges (test du χ^2 =14,10>12,59 ; ddl=6). La Figure 34 reprend les résultats du Tableau XX.

Tableau XX : Mortinatalité et âge de 2005 à 2008

Classes d'âge	Nombre de chiots total	Nombre de chiots morts	Mortinatalité moyenne (en pourcentage)
[1;2[62	8	12,9
[2;3[87	7	8,0
[3;4[131	34	25,9
[4;5[133	22	16,5
[5;6[72	14	19,4
[6;7[67	7	10,4
[7;14[48	6	12,5
Total	600	98	16,3

Figure 34 : Mortinatalité et âge de 2005 à 2008



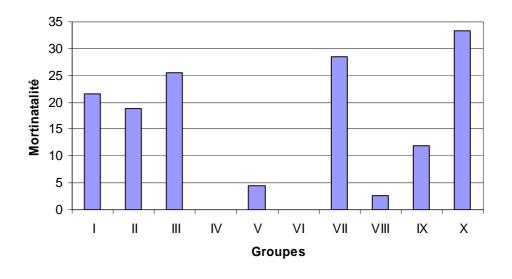
2.3.2 – Mortinatalité et race

On connaît le nombre de chiots mort-nés pour 608 chiots mis bas (Cf. Tableau XXI et Figure 35). La mortinatalité moyenne est de 16,1%. Les différences observées sont significatives entre les différents groupes de races (test du χ^2 =21,23>11,07; ddl=5). Les groupes IV, V, VI et VIII n'ont pas été pris en compte lors de l'analyse car leur mortinatalité est inférieure à 5%.

Tableau XXI: Mortinatalité et race de 2005 à 2008

Groupes	Nombre de chiots total	Nombre de chiots morts	Mortinatalité moyenne (en pourcentage)
I	130	28	21,5
II	191	36	18,9
III	43	11	25,6
IV	5	0	0
V	22	1	4,6
VI			
VII	14	4	28,6
VIII	79	2	2,5
IX	118	14	11,9
X	6	2	33,3
Total	608	98	16,1

Figure 35 : Mortinatalité et race de 2005 à 2008



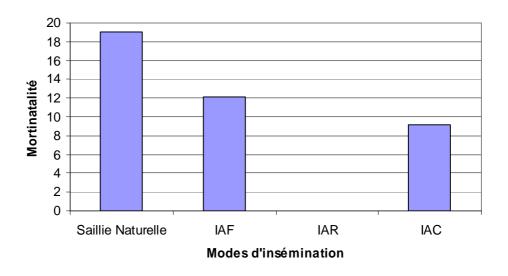
2.3.3 – Mortinatalité et mode d'insémination

On connaît le nombre de chiots mort-nés pour 598 chiots mis bas (Cf. Tableau XXII et Figure 36). La mortinatalité moyenne est de 15,2%. Les différences observées ne sont pas significatives entre les différents modes d'insémination (test du χ^2 =4,13<5,99 ; ddl=2). Le groupe IAR n'a pas été pris en compte lors de l'analyse car la mortinatalité est inférieure à 5%.

Tableau XXII: Mortinatalité et mode d'insémination de 2005 à 2008

Modes d'insémination	Nombre de chiots total	Nombre de chiots morts	Mortinatalité moyenne (en pourcentage)
Saillie Naturelle	289	55	19,0
IAF	280	34	12,1
IAR	7	0	0
IAC	22	2	9,1
Total	598	91	15,2

Figure 36 : Mortinatalité et mode d'insémination de 2005 à 2008



2.4 – Sex-ratio

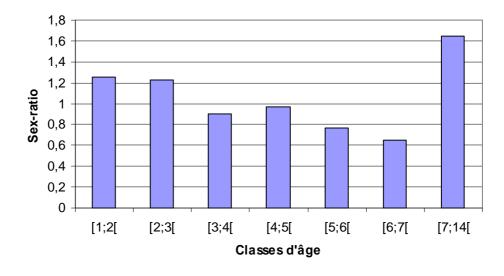
2.4.1 – Sex-ratio et âge

On connaît le sexe des chiots pour 428 chiots (Cf. Tableau XXIII et Figure 37). Le sex-ratio moyen est de 0,97. Les différences observées ne sont pas significatives entre les classes d'âges (test du χ^2 =7,76<12,59 ; ddl=6).

Tableau XXIII : Sex-ratio et âge de 2005 à 2008

Classes d'âge	Nombre de chiots mâles	Nombre de chiots femelles	Sex-ratio
[1;2[15	12	1,25
[2;3[37	30	1,23
[3;4[43	48	0,90
[4;5[37	38	0,97
[5;6[27	35	0,77
[6;7[24	37	0,65
[7;14[28	17	1,65
Total	211	217	0,97

Figure 37 : Sex-ratio et âge de 2005 à 2008



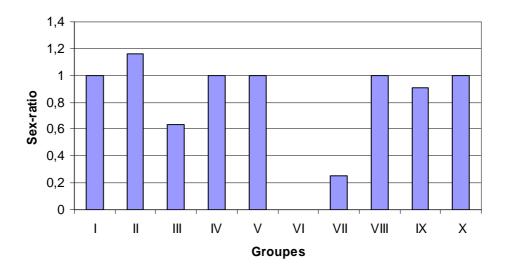
2.4.2 - Sex-ratio et race

On connaît le sexe des chiots pour 431 chiots (Cf. Tableau XXIV et Figure 38). Le sex-ratio moyen est de 0,99. Les différences observées ne sont pas significatives entre les groupes de races (test du χ^2 =1,59<11,07 ; ddl=5).

Tableau XXIV: Sex-ratio et race de 2005 à 2008

Groupes	Nombre de chiots mâles	Nombre de chiots femelles	Sex-ratio
I	52	52	1
II	73	63	1,16
III	5	8	0,63
IV	2	2	1
V	11	11	1
VI			
VII	2	8	0,25
VIII	27	27	1
IX	41	45	0,91
X	1	1	1
Total	214	217	0,99

Figure 38 : Sex-ratio et race de 2005 à 2008



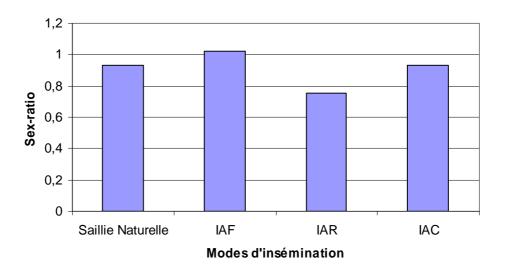
2.4.3 – Sex-ratio et mode d'insémination

On connaît le sexe des chiots pour 435 chiots (Cf. Tableau XXV et Figure 39). Le sexratio moyen est de 0,97. Les différences observées ne sont pas significatives entre les modes d'insémination (test du χ^2 =0,22<5,99 ; ddl=2).

Tableau XXV: Sex-ratio et mode d'insémination de 2005 à 2008

Modes d'insémination	Nombre de chiots mâles	Nombre de chiots femelles	Sex-ratio
Saillie Naturelle	96	103	0,93
IAF	102	100	1,02
IAR	3	4	0,75
IAC	13	14	0,93
Total	214	221	0,97

Figure 39 : Sex-ratio et mode d'insémination de 2005 à 2008



3 - Etude de la progestéronémie au cours des chaleurs

Pour chaque suivi il a été récolté les valeurs des dosages de progestérone. Nous avons sélectionné les suivis de chaleurs pour lesquels nous avons au moins trois valeurs de progestéronémie dont une au moins inférieure à 1 ng/mL et une au moins supérieure à 6 ng/mL. Cela a permis d'estimer le jour où s'est produit le pic de LH (Progestérone=2 ng/mL d'après Concannon et al.(21)) et le jour de l'ovulation (Progestérone = 6ng/mL). On s'est ensuite intéressé à l'écart entre ces deux jours. La Figure 40 montre la répartition des 433 suivis retenus en fonction de cet écart.

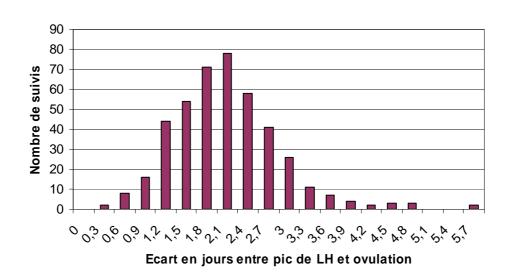


Figure 40 : Jour d'ovulation par rapport au pic de LH

Il y a un pic entre 2,1 et 2,4 jours, avec une moyenne de 2,3 \pm 0,6 jours.

Pour compléter cette étude, nous avons voulu savoir le pourcentage de chiennes qui avait une évolution normale de la progestéronémie au cours des chaleurs. Une évolution normale est une ovulation moins de 4 jours après l'estimation du pic de LH.

Les résultats sont que sur 433 suivi retenus, 417 (96,3 %) suivis ont une évolution classique de la progestéronémie, 16 suivis sont anormaux (Durée pic de LH - Ovulation >4jours).

Parmi les 16 suivis anormaux, 10 chiennes (2,3%) ont présenté une progestéronémie montrant un plateau entre 2 et 6 ng/ml pendant plus de 4 jours. Les 6 autres chiennes (1,4%) ont présenté une première augmentation entre 1 et 2,5 ng/ml puis un retour à des valeurs basses durant quelques jours et enfin une nouvelle augmentation brutale de la progestérone concomitante avec l'ovulation.

III - Discussion

1 - Protocole

Bien que l'on ait exclu de notre étude les chiennes consultant pour infertilité, il reste souvent des chiennes ayant des troubles de fertilité que l'on découvre lors du suivi d'ovulation. Cela peut induire une évolution des résultats à la baisse. De plus , si l'on s'intéresse au résultat de la dernière saillie des chiennes qui viennent en suivi au CERCA, on s'aperçoit que la fertilité est de 62,2%. Elle est basse, ce qui signifie que ces chiennes ne sont pas représentatives de la population canine classique. Il y a un biais de sélection.

Le remplissage des dossiers s'est amélioré en ce qui concerne la partie sur le suivi de chaleurs, les dosages et le suivi de gestation mais les données sur les mises bas ont été manquantes à 59% pour les réponses de fertilité et jusqu'à 83% pour les réponses de prolificité. Cela s'explique par le fait que ces données ne sont pas systématiquement et rigoureusement récoltées; elles ne sont connues que si le propriétaire donne des nouvelles (par lettre ou par téléphone) ou bien si le CERCA le rappelle. Il y a avait jusqu'en 2007 un envoi automatique d'une lettre de résultats de mise bas à retourner au CERCA. Cette seule source d'information était imparfaite car tous les propriétaires ne renvoyaient pas la lettre mais elle permettait de limiter le nombre d'appel téléphonique: Bartolo (12) avait du en passer 115. Pour notre étude, ils manquaient environ 1000 résultats de mise bas. La solution des appels était inapplicable, et nous avons du exploiter les résultats récoltés dans les dossiers. Voilà pourquoi le nombre de cas analysés est très inférieur aux années précédentes en ce qui concerne la fertilité, la prolificité et la mortinatalité. Parfois les analyses statistiques n'ont pu être réalisées car le nombre de dossiers retenus était trop faible.

La reprise de l'envoi par courrier de la feuille de renseignement semble donc nécessaire pour mieux suivre et analyser les suivis de chaleurs du CERCA. La mise en place d'envoi de mail pourrait aussi être utile pour éviter les frais d'envoi. Mais cela nécessite une standardisation de cette récolte de données. L'idéal serait une personne responsable de cette étude pour les années à venir, en effet jusqu'à présent les protocoles étaient établis en fonction des données qui avaient pu être récoltées sur les 4 ou 5 années précédentes. De plus si l'étude se fait au fur et à mesure, les propriétaires se souviendront mieux des conditions de mise bas, du sexe et du nombre de chiots vivants ou mort nés. Les données qui pourraient être récoltées de façon plus précise sont :

- la raison d'un suivi de chaleurs au CERCA
- les antécédents (gestations, nombre d'échecs, raisons des échecs)
- types de mises (césariennes programmées ou non, interventions médicales...)

En ce qui concerne les dosages de progestérone, il n'y a pas eu de difficultés. Les dossiers informatisés sont plus lisibles, il y a moins de source d'erreur.

2 - Résultats

2.1 – Bilan d'activité

2.1.1 – Fréquentation

Sur l'ensemble des quatre années la fréquentation reste inchangée par rapport à celle observée dans la thèse précédente : 1649 suivis pour la période 1999-2002 et 1651 pour notre période. Le CERCA réussi à garder une clientèle stable. Il y a environ 650 propriétaires différents pour les années 2005-2008, dont 80% ne sont venus que pour un ou deux suivis. Enfin, 33 clients (des éleveurs surtout) sont venus très souvent : de 10 à 47 fois. Ils représentent seulement 5% des clients mais assurent 35% des suivis de chaleurs.

Dans l'ensemble la fréquentation est bonne. Cependant, on observe une tendance à la baisse depuis 2006. Il faudrait attendre les prochaines études pour voir si cette tendance se confirme. Cela peut s'expliquer par le fait que de plus en plus de vétérinaires font eux même les suivis de chaleurs et les inséminations.

On note des différences dans les races représentées entre la thèse de Doucet et Vannimenus (25) et notre étude : le nombre de Bergers Allemands, de Lévriers reste stable, alors que le nombre de Rottweillers, de Shar Peis, de Dogues Allemands diminue progressivement. Au contraire le nombre de Bouledogues Français, de Bulldogs anglais, de Golden Retrievers et surtout de Cavaliers King Charles a beaucoup augmenté. Cela montre qu'il y a des changements de mode et que les petites races sont de plus en plus préférées. On peut comparer les pourcentages des groupes cynophiles avec ceux de la thèse de Bartolo (12): l'évolution la plus marquante étant l'augmentation de 10 à 19,5% pour le groupe IX. On y retrouve notamment le Bouledogue Français et le Cavalier King Charles.

La répartition selon les classes d'âge montre que les très jeunes chiennes (moins de 2 ans) sont de plus en plus présentées en suivis de chaleurs : 12,2% pour notre étude alors que la thèse de Doucet et Vannimenus (25) en comptait 2,6%. La raison d'une mise à la reproduction plus précoce peut être une nécessité économique.

2.1.2 – Nombre de dosages par suivi

114 suivis de chaleurs n'ont pas fait l'objet d'une saillie ou d'une insémination. Nous avons pu classer les raisons en quatre catégories :

- 60% des suivis correspondaient à des chiennes en métœstrus (le suivi était donc réalisé trop tardivement),
- 27% correspondaient à des chiennes infertiles pour diverses raisons (endocriniennes, infectieuses, morphologiques, comportementales...),
- 8% montraient que le mâle était infertile (oligospermie, faible libido, inexpérimenté...)
- 5% des suivis étaient interrompus car la saillie était annulée.

Par comparaison avec la thèse précédente, ce nombre de suivis sans suite a beaucoup diminué (Il était de 381). Les 27% des suivis qui correspondaient à des chiennes infertiles semblent avoir diminués (ils étaient de 50%). L'explication de cette différence est peut-être que les antécédents de la chienne sont mieux renseignés au début de la consultation et que les infertilités sont suspectées dès le début. La consultation n'est plus alors considérée comme un

simple suivi de chaleurs mais comme une consultation pour infertilité. Ces cas sortent donc de notre étude.

On note une augmentation dans le nombre moyen de dosages par suivi en fonction du mode d'insémination (Cf. Figure 21). Les chiennes destinées à la saillie naturelle n'ont eu en moyenne que 2,46 dosages par suivi contre 4,4 pour les chiennes devant être inséminées en semence congelée. Ceci reflète le degré de technicité nécessaire à la réalisation de ces suivis. En effet, l'insémination en semence congelée est un acte très spécialisé en matière de reproduction vétérinaire et le suivi rigoureux de l'ovulation par des dosages sanguins et des échographies ovariennes est la clé du résultat. Le pourcentage de chiennes ayant eu une ou plusieurs échographies ovariennes est très variable en fonction du mode d'insémination :

- 66% en semence congelée
- 34% en semence réfrigérée
- 10% en semence fraîche
- 8% en saillie naturelle

Plus la semence subit des traitements de conservation, plus le suivi devra être précis.

Ces observations sont identiques à celles de la thèse précédente Bartolo (12): on note en plus une baisse globale du nombre moyen de dosages nécessaires pour chaque type d'insémination. La plus grande baisse est pour l'IAF: il fallait 3,3 dosages en moyenne et actuellement il faut 2,75 dosages par suivi. Ceci peut s'expliquer par une utilisation plus parcimonieuse des dosages par les cliniciens du CERCA, la difficulté étant de prévoir le prochain dosage sans dépasser le jour de l'ovulation et sans trop augmenter la facture.

2.1.3 – Issue des suivis de chaleurs

Dans les années 2005-2008 on note une augmentation de l'utilisation de l'insémination artificielle, quelle que soit le mode de conservation de la semence. Il y a par conséquent moins de saillies naturelles suivies au CERCA. Il n'est pas rare que le choix entre insémination en semence fraîche et saillie naturelle se fasse en cours de suivi ou bien si les deux partenaires ne s'accouplent pas. Le CERCA propose toujours des inséminations artificielles si la saillie semble compromise : refus de la femelle, libido faible, différence de taille, douleur articulaire lombaire ou du bassin. Ceci peut expliquer le nombre grandissant d'IAF (Cf. Tableau XXVI). L'insémination en semence congelée est aussi en augmentation : la technicité du CERCA et la possibilité d'un suivi très rigoureux est rassurant ; les clients ont de plus en plus confiance en cette méthode d'insémination.

Modes d'insémination	1990-1994	1994-1998	1999-2002	2005-2008
IAF	170	4001	476	653
IAC	/	480*	57	76

^{* :} Tous les types d'insémination artificielle sont confondus pour cette étude.

2.2 – Résultats de reproduction

2.2.1 – Fertilité

2.2.1.1 Résultats

Elle est de 72,9%. Elle est comparable à celle observée par Bartolo (12)(73%) et par Doucet et Vannimenus (25)(72%) mais est inférieure à celle observée par Cathenoz et Marsan (18)(80%). Les études récentes estiment la fertilité à 80%. La différence observée ici s'explique par le fait que le CERCA reçoit en consultation des chiennes qui ont souvent des antécédents d'infertilité. Celles-ci abaissent la fertilité. L'étude de Guérin, Petit et Badinand (43) montre que ces chiennes ont seulement une chance sur deux d'être gestantes après un suivi rigoureux. De plus les résultats d'IAC font aussi baisser la fertilité globale : sans les IAC on obtient 73,7% de fertilité.

Selon Lennoz-roland (47), la cause la plus fréquente des échecs en reproduction canine résulte d'un mauvais synchronisme entre ovulation et saillie car le déroulement des chaleurs est atypique chez 30% des chiennes et présente de nombreuses variations individuelles et raciales.

2.2.1.2 Variations en fonction du mode de reproduction

La différence de fertilité entre l'IAF (74,3%) et l'IAC (57, 1%) n'est pas significative à 5% mais elle l'est si l'on accepte un risque de 10%. Il n'y a pas de différence de fertilité entre la saillie naturelle et l'IAF. Les résultats de fertilité en insémination artificielle sont tous en hausse par rapport à ceux observés dans la thèse précédente (Cf. Tableau XXVII). On note une baisse de la fertilité en saillie naturelle si on regarde l'évolution depuis l'étude de Cathenoz et Marsan (18) : de 95% elle baisse à 80% (25) et (12) puis à 73% en 2008. Cela peut s'expliquer par le biais de sélection des dossiers et aussi par le manque de données pour notre étude.

Tableau XXVII: Fertilité et mode d'insémination de 1990 à 2008

35 3 30 7 1	I	Fertilité moyenne	e (en pourcentage	e)
Mode d'insémination	Thèse de 1996	Thèse de 2001	Thèse de 2004	Thèse de 2010
Saillie naturelle	95	80	79	73
IAF	77		66	74
IAR	/	60*	50	64
IAC	/		56	57
Moyenne	86	72	73	73

^{* :} Tous les types d'insémination artificielle sont confondus pour cette étude.

Nous pouvons comparer nos résultats avec ceux d'autres études. Le tableau XXVIII montre que les résultats peuvent être très variables selon les études. Nos résultats en saillie naturelle ne sont pas comparable et cela sans doute pour les raisons évoquées précédemment (Cf. différences observées avec l'étude de Cathenoz et Marsan (18)). Dans l'ensemble nos résultats sont moins bons que ceux présentés dans le tableau mais l'on note tout de même que Linde-Forsberg (48)(49) trouve des résultats similaires.

Tableau XXVIII : Fertilité observées dans quelques études récentes (en pourcentage)

Mode d'insémination	Linde- Forsberg (48)(49)	Million (51)	Mimouni et Dumon (52)	Nizanski (54)	Thomassen et al. (60)
Saillie naturelle	/	92	/	/	/
IAF	48 ⁽¹⁾ à 65 ⁽²⁾	85	95 à 98	87	/
IAR	45 ⁽¹⁾ à 65 ⁽²⁾	85	95 à 98	/	/
IAC	35 ⁽¹⁾ à 55 ⁽²⁾	/	30 ⁽¹⁾ à 65 ⁽²⁾	/	10 ⁽¹⁾ à 75 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Insémination en intra-vaginale (2) Insémination en intra-utérine

Benechet (13) dans sa thèse de 2007 sur l'insémination artificielle en semence congelée au CERCA, a trouvé une fertilité de 50,5% sur la période 2001-2006. En 2007-2008 il y a eu 9 mises bas pour 15 inséminations (seuls résultats connus). Donc les résultats semblent être meilleurs mais le peu d'informations ne nous permet pas de conclure quant à une réelle amélioration de la réussite des IAC au CERCA.

Enfin nous pouvons comparer nos résultats avec ceux du CERREC. D'après l'étude de Barthelemy C. de 2009 (11), leurs résultats de fertilité sont :

- en semence fraîche de 69,8% (différence non significative avec le CERCA (test du χ^2 =1,73<3,84; ddl=1)).
- en semence réfrigérée de 57,7% (différence non significative avec le CERCA (test du χ^2 =0,27<3,84 ; ddl=1)).
- en semence congelée de 62,4% (différence non significative avec le CERCA (test du χ^2 =0,11<3,84 ; ddl=1)).

Les résultats sont donc tout à fait comparables à ceux trouvé au CERREC.

2.2.1.3 Variations en fonction de la race

Variant de 57 à 83% selon les groupes cynophiles, les fertilités observées ne sont pas significativement différentes. Les thèses précédentes trouvaient des résultats similaires avec cependant des fertilités plus élevées en ce qui concerne les races des groupes 8, 9 et 10 (au moins 80% de fertilité).

2.2.2 – Prolificité

2.2.2.1 Résultats

Elle est de 5,9 chiots pour l'ensemble de notre étude. Elle est comparable à la prolificité trouvée dans les thèses de 2001 et 1996 (6 chiots en moyenne), elle est légèrement plus élevée que celle trouvée dans la thèse de 2004 (5,4 chiots en moyenne). Ce résultat est concordant avec ceux retrouvés dans les dernières études, par exemple : 5, 9 ± 2 , 1 pour Bobic Gavrilovic et al. (14).

2.2.2.2 Variations en fonction du mode de reproduction

Les résultat de prolificité différent significativement entre la saillie naturelle et l'insémination en semence fraîche : le nombre de portées de 1 à 4 chiots est plus élevée en semence fraîche qu'en saillie naturelle et le nombre de portée de plus de 4 chiots est plus élevée pour les saillies naturelles. Cependant il faut noter que les races ayant le plus d'IAF sont celles qui sont le moins prolifiques : la répartition des races n'est pas la même d'un mode d'insémination à l'autre et cela influence les résultats. Par exemple les Bergers Allemands ont 90% de saillies naturelles contre 10% d'IAF, et les Bulldog anglais ont 28% de saillies naturelles et 72% d'IAF. Les thèses de 2001 et 1996 trouvaient, comme ici, une meilleure prolificité pour la saillie naturelle alors que la thèse de 2004 mettait en évidence une meilleure prolificité pour l'IAF.

2.2.2.3 Variations en fonction de la race

On trouve des différences significatives de prolificité entre les groupes I (5,5 chiots), II (7,3 chiots), III (5,8 chiots) et IX (4,8 chiots). Comme dans la thèse précédente on remarque que les races les plus à la mode (Bouledogue Français, Cavalier King Charles) sont par ailleurs les races moins prolifiques.

2.2.3 – Mortinatalité

Elle est de 16,1%. Elle semble influencée par l'âge de la mère et par la race. En effet elle augmente fortement pour les chiennes ayant entre 3 et 6 ans. Elle est très faible (2,5%) pour les chiennes du Groupe VIII. Par rapport aux études précédentes la mortinatalité est élevée : elle était de 11% pour Cathenoz et Marsan (18), de 13% pour Doucet et Vannimenus (25) et Bartolo (12). Ces résultats sont à mettre en relation avec notre manque de données : nous avons comptabiliser 608 chiots alors que les deux thèses précédentes en avaient 5066 et 4760. Notre résultat n'est vraisemblablement pas le reflet de la réalité, l'échantillon n'est peut-être pas représentatif.

2.2.4 - Sex-ratio

Il est de 0,96. Il n'y a pas de corrélation entre le sex-ratio et les différents paramètres étudiés ici : l'âge, la race ou le mode d'insémination. Ces valeurs sont conformes aux autres travaux discutant du même sujet.

2.3 – Progestéromémie

La figure 40 montre un pic mais, l'écart-type étant grand, on a 95% des cas ovulant entre 1,1 et 3,5 jours après l'estimation du pic de LH. On a donc une population très dispersée : l'ovulation peut intervenir a des moments très variables même par rapport au pic de LH.

Pour England et Concannon (21) l'ovulation a lieu 48 heures après le pic de LH. Cependant dans notre étude on s'aperçoit que 63% des chiennes ovulent au plus tard 2,4 jours après leur pic de LH. Cela laisse un grand nombre de suivis atypiques où l'on risque de rater la période optimale d'insémination si l'on se fie uniquement au moment estimé du pic de LH. Poursuivre les dosages de progestérone jusqu'à l'ovulation est donc nécessaire dans 37% des cas. De plus il reste 3,7% des cas où l'évolution de la progestéronémie est très atypique. Bien assurer le suivi des ces cas particuliers, c'est satisfaire les propriétaires qui pensaient leurs chiennes infertiles.

CONCLUSION

Les progrès réalisés ces dernières années dans le domaine de la reproduction canine assistée ont contribué au développement et la notoriété de trois centre français, le CERCA, le CERREC et le CAIC, en leur donnant les moyens de répondre à la demande des éleveurs et propriétaires de chiens de races en matière de fertilité et de prolificité.

Les techniques de suivis de chaleurs ont évolué : l'échographie et l'endoscopie viennent compléter les frottis et les dosages sanguins : les suivis sont de plus en plus précis et adaptés en fonction des chaleurs de la chienne et du mode d'insémination.

Notre analyse des dossiers des chiennes venues entre janvier 2005 et décembre 2008 a tenté de faire le point sur les résultats obtenus. Il y a une tendance à la baisse de fréquentation pour les suivis d'ovulation. Malgré cela, les résultats de fertilité sont bons et comparables à certaines autres études. Ils sont en amélioration, surtout pour les inséminations artificielles, par rapport à la thèse précédente de Bartolo (12). Cette évolution peut peut-être s'expliquer par une amélioration des techniques mises en œuvre afin de mener à bien la gestation (précision dans l'estimation du jour d'ovulation, systématisation de l'insémination intra-utérine, suivi de phase lutéale). Ces résultats peuvent donc encourager les propriétaires à continuer à faire confiance au CERCA.

A l'avenir, les biotechnologies de nouvelles générations comme la fécondation invitro, le transfert d'embryons voire le clonage, seront sûrement utilisées : il est vrai qu'il y a un retard des connaissances concernant la physiologie de la chienne et que le matériel biologique est difficile à manipuler par rapport aux autres espèces comme la vache, mais l'intérêt est grandissant et la recherche fait de nombreux progrès. Cependant, ces avancées techniques mettront du temps avant d'être utilisables par un large public.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ALLEN W.E. Endocrinology of the estrus cycle. Vaginal changes of clinical significance. Abnormal bitch physiology and endocrinology. Approach to infertility cases. *In Fertility and Obstetrics in the Dog*, London, BSAVA Ed., 1992, 14-17, 18-28, 129-135.
- (2) ALLEN W.E. Artificial insemination. *In Fertility and Obstetrics in the Dog*, London, BSAVA Ed. 1992, 136-140.
- (3) ALLEN W.E., ENGLAND G.C.W., PORTER D.J. A comparison of radioimmunoassay with quantitative and qualitative enzyme-linked immunoassay for plasma progestogen detection in bitches. *Veterinary record*, 1989, **125**, 107-108.
- (4) ARTHUR G.H., NOAKES D.E., PEARSON H., PARKINSON T.J. Infertility in the bitch. *In Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Philadelphia, Ed. W.B. Saunders, 1996, 516-543.
- (5) ARTHUR G.H., NOAKES D.E., PEARSON H., PARKINSON T.J. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. *In Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Philadelphia, Ed. W.B. Saunders, 1996, 3-46.
- (6) ARTHUR G.H., NOAKES D.E., PEARSON H., PARKINSON T.J. Artificial insemination. *In Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Philadelphia, Ed. W.B. Saunders, 1996, 634-653.
- (7) BADINAND F., FONTBONNE A. Canine artificial insemination with frozen semen: comparison of intravaginal and intrauterine deposition of semen. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993, **47**, 325-327.
- (8) BADINAND F., FONTBONNE A. Repeatability of events during successive estrus period within bitches: comparison between breeding results and clinical ans hormonal data. *Journal of Reproduction and Fertility* (free communication), 1993, **47**, 548-549.
- (9) BADINAND F., FONTBONNE A., MAUREL M.C., SILIART B. Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993, **47**, 63-67.
- (10) BADINAND F., PETIT C. Quels resultats attendre de la reproduction assistée chez la chienne? *Recueil de Médecine Vétérinaire*. Spécial reproduction canine, 1998, **174**, 153-161.
- (11) BARTHELEMY C. Etude statistique des résultats d'inséminations réalisées au CERREC depuis 1995. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 2009, n°2, 116p.
- (12) BARTOLO A. Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole National Vétérinaire d'Alfort de 1999 à 2002. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2004, n°59.
- (13) BENECHET N. Insémination artificielle en semence congelée chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole National Vétérinaire d'Alfort (CERCA) de janvier 2001 à décembre 2006. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2007, n°76, 110p.

- (14) BOBIC GRAVRILOVIC B., ANDERSSON K., LINDE-FORSBERG C. Reproductive patterns in the domestic dog, a retrospective study of the Drever breed. *Theriogenology*, 2008, **70**, 783-794.
- (15) BOUCHARD G.F. et coll. Determination of ovulation in the bitch with a qualitative progesterone enzymeimmunoassay in serum, plasma and whole blood. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993, suppl. 47, 517-518.
- (16) BRICOUT E., Contribution à la détermination du moment du pic de LH chez la chienne. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 1994, n°10.
- (17) CAIN J.L., GOODMAN M.F., Retrospective evaluation of artificial insemination with chilled extended semen in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1993, **47**, 554-555.
- (18) CATHENOZ L., MARSAN C. Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole National Vétérinaire d'Alfort de 1990 à 1993. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 1996, n°38.
- (19) CLERO D. Détermination du moment de l'ovulation : évaluation de la fiabilité de l'ovulstart® chez la chienne Beagle. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2009, n°92, 168p.
- (20) CONCANNON PW et al. The ovarian cycle of the bitch: plasma estrogen, LH and progesterone. *Biol Reprod*, 1977; **17**, 604-13
- (21) CONCANNON P. W., ENGLAND G., VERSTEGEN J., LINDE FORSBERG C. Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic considerations. Recent advances in small animal reproduction. *IVIS*, 8 juin 2002.
- (22) CONCANNON P.W., MC CANN J.P., TEMPLE M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1989, **39**, 3-12.
- (23) DEVYS Y. *Contribution à l'étude de l'infertilité chez la chienne*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Lyon, 1997, n°118.
- (24) DIELEMAN S.J., OKKENS A.C., VAN HAAFTEN B., WILLEMSE A.H. Timing the mating of dogs on the basis of blood progesterone concentration. *Veterinary record*, 1989, **125**, 524-526.
- (25) DOUCET F., VANNIMENUS C. Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de l'Ecole National Vétérinaire d'Alfort de 1994 à 1998. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2001, n°38.
- (26) DUMON C. Physiologie sexuelle de la chienne. *In Reproduction du chien et du chat*. Paris, PMCAC Ed., 1992, 11-18.
- (27) DUMON C. Frottis vaginaux chez la chienne. *In Reproduction du chien et du chat*. Paris, PMCAC Ed., 1992, 47-52.
- (28) DUMON C. Insémination en semence fraîche chez la chienne. *In Reproduction du chien et du chat*. Paris, PMCAC Ed., 1992, 243-250.
- (29) FARSTAD W., ANDERSEN BERG K. Factors influencing the success rate of artificial insemination with frozen semen in the dog. *Journal of Reproduction and Fertility*. 1989, **39**, 289-292.

- (30) FONTBONNE A. Insémination en semence réfrigérée ou congelée chez la chienne. *In Reproduction du chien ou du chat.* Paris, PMCAC Ed., 1992, 261-264.
- (31) FONTBONNE A. Utilisation du dosage de la progestéronémie chez la chienne. *In Reproduction du chien ou du chat.* Paris, PMCAC Ed., 1992, 53-58.
- (32) FONTBONNE A. Utilisation de la mesure du taux de progestérone plasmatique pour la détermination de la période optimale de fécondabilité chez la chienne. *Conférence du congrès CNVSPA*, Paris, 1992, 121-130.
- (33) FONTBONNE A. L'insémination artificielle à l'aide de semence réfrigérée dans l'espèce canine. *Conférence du congrès CNVSPA*, Paris, 1993, 93-99.
- (34) FONTBONNE A. Suivi de chaleurs et de gestation : approche diagnostique en cas de troubles de la reproduction et thérapeutiques. *Conférence du congrès CNVSPA*, Paris, 1993, 564-567.
- (35) FONTBONNE A. Faire reproduire son chien ou sa chienne. Les clefs d'une pratique réussie. Isle en Dodon, Maradi Ed., 1996, 15-75, 244-252.
- (36) FONTBONNE A. Les pièges des frottis vaginaux chez la chienne. *Point Vétérinaire*, 1996, **28**, 19-25.
- (37) FONTBONNE A. Technique d'insémination intra-utérine par voie transcervicale chez la chienne. *Point Vétérinaire*, 1997, **28**, 56-61.
- (38) FONTBONNE A, LEVY X, FONTAINE E, GILSON C. Guide pratique de reproduction clinique canine et féline. Paris, Med'com Ed., 2007, 272 p.
- (39) GUERIN C. L'insémination artificielle dans l'espèce canine : quelles en sont les indications ? Dossier interne du CERCA. Cité par Cathenoz L. et Marsan C. Thèse Alfort 1996, n°38.
- (40) GUERIN C. Intérêt du dosage de progestérone chez la chienne. Dossier interne du CERCA. Cité par Cathenoz L. et Marsan C. Thèse Alfort 1996, n°38.
- (41) GUERIN C. L'insémination artificielle dans l'espèce canine. *Point Vétérinaire*, 1997, **28**, 33-42.
- (42) GUERIN C., FONTBONNE A. Les frottis vaginaux et le suivi du cycle oestral chez les carnivores. Angers, Intervet Ed., 1997, 1-16.
- (43) GUERIN C., PETIT C., BADINAND F. Fécondité chez la chienne après saillie ou insémination artificielle. Point Vétérinaire. 1997, **28**, 51-56.
- (44) HEKERMAN T.W.M., OKKENS A.C., DE VOGEL J.W.A., VAN HAAFTEN B. Influence of litter size and breed on variation in length of gestation in the dog. *The Veterinary Quartely*, 1993, **15**, 160-161.
- (45) JEFFCOATE I.A., LINDSAY F.E.F. Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1989, **39**, 277-287.
- (46) JEFFCOATE I.A., LINDSAY F.E.F. Clinical methods of estimating the optimum period for natural and artificial insemination in the bitch. *Journal of Reproduction and Fertility* (free communications), 1993, **47**, 556-557.
- (47) LENNOZ-ROLAND M. Reproduction chez les brachycéphales. *Rencontres Nationales Vétérinaires*, Palais des congrès de Lyon, 2000, SNVEL, Paris.

- (48) LINDE-FORSBERG C. Fertility data from 2041 controlled artificial inseminations in dogs. *Proceeding of the 4th Int. Symp. Canine Feline Reproduction*; Oslo, 2002, 120 p. (abstract)
- (49) LINDE-FORSBERG C. What can be learnt from 2500 Ais in the dog? 27th World Small Animal Veterinary Association Congress; Granada, Spain, 2002.
- (50) MIALOT J.P., DUMON C., CASSOU B. Insémination artificielle chez la chienne : mise en place de semence fraîche avec le pistolet souple « Osiris ». *PMCAC*, 1985, **20**, 213-220.
- (51) MILLION C. Déroulement de la saillie chez la chienne: analyse des dossiers cliniques du Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de 1989 à 2002. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2004, n° 54, 125p.
- (52) MIMOUNI P, DUMON C. *Vade-mecum de pathologie de la reproduction chez le chien*. Paris, Med'com Ed., 2005, 223 p.
- (53) NEVEUX M. Les frottis vaginaux chez la chienne. *Point Vétérinaire*, 1999, **30**, 37-44.
- (54) NIZANSKI W. Intravaginal insemination of bitches with fresh and frozen-thawed semen with addition of prostatic fluid: Use of an infusion pipette and the Osiris catheter. *Theriogenology*, 2006, **66** (2); 470-483.
- (55) PIERSON P., GRANDJEAN D, SERGHERAERT R., PIBOT P. Guide pratique de l'élevage canin, Paris, Fontaine Ed., 1996, 157-222.
- (56) QUANTIN M. *La vaginoscopie chez la chienne, réalisation d'un atlas photographique*. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Alfort, 2008, n°99, 160p.
- (57) SILIART B., MONTARDE M.P., LEBRETON A. Endocrinologie de la reproduction. *In Reproduction du chien ou du chat*. Paris, PMCAC Ed., 1992, 37-46.
- (58) SILVA L.D.M., ONCLIN K., LEJEUNE B., VERSTEGEN J.P. Comparison of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen. *Veterinary Record*, 1996, **138**, 154-157.
- (59) SOCIETE CENTRAL CANINE, Résultats de fécondité, 1996, Cité par Fontbonne A. *Faire reproduire son chien ou sa chienne. Les clefs d'une pratique réussie.* Isle en Dodon, Maradi Ed., 1996, 15-75, 244-252.
- (60) THOMASSEN R, SANSON G, KROGENAES A, FOUGNER JA, ANDERSEN BERG K, FARSTAD W. Artificial insemination with frozen semen in dogs: A retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. *Theriogenology*, 2006, **66** (6-7), 1645-1650.
- (61) TSUTSUI T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *Journal of Reproduction end Fertility*, 1989, **39**, 269-275.
- (62) UNITE DE MEDECINE D'ELEVAGE ET DU SPORT DE L'ENVA. Le cycle sexuel de la chienne et ses applications. Aimargues, Royal Canin Ed., 1997.
- (63) WILSON MS. Endoscopic transcervical insemination in the bitch. (modifié le 12/12/2003) In: International Veterinary Information Service [http://www.ivis.org] (consulté le 21/12/2009)
- (64) WRIGHT P.J. Application of vaginal cytology and plasma progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch. *Journal of Small Animal Practice*, 1990, **31**, 335-340.

ANNEXE I

DOSSIER TYPE DES FEMELLES AU CERCA

CERCA- ENVA: SUIVI de CHALEURS

	OM : mal-propiétaire)	N° C	cLovis:		Date	e 1 ^{ière} vis	ite :	
	Anamnèse		Examens	réalisés lors	de ce SC		Clinicie	ns
Intervalle inter-	oestrus :	I	Endoscopie vag	inale				
Durée des chale	eurs antérieures :	(Cytologie et ba	rtériologie uté	rine 🗌	∐ Dr ∑	Kavier LEV	Y
	déjà été mise à la reprodu	-	Γest Sérologie l			□ Dr A	Alain FONT	BONNE
-	-	_	Γest Sérologie l	_				201112
	tations menées à termes :		rest belologie t	rucciiosc		Emr	nanuel FO	NTAINE
	ve de mise à la reproduct e gestante :		Bactériologie va	aginale		□D:: 4	urélien GR	DIIDT
- SC réali	0					⊔Ы А	urenen GK	ELLEI
- Examen	is complémentaires réalis	sés :	Antibiothérapie	prescrite :		☐ Dr V	incent Ség	alini
Type de « sailli	e » :	ieu: I	Echographie ov	arienne:		Autı	e:	
Date								
	^{ième} J	^{ième} J	^{ième} J		^{ième} J		^{ième} J	
Vulve								
Couleur						_		
N° de frottis	☐HS	☐HS ☐555	5 HS	<u>555</u>	HS [555	HS	<u>555</u>
Hématies								
PMN								
% acido.								
% baso.								
% parab.								
Autres								
Fond								
Amas								
P4 N°tube	ng/ml	ng	/ml	ng/ml		ng/ml		ng/ml
Conclusions								
Date du nouveau dosage								
Date d'ovulation								
Date IA ou saillie conseillée								
IA (lieu dépose de								
la semence +								
reflux ? + qualité semence)								
Echo.								
Autres								



Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

U.M.E.S. C.E.R.C.A. Tél: 33(0)1 43 96 71 75

Fax: 33(0)1 43 96 71 30 cerca@vet-alfort.fr

2523 MR OU MME BOUCHER

Romain

14 avenue de verdun 77290

Madame, Monsieur,

Nous avons pratiqué, au CERCA, sur votre chienne URIANNE dont le numéro d'identification est

Une insémination artificielle

En vous remerciant par avance, nous vous prions d'agréer, l'expression de nos salutations

Afin d'en connaître le résultat, auriez-vous l'obligeance de nous retourner cette feuille dûment remplie.

dévouées. La chienne a été saillie ou inséminée le Date de la mise bas : Durée approximative de la mise bas : Mise-bas normale () Mise-bas anormale () Ouelle intervention a été nécessaire ? Nombre de chiots nés : Total : Vivants: Morts: Répartition des sexes nés Vivants: Femelles: Mâles: Femelles: Répartition des sexes nés Morts-nés: Måles: Nombre de chiots vivants à ce jour : Date: Commentaire(s) Eventuel(s):

Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

7 avenue du Général de Gaulte 94704 Maisons-Alfort Cedex

Tél: 01 43 96 71 00 - Fax 01 43 96 71 25

internet : www.vet-alfort.fr

Centre d'application de Champignelles

Domaine de Croisil

89350 Champignelles

CIRALE

Goustrainville

14430 Dozulé

Tél: 03 86 45 10 22 - Fax: 03 86 45 18 64 | Tél: 02 31 27 85 55 - Fax: 02 31 27 85 57

ANNEXE II
RESULTATS DE FECONDITE D'APRES LES STATISTIQUES DE LA SOCIETE CENTRALE CANINE EN 1996

1º groupe	the traillier	no naissance	REDUCES	feetilise	no chiote inscrite	instante.	troofficial.
Berger attendend	4 002	2 239		59,73	15 140		5.3
Berger belge	601 /	•	989	60'30		3231	
Groenendael	184	171		76,63	787		5,6
Tervueren	272	727		83,46	1438		62
Laskencis	in	-		00'00	113		8.5
Malinols	648	526		11.17	300		3.7
ĸ	75	\$		00'08	180		8
Colley	63	430		1800	2 133		4.9
Collie a poil fong					1128		
Colle à poil ras	-				5		
Bearded collic	179	129		72,07	950		7,4
Berter cellie	182	129		70,88	57.5		7,5
Shetland	400	277		69,25	683		3.4
Bobtell	1113	83		74.77	366		8,6
бингента	_					396€	
Remotron	533	980		70,74	3.875		SS
Welch corgi pembroke	R	8		96,96	æ		2
Weish corn cardigan	5	*		90,08	5		14.3
Berger de Brie	321	236		73,52	1665		7,1
Berger picard	z	+		78,85	987		4.5
Pyréndez	_					1.10.1	
Berger des Pyrépées	3	252		27,75	1016		4.0
Gos d'Atma	4	17		123,43	22		5,0
Bergers de l'est et inslieur						585	
Pull hongrois	¥	-		125,00	12		3,4
Komoodor	0	9		90,00	2		3.5
Mudi	-	-		00,00	•		0,0
Kuvasz	_						
B. de Marenne	9	en.		20,00	2		3,3
	7 2	20 6		R	3 8		20
4	8	· .		25,55	3		*
	- 1	- •		8 8	2 5		200
B. An Consess	n t	-			3 3		2
Ovtehents de Russle méddicasie		•					1
B. d'Asle centrale	=	_		00'00	23		020
Bourier des Flündres	-					260	
Bouvier des Flandres	142	8		68,31	121		5,7
Australian cattle dog	2	-		90,00	éa		9,6
Bergers hollandais	,			00.00	,	21.3	
B. hell, port long	N S			1000	, A		7
Schoonsendoes	2 %	2		N S	8 5		3,7
Chien loan de Saarloos	4			2000	-		2
atme elab	-	-					
B. portuguls	60	-7		66,67	3		7,0
Australiae shepherd	00	e 1		37.50	8		9,7
Chien lough tendecostowardue	2000	1		000	21.0.10		747
entrane - bronzese	Š	6	_	3	1		4
and in the second	+	-		20,0			7

3º gruupe	no saillies	5	ub naissemen	HENCE	Pertilité	nto charota trascrite	Inscrite	anothios.
Airadole at disease	-			L			269-2	
Cast And chine built town he	28		2		57.86	40		2.5
Maurottables out the control	1		1		200			ŕ
Arredale L	\$.		4		3,00	312		1.5
Lakeland t.	2		•		17.33	Ž,		3,7
Welsh f.	6.		38	٠,	70,10	247		3,6
Manchester L.	₹		m		75,00	2		0'5
Bull	7		3		62,16	215		4.7
American staffordshire t.	132		8		11.57	489		5,1
Sealyham t.	n		9		00'05	\$		2,5
Berifington t.	5		~		33,33	2		3
Kerry bine t.	93		-		70,00	3		4.9
Irlah	90		9		75,00	a		3,3
Norwigh t	×	-	17		46.15	30		1
Silley	9	-	Ġ		05/2	2		S
Ancreliant	5		=		73.33	4		-
Trender :	8		2		60.03	2		1.5
Modelle	-		-		00,001	*		8.0
Company of the same of	9		۰۰		50,00			
Sour counce wheaten :	1		• •			12		1
Cesty	=				2	9 :		3
Terrier noir russe	_	-	•		200'00	7		4
Terrier reversad Jack Russel	8		38		87,76	448	_ 1	5,2
Fox terriers							1331	
Fox t, à poil fisse	772		20		18'08	9		£,3
Fox t, à poil dur	326		258		79,14	251		3.7
Jagd terrier	303		S		14,26	1122		5.0
Terriare d'Ecous							5373	
Scottish t.	E C	_	8		89.00	2		9
Caim t	578		12		773,88	8		3,7
West highland white t.	1 328		23		63,48	2913		3,5
Dandie dimont t.	-		•		82	-		2.8
Skyet	*		2		35.36	8		50
Terrier du Yorkshire	2.139		2 FOI		75,53	6009		29
fertilité - prolificité	265 9		4.730		71,75	16622		5
Manufa Ivanda					28.82			

4º groupe	войня сіз	ab theiseances	fertilité	nb chiota inscriu	prolificité
Techolo				1 962	
Peckel noil Jone	328	ន្ត	09'69	788	3.4
Pedrel roll rak	176	133	75.57	529	4.7
feelest roll dur	1 000	157	72,88	3.251	*
Bertilts - prelificité	1 508	1 093	72,48	4 662	4,27
écarts types			2.99	-	99'0

Schnouter - Pinscher		The second second	· Inno	APA LAMBO	PART OF THE PART O	TOTAL PARTY	AL PROPERTY.
ģ							
			_		į	Č	-
Schwarzer geam.	CII	2		9.50	4/1		3,2
Schn. moyen	2	3,		76,06	312		5,8
Physcher moyen	Ä	17		70,83	103		6.1
Schr. nain	130	88		73,33	829		6.4
Affenginscher	4	E		18,00	9		3.0
Pinscher main	138	116		90'88	£38		
Soberman	\$28	330		70,08	236		6.9
Liver	TZA	200		76.66	254		19
And doe strollede	15	116	Ī	76.77	797		-
			Ī			17.0	
Michigan - District	7	*		20.00	***	8	1
Market	ż	9 8		20/65	3 5	•	1
Sulmastiff	X.	3		48.30	13/		C.
Dogue alternand	797	364		64.54	1,709		4
Jogue de Bordsbux	128	\$25		FF 87	326		5,3
Mol. the laws lating and house		_				327	
Dogue argentia	23	*		65,38	800		6,1
Fila brasileiro	-	en .		75,00	25	_	3.3
Mastin español	11	65.		51,52	87		5.3
Cão da sema da Estrela	2	*		80,00	\$		10.8
Marin de Naples	147	3		41,50	941		7
China pyrénésar						S83	
Montagne des Pyrénées	163	113		92,78	889		7
Math des Pyrésées	49	*		66,67	2		
Rottweller	*	637		96'29	3446		Š
Shar pet	443	414		93,45	130		e.
Saint Bernard						316	
Saint Bernard	147	7		*COS	2		0'9
Airi	m	85		166.67	2		3,8
Berger d'Anatolie	1	4		88,71	*		8
Hovawat	23	18		17,03	113		2
Dogue du Tibet	96	A		55,52	140		3,4
Léonberg	225	145		17.79	1 090		F
Terre name						7 686	,
Terre neuve	288	282		50,17	1331		×
Lanseer	EZ	61		1978	3		-
Bouware sweeze	,					8	
Appenzeller Semetrand	•			8	Đị.		\$
Farlebacher Sennenhund	5	\$		21.67			
Remer Cementium	4 5	1 7		2 2	2 6		8
Sertition - productor	8609	3973		08.89	20315		F
	_			15			181

### 17 38,44 91 220 230	A Description	nh on Bex	nh seitShoes	a ferdins	th chiots inscrib		prolificité
All the colored control of the colored color		PF	141	+	16		2
A column	Select Deposit	-	1			Apr	-
### utcolore ### utcolor #### utcolor #### ut	_	-;			1	•	150
### blanc of notice ### size there are notice ### size the notice ### size there are notice ### size the	Policyln	4	•		į	-	
State of the country of the country of the country in the countr	Birly	-	0	200	8		1
### 155 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 15	Francais tricolore	_	_		22	_	
### 199 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 120 12	Perment blane at mair	_			\$		
### 199 199 170,211 220 180 ### 199 120 160,00 161 ### 199 120 160,00 161 ### 199 120 160,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 120,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 160,00 161 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 ### 199 161,00 #	Gand anda-francis tricolore	_	_		#	_	
A. Christe 159 44 70,21 220 130 130 130 130 130 130 130 130 130 13	City and a frace point of Man					-	
and Ceen	CO CONTRACTOR CONTRACTOR			-		1 260	
Compared by the control of the con	the state of the s	2	\$	10.00	2		5.3
Trier 119 94 18,000 277 17,24 428 17,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,000 27 1,00	Grand grillion vendoern	7	8 3		1		
The factors of the fa	Grand basset griffon vendera	3	¥	9	Ē.		3,7
Marchelle	Bringer griffon vendéen	119	3,	18.59	237		2,7
Page of the Contract of Africation	Peris hasses oriffen vendfen	154	113	13,38	432		3,8
Arrivols 158 91 17.59 23 266 Bragle, B harrier, Harrier 147 99 67.32 217 266 Bragle, B harrier, Harrier 147 99 67.32 217 266 Bragle, B harrier, Harrier 147 99 67.32 217 266 Blind of Gaue, Gaucon, Arida 38 30 78.55 150 24.74 Blind of Gaue, Gaucon, Arida 38 30 78.55 150 24.74 Blind of Gaue, Gaucon, Arida 38 30 78.55 150 24.74 Blind of Gaue, Gaucon, Arida 38 30 78.55 150 24.74 Blind of Gaue, Gaucon, Arida 38 30 78.55 150 Brach of Statogene 155 152 152 150 Brach of Statogene 155 152 154 Blanch of Gaucogene 155 155 155 150 Blanch of Gaucogene 157 157 144 Blanch of Gaucogene 158 159 150 Blanch of Gaucogene 158 159 150 Blanch of Gaucogene 158 150 150 Blanch of Gaucogene 158 150 150 Blanch of Gaucogene 158 150 Blanch of Gaucogene 150 150 Blanch of Gaucogene 150 150	Party of the Party of	-	_			330	
Pagin Derman 150 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 151 1	Challes al America	Ę	2	90 09	338	-	12
Martier Marrier Marr	CIDEN G. ALIONS	į	1 2	5	3	_	-
Parelle, & harrier, Harrier 147 99 67.33 317 200	Basset artistien normannd	100	,	26.50	***	1	1
Particle	Bengle, B harrier, Harrier				7	8	-
Fig. 2 19 19 19 19 19 19 19	Beaule harrier	147	8	67.33	317	_	3.2
Second Color	Henolin	609	98	76,52	2017		43
Register of the petitic velocities 822 788 951,12 365 2474 Rich of Grace, Garcon, Arida. 38 30 78,95 150 Rich of Grace, Garcon, Arida. 38 30 78,95 150 Rich of Gracorgue 135 104 112 125 150 Rich of Gracorgue 135 135 135 135 Rich of Gracorgue 135 135 135 Rich contract brockers 135 13	Harrior	2	97	68.18	77		7,5
100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,000 100,	Acres Constants de very ble miles and	6	200	66.12	183		4.9
CON. Artifa. 155 159 159 159 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150	ADMINISTRATION OF PERSONS	3				20.00	
12 19 16.36 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166 166	Men de Gase., Garcon, Arrig.	-	ş	3000	5		4.0
155 194 67,100 196 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 197 1	Grand Dieu de Gascogne	eg :	2		3 3	_	
155 19 67,10 256 156 112 65,256 446 157 473 65,259 186 157 473 65,259 186 157 473 143 157 473 65,259 186 158 77 65 77,241 339 177 413 158 77 14,43 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 46 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 199 24 159 65,23 189 189 189 189 189 189 189 189 189 189	Grand gascon saintongoois	a	0.	8636	8		1
126 112 86,36 446 159 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 15	Pett blen de Gascogne	35	8	67,10	i i		7
135 12,35 446 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 129 12	Petit gascon saimongcois	£3	61	36,36	6		5,1
150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150 150	Ariéseois	136	112	82,35	#		4,3
102 77 65 7741 559 776 650 7741 559 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776 776	Cathon blen de Cascoane	186	153	200	90		5,3
1022 770 64,63 334 7784	Rectat bles de Gascoene	12	4	65,28	981		4,0
Second S	Porce age	100	É	69,89	358		4.8
Section Sect						1784	
Construct rations 413 328 77,42 1445 1008 7 55 5 100,00 2 1008 7 5 5 100,00 27 1008 7 5 100,00 27 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 46 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23 100 1009 65,23	Andrew Same Same of the Contract of the Contra	2	0	77.43	83		7
Object 113 100 88.50 614 644 644 644 644 644 644 644 644 644	Therese forms do Brattama	43	308	79.42	146		4.4
# Incertois 77 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 100,000 27 27 27 27 27 27 27	College and the second	113	100	05.88	614		5,1
Acriera 1 1 100,000 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2	CHECKE AND		-			3	-
Applicates 3.2922 2.420 73,513 11 992 445 15	The de and an account become of				7	į	
Acritica 3.292 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.420 2.4		-6	_	90	4		7.5
Levière 15 9 65,23 46 448 448 448 448 448 448 448 448 448	Chief courant schwyrzons	۶ و	9 5	7	1		6
Table 1 1 1 100,000 2 1 1 1 100,000 2 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	Chara courses persons	1 :	9 6	200	7		1
Application 2 297	Brune du Jura 1970 St. Francett	2 }	× 5	2	7		1
Avidente 3.292 2.420 73,51 11 992 45	Bridge du Just 1978 Bridge		2	1	*		8.5
Aprilia 2577 151 554.75 692 74 65 65 65 65 65 65 65 65 65 65 65 65 65	Petit chien contant schwyrzons	- 6			1		150
1	Chien courant lucemols			200	2 5		9.0
1 1 100,00 10 14 100,00 10 14 100,00 14 100,00 14 100,00 17 14 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11 11	Basset hound	is a	1	28/2	74		À
1 100,00 14 1992 4 5 100,00 14 1992 4 5 100,00 14 1992 4 5 100,00 17 17 17 17 17 17 17 17 17 17 17 17 17	Ch. rouge de Baun, et de Banière	-	-	9	_	*	10.0
1 100,00 2 1450 73,51 11 992 4,59	Hammoverscher Schweissmith	-	+ 0	18	T		7.0
habite feetable problected 3.2922 2.420 73,51 11.992 4,59	MATISCHET GEORGSSCHWEISSBURG	-	4		-		
Marie ferilité - prélificité 3.292 2.420 73,51 11.992	Seguate imitano	#		100,00	-		2,0
Maritiki - problectie 3.292 2.420 73,53 11.992	hatte				-		
20,00	1	L	2420	2	± 82		ş
	-dept streets		-	20,43			8

and the second	TO SHIPPE	I	ND THE RESTRICTS	SUCES	fertilitie	the chiefs integral	mount	prolingetta
ALERS MORE							814	
Leyland dog			==		100,00	ø		9
Samoyede	8		2		£	Š		5.2
Esquiman du Groenland	×		\$		35,71	ä		3,5
Finnish spitz	-		7	. ,	100,00	n		30
Sutzz loup	22		9		30,00	4		8.7
Elkhound					The state of the s	H		
Akita ima	25		ð		72,58	272		9
Grand spite	~		**		00,00	•		J.E
Lundehund	60		4		133,33	F-		8,1
Chien d'ours de Carélie	•		-		25,00	F		J'L
Shiba inn	ភ		13		70,83	3		0'†
Spitz japonais	_		_		90,001	পা		3.0
Chien finnols de Laponie	33		-		33,85	E		E'S
Chiens des Gottes de Youast	Ŧ		**		30,00	7		015
Holdsido		_				=		
Siberian husky	438		345		78.77	1633		
Alsekan malamate	ZS.		£Þ		69'73	216		3'5
Spitz							134	
Spliz	TIE		'n		74,76	326		23
Volpino italiano	3		-		33,33	80		20
Chow chow	149		77		48,33	291		5,4
Eurasier	51		35		68,63	220		9
Sloughir et lew. d'Afrique							Š	
Cimeco de l'Eina						_		
Basenji	=		*		45,45	ĸ		6.4
Podenco Ibicenco						m		
Podengo portugues	7		~		100,00	13		0'9
					150,00	16		-
farilité - prolliché	1262		8		71,33	3778		45
Searth types					32,67			1,5

8 groupe	STEEP ST	PD RESIDENCE	200	fartist	ub choos macrits	inacritic	proliferite
Retriever	_					72 952	
Nove Scotta duck tolling retr.	_	=		10000	-		F
Rer. Isbrador	2 165	1.59		73,49	980		2
Retr. golden	628	2		72.93	287		. 9
Rorr, chesapeake	ra	-		00'05	37		781
Retr. curley conted	n	4	:	E (E)	\$		17
Rerr. flat coated	*	8		81,82	E P		99
Rechesien ridgeback	6	8		68'88	69		8,4
Speniel				-		5 850	
Clumber sp.	\$	×		E. E.	3		ď
Susses sp.	-	_			Ŧ		
Welch suringer su.	ser.	_		05.18	\$)'L
Paglish springer ap.	386	ñ		Z 2	148		9
Irish water sp.	F	=		9000	_		2
Flord op.					_		
Highies cocker sp.	1046	¥		71,51	377		Ť
American cocker sp.	239	275		13,22	706		4
Chievo d'east						N	
Barbet	-	~		42,86	2		3
Chica d'ean portugals	e	40		100,001	*		-
Chien d'en espagnol							
Sector chieb	_						
Deutscher Wachtellund	+	m		15.00	E.		9,
Serilike - predicte	06+7	3313		73,79	9068		5,71
- Constitution of the Cons				21,03	_		36.50

- STORING		20 00	no nei manece	Spiriting:	and chock leading	┑	
١	900	398		82:38	2 185		5.9
Braque attenund						1 7 25	
Draksker et C	-				;	*	1
Para assurant electrons	ž	F4		8,8	133	_	4,0
THE PERSON NAMED IN COLUMN TWO	•	•		10000	-	_	9
Stague slowague a pou our	•	• •		1	1	_	**
Drahthaar	600	200	-	1,511			0
Pudel polinter	લ			2000			200
Roche Ircheme		~		200,000	19		S.
The management of the second		_			<u>م</u>		
Sesset der Alpes	-					1935	
Branes de Neimar	-	_		00000	-		2.5
B. de W. noil Jong	en.	_	_	150,00	3		200
D de U rool rae	235	181	_	E E	1 173		6.3
. 00 Tr. Maria	ò	2	L	49.34	327		1,4
Braque d'Anvergne		1		00.32	483		4.6
rague du Bourbonnais	R	-		200	The state of the s	1	
Bradus francair			_		,	5	
Browns de l'Aribae	-	40		15,71	8		3,0
mine franch	119	5		11.51	508		6.3
Dian up Henyasa		ľ		24.50	2		0.8
Braque de St Germann.				1	1	Ì	
Brayes hongroot					•	_	1
Viseta moil ras	i.		_	S,	265		1,5
Waste notil dur	2 0			200	4		6,7
toole por our	-			100,00	*	_	6,0
District Annual						25	
Apage, or remover in us to	4			9005	12		
angham.		_		200	1	_	ľ
Petit mussterlander	9	'n		9	5 '	_	
Grand munister/ander	7		-	30,00	*	1	3
Reagn. about of Co		_	_		-	125	
Emenal meant	=		=	136.36	Š		50
Speciment bien pleant	ğ	2	_	82,61	5	_	9,0
Consessed Boart Angletter			49	5,53	# 	-	8,7
Concession of the Concession o	1 205	1049		818	5 808	7	5,5
The state of the s	161	8		82.64	640		9
CONSTITUTION IN STREET	100	723		20 08	166		9
THIOH GARGE S POR CUE KINERES	1	3		07.87	2 130		5.9
Contra							2.9
Setter intandats	211	-	36				0.5
Velter anglans	1 199	8	0	10,13	3		-
Sether gordon	185	148	2	8	1001		
Section error portugues			-	8		2	ř
fartilité - prolificité	7 998	3 251	1	79,05	25 813	*	603
					I		

10° groupe	15 mail 1800	and the property of the	formilité	no chock interior	promisens
S during al Allie	_			T#	
Saluti	Ę	ā	22.17	i.	7.
Léwrier afghan	E	52	73,24	324	3
Barred, Magnet				333	
Berzol	35	5	70.31	333	7
Macyar agar				ন	
Léwier d'Irlande et Rootse				172	
Decthound	F	5	71,43	<u> </u>	
Irish wolfhound	×	19	54,29	197	7,
Avriers d'Afrique				77	
Slough	7.7	2	66,67	SA.	'n
Calso	44.	ন	(9'99	<u>~</u>	4
Lévrier azawakh	ñ	100	61.54	80	9
Chevhorad	48	33	12,93	194	3
Petit terrier mallen	56	121	62,57	223	**
Whiteet	272	223	81,99	1 202	×.
Jactilla . prolifiché	9#9	£	74,77	2630	\$
Specific Spe			8,39		

£\$828

28 2 2 3

最適的なお

Bichon bolonais
Bichon bolonais
Bichon havanals
Bichon navanals
Bichon rastasis
Petit chien iton
Chiashus et C.

200 5

8422

92 98 4

Chibushas Chien chibois à crête Xoloizcodrate Chien du Pérou à peau nue Caniche

Chiese libéta Spagnest du Tibet

					Tons groupes conforcins no walks and ab Mont	004 ST 24.015		earls types	
	2.0	2.7	3.4		2.9	2.9	3,36	1.14	
ŝ				417					
	3	53	785		8	3	818		
	68,83	72,83	71,02		49,76	63,16	73.35	13,77	
					_				
	5	110	572		201	**	336		
	ð	151	377		22	S			
MALES CONSCIENTED	2	8	nçais	A, Cartin			fertillié - prelificité	describe bypool	

4,63

72,64 3,28

no chicas insurits 155 196

Terrier du Tibet Deimetien

ឧដ្ឋឌឧ

17 4 16 19 17 11 100 53,22

8 3 400

58478

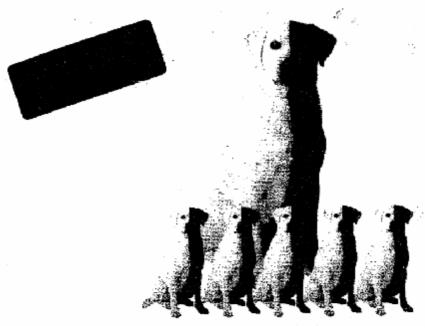
20 ES

5 8

ANNEXE III

TESTS DE DOSAGE DE LA PROGESTERONE ET DE LH

PROGESTERONE



- Un résultat obtenu pendant le temps de la consultation.
- Un test de dosage semi-quantitatif précis et fiable.
- La simplicité d'une technologie reconnue : l'EUSA compétition.

PREMATE, L'APPROCHE RAISONNÉE POUR UNE PARFAITE MAÎTRISE DE LA REPRODUCTION CHEZ LA CHIENNE.

PREMATE est un test rapide effectué pendant le temps de la consultation, qui mesure le taux de progestérone à partir d'une seule goutte de plasma ou de sérum.

Test de dosage semi-quantitatif, PREMATE vous permet d'apprécier l'évolution du taux hormonal entre des prélèvements successifs.

Vous évaluez ainsi avec précision la période d'ovulation chez la chienne et conseilles le moment opportun de la saillie.

PREMATE, un outil de diagnostic fiable pour une approche raisonnée du la maîtrise de la reproduction chez la chienne.

PREMATE

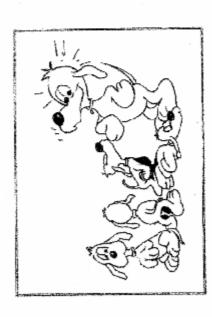


DIAGNOSTICS

OVULATION TEST

ELISA sur membrane pour la détermination de la période fertile chez la chéenne

LA MAITRISE DE LA REPRODUCTION



Stable 15 mois (pour tous les réactifs) Test rapide - 12 mn - Lecture visuelle Eveluation seral quantitative de la progestérone en ng/rst (estimation de 4 naveaux différents de progestérone) A utiliser sur plasma ou sérum

Conditionnement par 6 tests (ref 0x6) Spécifioite 89 % Sensibilité 95 % (par rapport à la raukdimmundlogle)

38 rue Barthélèmy de Bos. 83336 SASARY

TEL 1.947421.24. FAX 1.94.3470.84.





	4	200 (Addition du substrat	•	ë mirades et hadune visuelle (virege eu Meu)
2		H			
Tall Street	က	LAVAGES	Jan)))	
		- fi			
	~	2000	Addition du comjugue	\odot	1 minute
	_	`	Depot de féchsatilon	0	2 minutes

LES PERFORMANCES DE L'OVULATION TEST

¿'OVULATION TEST, technique ELISA aur membrana, a até comparée à la méthode de laferenca, la HADICHMANUNCLOGIE. L'ovaluation à été effectuée sur sérum et a montré, sur 376 échantitors une confetation de 96% entre les doux techniques.

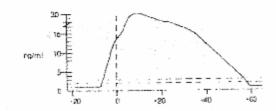
: :8:

EstruCHEKTM KIT DE DOSAGE DE LA PROGESTERONE

I. Introduction

Di Désertion de la proportéepes chiex la Chiese

Le test Pagestérope EstraCSRRK, méthode simple et repide pierret désenter le révern de progratione dans is series. This has lost do funciona at the processure, to must successi. progressivement environ d jours overt le più de Lifs, pair segment considérablement et rosta à on hard mineral durant flueskus et le élocations. A se stade, la chierana est paletra d'ensent fluttie De sels sénome document avec EstreCHRK une absence de coudeur bêsus ou une três idigêne



II. Principe du test

ExtraCHER, our im test ELIRA equipment institute in evidence la prograndrome per une résenteure exhosée . Un mandat de la acuder précesse dans les misorpaise set inverseures proportioniste à la construction on progrations de l'échantilles. De ce fait les échantilles mètes de progratiques économi une réaction par ou pas colorde tands que les échantilless passers en pay autifore inclusive anacouieur bieu fanos

Les micropuis sont transés d'un anticops mencelonal aut-prograndente. L'inhantifan fruis (lait abet la Vache, afram chez la Chérene et sang total civez la hancest) est déparé term per in conjugate entryme-propositions. Une completion studying out in projections de l'échonision et la projectionne conjugate your la faison ever les anticorps monutenairs. Après use issulation de 15 mm les puits sont vides de leur exestemn et francis du compagni est éléminé par lavage. Le bist de veulte es le sérum de chierme requièrem l'unification de un éstillée ou éépondée traditique le tradition de sérum sale inotrésque . Le révétaient extérné est aponé est aponé est faculté practient 7 son na beut desquelles l'artematé de le condeur des microyaits des écheriffons est comprese à celle du micropuits témoin

Codeur bleu foucé - faible taux

Pen ou pas de couleur – taux élévé

III. Contenu du kit EstroCHEK

Місторай в пріводе в' Ас топовіднямих воб-реограмічно.	3 x 12 aniccopyatts
Southerte A : Contrôle propositions (boundary mou)) and
Soutello B : Conjugué Peronyriase (bossibon bless)	6 mi
Boutelle C : Révélateur (nouehon word)	6 gal
Pipoles	36
Portoir	1

ustre mais nou found . Pissette, ou distillée, aérum selé isonorique, paper asquée-trad

IV. Précoutions d'emploi

- A. Conserver au finis (2 à 8°C). Parter tous les components à température de la pièce avent usage
- B. Toujours réaliser un abmoin à d'auque test.
- C. Suivre exactement les instructions . Les colorations non specifiques peuvent identiver d'un lymage aucomen et de const
- D. No pas otilies en delli de la péremption
- E. Ne pas mélazger les résoltés de différents lots
- P. Utiliser une pipette pour le sémain et une pipette pour chaque éstimatillon
 C. La première étape (péaleation du témeire, dépêt des debandières et adjonation du Contagné) det ser tière en moitre de trois mémoires , sous princ de pératique éposteres.

V. Recuell des échantilleus

Unbere du sang remedit de façon stérile: Labert coagules . Apuès setaction en callot le simm peut être conservé dans un flaces, et voire.

VL Indications du Kit

Disprises de l'accipus : La révota de progenitame communeme à craître environ à jours avent le pie de l.H. Tester chaque jour des les premens signes du procestras. Lorsque le puis de l'échantile

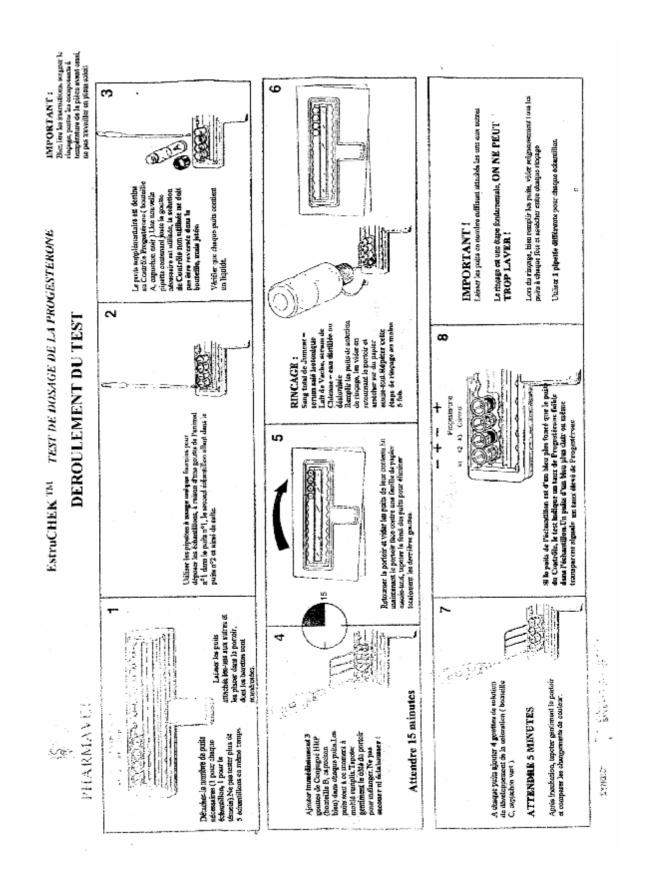
est piel cleir que le puits de courrile, cels algrade que le pie de LH s'est produit . On peut passéder à l'infériqueur deux jours qui suiveni.

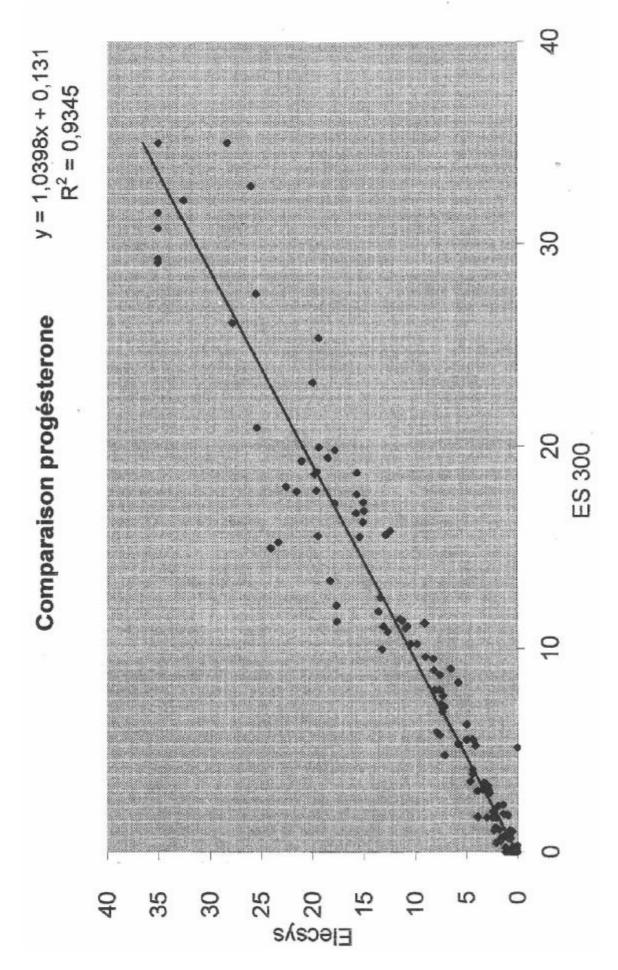
Préfétie de l'apparchement : Commence les tiets quoissiems ever EstreCHECK une semaise sout la daix présumir de l'apparchement . Courie se décharaises dans les 24 hourse et le misropuis. de fécharállou est plos formé que estai da contrêle .

Epipolitik est hautpment epischique, nanditiont facile le réaliser. Les céraliste peuvent être abtenus eu 26 mm. Le témain duit être affitei pour chaque série de fest .

VII. Stockage, stabilité

Conserver le test à 2.89°C. Contri la chalem et le gul. La survenice de ces innidents se madrit par l'absence de calonaixes dans le paire du timain. Les résoriés en rente date de péremption



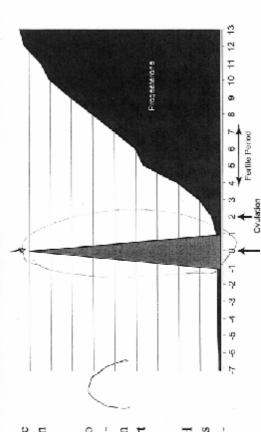


Luteinizing Hormone Diagnostic Test



Witness' LH was designed to pinpoint the optimum time for canine breeding. Since its inception, LH testing has a proven variety of uses in multiple species. During the canine estrus cycle, the LH surge may occur from days 3 to 28 (average days 3 to 12) after observable signs of heat and lasts approximately 24 hours. Ovulation occurs 2 days after the LH surge. Ova then require an additional 2 to 3 days to mature into a stage that will support fertilization.

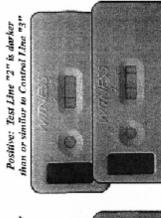
surge with the most fertile days being 5 and 6 (the day of the LH surge is The fertile period of the bitch falls between days 4 and 7 after the LH counted as Day 0). Determining the LH surge is perhaps the most critical factor in reproductive efficiency.



Example of the Canine Fstrus Cycle

When It's Time to Test Serum Sample Required 20 Minutes A Apply 3 drops of serum into well "1" using the provided pipette.

evident or lighter than Control Line "3" Negative: Test Line "2" is not 3 Interpret Results



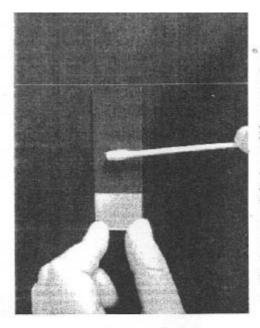
ANNEXE IV

REALISATION D'UN FROTTIS VAGINAL : PRELEVEMENT ET COLORATION

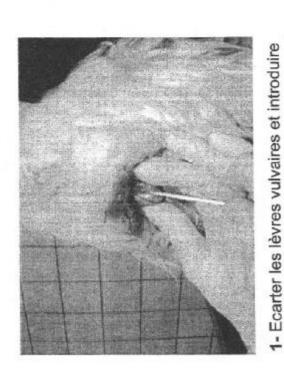
vagin.



2- Redresser ensuite l'écouvillon pour atteindre la région antéro-médiane du



4- Etaler aussitôt le prélèvement en roulant l'écouvillon sur lui-même sans tron anniver



 Tourner doucement l'écouvillon sur lui-même puis le retirer.

verticalement à la commissure supérieure de la vulve l'écouvillon préalablement humidifié

avec du sérum physiologique.

Coloration des frottis vaginaux

Type de coloration	Avantages	Inconvénients
Harris-Shorr	Le coloration des cellules vaginales est bien mise en évidence par l'apparition d'une couleur rouge (éosinophilie ou acidophilie). Les cellules non kératinisées se colorent en bleu (basophilie).	Méthode longue (environ 12 minutes)
May-Grünwald- Giemsa	Rapidité, coloration différentielle du noyau et du cytoplasme. Bonne visualisation des polynucléaires et des hématies.	Les cellules épithéliales vaginales sont normochromes.
Bleu de méthylène	Rapidité.	Appréciation uniquement morphologique. Mauvaise visualisation des cellules sanguines. Altération au bout de quelques minutes.

Coloration de Harris-Shorr

Etapes	Durée
Fixation alcool-éther	5 minutes
Alcool à 70°	Plonger 10 fois
Alcool à 50°	Plonger 10 fois
Eau distillée	Plonger 10 fois
Hématoxyline de Harris	2 minutes
Eau distillée	1 passage
Eau distillée	1 passage
Alcool ammoniacal	1 minute
Eau distillée	1 passage
Alcool à 70°	1 passage
Alcool à 95°	1 passage
Coloration de shorr	2 minutes
Alcool à 95°	1 passage
Alcool à 100°	1 passage

ANNEXE V

L'INSEMINATION ARTIFICIELLE : PRELEVEMENT, ANALYSE ET ENVOI DE LA SEMENCE

I-Le prélèvement

Le sperme du chien est récolté manuellement. On utilise un cône en plastique souple sur lequel est adapté un tube transparent en plastique. Le matériel de récolte est préalablement passé à l'étuve à 37°C, afin d'éviter le risque de choc thermique avec les spermatozoïdes.

Le prélèvement se réalise au sol, de préférence en présence d'une femelle en chalcurs. L'érection est obtenue en massant les bulbes érectiles, s'assurant que tout le pénis est bien extériorisé. Puis l'éjaculation est provoquée en pinçant le pénis en arrière du bulbe érectile.

L'éjaculât est composé de plusieurs phases bien séparées : .

*La phase urétrale est obtenue rapidement ; elle est limpide et peut parfois contenir de l'urine ou du sang par rupture des vaisseaux péniens sous la pression ;

*La phase spermatique est obtenue lorsque l'étalon cesse ses mouvements de va et vient ; elle est laiteuse, riche en spermatozoïdes ;

*La phase prostatique, limpide et de quantité importante, n'est pas toujours prélevée dans sa totalité, le volume de sperme étant alors trop important.

Puis il faut s'assurer que le pénis rentre dans sa totalité dans le fourreau (en effet, il peut s'enrouler sur lui-même et provoquer une striction).

Remarque : l'utilisation d'un étalon deux fois par semaine lui permet de renouveler totalement son stock de spermatozoïdes.

II-Examen de la semence

A-appréciation visuelle

1-Le sperme est normalement inodore, sauf lors d'infection.

2-Son volume peut varier fortement, de 1 à 30 mL si on prélève toute la phase prostatique.

B-Réalisation d'un spermogramme

L'examen au microscope des spermatozoïdes permet d'évaluer la qualité du sperme de l'étalon en vue d'une insémination ; cette qualité devra être d'autant supérieure que la semence est destinée à être congelée, car les spermatozoïdes perdent un peu de leur pouvoir fécondant

1-Motilité

En plaçant une goutte de sperme entre lame et lamelle, et en l'observant au microscope à platine chauffante, on peut observer la motilité des spermatozoïdes (pourcentage de spermatozoïdes mobiles).

On recherche en général une motilité supérieure à 70 p.cent, et au minimum 60 p.cent (2).

2-Anomalies

Pour apprécier le nombre de spermatozoïdes vivants, on réalise une coloration à l'éosine nigrosine (coloration « vitale ») en mélangeant une goutte de sperme et une goutte de colorant en en effectuant un frottis, celui-ci peut être lu plusieurs heures après sa réalisation. Les spermatozoïdes vivants sont colorés en vert et les morts en rose.

Il existe plusieurs types d'anomalies : spermatozoïdes décapités, queue enroulée, gouttelette cytoplasmique ou déformation de la pièce intermédiaire. On recherche un pourcentage d'anomalies inférieur à 20-30 p.cent.

3-Concentration

La concentration du sperme en spermatozoïdes est évaluée grâce à une cellule hématimétrique de Thoma. Une dilution au 1/100^{ème} dans du chlorure de sodium à 3 p.ccnt est réalisée dans un mélangeur de Potain, afin de tuer les spermatozoïdes (pour un sperme peu concentré, on dilue au 1/10^{ème}). Une goutte de la solution diluée bien homogénéisée est placée entre une lamelle et la cellule hématimétrique de Thoma. La solution pénètre par capillarité.

La cellule hématimétrique de Thoma est un carré divisé en 16 petits carrés de 1/250 millimètre-cube. Le nombre total de spermatozoïdes dans 1 mL s'obtient en additionnant le nombre calculé dans 5 carrés et en le multipliant par 50 (= spermatozoïdes par mm³), puis en multipliant par la dilution (x 100) et en convertissant en mL (x 1000).

L'objectif est une concentration égale à 100.10⁶ spermatozoïdes par mL, et, pour la semence décongelée, un total de 150-200.10⁶ spermatozoïdes normaux et mobiles (2).

III-Conservation du sperme

Si le sperme n'est pas utilisé immédiatement et si sa qualité le permet, il pourra être soit réfrigéré, soit congelé (2)(6).

A-Réfrigération

Lors du refroidissement, et en l'absence de protecteurs, les spermatozoïdes subissent des altérations dues au choc thermique entre +20 et +5°C. Le sperme destiné à être conservé est donc dilué en ajoutant goutte à goutte et à température ambiante un dilueur à base de jaune d'œuf et d'une substance tampon.

Solution tampon:

Tris	3,026 g
Acide citrique mono OH	1,7 g
Fructose	1,25 g
Pénicilline	100000 U.I.
Dihydrostreptomycine	0,1 g
Eau bidistillée QSP	100 mL

On utilise 1,5 mL de dilueur pour 100 millions de spermatozoïdes, soit en moyenne 2 à 10 mL selon la taille de la chienne.

La semence est stockée dans des tubes fermés type tubes à hémolyse sans caoutchouc ; elle est réfrigérée 30 minutes à $+4^{\circ}$ C. Elle peut se conserver jusqu'à 96 heures à cette température.

Son envoi se fait dans une bouteille thermos bourrée d'ouate imbibée d'eau réfrigérée. Les taux de mises bas suite à l'utilisation du sperme réfrigéré dans les 4 jours qui suivent sa récolte sont identiques à ceux obtenus avec la semence fraîche.

B-Congélation

Au dilueur précédent est ajouté un cryoprotecteur : du glycérol à 3,2 p.cent ; celui-ci permet de limiter les pertes en eau subies par la cellule et donc de diminuer la cristallisation.

On réfrigère à + 4°C pendant une heure et demic. Le sperme est ensuite conditionné en paillettes avec un appareillage spécial à ultrasons, puis les paillettes sont placées dans les vapeurs d'azote pendant 10 minutes à – 70°C, enfin dans l'azote liquide à – 196°C. Ce tpe de congélation lente (10 à 100°C / minute) permet à l'eau de sortir de la cellule afin d'éviter la formation de glace.

On vérifie la motilité résiduelle 24-48 heures plus tard. Elle doit rester supérieure à 40 p.cent.

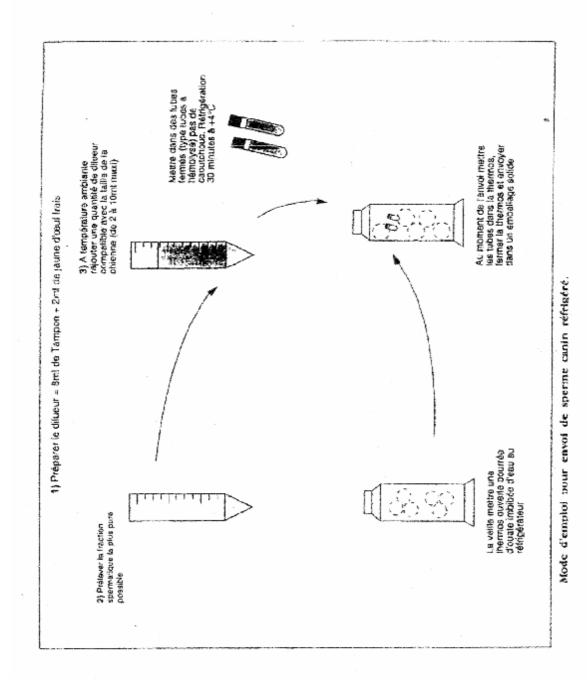
La décongélation doit être réalisée rapidement, afin d'éviter l'obtention de concentrations ioniques trop élevées dans la cellule et la formation de microcristaux.

Protocole:

45 secondes à 37°C 7,5 secondes à 65°C 6,8 secondes à 95°C

Les cellules subissent néanmoins des altérations lors de la décongélation, aussi le pouvoir fécondant du sperme congelé est-il inférieur à celui du sperme frais.

IV-Envoi du sperme



- 118 -

MATERIEL

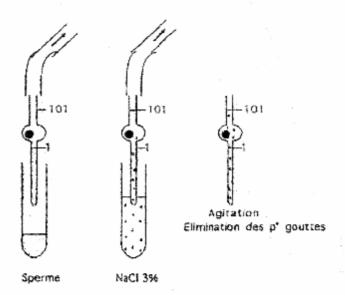
I-Le mélangeur de Potain

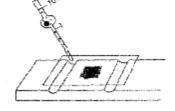
C'est une pipette capillaire munie d'un renflement ampoulaire contenant une perle destinée à assurer le mélange de la dilution.

Il existe deux types de mélangeurs de Potain :

*celui muni d'une perle rouge est normalement utilisé pour diluer le sang afin de réaliser une numération érythrocytaire. Il permet une dilution au 1/100 eme.

*celui muni d'une perle blanche est utilisé pour dilucr le sang afin de réaliser une numération leucocytaire. Il permet une dilution au 1/10 eme.





II-La cellule hématimétrique de Thoma

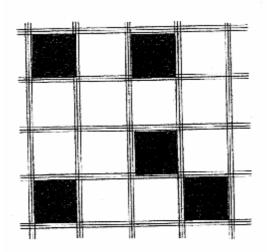
Une cellule hématimétrique est constituée par une lame de verre épaisse vidée en son centre, de profondeur connue. Le fond de la cavité comporte un quadrillage très fin et très précis. La cuve est bordée de chaque côté par deux gouttières puis par deux supports de hauteur précisément connue.

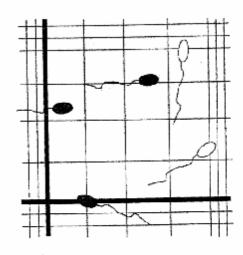
Il existe deux types de cellules hématimétriques : la cellule de Malassez et la cellule de Thoma.

La cellule de Thoma a les dimensions suivantes :

- *la profondeur de la cuve est de 1/10^{ème} de mm
- *le quadrillage détermine 16 grands carrés de $1/5^{\rm ame}$ de mm de côté comportant chacun 16 carrés de $1/20^{\rm ame}$ de mm de côté
 - *le volume ayant pour base un petit carré est de 1/400 mm³
 - *le volume ayant pour base un grand carré est de 1/250 mm³.

Les spermatozoïdes situés à cheval sur les côtés du grand carré doivent n'être comptés que sur 2 côtés (toujours les mêmes) pour éviter de les comptabiliser deux fois. Ici, en choisissant le côté vertical gauche et le côté horizontal le plus bas, seuls les spermatozoïdes coloriés en noir sont comptabilisés.





CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA REPRODUCTION CHEZ LA CHIENNE : ANALYSE DES DOSSIERS DES CHIENNES SUIVIES AU CENTRE D'ETUDE EN REPRODUCTION DES CARNIVORES DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT DE 2005 A 2008

Nom et prénom: Esparel ép. Labatut Alexandra

Résumé:

Cette étude poursuit les travaux menés depuis 1990 par L. Cathenoz, C. Marsan, F. Doucet, C. Vannimenus et A. Bartolo. L'auteur rappelle dans un premier temps les principales notions de physiologie de la reproduction de la chienne et les techniques actuelles de reproduction assistée. La seconde partie fait le rappel des résultats observés entre 1990 et 2002. La dernière partie étudie le bilan d'activité du Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de Maisons-Alfort (CERCA) ainsi que les résultats de reproduction des chiennes suivies entre 2005 et 2008. Une analyse des résultats globaux a été effectuée ainsi qu'une étude de leur variation en fonction de la race, de l'âge et du mode d'insémination (saillie naturelle, insémination artificielle en semence fraîche ou réfrigérée ou congelée). Sur la période étudiée on note une baisse du nombre de suivis de chaleurs, une progression du nombre d'insémination artificielle. Les résultats restent bons et comparables à la littérature internationale mais la fertilité en saillie naturelle est en baisse depuis 1990. Les résultats de fertilité des inséminations artificielles s'améliorent depuis 2004. Un travail sur les courbes de progestéronémie montre l'importance de réaliser les dosages jusqu'à l'ovulation : trente-sept pourcent des chiennes ont une évolution de la progestéronémie atypique.

<u>Mot-clés</u>: REPRODUCTION FEMELLE, INSEMINATION ARTIFICIELLE, SAILLIE, FERTILITE, PROGESTERONE, CARNIVORE, CHIENNE, ECOLE NATIONALE VETERINAIRE, ALFORT, CERCA.

Jury:

Président: Pr.

Directeur: Dr. Fontbonne Assesseur: Pr. Grandjean

Adresse de l'auteur:

Esparel ép. Labatut Alexandra, 18 rue du Général Exelmans 78140 Vélizy-Villacoublay

STUDY OF REPRODUCTION OF THE BITCH: STUDY OF BITCHES FOLLOWED IN THE CENTER OF STUDY FOR CARNIVORES REPRODUCTION OF THE NATIONAL VETERINARY SCHOOL OF ALFORT BY 2005 TO 2008

Name and surname: Esparel-Labatut Alexandra

Summary:

This study is a follow up to the studies carried out since 1990 by L. Cathenoz, C. Marsan, F. Doucet, C. Vannimenus and A. Bartolo. After an overview of the genital and sexual characteristics of the female dog, current techniques of assisted reproduction used in that species are being reviewed. The second part is a record of the data accumulated at the Center between 1990 and 2002. The final section is devoted to the activity report of the Center of Study for Carnivores Reproduction of Maisons-Alfort (CERCA) and the results obtained in bitches followed between 2005 and 2008. An analytical review of overall results focuses on variations in performance related to race, age and type of insemination (natural mating, artificial insemination with either fresh, chilled or frozen semen). Over the period studied there was a decrease in the number of follow-up of heats but an increase in the number of artificial inseminations performed. The results were generally satisfactory and compared well with those reported in international literature, but fertility from natural mating was found to be on the decline since 1990, while fertility following artificial insemination was found to be improving since 2004. A study on progesterone blood levels showed how important it was to assay progesterone until ovulation: thirty-seven percent of bitches were found to have an atypical blood progesterone pattern.

<u>Keywords</u>: FEMALE REPRODUCTION, ARTIFICIAL INSEMINATION, MATING, FERTILITY, PROGESTERONE, CARNIVORE, BITCH, NATIONAL VETERINARY SCHOOL, ALFORT, CERCA

Jury:

President: Pr.

Director: Dr. Fontbonne Assessor: Pr. Grandjean

Author's address:

Esparel-Labatut Alexandra, 18 rue du Général Exelmans 78140 Vélizy-Villacoublay