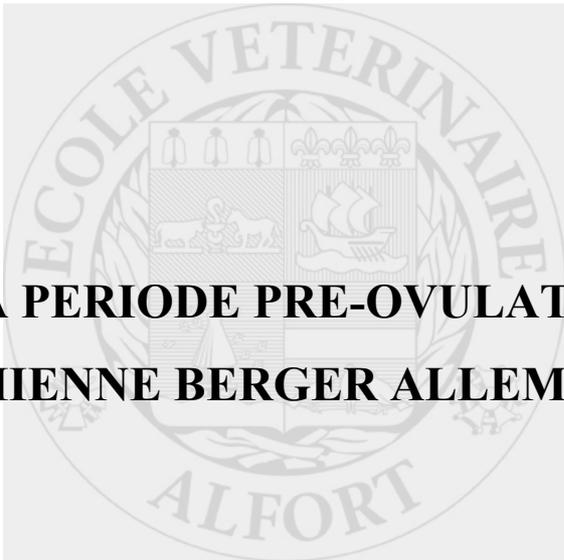


Année 2006



**ETUDE DE LA PERIODE PRE-OVULATOIRE CHEZ
LA CHIENNE BERGER ALLEMAND**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le.....

par

François BARON

Né le 31 mars 1981 à Bernay (Eure)

JURY

Président : M.

Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL

Membres

Directeur : Dr. Alain FONTBONNE

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : Dr. Laurent TIRET

Maître de conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort

LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur COTARD Jean-Pierre

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs MORAILLON Robert, PARODI André-Laurent, PILET Charles

Professeurs honoraires : MM. BORDET Roger, BUSSIERAS Jean, LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques, THERET Marcel

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

Chef du département : M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur - Adjoint : M. DEGUEURCE Christophe, Professeur

<p>-UNITE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES Mme CREVIER-DENOIX Nathalie, Professeur* M. DEGUEURCE Christophe, Professeur Mlle ROBERT Céline, Maître de conférences M. CHATEAU Henri, AERC</p> <p>-UNITE DE PATHOLOGIE GENERALE , MICROBIOLOGIE, IMMUNOLOGIE Mme QUINTIN-COLONNA Françoise, Professeur* M. BOULOUIS Henri-Jean, Professeur</p> <p>-UNITE DE PHYSIOLOGIE ET THERAPEUTIQUE M. BRUGERE Henri, Professeur * Mme COMBRISON Hélène, Professeur M. TIRET Laurent, Maître de conférences</p> <p>-UNITE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE Mme ENRIQUEZ Brigitte, Professeur * M. TISSIER Renaud, Maître de conférences M. PERROT Sébastien, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : BIOCHIMIE M. MICHAUX Jean-Michel, Maître de conférences</p>	<p>- UNITE D'HISTOLOGIE , ANATOMIE PATHOLOGIQUE M. CRESPEAU François, Professeur * M. FONTAINE Jean-Jacques, Professeur Mme BERNEX Florence, Maître de conférences Mme CORDONNIER-LEFORT Nathalie, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE VIROLOGIE M. ELOIT Marc, Professeur * Mme LE PODER Sophie, Maître de conférences</p> <p>-DISCIPLINE : PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES M. MOUTHON Gilbert, Professeur</p> <p>-DISCIPLINE : GENETIQUE MEDICALE ET CLINIQUE Melle ABITBOL Marie, Maître de conférences contractuel</p> <p>-DISCIPLINE : ETHOLOGIE M. DEPUTTE Bertrand, Professeur</p> <p>-DISCIPLINE : ANGLAIS Mme CONAN Muriel, Ingénieur Professeur agrégé certifié</p>
--	---

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

Chef du département : M. FAYOLLE Pascal, Professeur - Adjoint : M. POUCHELON Jean-Louis , Professeur

<p>-UNITE DE MEDECINE M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Melle MAUREY Christelle, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE M. DENOIX Jean-Marie, Professeur * M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences Mme CARSTANJEN Bianca, Maître de conférences contractuel Mme GIRAUDET Aude, Professeur contractuel Melle VIREVIALLE Hameline, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Maître de conférences* (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 Melle CONSTANT Fabienne, AERC (rattachée au DPASP) Melle LEDOUX Dorothée, Maître de conférences Contractuel (rattachée au DPASP)</p>	<p>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. MOISSONNIER Pierre, Professeur Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mlle RAVARY Béangère, AERC (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. HIDALGO Antoine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE RADIOLOGIE Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Maître de conférences contractuel</p> <p>-UNITE D'OPHTALMOLOGIE M. CLERC Bernard, Professeur Melle CHAHORY Sabine, Maître de conférences contractuel</p> <p>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences contractuel</p> <p>- DISCIPLINE : ALIMENTATION M. PARAGON Bernard, Professeur M. GRANDJEAN Dominique, Professeur Mme BLANCHARD Géraldine, Professeur contractuel</p>
---	---

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

Chef du département : M. CERF Olivier, Professeur - Adjoint : M. BOSSE Philippe, Professeur

<p>-UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES M. BENET Jean-Jacques, Professeur* M. TOMA Bernard, Professeur Mme HADDAD/ H0ANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOUR Barbara, Maître de conférences</p> <p>-UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur M. CERF Olivier, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p>- DISCIPLINE : BIostatistiques M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p>- 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, Maître de conférences</p> <p>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences* Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences</p>
--	---

Mme CALAGUE, Professeur d'Education Physique * Responsable de l'Unité AERC : Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel

A notre jury de thèse :

A Monsieur le professeur

De la faculté de Médecine de Créteil

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Hommage respectueux.

Au Docteur Alain Fontbonne

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour m'avoir confié cette étude et pour sa disponibilité,

Hommage respectueux.

Au Docteur Laurent Tiret

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour avoir accepté de participer à notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

A mes parents

Pour leur soutien chaleureux et leurs encouragements tout au long de ces années d'études, qu'ils trouvent ici mon éternelle reconnaissance.

A ma famille, en particulier Caro, Lolo, Paul, et mes grands-parents.

A Aideen bien sûr pour tous nos moments passés ensemble, mais aussi pour tous ceux à venir.

A mon petit coloc préféré pour notre complicité sans faille.

A tous mes amis alforiens : Amélie, Carlène, Brice, Charly, Prot, Ané, Audrey, JoJo, Laëti et tous les autres pour tous ces bons moments passés à l'Ecole.

A tous mes amis bernayens : Camille, Seb, Julien, Fred, Mathieu, Charlo et tous les autres pour toutes ces folles soirées.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux	5
Liste des figures	7
GLOSSAIRE.....	9
INTRODUCTION.....	11
PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique	13
1- Données générales de la physiologie de la reproduction chez la chienne	13
1-1-La puberté chez la chienne	13
1-2- Les phases du cycle œstral de la chienne	13
1-2-1- Le pro-œstrus.....	13
1-2-2- L'œstrus.....	14
1-2-3- Le métœstrus ou diœstrus.....	15
1-2-4- L'anœstrus.....	15
1-3- Physiologie du cycle ovarien.....	17
1-3-1- La folliculogenèse	17
1-3-1-1- Développement folliculaire terminal	18
1-3-1-1-1- Données générales chez les mammifères	18
1-3-1-1-1-1- Mécanismes.....	18
1-3-1-1-1-2- Régulation de ces mécanismes.....	18
1-3-1-1-2-Particularités chez la chienne	18
1-3-2- L'ovulation	19
1-3-2-1- Données générales chez les mammifères.....	19
1-3-2-1-1- Remaniements morphologiques et cytologiques aboutissant à la rupture du follicule.....	19
1-3-2-1-2- Remaniements vasculaires.....	19
1-3-2-1-3- Changements dans les sécrétions des cellules folliculaires	19
1-3-2-2- Ovulation chez la chienne.....	20
1-3-2-2-1- Déroulement de l'ovulation	20
1-3-2-2-2- L'ovocyte au moment de l'ovulation.....	20
1-3-2-2-3- L'ovocyte pendant sa vie extra-ovarienne.....	20
1-3-3- La mise en place du corps jaune et la lutéolyse	21
1-3-3-1- Evolution morphologique et fonctionnelle du corps jaune.....	21
1-3-3-1-1- Données générales chez les mammifères	21
1-3-3-1-2- Particularités chez la chienne	21
1-3-3-2- Contrôle du corps jaune cyclique.....	22
1-3-3-2-1- Données générales chez les mammifères	22
1-3-3-2-2- Particularités chez la chienne	22
1-3-3-2-2-1- Fonctionnement autonome.....	23
1-3-3-2-2-2- Fonctionnement sous influence hormonale.....	23
1-3-3-3- La lutéolyse.....	24
1-3-3-3-1- Données générales chez les mammifères	24
1-3-3-3-2- Particularités chez la chienne	25
1-4- Fécondation et gestation chez la chienne	25
1-4-1- Survie des spermatozoïdes et de l'ovocyte	25
1-4-2- Fécondation <i>in vivo</i>	26

1-4-3- Développement embryonnaire précoce et implantation chez la chienne	26
2- Détermination zootechnique du moment de l'ovulation et de l'accouplement	27
2-1- Les différents critères utilisés en pratique	27
2-1-1- Critères subjectifs	27
2-1-1-1- Le nombre de jour après le début du pro-œstrus.....	27
2-1-1-2- L'acceptation du mâle par la femelle.....	27
2-1-1-4- L'aspect des écoulements vulvaires.....	28
2-1-2- Critères objectifs	28
2-1-2-1- La mesure de la résistivité du mucus vaginal	28
2-1-2-2- La vaginoscopie et la crénulation vaginale.....	28
2-1-2-3- Les frottis vaginaux.....	30
2-1-2-3-1- Modifications cytologiques de l'épithélium vaginal au cours du cycle sexuel.....	30
2-1-2-3-2-Interprétation et détermination de la phase du cycle sexuel.....	32
2-1-2-3-3- Intérêts et limites	32
2-1-2-4- Les dosages hormonaux.....	33
2-1-2-4-1- Le dosage de l'œstradiol.....	33
2-1-2-4-2- Le dosage de l'hormone LH.....	33
2-1-2-4-3- Le dosage de la progestérone plasmatique	34
2-1-2-4-3-1- Evolution de la progestéronémie au cours du cycle sexuel.....	35
2-1-2-4-3-2- Réalisation.....	36
2-1-2-4-3-3- Intérêts et limites	37
2-1-2-5- L'échographie ovarienne	38
2-1-2-6- La laparoscopie	42
3- La race Berger Allemand	43
3-1- Généralités et actualités médicales à propos de la race Berger Allemand	43
3-2- La reproduction chez la chienne Berger Allemand	44
3-2-1- Puberté.....	44
3-2-2- Les chaleurs de la chienne Berger Allemand.....	44
3-2-2-1- Détermination du moment optimal d'accouplement.....	44
3-2-2-2- Durée des chaleurs	45
3-2-2-3- Fréquence des chaleurs	45
3-2-3- Fertilité	46
3-2-4- La gestation	46
3-2-4-1- Prolificité.....	46
3-2-4-2- Durée de gestation.....	46
3-2-4-3- L'insuffisance lutéale, un trouble particulier à la race ?.....	47
3-2-4-3-1- Définition.....	47
3-2-4-3-2- Incidence de l'insuffisance lutéale	47
3-2-4-3-2-1- Dans l'espèce canine	47
3-2-4-3-2-2- Chez la chienne Berger Allemand.....	48
DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale	49
1- Le CERCA	49
1-1- Présentation	49
1-2- Protocole des suivis de chaleurs	49
2- Matériel et méthodes.....	51
2-1- Les animaux.....	51
2-2- Les dosages.....	51
2-3- Saisie et traitement des données	51

3- Résultats : exposé et analyse.....	52
3-1- Etude n°1 : Etude des courbes de progestéronémie.....	52
3-1-1- Nombre de cas.....	52
3-1-2- Valeur moyenne de la progestéronémie au cours des chaleurs.....	53
3-1-3- Moment de l'augmentation brusque de la progestéronémie au cours des chaleurs.....	54
3-1-5- Etude des courbes de progestéronémie individuelles.....	56
3-1-5-1- Courbes à évolution habituelle.....	56
3-1-5-1-1- Progestéronémie ≥ 1 ng/ml au moins 6 jours avant ovulation.....	57
3-2- Etude n°2 : Etude génétique des chiennes présentant des courbes atypiques	67
3-2-1- Chiennes dont les pedigrees ont pu être analysés.	67
3-2-2- Chiennes dont on ne dispose que de renseignements oraux.....	68
3-2-3- Chiennes dont on ne dispose d'aucune donnée.....	68
4- Discussion.....	68
4-1- Protocole.....	68
4-2- Exclusion de certains paramètres	69
4-3- Résultats.....	69
4-3-1- Etude n°1 : Etude des courbes de progestéronémie	69
4-3-1-1- Ensemble des chiennes de l'étude.....	69
4-3-1-1-1- Durée des chaleurs.....	69
4-3-1-1-2- Fertilité et prolificité.....	70
4-3-1-1-3- Profil des courbes de progestéronémie.....	70
4-3-1-2- Chiennes présentant des courbes de progestéronémie atypiques.....	70
4-3-1-2-1- Moment de l'ovulation	70
4-3-1-2-1-1- Détection de l'ovulation.....	70
4-3-1-2-1-2- Moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs.....	72
4-3-1-2-2- Résultats de mises bas	72
4-3-1-2-3- Age des chiennes concernées	72
4-3-1-2-4- Durée de l'interœstrus des chiennes concernées	73
4-3-1-2-5- Autres chaleurs des chiennes concernées	73
4-3-2- Etude n°2 : Etude génétique des chiennes présentant des courbes atypiques.....	73
CONCLUSION	75
BIBLIOGRAPHIE	77

Liste des tableaux

Tableau I : Age moyen à la puberté pour quelques races.	44
Tableau II : Durées de gestation pour quelques races.	47
Tableau III : Moment de la montée brutale de la progestéronémie par rapport au premier jour des chaleurs et fertilité associée.	54
Tableau IV : Durée du passage de la progestéronémie (Pg) de 2 à 6 ng/mL et fertilité des chiennes concernées.	55
Tableau V : comparaison entre la date d'ovulation effective et la date d'ovulation supposée pour les chiennes dont la courbe de progestéronémie a un profil classique.	56

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique d'un ovaire.	17
Figure 2 : Représentation schématique de la courbe de progestérone chez une chienne gestante et non gestante.	22
Figure 3 : Représentation schématique des cellules épithéliales et sanguines observées dans les sécrétions vaginales au cours du cycle sexuel chez la chienne.	30
Figure 4 : Correspondance entre le pic de LH et le début de l'augmentation du taux de progestérone.	34
Figure 5 : Evolution hormonale (LH, progestérone et oestradiol) au cours du cycle sexuel chez la chienne.	36
Figure 6 : Evolution des images échographiques au cours des chaleurs chez la chienne	38 à 41
Figure 7 : Durée de l'interoestrus selon la race.	45
Figure 8 : Protocole utilisé au CERCA lors d'un suivi de chaleurs chez la chienne.	50
Figure 9 : Valeur moyenne +/- écart à la moyenne de la progestéronémie: évolution au cours des chaleurs (660 dosages) en fonction du nombre de jours après le début des écoulements vulvaires.	53
Figures 10 à 17 : Evolution de la progestéronémie au cours de différents suivis de chaleurs pour quelques chiennes.	57 à 61
Figure 18 : suivi de progestéronémie chez une chienne Berger Allemand.	63
Figures 19 à 26 : Evolution de la progestéronémie au cours de différents suivis de chaleurs pour quelques chiennes.	63 à 67
Figure 27 : Chienne n°9 : progestéronémie et pic de LH.	71
Figure 28 : Chienne n°13 : progestéronémie et pic de LH.	71
Figure 29 : Chienne n°14 : progestéronémie et pic de LH.	71

GLOSSAIRE

CERCA : Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores
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
ECLIA : Electrochimiluminescence
EIA : Immunoenzymologie
ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EVSSAR : European Veterinary Society for Small Animal Reproduction
FSH : Folliculo Stimulating Hormone
GnRH : Gonadotropine Releasing Hormone
IE : Index Eosinophilique
IGF-I : Insulin-like Growth Factor-I
LH : Hormone Lutéinisante
LOF : Livre des Origines Françaises
RIA : Radioimmunologie

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années déjà, l'engouement pour les chiens de race en France a poussé éleveurs et vétérinaires à travailler ensemble pour satisfaire des propriétaires à la recherche de plus en plus de performances. La reproduction canine est donc une discipline qui fait l'objet de recherches incessantes, aboutissant à des progrès constants en terme de sélection (choix des meilleurs reproducteurs) et de productivité (détection de la période optimale de fécondation).

De nombreuses publications scientifiques valident désormais plusieurs méthodes permettant de détecter l'ovulation chez la chienne. Parmi celles-ci, la mesure de la progestéronémie au cours des chaleurs apparaît comme la plus fiable. Cependant, le manque d'études à grande échelle sur des populations raciales variées soulève quelques incertitudes : toutes les chiennes ont-elles un profil de courbe de progestéronémie semblable ? Ovulent-elles toutes au même taux de progestérone sanguine ?

Ainsi quelques experts européens s'interrogent à propos des chiennes de race Berger Allemand qui ovuleraient à des taux de progestéronémie variables. Notre objectif est de tenter de répondre à ces questions. Cette race est en effet très répandue et fait l'objet de nombreuses consultations pour détermination du moment de l'ovulation. De nombreuses chiennes de cette race sont accouplées en Allemagne et, de ce fait, les propriétaires souhaitent optimiser leur déplacement en minimisant les risques d'échec. En collaboration avec le Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores d'Alfort (CERCA), nous avons étudié les données collectées dans les dossiers de suivi de chaleurs des chiennes Berger Allemand consultées au CERCA de 2001 à 2005.

Tout d'abord, un exposé bibliographique présente la physiologie de la reproduction chez la chienne, puis les méthodes de détermination du moment de l'ovulation ; enfin ce rappel met en lumière les particularités de la reproduction chez la chienne Berger Allemand. La seconde partie analyse les courbes de progestéronémie des chiennes Berger Allemand reçues au CERCA et les compare aux courbes standards de l'espèce canine obtenues dans des études précédentes.

PREMIERE PARTIE : Etude bibliographique

1- Données générales de la physiologie de la reproduction chez la chienne

1-1-La puberté chez la chienne

La puberté correspond au début de l'activité sexuelle de la chienne.

Les premières chaleurs apparaissent chez la chienne en général entre six et quinze mois (43), avec un pic vers huit à dix mois, lorsque la femelle atteint environ les deux tiers de son poids adulte. Outre les différences raciales, le poids corporel et les conditions d'environnement peuvent influencer sur la survenue plus ou moins précoce des premières chaleurs (3).

L'aspect des premières chaleurs est parfois modifié, sans que cela corresponde à une maladie particulière. Ainsi, les premières chaleurs peuvent passer inaperçues auprès du propriétaire car les manifestations cliniques restent parfois frustes, les saignements vulvaires étant très réduits et la vulve peu dilatée. Ces chaleurs dites silencieuses font donc croire à tort au propriétaire à un retard de puberté (35).

Par ailleurs, les premières chaleurs peuvent correspondre à des chaleurs « blanches », ou faux oestrus, avec développement vulvaire et pertes de courte durée, mais sans ovulation. Une ou plusieurs périodes de chaleurs peuvent alors s'enchaîner à deux ou trois reprises à intervalles rapprochés d'une semaine à deux mois. On parle alors de chaleurs disjointes (« split-heats »).

Ces manifestations particulières n'ont cependant aucun impact sur la fertilité future des chiennes concernées.

Enfin, certains éléments iatrogènes peuvent considérablement perturber la survenue de la puberté : l'emploi abusif de traitements antimycosiques en élevage, ou de tout type de stéroïde (corticoïdes ou anabolisants) par exemple (73).

1-2- Les phases du cycle œstral de la chienne

Le cycle sexuel de la chienne est qualifié de mono œstrien, c'est-à-dire qu'il n'y a qu'une seule période d'acceptation du mâle par cycle, et il est à ovulation spontanée, c'est-à-dire que l'ovulation ne peut pas être déclenchée par l'accouplement (40).

La chienne ovule une à deux fois par an, à intervalle compris entre 5 et 12 mois, même si la majorité des chiennes a un interœstrus compris entre 5 et 7 mois (18).

Le déroulement du cycle sexuel est sous contrôle hormonal, lequel fait intervenir l'hypothalamus, l'antéhypophyse et les gonades. L'hypothalamus contrôle la libération des gonadotropines par l'antéhypophyse, par l'intermédiaire de substances spécifiques stimulatrices et inhibitrices. Ainsi l'hormone GnRH stimule la libération à la fois de FSH et de LH (73).

Le cycle sexuel de la chienne est décomposé en quatre phases déterminées par la physiologie ovarienne, chacune caractérisée par leurs particularités anatomiques, cliniques et comportementales.

1-2-1- Le pro-œstrus

Le pro-œstrus correspond à la première phase du cycle et au début des chaleurs. Sur le plan comportemental, la chienne attire le mâle par l'odeur de l'urine et les phéromones contenues dans les sécrétions vaginales (18). Durant cette phase, la chienne refuse la saillie.

La durée moyenne du pro-œstrus est de 10 jours environ, avec des variations selon les auteurs (5 à 15 jours selon GUERIN et FONTBONNE (43), 5 à plus de 20 jours selon FONTBONNE (32), 3 à 15 jours selon DUMON (22)).

Pour certaines chiennes, le premier pro-œstrus peut être long (plus de trois semaines), et peut alors faire soupçonner une insuffisance de stimulation hypophysaire nécessaire à la maturation folliculaire (1).

Sur le plan histologique, le pro-œstrus correspond à la phase de maturation folliculaire, les follicules ovariens passent de 1 à 4 mm (11) et libèrent des hormones, dont des oestrogènes. L'utérus est congestionné, sa muqueuse est épaissie et très vascularisée. La muqueuse vaginale est rouge, oedématisée et présente des plis profonds et arrondis (11).

Sur le plan génital, le pro-œstrus se distingue par un gonflement oedémateux de la vulve et des pertes sanguines d'origine utérine abondantes et fluides, qui s'écoulent à la commissure inférieure de la vulve (32).

Le comportement de pro-œstrus est le résultat de l'augmentation de la concentration sanguine en oestrogènes sécrétés par les cellules de la granulosa des follicules en croissance (18).

Cette phase de pro-œstrus se termine par un pic de sécrétion d'oestradiol qui se produit environ 12 à 24 heures avant le pic d'hormone ovulante LH d'origine hypophysaire.

1-2-2- L'œstrus

L'œstrus correspond à la période d'acceptation du mâle. L'acceptation du mâle par la femelle se traduit par l'apparition du réflexe d'Amantéa : l'attouchement de la région provoque l'extension du tronc, le relèvement de la croupe, la déviation latérale de la queue, l'élévation et l'ouverture de la vulve. Ce comportement lors de l'œstrus est lié à la chute du taux d'oestrogènes plasmatique et à l'augmentation de la concentration en progestérone dans le sang. Cependant, l'observation de ce signe est très inconstante, puisque certaines chiennes dominantes refusent systématiquement tout accouplement durant leurs chaleurs (42).

La durée moyenne de l'œstrus est de sept jours environ, 3 à 8 jours selon GUERIN et FONTBONNE (43), 3 à 30 jours avec une moyenne de sept jours selon FONTBONNE (32), 3 à 10 jours selon DUMON (22).

C'est au cours de l'œstrus que l'ovulation se produit. Celle-ci est spontanée et survient 2-3 jours après le début de l'acceptation du mâle par la femelle, soit 48 heures après le pic de LH (32, 43). L'ovulation est toujours complète en 24 heures maximum, et peut même durer moins de 12 heures chez certaines chiennes selon MARSELOO *et al.* (58) ; l'ovulation est concomitante sur les deux ovaires.

Lors de l'ovulation, les ovules libérés sont immatures (ovocytes en prophase I de méiose, stade vésicule germinative), ce qui en fait une des grandes particularités de la chienne par rapport aux autres mammifères. Ces ovocytes immatures ne sont pas fécondables *in vivo*, comme l'ont récemment démontré FONTBONNE *et al.* (36).

Ainsi la chienne ne devient fécondable au minimum que 2 jours après l'ovulation, soit 4 jours après la décharge de LH. La période de fécondation se situe donc dans la deuxième moitié de l'œstrus.

D'un point de vue histologique, l'endomètre utérin se développe et se prépare à la nidation. La muqueuse vaginale est pâle, avec des plis profonds, anguleux et serrés (crénulation maximale), dont la surface est desséchée (11).

Sur le plan génital, la dilatation et l'œdème vulvaire sont au maximum. Dans la plupart des cas, les écoulements vulvaires s'éclaircissent pour devenir muqueux puis se tarir par la suite. Mais chez certaines chiennes, les pertes sanguines persistent pendant toute la durée des chaleurs (32).

1-2-3- Le métœstrus ou diœstrus

Cette période, appelée phase lutéale, regroupe la fin de la mise en route du corps jaune (métœstrus) et la phase d'état de celui-ci (diœstrus), les deux étant le plus souvent confondues chez la chienne (35).

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

Par ailleurs, lorsque la femelle est non gestante, on observe parfois une pseudo-gestation comportementale lors du métœstrus : après un délai de 3 semaines à 1 mois, on observe un élargissement du ventre en arrière des côtes, et parfois un durcissement et une turgescence des tétines (7).

La phase de métœstrus dure environ deux mois : 60-65 jours selon GUERIN et FONTBONNE (43) et jusqu'à 110-140 jours selon CATHENOZ et MARSAN (11). Une autre particularité propre à l'espèce canine est à signaler : chez la chienne non gestante, le corps jaune reste fonctionnel puisque, malgré de très légères différences, la courbe de sécrétion de la progestérone en diœstrus chez la chienne non gestante est similaire à celle de la chienne gestante, et se prolonge même un peu plus longtemps (35).

Du point de vue de l'histologie du tractus génital, 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. A cette phase de prolifération et de sécrétion de l'endomètre va succéder la desquamation puis la restauration de la paroi utérine (11). La progestérone provoque également une diminution de la fréquence et de l'amplitude des contractions de l'utérus, ce qui permet l'implantation des embryons suivie de la gestation.

Durant le métœstrus, le vagin est rose, sa surface est humide et il présente des plis séparés et peu profonds.

D'un point de vue génital, le gonflement vulvaire diminue et les pertes vulvaires disparaissent ; parfois on observe une courte période de 4-5 jours avec réapparition de pertes sanguines foncées, glaireuses, filantes et nauséabondes, mais ce cas de figure est rare (32).

1-2-4- L'anœstrus

C'est en théorie la phase de repos sexuel. La femelle est calme et ne présente plus aucun comportement sexuel.

La durée moyenne de l'anœstrus est de 4-5 mois, mais elle peut varier de 2 à 10 mois sans cause ni conséquence pathologique selon DUMON (22). La régularité de l'anœstrus est très importante car elle optimise la fonction de reproduction, ainsi les chiennes dont la fréquence des chaleurs est irrégulière souffrent plus souvent de troubles de la reproduction. En outre, l'involution utérine dure deux mois environ. Des chaleurs trop rapprochées sont donc moins favorables à une bonne reproduction (7).

Au repos sexuel, la vulve est petite, non dilatée. Les écoulements vulvaires se sont taris. Le repos ovarien apparent est suivi d'une phase d'involution puis de repos utérin.

Cependant, des données récentes montrent que la phase d'anœstrus n'est pas silencieuse au niveau endocrine. On a ainsi pu décrire une lente mais constante augmentation du taux plasmatique de FSH tout au long de l'anœstrus, de même une lente mais constante baisse en prolactine avec des valeurs basales observées seulement quelques jours avant le pro-œstrus suivant. Enfin, on observe une hausse de la fréquence et de l'amplitude des décharges de LH environ 3 à 4 semaines avant l'œstrus suivant (67). De plus, au cours de l'anœstrus, les ovaires continueraient à produire de la progestérone en très faible quantité. Selon ONCLIN et VERSTEGEN (67), la production de progestérone endogène par le corps jaune est responsable directement (au niveau des ovaires, en inhibant le développement folliculaire) ou indirectement (au niveau du système nerveux central, par un rétrocontrôle négatif) de l'anœstrus prolongé observé chez la chienne. Il propose une théorie : la progestérone serait le facteur inhibiteur qui régule la durée de l'anœstrus chez la chienne, empêchant des vagues folliculaires spontanées de se développer. La diminution de la progestéronémie serait la conséquence de la baisse de la prolactine, facteur lutéotrope majeur de la fin de vie du corps jaune.

Remarque : l'interœstrus.

L'interœstrus n'est pas une phase du cycle à proprement parler, puisqu'il regroupe les phases de métœstrus et d'anœstrus. Il correspond simplement à l'intervalle entre deux périodes d'œstrus successives. L'interœstrus dure en moyenne 5 à 7 mois, avec un intervalle de 26 à 36 semaines (3). Lors de gestation, cette durée est augmentée de trois semaines environ (29 semaines en moyenne pour les chiennes non gravides, contre 32 semaines en moyenne pour les chiennes gravides (12)).

Un interœstrus de durée inférieure à 3 mois ou supérieure à 12 mois est considéré comme anormal. Ainsi, selon ALLEN (1), un interœstrus de durée inférieure à 4 mois suppose que l'ovulation n'a pas lieu ou que la phase lutéale est courte. D'après JOHNSTON *et al.* (54), un interœstrus de moins de 4 mois entraîne de gros échecs de fertilité, sans doute parce que l'endomètre n'a pas le temps de se régénérer entre deux phases de chaleurs successives. Inversement, un interœstrus trop long peut être normal et en rapport avec un trouble saisonnier.

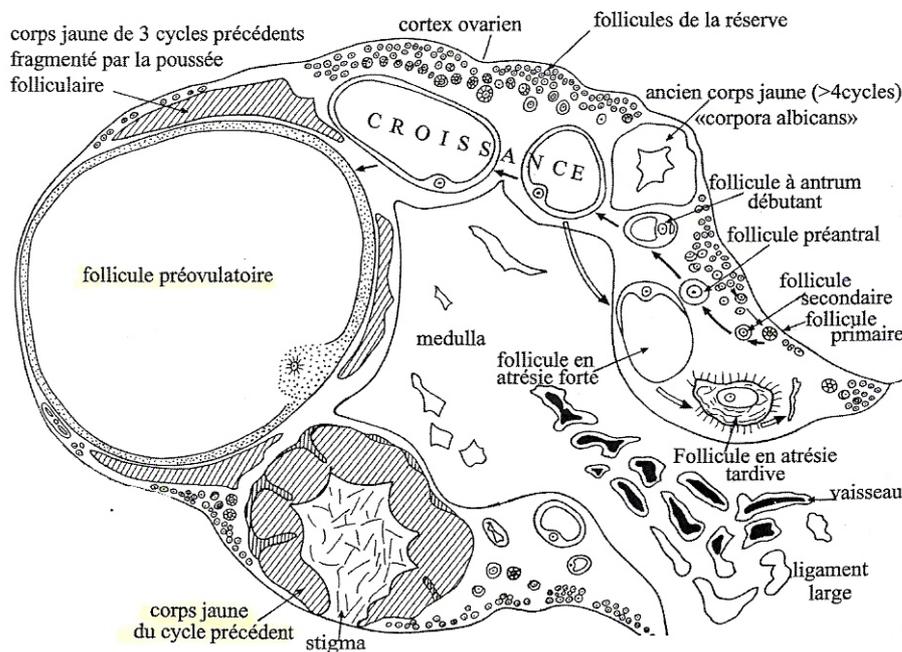
1-3- Physiologie du cycle ovarien

1-3-1- La folliculogénèse (78)

La folliculogénèse est la succession des différentes étapes du développement du follicule depuis le moment où il sort de la réserve, constituée pendant la vie embryonnaire, jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation ou à son involution.

Parallèlement à la croissance du follicule ovulatoire qui se transformera en corps jaune, des follicules plus petits se développent (en préparation des cycles suivants) ou entrent en involution.

Figure 1 : Représentation schématique d'un ovaire (78).



Le plus petit follicule est le follicule primordial (un ovocyte entouré de cellules aplaties). Il se transforme en follicule intermédiaire, puis en follicule primaire et secondaire.

Les follicules primordiaux, intermédiaires et les plus petits primaires constituent le stock des follicules au repos et représentent plus de 95 % de la population folliculaire ovarienne.

Chez la femme, le follicule secondaire devient préantral lorsque des cellules épithélioïdes apparaissent dans la thèque interne. Dès lors, il est potentiellement capable de répondre à une stimulation gonadotrope. Auparavant, la croissance et l'atrophie des plus petits follicules sont peu dépendantes des gonadotropines et de leurs variations cycliques (39). On qualifie ensuite le follicule de tertiaire à partir de la différenciation de l'antrum (cavité creusée au sein de la granulosa), et au cours de cette phase de croissance, le diamètre du follicule augmente.

Chez tous les mammifères, le follicule ovarien va présenter, à l'histologie, dès la formation de l'antrum, une thèque externe, une thèque interne séparée de la granulosa par la lame basale, et un ovocyte entouré d'un massif de cellules de la granulosa appelé cumulus.

1-3-1-1- Développement folliculaire terminal

1-3-1-1-1- Données générales chez les mammifères

1-3-1-1-1-1- Mécanismes (2, 61)

La folliculogénèse terminale concerne les follicules en fin de croissance.

Tous les follicules présents sur les ovaires et entrant en croissance terminale (*recrutement*) forment une « cohorte ». A mi-phase folliculaire, une *sélection* se produit et la taille de la cohorte est réduite au nombre d'ovulations caractéristique de l'espèce ou de la race.

Le (ou les) follicule(s) destiné(s) à ovuler, reconnaissable(s) par la taille, est (sont) appelé(s) « follicule(s) dominant(s) ». Pendant la période de *dominance*, sont observés la croissance et la maturation terminale du (ou des) follicule(s) préovulatoire(s), la régression par atresie des autres follicules de la cohorte, et le blocage du recrutement de nouveaux follicules.

Enfin, ces séquences recrutement-sélection-dominance se produisent soit en continu, générant des vagues folliculaires chez de nombreux mammifères domestiques, soit uniquement lors de la phase folliculaire du cycle chez la femme ou la truie par exemple.

1-3-1-1-1-2- Régulation de ces mécanismes (2, 61)

Deux niveaux de régulation sont évoqués : les régulations endocrines (FSH et LH) et les régulations locales, qui affinent les messages endocrines.

Pour le recrutement, c'est FSH qui est impliqué : il existe un synchronisme parfait entre niveaux de FSH élevés et recrutement. Ainsi, le potentiel de survie et de développement d'un follicule ayant des besoins limités en FSH sera très supérieur à celui d'un follicule beaucoup moins sensible.

Deux hypothèses sont proposées concernant le contrôle de la sélection : l'hypothèse gonadotrope fait intervenir la sensibilité individuelle des follicules de la cohorte à la FSH et le rétrocontrôle négatif sur le niveau de FSH exercé par l'oestradiol et l'inhibine, dont la sécrétion augmente avec la croissance folliculaire. La chute secondaire du niveau de FSH bloque le croissance/maturation des follicules de la cohorte qui avaient les besoins les plus élevés en FSH. L'autre hypothèse allie l'effet de la chute de FSH à l'action d'un facteur local produit par le plus gros follicule de la cohorte et inhibant la prolifération ou la différenciation cellulaire dans les autres follicules de la cohorte.

Enfin, trois propriétés du (des) follicule(s) dominant(s) peuvent expliquer son (leur) aptitude à survivre dans un environnement appauvri en FSH :

-l'acquisition de récepteurs de LH sur la granulosa

-l'amplification de la réponse folliculaire à FSH et LH par des régulateurs paracrines ou autocrines (en particulier l'IGF-I).

-une vascularisation sélectivement amplifiée pourrait assurer une diffusion facilitée de FSH et LH.

1-3-1-1-2-Particularités chez la chienne

Lors de l'anoestrus, il se produit une croissance folliculaire mais la différenciation folliculaire terminale n'a pas lieu et la taille maximale des follicules à antrum est de 0,5 à 1 mm. Au moment du pro-oestrus, de petits follicules mesurant de 1 à 1,5 mm sont présents sur l'ovaire et commencent leur croissance terminale, atteignant 1,5 à 5 mm en fin de pro-oestrus. Pendant

l'oestrus, le diamètre des follicules augmente pour atteindre la taille pré-ovulatoire, soit 5 à 7 mm en moyenne. Viendra ensuite l'ovulation.

1-3-2- L'ovulation

1-3-2-1- Données générales chez les mammifères (78)

Arrivé au terme de sa croissance, en réponse à une élévation brutale de FSH/LH, la décharge ovulante, le follicule s'ouvre et libère l'ovocyte. L'ovulation se produit alors.

1-3-2-1-1- Remaniements morphologiques et cytologiques aboutissant à la rupture du follicule.

La thèque externe devient oedémateuse, les cellules de la granulosa se détachent de la lame basale, cessent de se diviser et se désunissent. Les cellules du cumulus se dissocient également. Les cellules périovocytaires demeurent plus ou moins longtemps attachées à l'ovocyte, formant la corona radiata.

Peu avant la rupture du follicule, la lame basale séparant la granulosa de la thèque disparaît par endroits et des vaisseaux sanguins néoformés pénètrent dans la granulosa entraînant des cellules de la thèque interne, préparant ainsi la formation du corps jaune.

Au niveau de l'apex, les changements sont différents : les cellules de l'épithélium ovarien s'étirent et s'aplatissent accompagnant l'extériorisation du follicule à la surface de l'ovaire, puis se détachent. Les cellules sous jacentes de la granulosa, des thèques et de l'albuginée se dissocient complètement puis disparaissent (apoptose et nécrose). Le liquide folliculaire s'écoule entre les cellules, puis la rupture du follicule s'achève par la désintégration complète de l'apex. Enfin c'est la contraction du follicule en réponse à la chute de pression hydrostatique provoquée par la rupture qui provoque l'expulsion de l'ovocyte et des cellules de la corona radiata.

1-3-2-1-2- Remaniements vasculaires

Peu après la décharge ovulante, se produisent une augmentation du flux sanguin ovarien associé à une hyperhémie, dues à une vasodilatation, et une augmentation de la perméabilité vasculaire.

Peu avant l'ovulation se produit une vasoconstriction principalement localisée à l'apex du follicule (stigma) où l'ischémie est totale ; dans l'ensemble de la thèque, ont lieu des ruptures de vaisseaux et des microthromboses puis une angiogenèse, prémices de la formation du corps jaune.

1-3-2-1-3- Changements dans les sécrétions des cellules folliculaires

La décharge gonadotrope entraîne toujours une élévation de la teneur intrafolliculaire de tous les stéroïdes suivie d'un basculement plus ou moins total en faveur de la progestérone.

La chute de l'oestradiol permet une décharge gonadotrope ovulante normale. A l'inverse, l'élévation de la progestérone est indispensable pour qu'une ovulation normale se produise.

1-3-2-2- Ovulation chez la chienne

L'ovocyte (futur ovule) de la chienne constitue un modèle très particulier parmi les mammifères. Il n'est en effet pas directement fécondable au moment de l'ovulation, puisqu'il est bloqué en prophase de la première division méiotique, au stade vésicule germinative.

1-3-2-2-1- Déroulement de l'ovulation

En fait, plusieurs ovulations se produisent, leur nombre varie de 5,7 +/- 0,3 par ovaire (69) à 7,7 +/- 0,6 (36). L'ovulation de tous les follicules n'est pas un processus synchrone et ce phénomène peut durer jusqu'à 24 heures (58). On ignore si les follicules poly-ovocytaires atteignent l'ovulation et si oui, s'ils expulsent plusieurs ovocytes ou un seul.

1-3-2-2-2- L'ovocyte au moment de l'ovulation

L'ovocyte canin est riche en gouttelettes lipidiques qui s'accumulent très tôt au cours de la folliculogénèse. Comme chez les autres mammifères, au moment de l'ovulation, le pic de LH induit une mucification de la masse des cellules du cumulus entourant l'ovocyte. Cependant, les deux couches directement en contact avec la zone pellucide restent très compactes autour de l'ovocyte. Cette mucification incomplète pourrait expliquer que l'ovocyte canin ne reprend pas immédiatement sa méiose et est expulsé au stade immature de vésicule germinative. Il mesure alors 100 à 120 µm.

1-3-2-2-3- L'ovocyte pendant sa vie extra-ovarienne

Pendant la période péri-ovulatoire, la bourse ovarique contient 2 à 3 mL de liquide et l'ovocyte est expulsé de son follicule dans cette bourse et commence sa maturation extra-folliculaire (69), qui va durer de 48 à 72 heures minimum (79). Cette maturation est particulière. En effet, l'ovocyte complète sa méiose pendant son séjour dans l'oviducte. De plus, il reste viable, c'est-à-dire fécondable, pendant plusieurs jours : jusqu'à 108 heures après l'ovulation (80), voire même 120 heures, au lieu de 24 heures au maximum chez les autres espèces. Cependant, on ignore s'il existe des variations raciales ou individuelles de cette survie ovocytaire, qui permettrait que certaines chiennes restent fécondables plus longtemps que d'autres.

Quelques heures après l'ovulation, les ovocytes sont regroupés dans l'oviducte et encore entourés de quelques couches denses de cellules de granulosa du cumulus. Ces cellules restent étroitement liées à l'ovocyte, émettant de très nombreuses projections cellulaires qui traversent la zone pellucide et entrent en contact avec la membrane ovocytaire. Ces communications ovocyte-cumulus participent sans doute au contrôle de la méiose (69).

En fait, l'évolution de l'ovocyte durant les premières heures suivant l'ovulation est mal connue. Jusqu'à 48 heures, les ovocytes sont tous au stade vésicule germinative et se situent des parties proximale à médiane de l'oviducte. Les premiers stades métaphase II ne sont observés que 54 heures après l'ovulation (69).

1-3-3- La mise en place du corps jaune et la lutéolyse

1-3-3-1- Evolution morphologique et fonctionnelle du corps jaune

1-3-3-1-1- Données générales chez les mammifères (59, 78)

La mise en place d'un corps jaune fonctionnel dans les jours qui suivent l'ovulation implique d'importants remaniements morphologiques.

Peu avant l'ovulation, la lame basale se désorganise et les vaisseaux présents dans la thèque interne pénètrent dans la granulosa accompagnés de cellules thécales, à l'origine d'une néoangiogenèse. Puis lors de l'ovulation, le follicule vide se trouve rapidement rempli car la sécrétion de liquide folliculaire se poursuit. Il y a une hémorragie et le corps hémorragique qui en résulte forme un bouchon, et la progestérone limite l'inflammation. Par la suite, le caillot central régresse.

Donc c'est par la transformation morphologique et fonctionnelle des cellules de la thèque interne et de la granulosa du follicule ovulant que se constitue le corps jaune (lutéinisation). Cette lutéinisation coïncide avec une augmentation très importante de la sécrétion de progestérone accompagnée dans toutes les espèces, à l'exception des primates, de la disparition des sécrétions d'androgènes et d'oestrogènes.

Les cellules lutéales dérivées de la granulosa et celles provenant de la thèque se mêlent les unes aux autres dans la plupart des espèces à l'exception de la femme et des primates, formant un tissu d'aspect histologique plus homogène. Les cellules issues de la thèque restent petites, mais gardent un certain pouvoir mitotique, leur rôle est très variable selon les espèces. Les cellules dérivées de la granulosa ne se multiplient pas après ovulation, mais elles sécrètent des quantités croissantes de progestérone, de plus, elles se chargent de pigment (lutéine). L'évolution du taux circulant de progestérone reflète ainsi les étapes de croissance, maintien et régression du corps jaune.

1-3-3-1-2- Particularités chez la chienne

Chez la chienne, il existe une particularité spécifique : la lutéogenèse est initiée durant la phase de pro-œstrus par une lutéinisation pré-ovulatoire du follicule cavitaire, conduisant à une synthèse précoce de progestérone grâce à une réorganisation complexe des cellules folliculaires en cellules lutéales (55). Ces cellules lutéales, comme dans les autres espèces, se chargent en graisse colorée par un pigment caroténoïde, la lutéine, qui donne sa couleur au corps jaune. Cependant, chez la chienne, ce dernier prend une couleur plutôt rosée.

Il n'y a pas de corrélation entre le nombre de corps jaunes présents au niveau des ovaires et le nombre d'embryons. Ainsi, SOKOLOWSKI a montré, au cours d'une étude portant sur le maintien de la gestation chez des chiennes ovariectomisées (75), à l'aide d'une supplémentation préalable en progestagènes (acétate de médroxyprogestérone, à 100 mg par animal), que :

- sur 9 chiennes étudiées entre les 30 et 40^{ème} jours de gestation, il y avait 55 corps jaunes, et 45 embryons (perte de 18%)
- sur 7 chiennes étudiées entre les 42 et 56^{ème} jours de gestation, il y avait 49 corps jaunes, et 36 fœtus viables (perte de 26,5%)

D'autre part, le taux plasmatique en progestérone apparaît être indépendant du nombre de fœtus ou du nombre de corps jaunes fonctionnels.

1-3-3-2- Contrôle du corps jaune cyclique

1-3-3-2-1- Données générales chez les mammifères (59, 78)

Le contrôle de la sécrétion de progestérone en dehors de la gestation est assuré par des hormones lutéotropes d'origine antéhypophysaire (LH, prolactine) et par la prostaglandine F2 α . La nécessité de LH pour le maintien d'une sécrétion normale de progestérone par le corps jaune est bien établie pour la plupart des espèces. De plus, la prolactine induit et maintient la présence des récepteurs de LH sur la cellule lutéale.

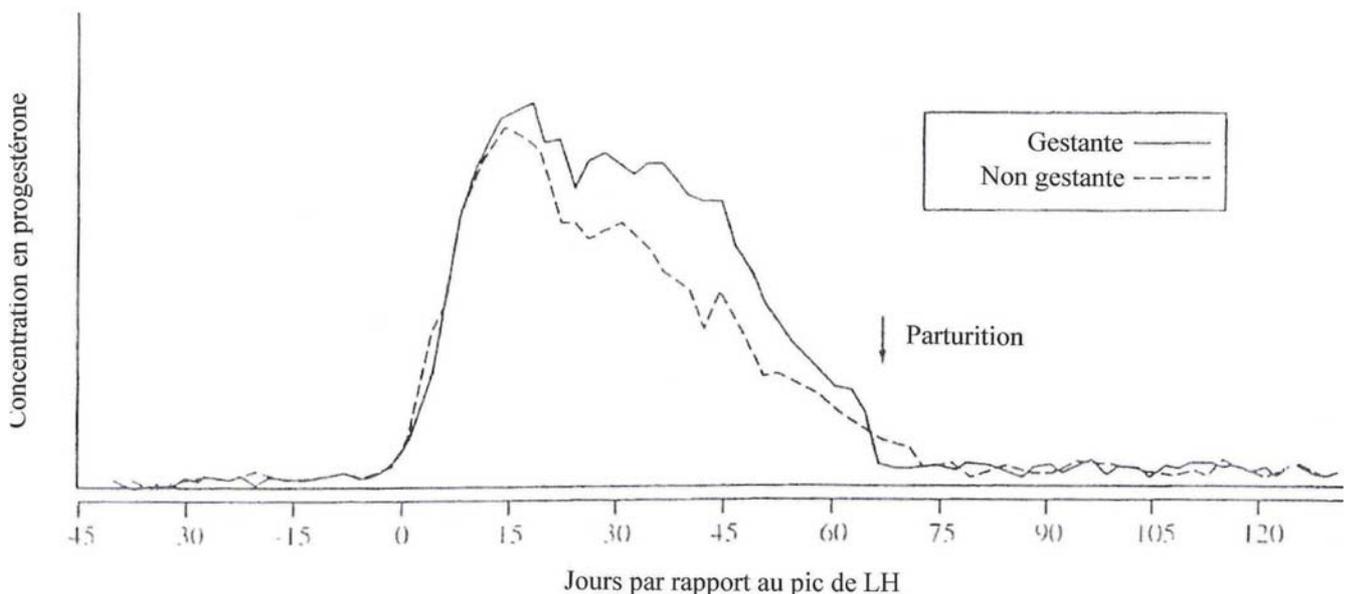
Le rôle indispensable de l'association prolactine-LH est évident chez la ratte, la souris et la chienne, mais demeure moins clair chez la brebis ou la femme.

1-3-3-2-2- Particularités chez la chienne (23)

Comme vu précédemment, chez les femelles autres que la chienne, le corps jaune est soit cyclique, soit gestatif si une fécondation a eu lieu. Chez la chienne, cette distinction n'est pas valable, en effet le corps jaune cyclique peut être assimilé au corps jaune gestatif car il a une durée de vie de type gestatif. Ceci explique en partie que des phénomènes de pseudo-gestation et de lactation de pseudo-gestation soient assez fréquemment observés dans cette espèce.

Il existe cependant une différence minime entre les sécrétions en progestérone de gestation et celle de pseudo-gestation : la chute de la progestéronémie est plus brutale au cours du second cas.

Figure 2 : Représentation schématique de la courbe de progestérone chez une chienne gestante et non gestante (23).



Le corps jaune semble avoir un fonctionnement autonome au minimum durant ses 15-20 premiers jours de vie. En fait, on ne connaît pas bien pour le moment tous les facteurs

lutéotropes agissant pendant cette période, même si LH semble jouer un rôle certain. Puis la prolactine devient indispensable à partir du 30-35^{ème} jour.

1-3-3-2-2-1- Fonctionnement autonome.

Une hypophysectomie réalisée avant le 28^{ème} jour du metoestrus n'induit pas de modification au niveau du profil de la sécrétion de progestérone. Aucun facteur biochimique d'origine hypophysaire n'apparaît être nécessaire au bon fonctionnement du corps jaune au cours de cette période.

De même, un traitement par des agonistes dopaminergiques (ici, bromocriptine) reste sans effet au cours des 24 premiers jours de la phase lutéale, ce qui milite également en faveur d'un fonctionnement lutéal autonome au cours de cette période.

De plus, le corps jaune semble être insensible aux effets de prostaglandines à ce même moment.

Ainsi, le corps jaune est dit autonome durant sa première partie de vie.

Cette phase d'autonomie pourrait être concomitante à un certain stade de développement lutéal.

Cependant, une seconde hypothèse est émise : le corps jaune ne serait non pas autonome au cours de sa première moitié de vie, mais au contraire sous influence multifactorielle, qui reste à déterminer. En prenant de l'âge, il deviendrait plus sensible à la réduction de la prolactinémie, c'est-à-dire à la diminution de l'action lutéotrophique.

1-3-3-2-2-2- Fonctionnement sous influence hormonale

Au cours de la deuxième partie de la phase lutéale (deux derniers tiers de la gestation), le corps jaune requiert l'intervention de facteurs hypophysaires lutéotropes.

Par analogie aux autres glandes endocrines, un facteur lutéotrope agit en augmentant la synthèse de la progestérone, et/ou en facilitant la sécrétion de la progestérone.

Ce sont la prolactine et la LH qui sont les deux principaux facteurs lutéotropes de la chienne.

En effet, aucun facteur d'origine utérine, à effet lutéotrope ou lutéolytique, n'a été décrit chez la chienne.

Ainsi, l'hystérectomie a pour seule conséquence un intervalle interoestrus réduit (96,6 +/- 28,0 jours contre 149,4 +/- 50,9 jours chez les chiennes témoins). Il n'y a donc aucune répercussion sur les concentrations en progestérone, oestradiol, prolactine. On note, néanmoins, une légère chute transitoire de la progestéronémie suite à l'opération (51).

- LH

LH exerce une action lutéotrope : elle permet le maintien du corps jaune (1).

Cependant, LH n'est pas le principal facteur lutéotrope : en effet pour les animaux chez lesquels l'axe hypothalamo-hypophysaire ne peut plus produire de LH, le corps jaune reste fonctionnel après le 33^{ème} jour.

La concentration de LH reste stable durant les six premières semaines du cycle lutéal, que la chienne soit gravide ou non. Puis, chez la chienne gestante, lorsque la progestérone chute en fin de gestation, la concentration plasmatique de LH augmente et dépasse alors les valeurs rencontrées chez les chiennes non gestantes.

Par ailleurs, des expériences menées par CONCANNON et WEINSTEIN (16) ont montré que des traitements à base de sérum anti-LH entraînent de bien plus fortes baisses de la progestéronémie en fin de phase lutéale, montrant ainsi que l'action lutéotrope de LH est majeure à cette période.

De plus, il existerait un rétrocontrôle négatif de la progestérone sur la fréquence des pics de LH : plus la progestérone est à son maximum, plus la fréquence des pics de LH est faible. Cependant, il existerait également un second mécanisme de régulation.

Toutefois, un apport exogène de LH au cours du dernier tiers de gestation augmente de façon significative la prolactinémie, mais pas la progestéronémie. Ainsi, LH n'aurait peut-être pas une action lutéotrope directe chez la chienne en fin de phase lutéale.

- Prolactine

Elle est produite et sécrétée par l'hypophyse.

Elle a d'une part un effet sur la glande mammaire qui fait suite à l'action des oestrogènes et de la progestérone, et qui consiste à stimuler la production de lait (1).

Mais elle a d'autre part une action lutéotrope déterminante après 30 jours de dioestrus.

En effet, des expériences ont été menées à l'aide d'agonistes dopaminergiques (ex : bromocriptine, métergoline, cabergoline), ceux-ci étant des inhibiteurs de la sécrétion de prolactine. Ainsi, lors de traitements à base d'agonistes dopaminergiques durant la seconde partie de la phase lutéale (ex : bromocriptine à partir du 43^{ème} jour après l'ovulation), les gestations ne peuvent plus être menées à terme, les chiennes avortent (68).

La prolactine peut être dosée dans le sang périphérique à partir de 20 à 25 jours après le pic de LH. Son action lutéotrope puissante se fait ressentir lorsque son taux plasmatique croît.

De plus, le récepteur à la prolactine étant plus présent que celui de LH (66), elle apparaît comme facteur lutéotrope principal.

- Le maintien du corps jaune : intervention hypothétique de facteurs autres que LH et la prolactine.

Comme vu précédemment, chez les femelles domestiques, d'autres facteurs (interféron tau, hCG...) interviennent pour différer la lyse du corps jaune en cas de gestation.

Cependant, ces résultats sont-ils valables chez la chienne, puisque le corps jaune a une durée de vie identique qu'il y ait gestation ou non ?

En 1995, VERSTEGEN et ONCLIN annonçaient qu'il n'existait à ce jour aucun autre facteur lutéotrope ou signal embryonnaire chez la chienne, hormis LH et la prolactine (83).

1-3-3-3- La lutéolyse

1-3-3-3-1- Données générales chez les mammifères

La lutéolyse marque la fin du cycle. Elle est la régression fonctionnelle du corps jaune, régression qui est beaucoup plus rapide que la régression morphologique qui, elle, se poursuit après la fin du cycle, pendant plusieurs semaines. C'est alors une structure inerte qui involue lentement, devient blanc « corpus albicans » ou brun pâle, tout en s'enfonçant dans la médulla ovarienne. Il présente alors une allure de tissu fibreux cicatriciel.

La lutéolyse ne peut être attribuée à une diminution des taux sanguins d'hormones LH ou prolactine (4).

Tout d'abord, la progestérone joue un rôle : après une durée donnée d'imprégnation progestéronique, la progestérone inhibe ses propres récepteurs endométriaux (rétrocontrôle négatif). La concentration en récepteurs endométriaux diminue ainsi au cours de la phase lutéale. Cette diminution induit un phénomène de désensibilisation de l'endomètre à la progestérone. Il en résulte alors une augmentation de la synthèse des récepteurs à l'ocytocine qui renforce la libération de PGF2 α .

Or dans toutes les espèces, la lutéolyse est induite par la PGF2 α produite par l'endomètre (19). Sa concentration utérine passe par un maximum au moment de la lutéolyse. Une synthèse de PGF2 α par le tissu lutéal lui-même existe aussi.

La sécrétion de PGF2 α est soumise à d'autres contrôles, en particulier à l'ocytocine et à l'oestradiol. L'action de l'oestradiol est double : induction de récepteurs à l'ocytocine et synthèse de PGF2 α .

Il faut noter aussi que l'utérus des mammifères sécrète également des prostaglandines E (PGE) qui sont lutéotrophiques. Il semble que le rapport PGF2 α / PGE soit élevé dans le sang veineux utérin chez les espèces où l'hystérectomie est lutéotrophique (ratte, lapine..) et faible dans celles où elle est lutéolytique (chienne...) (56).

1-3-3-2- Particularités chez la chienne

La lutéolyse débute chez la chienne par une diminution de taille et de poids du corps jaune dès le 56^{ème} jour de la gestation (55).

Les mécanismes lutéolytiques semblent être différents en cas de gestation ou de non gestation. En cas de pseudogestation, on pense à un processus de vieillissement spontané et progressif des cellules lutéales au sein du corps jaune. En cas de gestation, la lutéolyse est brutale, conduisant à une chute rapide de la progestéronémie.

Une activité lutéolytique a été attribuée à la prolactine, mais il semble que le pic prolactinique péri-partum est consécutif à la chute du taux plasmatique de la progestérone et non l'inverse (49).

Pour de nombreux auteurs, ce facteur lutéolytique est la prostaglandine F2 α (19).

Lors des expériences menées par DETTLE *et al.* (19), la lutéolyse a également été induite par la dexaméthasone et la bromocriptine.

1-4- Fécondation et gestation chez la chienne

1-4-1- Survie des spermatozoïdes et de l'ovocyte

Les spermatozoïdes peuvent être observés dans l'oviducte dès les premières minutes après un accouplement. Leur nombre dans l'oviducte ou la bourse ovarique est cependant cent fois moins important que dans l'utérus. Les spermatozoïdes peuvent survivre entre 3,5 et 6 jours, voire même jusqu'à 11 jours après accouplement (69).

Malgré la longue durée de fécondabilité des ovocytes canins, lorsque des oviductes sont rincés 5 à 10 jours après l'ovulation, on observe des ovocytes non fécondés/dégénérés qui peuvent représenter jusqu'à 50 % des ovocytes/embryons collectés (81). Cette absence de fécondation n'est pas expliquée pour le moment. Elle pourrait être liée à la mauvaise qualité des ovocytes (zone pellucide anormale) ou à une maturation trop lente.

1-4-2- Fécondation *in vivo*

La fécondation ne semble pas non plus respecter un mode physiologique habituel chez la chienne. Des études *in vitro* ont mis en évidence une pénétration du spermatozoïde dans le cytoplasme de l'ovocyte avant la fin de la maturation de celui-ci, alors que l'ovocyte doit être généralement en fin de méiose pour que la fécondation puisse avoir lieu (87). Cependant *in vivo*, FONTBONNE *et al.* (36) ont montré que la fécondation d'un ovocyte immature demeurerait extrêmement rare : sur 112 ovocytes immatures observés dans les oviductes de 30 chiennes, prélevés de 17 à 127 heures après l'ovulation, seuls trois ovocytes appartenant à une même chienne, étaient pénétrés par des spermatozoïdes (36).

La fécondation a donc lieu lorsque les ovocytes ont atteint leur stade de métaphase II dans l'oviducte, soit 36 à 48 heures après l'ovulation selon DUMON (22), 54 à 83 heures selon REYNAUD *et al.* (69). Les premiers embryons au stade 2-pronoyaux sont généralement observés à partir de 72 heures et sont dans la partie médiane-distale de l'oviducte.

1-4-3- Développement embryonnaire précoce et implantation chez la chienne

Globalement, la maturation ovocytaire et le développement embryonnaire dans l'espèce canine sont des processus de durée plus longue par rapport aux autres espèces.

La reprise de la méiose nécessite environ 48 heures. Les embryons se développent très progressivement, ils atteignent le stade 8-16 cellules de 4,5 à 12 jours après l'ovulation, puis les premières morulas sont observées de 8,5 à 10 jours après l'ovulation. Les embryons entrent dans la corne utérine à ce stade ou au stade « jeune blastocyste » à 10-12 jours post ovulation (69). Ils flottent ensuite librement entre les deux cornes utérines jusqu'au stade préimplantatoire qui survient vers le 16^{ème} jour, lorsque des sites d'attachement apparaissent au niveau des glandes endométriales. Les embryons peuvent donc migrer dans la corne opposée au lieu de l'ovulation (35). Ce phénomène est observé chez près de 50 % des chiennes et a probablement pour rôle d'équilibrer le nombre de fœtus entre les deux cornes utérines quand le nombre de corps jaunes est très différent entre les deux ovaires (80). Enfin, l'implantation a lieu 18 à 21 jours après l'ovulation.

1-4-4- Durée de la 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, ou de 56 à 68 jours selon les études (13). Cet intervalle se prolonge de 55 à 72 jours (29) ou 57 à 72 jours (17) si l'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 (22). Il semble en effet possible que les gamètes mâles puissent survivre dans le tractus utérin pendant 7 ou même 9 jours, et engendrer une fécondation et une gestation satisfaisantes.

Si l'on se réfère au moment de l'ovulation (déterminé par les frottis vaginaux ou mieux encore par le dosage de progestérone), la gestation a une durée normale de 62 à 64 jours (13) (15). Ainsi, à partir de la date de mise bas, il est possible de retrouver à posteriori quand se situait l'ovulation, à un jour près.

Selon l'étude (14), 73 % des gestations ont une durée comprise entre 60 et 68 jours (intervalle saillie-mise bas). Les durées de gestation apparente de moins de 59 jours résultent toutes d'une saillie dépassant de plus de 3 jours le pic de LH, celles de plus de 66 jours font toutes suite à une saillie pratiquée 2 jours ou plus avant le pic de LH (14).

Par ailleurs, CONCANNON *et al.* (17) suggèrent que les plus grandes variations dans la durée de gestation sont d'abord dues à la taille de la portée : il existerait une corrélation négative entre la durée de la gestation et la taille de la portée, pour des portées de sept chiots ou moins.

2- Détermination zootechnique du moment de l'ovulation et de l'accouplement

La chienne est une espèce mono-œstrienne, avec seulement 2 périodes de chaleurs en moyenne dans l'année. Ainsi une surveillance précise du cycle et en particulier des chaleurs est indispensable, car les périodes fertiles sont rares dans cette espèce. Une considération importante à prendre en compte est la grande variation retrouvée à la fois entre chiennes, mais aussi entre les cycles d'une même chienne, dans la date d'ovulation par rapport au début du pro-œstrus. Ainsi BADINAND et FONTBONNE (5) montrent que la période optimale de fécondation est différente d'un cycle à l'autre chez une même chienne, dans 44 % des cas. Malgré cela, de nombreux propriétaires et éleveurs continuent à s'appuyer sur des critères assez subjectifs et peu fiables pour décider du jour de la saillie. Certaines chiennes sont alors saillies trop tôt ou trop tard, et considérées à tort comme infertiles.

Désormais, des critères beaucoup plus objectifs sont à la disposition des vétérinaires pour permettre un suivi précis du cycle sexuel de la chienne et éviter les erreurs dues aux variations raciales et individuelles.

2-1-Les différents critères utilisés en pratique

2-1-1- Critères subjectifs (32, 43, 52)

2-1-1-1- Le nombre de jour après le début du pro-œstrus

Afin d'obtenir une saillie fécondante, les éleveurs comptent souvent le nombre de jours après le début du pro-œstrus. Ainsi, en moyenne la chienne ovule au 12^{ème} jour des chaleurs, ce qui nécessite une saillie entre 14 et 16 jours après le début des chaleurs (26). Cependant, il a été démontré qu'un fort pourcentage de chiennes sont fécondables en dehors de cet intervalle.

Ainsi, certaines chiennes ovulent dès le 5^{ème} jour de leurs chaleurs. Ces 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.

D'autres chiennes peuvent ovuler 30 jours après le début des chaleurs, sans que cela soit pathologique (50).

Enfin, ce critère n'est pas répétable d'un cycle à l'autre : une même chienne peut être fécondable le 8^{ème} jour d'un cycle, puis le 18^{ème} jour des chaleurs suivantes.

2-1-1-2- L'acceptation du mâle par la femelle.

Ce critère est, pour plusieurs raisons, le plus mauvais car le comportement de la femelle est souvent très mal corrélé à son stade hormonal :

- 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 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

- 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 femelle par le mâle.

Ce critère ne peut être valable que lorsque le mâle est expérimenté, qu'il effectue régulièrement des saillies. Mais certains étalons auront tendance à saillir toute femelle qui leur sera présentée. Les mâles dominés, mal 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 au mâle plutôt que l'inverse.

2-1-1-4- L'aspect des écoulements vulvaires

Les pertes vulvaires s'atténuent pendant l'œstrus, il est rare qu'une chienne fécondable perde encore beaucoup de sang très coloré et foncé, mais certaines chiennes et certaines races perdent du sang tout au long de leurs chaleurs, sans aucune diminution apparente au moment optimal ; un tel critère est dans ce cas totalement inutile.

2-1-2- Critères objectifs

Depuis quelques années déjà, des critères de plus en plus précis sont à la disposition du vétérinaire pour déterminer la période optimale de fécondation.

2-1-2-1- La mesure de la résistivité du mucus vaginal (10, 11, 20, 42)

La conductance électrique du mucus vaginal se modifie au cours des chaleurs : la résistivité vaginale est proportionnelle à la kératinisation de l'épithélium vaginal.

Chez la chienne, la conductance augmente lors du pro-œstrus, atteint son maximum au moment du pic de LH, puis s'effondre au début du métœstrus. On mesure cette conductance à l'aide d'une électrode vaginale reliée à un ohmmètre.

Cette technique donne de bons résultats chez la renarde pour détecter l'ovulation. Chez la chienne on peut déterminer les périodes non fécondes, mais la méthode ne permet de détecter précisément ni le pic de LH ni l'ovulation.

Par contre, cette technique donne de bons résultats si on l'associe aux dosages de progestérone.

En pratique, elle demeure peu utilisée car nécessite l'achat d'une sonde et demeure moins précise que les frottis vaginaux. En outre, cette technique pose le problème du risque de transmission de maladies.

2-1-2-2- La vaginoscopie et la crénulation vaginale (50, 52, 53)

Les changements d'apparence de la muqueuse vaginale durant le cycle sexuel, qui peuvent être attribués à l'effet des hormones sur l'activité et les fonctions de l'épithélium vaginal mais aussi à la capacité de la muqueuse à retenir ou pas les fluides, sont un moyen assez fiable pour définir chaque stade du cycle sexuel (53). Cependant, la vaginoscopie est beaucoup moins répandue que la cytologie vaginale et les dosages hormonaux, sans doute en raison de l'équipement nécessaire (50).

La vaginoscopie est basée sur l'observation des plis de la muqueuse vaginale, de la couleur de cette muqueuse et de l'aspect et de la couleur du fluide présent.

Quatre périodes successives peuvent être identifiées à l'aide de la vaginoscopie :

D'abord, un œdème important est observé. Il correspond au début du pro-œstrus et demeure sur une longue période précédant le pic de LH. Les plis vaginaux sont larges et œdématiés, apparaissent de couleur rose ou rose/blanchâtre. La concentration en œstrogènes augmente, elle favorise la rétention de fluides par la muqueuse ainsi que la prolifération de la couche épithéliale.

Pendant les deux périodes suivantes (périodes 2 et 3), la muqueuse devient moins œdémateuse, plus dense et pâle. Ces changements sont la conséquence d'un assèchement de la muqueuse accompagné de la kératinisation de l'épithélium, au moment où la concentration en œstrogènes augmente.

Au cours de la période 2, c'est-à-dire la période comprenant le pic de LH et les trois jours suivants, on note un amincissement de la muqueuse qui ne s'accompagne pas d'une angulation du profil de la muqueuse (la muqueuse reste bombée). Cette période peut encore être décomposée en trois stades différents dans une étude de JEFFCOATE et LINDSAY (52).

Durant la troisième période, alors que la concentration en œstrogènes continue à baisser et que celle de progestérone monte en flèche, l'amincissement de la muqueuse est accompagné d'une angulation des plis de la muqueuse. La muqueuse a une couleur crème à blanche, et les plis s'estompent peu à peu, formant de fines crêtes.

Enfin, la dernière période montre une muqueuse de plus en plus fine, avec quelques fines crêtes durant le premier stade, puis un profil totalement lisse durant les deux stades suivants, au moment de la transition œstrus-metœstrus. Le début du metœstrus est caractérisé par une muqueuse hyperhémie, irritable, le contact avec l'endoscope provoque alors la formation de plis variant du rose au blanc.

En conclusion, cette méthode peut permettre de déterminer la période fertile, située 4 à 6 jours après l'amincissement de la muqueuse vaginale (50). Il est aussi facile de savoir si cette période fertile est passée et donc de décider d'un arrêt des saillies ou inséminations artificielles (53).

La vaginoscopie est utile dans le cadre d'une pratique au cabinet, à condition d'avoir un bon équipement. Elle ne prend que quelques minutes et peut être pratiquée sur une chienne vigile, sans avoir recours à la sédation.

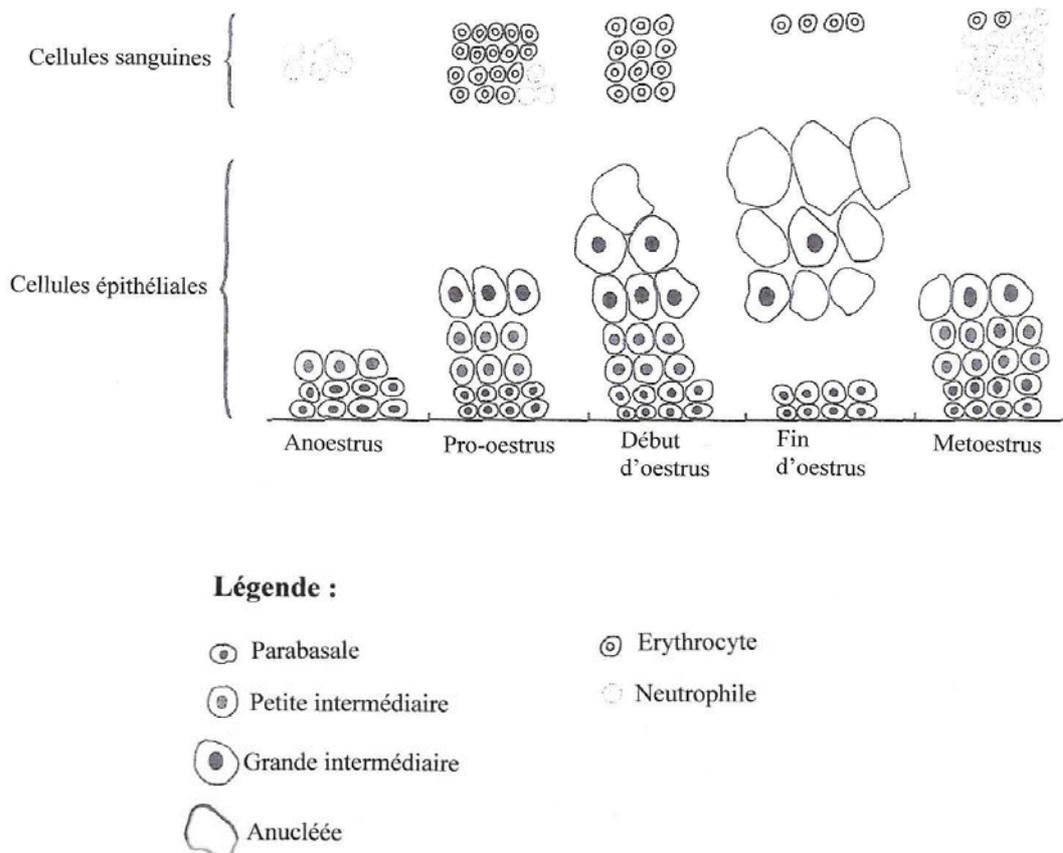
2-1-2-3- Les frottis vaginaux

Les frottis vaginaux consistent à effectuer un prélèvement de cellules vaginales à l'aide d'un écouvillon introduit au fond du vagin, puis à l'étaler sur une lame, enfin celle-ci est colorée. La coloration la plus adaptée est celle de Harris-Shorr, on peut alors calculer l'index éosinophile ou index de kératinisation (pourcentage de cellules kératinisées). En pratique, on utilise couramment les kits de coloration Diagnoestrus RAL®.

Les cellules de l'épithélium vaginal se modifient sous l'action des hormones activées pendant les chaleurs, en particulier les oestrogènes produits durant le pro-œstrus. La cytologie vaginale est donc un outil utile au vétérinaire pour déterminer approximativement le pro-œstrus, l'œstrus et le début de metœstrus, et pour donner une estimation du moment de l'ovulation (21).

2-1-2-3-1- Modifications cytologiques de l'épithélium vaginal au cours du cycle sexuel.

Figure 3 : Représentation schématique des cellules épithéliales et sanguines observées dans les sécrétions vaginales au cours du cycle sexuel chez la chienne (50).



Anœstrus

Le frottis est pauvre en cellules, la coloration est basophile. L'indice éosinophilique (IE) est inférieur à 10% (43). Les cellules parabasales provenant de la membrane basale de la muqueuse sont rondes, de petite taille et pourvues d'un noyau rond et volumineux (33). Les cellules intermédiaires, produites par la division cellulaire, sont plus larges ; leur nombre augmente à l'approche du pro-œstrus.

Les neutrophiles sont présents en quantité faible à modérée.

Les érythrocytes sont en général absents.

Pro-œstrus

En début de pro-œstrus, le nombre de cellules augmente : les cellules parabasales disparaissent en un à deux jours au profit des cellules intermédiaires basophiles, qui sont des cellules de grande taille, polygonales et possédant un noyau proportionnellement plus petit. L'IE est alors inférieur ou égal à 30%. La kératinisation des cellules se traduit par un début de coloration acidophile du frottis. Le frottis prend un aspect sale du fait de la présence de débris cellulaires 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 picnotique augmente (IE = 50%).

En fin de pro-œstrus, le frottis est assez propre, riche en cellules : les cellules sont surtout des cellules superficielles kératinisées à aspect anguleux et corné, à noyau picnotique ou anucléées (IE supérieur ou égal à 70%).

Les neutrophiles, présents en faible nombre au début, diminuent progressivement et sont absents en fin de pro-œstrus.

Les érythrocytes sont nombreux durant toute cette période, traduisant les pertes vulvaires hémorragiques ; ils peuvent être lysés sur certains frottis.

Oœstrus

En début d'œstrus, la kératinisation est maximale ; 60 à 90% des cellules sont anguleuses et prennent un aspect en feuille morte ou en pétale de maïs ; elles possèdent un noyau picnotique ou sont anucléées ; ces cellules dites superficielles ont tendance à se regrouper en amas : ce sont des squames (IE supérieur ou égal à 80%). Cet aspect en amas est caractéristique du frottis vaginal en période d'œstrus ; il persiste quatre à cinq jours, puis les cellules se dispersent.

Jusqu'à la fin de l'œstrus, les neutrophiles sont absents. Le fond du frottis est propre : les cellules vaginales se détachent sur un fond limpide.

Les érythrocytes peuvent être absents, en faible quantité ou nombreux : ils n'ont en fait aucune signification clinique.

En fin d'œstrus, le frottis est plus ou moins propre, riche en cellules ; la réapparition des cellules intermédiaires puis parabasales (IE = 50%) coïncide avec l'afflux massif des polynucléaires neutrophiles et l'apparition de mucus et de débris cellulaires. Le changement d'aspect du frottis s'installe en 12 à 24 heures (33).

Métœstrus

L'épithélium et la lamina propria sont envahis par des leucocytes polymorphonucléaires.

En 24 à 48 heures, les cellules disparaissent et sont remplacées par de nombreuses cellules intermédiaires puis parabasales, basophiles (IE inférieur ou égal à 20%). Les cellules

parabasales peuvent être regroupées en amas en début de métœstrus uniquement. Les débris cellulaires sont nombreux.

Les neutrophiles affluent en nombre à la fin de l'œstrus, puis leur nombre diminue lors du métœstrus mais ils sont toujours présents. Leur fonction étant d'éliminer tous les débris cellulaires accumulés pendant les chaleurs, leur visualisation certifie que la chienne n'est plus fécondable.

2-1-2-3-2-Interprétation et détermination de la phase du cycle sexuel

Le premier frottis vaginal est réalisé environ 5 jours après le début des chaleurs. Ensuite, en fonction du contenu cellulaire, le frottis vaginal sera répété tous les 2-3 jours : l'absence de neutrophiles et une majorité de cellules épithéliales kératinisées, ainsi que la présence de nombreuses bactéries, sont une indication de saillie sous 48 heures.

Le frottis vaginal d'œstrus commence à être obtenu sur des chiennes avant l'ovulation et cet aspect caractéristique du frottis dépasse en durée les 48 heures optimales de la période fécondante. Ainsi selon GUERIN *et al.* (44), un frottis vaginal typique d'œstrus peut être observé neuf jours avant la période féconde, et seulement 34,7% des chiennes de l'étude avaient un frottis vaginal typique durant moins de deux jours avant saillie ou insémination.

Chez certaines races, les images cellulaires obtenues ne sont jamais caractéristiques d'un œstrus. Dans d'autres races, les images évoquant un frottis d'œstrus sont souvent obtenues très précocement au cours des chaleurs, alors que la chienne est loin d'être prête (33).

Dans de tels cas, se fier au frottis peut être une source d'erreurs et d'échec de la saillie, il est ainsi nécessaire de coupler la réalisation de frottis à des dosages de la progestéronémie réguliers.

L'index éosinophilique calculé à partir des frottis vaginaux est le reflet de l'imprégnation œstrogénique. Cependant, il faut savoir qu'il existe un délai entre la chute de sécrétion des œstrogènes plasmatiques et la diminution du taux de kératinisation.

Pour GUERIN (41), le premier jour d'œstrus présente un index éosinophilique de 20 à 50% ; il est supérieur à 50% le deuxième jour ; lorsque cet index atteint 90%, l'insémination est réalisée le jour même.

Pour HEWITT et ENGLAND (50), le moment est optimal pour la saillie lorsque l'IE atteint 80%. Selon eux, il y a généralement au cours des chaleurs deux pics de kératinisation, et les saillies couronnées de succès tendent à se situer au second pic.

Selon GUERIN *et al.* (44), il est fréquent d'observer des chiennes fécondables dont le frottis n'atteint pas un index éosinophilique maximum (souvent inférieur à 80%). Trente huit à 57% des chiennes, selon que la limite d'IE soit fixée à 90 ou 95%, révèlent un frottis non caractéristique d'œstrus au moment de la saillie.

2-1-2-3-3- Intérêts et limites

Les frottis vaginaux sont simples à réaliser et peu onéreux, ils permettent de suivre l'évolution de la kératinisation de l'épithélium vaginal au cours des chaleurs en vue de la fécondation. Leur interprétation est cependant parfois délicate, aussi doit-on les renouveler plusieurs fois au cours d'une période de chaleurs, afin d'apprécier la vitesse d'évolution des changements subis par les cellules. En effet, un frottis isolé n'a, le plus souvent, que peu d'intérêt dans le suivi des chaleurs d'une lice.

La lecture du frottis vaginal reste un caractère subjectif, et on observe souvent des discordances entre l'image du frottis vaginal et le stade réel du cycle de la chienne (41). En

outre, l'indice éosinophilique est souvent inférieur à 80% au moment optimum de fécondation, et certaines chiennes présentent une kératinisation précoce une semaine avant la date de la saillie (44). Enfin, dans certaines races, les frottis vaginaux sont systématiquement discordants avec le dosage de progestéronémie.

Les frottis vaginaux présentent donc certains pièges qu'il faut savoir éviter et interpréter en fonction de la clinique.

Selon GUERIN *et al.* (44), les frottis vaginaux sont de bons indicateurs du déroulement des chaleurs, mais sont insuffisants pour la détermination de la période ovulatoire. De même VAN HAAFTEN *et al.* (82) rappellent que l'index éosinophilique permet de bien détecter l'œstrus, mais pas l'ovulation. L'utilisation des frottis vaginaux doit donc toujours se faire parallèlement aux dosages de progestérone (85).

2-1-2-4- Les dosages hormonaux

Ils sont beaucoup plus précis et plus fiables que la cytologie vaginale pour déterminer le moment de l'ovulation. Ainsi, l'ovulation aurait lieu 24 à 96 heures après le pic de LH, la maturation des ovocytes se ferait en 48-72 heures et ceux-ci resteraient fertiles pendant 24 heures (6).

2-1-2-4-1- Le dosage de l'œstradiol

Le dosage de l'œstradiol, hormone présente transitoirement durant la première partie du cycle, se fait en général par une méthode radioimmunologique ou par électrochimiluminescence, mais les concentrations plasmatiques observées sont très faibles (aux alentours de 10 à 100 pg/ml). Ce dosage n'est donc pratiqué que dans des laboratoires spécialisés.

L'œstradiol présente une augmentation de sa concentration depuis le niveau de base (10-20 pg/mL) jusqu'à 50-100 pg/ml durant le pro-œstrus (42). La valeur maximale se situe 1 à 2 jours avant le pic de LH, puis le taux d'œstradiol chute progressivement pour atteindre des valeurs indétectables 36 heures après le pic de LH (6).

Le taux d'œstradiol fluctuant beaucoup au cours du pro-œstrus, l'utilisation de ce dosage pour déterminer le moment de l'ovulation suppose de détecter précisément le pic d'œstradiol, d'en déduire la date du pic de LH et, partant, la date de l'ovulation ; donc suppose de réaliser des prises de sang tous les deux jours à partir du troisième jour des chaleurs (31) (en pratique 5 à 7 dosages d'œstradiol pour le suivi de la maturation folliculaire). Cependant, la concentration d'œstradiol présente de trop grandes variations individuelles pour utiliser son dosage dans la détermination de la date de saillie (6). Il n'est donc pas utilisé en pratique courante.

2-1-2-4-2- Le dosage de l'hormone LH

La LH présente chez la chienne un pic net qui dure de 1 à 4 jours, ce qui est relativement long par rapport aux autres espèces (14). Le niveau de base de cette hormone est de l'ordre de 1,4 +/- 0,1 ng/mL, le pic de 7,5 à 45 ng/mL.

Le pic de LH se produit lors de la transition pro-œstrus – œstrus ou dans les tous premiers jours de l'œstrus ; il déclenche l'ovulation 48 heures plus tard, en moyenne.

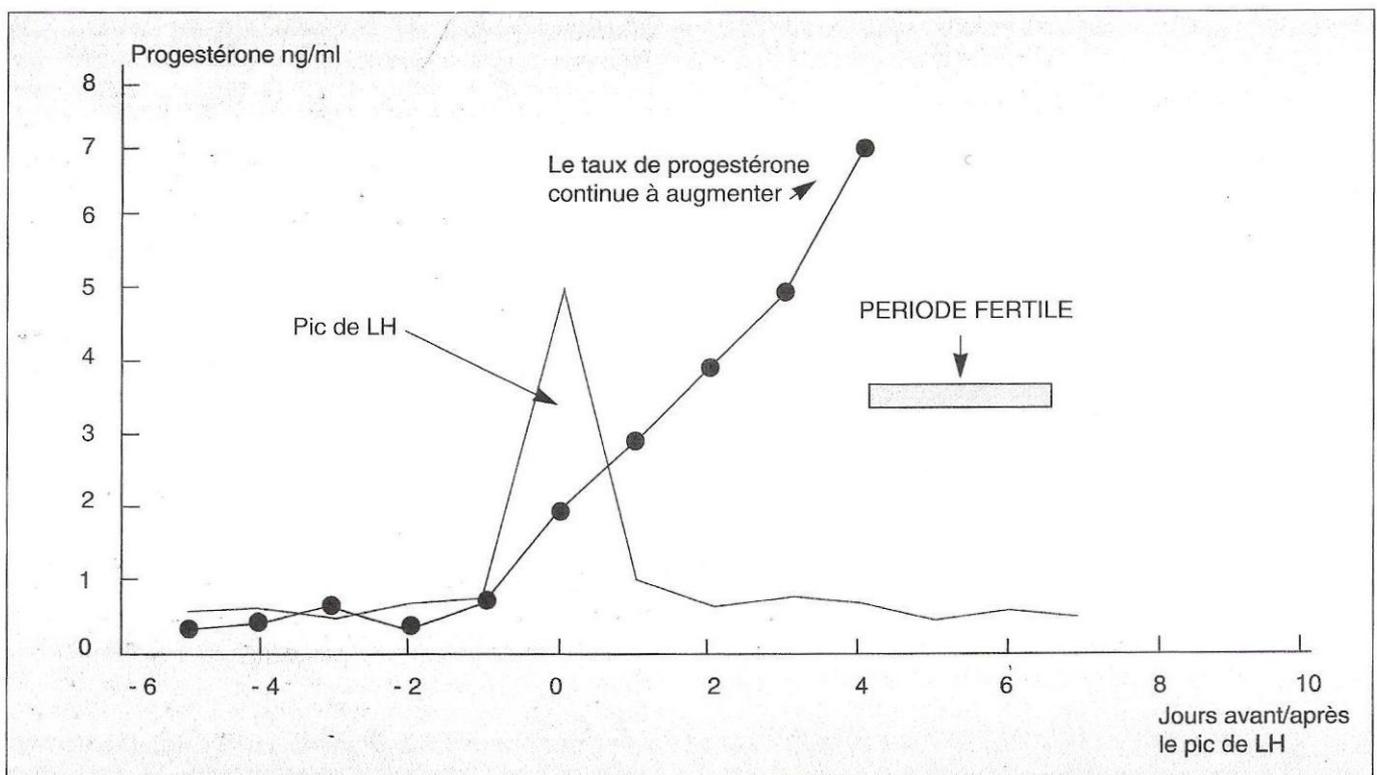
C'est un excellent repère pour évaluer la date de l'ovulation. Le dosage est réalisable par l'emploi de méthodes radioimmunologiques ou immunoenzymatiques (Reprokit®, Sanofi). En pratique, seul le dosage EIA est utilisable. La LH plasmatique est mise en évidence par un système d'anticorps et un couplage à la peroxydase. L'intensité colorée obtenue est

proportionnelle à la concentration de l'hormone. Le jour du pic de LH, on obtient une forte coloration, facilement détectée à l'œil nu. En dehors du pic, la coloration est insignifiante.

En pratique, il faut effectuer des prélèvements sanguins quotidiens (voire même deux ou trois prélèvements par jour), comparer les intensités colorées obtenues avec des prélèvements successifs et s'assurer de la fin du pic par un retour au niveau de base (absence de coloration). Le moment du pic de LH correspond au jour du prélèvement donnant la plus forte coloration (42).

La réalisation de prélèvements et de dosages quotidiens durant le pro-œstrus alourdit considérablement le suivi de chaleurs chez la chienne. On réservera donc le dosage de la LH aux cas demandant la plus grande précision, à savoir les inséminations en semence congelée pour lesquelles la durée de vie de la semence est inférieure à 12 heures.

Figure 4 : Correspondance entre le pic de LH et le début de l'augmentation du taux de progestérone (30).



2-1-2-4-3- Le dosage de la progestérone plasmatique

Une des grandes particularités de la chienne est la 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, qui augmentent lentement en période

préovulatoire, suivent ensuite une courbe avec une pente ascendante brutale autour de l'ovulation, 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.

2-1-2-4-3-1- Evolution de la progestéronémie au cours du cycle sexuel

Le taux plasmatique de cette hormone passe de moins de 1 ng/mL (valeur de base de 0,5 ng/mL selon les études (44) (50)) lors de l'œstrus à une valeur comprise entre 1 et 2 ng/mL à la fin du pro-œstrus (50). Puis le taux se situe entre 2 et 4 ng/mL approximativement 2 jours avant l'ovulation, soit au moment du pic de LH (50). Selon GUERIN (42), ce taux est à environ 1 ng/mL au pic de LH et selon FONTBONNE (31), entre 1 et 2,5 ng/mL.

Au moment de l'ovulation, le taux de progestérone plasmatique s'élève de manière significative, de 4 à 10 ng/mL selon FONTBONNE (31), de 5 à 10 ng/mL selon HEWITT et ENGLAND (50), de 3 à 8 ng/mL avec une médiane de 5,4 ng/mL selon WRIGHT (86), seuls HASE *et al.* (46) donnent des taux de progestérone au moment de l'ovulation qui sont plus bas : 1,88 à 2,81 ng/mL, avec une moyenne de 2,34 ng/mL. En 1996, SILVA *et al.* (74) considèrent que l'ovulation survient entre 2 et 4 jours après le pic de LH, soit entre 12,6 +/- 6,2 nmol/L (ou 4,2 +/- 2,1 ng/mL) et 32,1 +/- 10,9 nmol/L (ou 10,7 +/- 3,6 ng/mL). Enfin tout récemment, MARSELOO *et al.* (58) ont montré sur 35 chiennes de races différentes que le taux de progestérone plasmatique au moment de l'ovulation est à peu près constant : 6,25 +/- 1,55 ng/mL. Toutes ces valeurs sont donc bien concordantes.

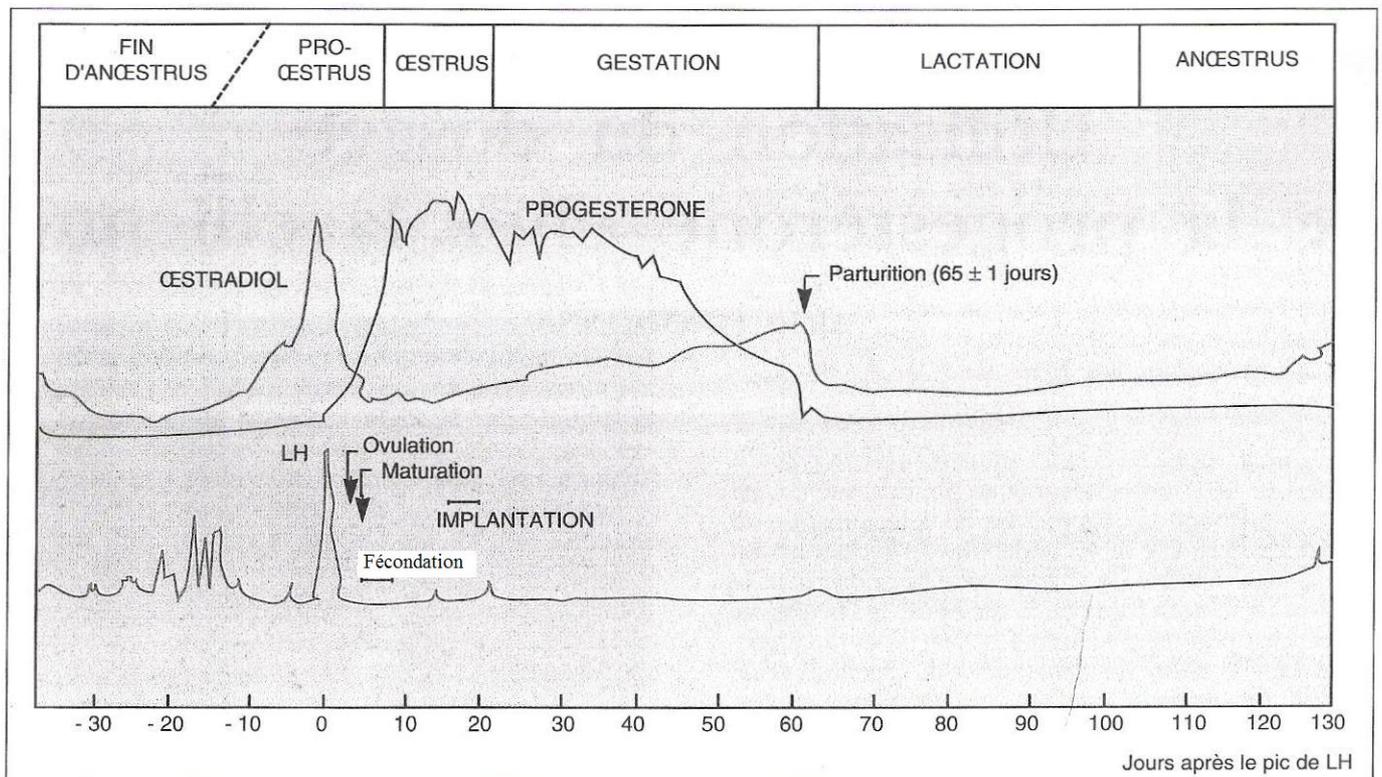
On peut considérer que l'ovulation a bien eu lieu lorsque la valeur seuil maximale a été dépassée, ou lorsque la concentration de progestérone plasmatique atteint 5,44 +/- 0,93 ng/mL par la technique de radio-immunoassay, 4,9 +/- 1,0 ng/mL par le kit de progestérone ELISA selon BOUCHARD *et al.* (8).

Après l'ovulation, le taux de progestérone continue d'augmenter. Une valeur de 15 ng/mL semble suffisante pour maintenir une gestation, mais le taux plasmatique de progestérone s'élève généralement au-delà de 50 à 80 ng/mL en un délai variant entre 4 et 20 jours selon les chiennes et les auteurs (31).

Selon GUERIN (41), le profil général de la courbe est constant pour 83% des chiennes. De plus, au vu des résultats similaires obtenus dans les différentes études, la progestéronémie est un témoin fiable de l'ovulation.

Ces conclusions sont confirmées par WRIGHT (85), qui montre l'intérêt du dosage de progestérone, même s'il affirme que chez certaines chiennes, l'estimation du pic de LH à partir du taux de progestérone peut ne pas donner une bonne estimation du moment de l'ovulation. Il rappelle le cas d'une chienne (1 cas sur 11) pour laquelle les taux de progestérone (2 à 4 ng/mL) indiquaient le pic de LH six jours avant qu'ils n'indiquent l'ovulation (5,5 ng/mL).

Figure 5 : Evolution hormonale (LH, progestérone et oestradiol) au cours du cycle sexuel chez la chienne (30).



2-1-2-4-3-2- Réalisation

Les prélèvements sanguins sont réalisés tous les deux à trois jours. On prélève du sang à la jugulaire, sur tube hépariné. Le sang est ensuite centrifugé.

Plusieurs méthodes ont été mises au point pour mesurer le taux de progestérone plasmatique :
 - des kits quantitatifs utilisant un test ELISA peuvent être utilisés chez la chienne. Deux exemples sont le kit OVUCHECK ND et le kit Dropper Progesterone Test Procedure ND. Ces kits permettent des mesures au-delà des valeurs témoins, avec une fiabilité excellente, mais nécessitent un appareil de lecture optique (spectrophotomètre) pour lequel il faut comparer les valeurs avec les valeurs d'un laboratoire de référence, afin de bien interpréter les résultats.

Bien que assez simples d'utilisation, le temps requis pour la procédure (une heure minimum) et l'équipement rendent cette technique peu abordable pour les vétérinaires praticiens réalisant peu de suivis de chaleurs (50).

- plus récemment, des kits de tests ELISA qualitatifs rapides (ou semi-quantitatifs) ont été développés (kit PREMATE ND et kit OVULATION TEST ND), produisant un changement de couleur lors du passage d'une progestéronémie basse à une progestéronémie élevée. L'échantillon à doser est comparé à deux plasmas témoins, le témoin A rose foncé correspondant au début de l'augmentation du taux de progestérone (environ 3 ng/mL, moment du pic de LH), le témoin B rose pâle correspondant à la valeur supérieure du moment de l'ovulation (10 ng/mL). Lorsque l'échantillon est aussi foncé ou plus foncé que le témoin A,

la chienne est en anœstrus ou pro-œstrus ; lorsqu'il est plus clair que le témoin A et plus foncé que le témoin B, l'œstrus a probablement commencé ; enfin s'il est plus clair que le témoin B, l'ovulation s'est produite et il faut alors procéder au premier accouplement 24 à 48 heures après.

L'utilisation de tels kits par les vétérinaires praticiens a entraîné une augmentation significative des taux de gestation des chiennes suivies en cliniques vétérinaires. Un autre avantage de ces kits semi-quantitatifs par rapport aux kits quantitatifs ELISA est leur coût bien plus abordable. Ces tests sont donc très utiles en pratique courante et représentent une bonne alternative entre les autres méthodes (50).

- enfin, actuellement on dose la progestérone par deux autres types de tests. D'une part, il existe des tests radio-immunologiques (RIA), la valeur de la progestéronémie prise comme témoin de l'ovulation est alors estimée à 5,44 ng/mL (44). Les valeurs obtenues par radio-immunologie sont significativement corrélées à celles obtenues par test quantitatif ELISA, même si elles sont moins élevées (27). D'autre part, les tests par électrochimiluminescence (ECLIA) offrent également une grande précision et les valeurs obtenues peuvent être corrélées à celles obtenues par RIA (70).

2-1-2-4-3-3- Intérêts et limites

En pratique, en raison du coût des dosages de la progestérone plasmatique, on couple ces dosages avec la réalisation de frottis vaginaux.

Ainsi, on utilise les dosages de progestérone à bon escient et il est inutile de débiter les dosages tant que la chienne est toujours en pro-œstrus, à moins que l'on ait des doutes ou des difficultés à interpréter les autres tests (chienne présentant des chaleurs atypiques- ne perdant pas de sang à la commissure vulvaire- refusant systématiquement l'accouplement à toute période- montrant une kératinisation très précoce des frottis vaginaux bien avant l'ovulation ou au contraire une évolution incomplète de ces mêmes frottis qui n'atteignent jamais un aspect caractéristique de frottis d'œstrus).

De même les dosages de progestérone ne permettent pas de déterminer la fin de la période de fécondabilité ; dans ce cas, le frottis vaginal est beaucoup plus utile car il peut montrer des signes avant-coureurs de métœstrus indiquant que la chienne n'est plus fécondable.

La période optimale de fécondité survenant de nombreuses heures après l'ovulation, il peut être intéressant 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 peut se produire lorsque le dosage indique des valeurs supérieures à 15-20 ng/mL, puis être renouvelé 48 heures après (31) (44).

En routine, on réalisera donc de deux à quatre dosages de progestérone par suivi de chaleurs (41).

Ainsi, les dosages de progestérone, du fait de la précision qu'ils représentent, permettent au vétérinaire réalisant des suivis de cycles d'améliorer ses résultats (meilleur taux de réussite en insémination, amélioration de la prolificité du fait d'accouplements réalisés à un moment plus optimal) (82).

Ces dosages sont essentiels lors :

- d'insémination artificielle avec de la semence fraîche, en cas de comportement anormal des lices (agressivité) ou des étalons (saillies intempestives).
- d'insémination artificielle avec de la semence diluée, réfrigérée ou congelée, qui survit moins longtemps dans les voies génitales de la chienne et nécessite d'être inséminée au meilleur moment.

- de la reproduction de races où la césarienne est quasi-inévitable, afin de prévoir la date d'intervention.
- de chaleurs silencieuses ou discrètes.
- 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 habituelle de 10-15 jours).

2-1-2-5- L'échographie ovarienne

L'échographie ovarienne, couramment employée chez les espèces de rente, permet de suivre l'évolution des follicules ovariens et leur transformation en corps jaune.

Figure 6 : Evolution des images échographiques au cours des chaleurs chez la chienne

A- Au cours du pro-œstrus : on observe ici plusieurs cavités, d'où un aspect « en nid d'abeille »



B- Au cours du pro-oestrus : la paroi folliculaire est fine et hyperéchogène



C- Au cours de l'oestrus : collapsus folliculaire



D- Autour de l'ovulation : persistance de structures hypoéchogènes



E- Après l'ovulation : l'aspect est similaire à celui observé en période pré-ovulatoire



F- Période post-ovulatoire



L'apparence des ovaires change à l'échographie durant le cycle sexuel. Pendant l'anœstrus et le début du pro-œstrus, ils sont petits, de forme ovale, et ont une échogénicité homogène, similaire à celle du cortex rénal, parfois avec des marges indistinctes. Le cortex et la médulla ne peuvent être différenciés.

Le développement folliculaire commence lors du pro-œstrus, et se termine lors de l'ovulation. Les follicules, d'abord remplis d'un liquide anéchogène, se transforment en des corps jaunes hypoéchogènes sécrétant des taux élevés de progestérone.

L'évaluation échographique de la maturation folliculaire a été bien étudiée. Les kystes folliculaires pré-ovulatoires, anéchogènes, sont identifiés du 2^{ème} au 7^{ème} jour du pro-œstrus, en moyenne. De nombreuses petites cavités anéchogènes sont ainsi repérées, elles grossissent progressivement jusqu'à l'ovulation. Les plus grands follicules se distinguent par une paroi claire distincte du liquide central anéchogène. La taille de ces follicules peut aller d'une taille microscopique à plus de 1 cm lorsque l'ovulation approche. La surface des ovaires peut être irrégulière, grumeleuse. Lorsque les follicules grossissent, la taille des ovaires augmente également et ils deviennent plus faciles à visualiser.

Chez la chienne, l'ovulation peut être détectée lorsque le nombre et la taille des follicules décroît d'un jour à l'autre (84). Même si au moins un grand follicule demeure sur un ovaire sur la plupart des chiens (7 sur 10), plusieurs chiens (3 sur 10) ne montraient pas de follicule sur aucun des ovaires le jour de l'ovulation. Dans une autre étude, l'aspect anéchogène des ovaires (follicules) se transforme de façon spectaculaire en un mélange d'hypoéchogénicité et d'hyperéchogénicité entre les jours 2 et 4 post pic de LH (74). Après le 6^{ème} jour suivant le pic de LH, les ovaires sont hypoéchogènes du fait de la présence du corps jaune. Les ovaires changent de forme : ils sont plus bombés et sont fréquemment multilobés. Des structures kystiques anéchogènes peuvent toujours être observées, elles sont indiscernables des follicules ; leur nombre et leur taille sont réduits. Chez la plupart des chiens, ces structures anéchogènes grossissent progressivement, puis décroissent et/ou deviennent plus échogènes.

Des aires multifocales, anéchogènes, hypoéchogènes ou même hyperéchogènes sont présentes en début de métœstrus, représentant le corps jaune, ou peut-être le corps hémorragique.

Ainsi, la détection échographique de l'ovulation chez la chienne nécessite des examens journaliers, avec un appareil très performant, pour pouvoir identifier les changements d'aspect des ovaires. La corrélation avec d'autres méthodes telles que les frottis vaginaux ou les dosages de progestérone peut être très utile (65).

Mais il y a un désaccord concernant la possibilité de détecter avec précision l'ovulation à l'aide de l'échographie, car les follicules ne s'affaissent pas après l'ovulation chez la chienne (24). En fait, selon SILVA *et al.* (74) et ENGLAND et YEAGER (25), l'ovulation ne peut être détectée par échographie, car les ovaires ont un aspect hétérogène similaire avant et après ovulation. D'après HAYER *et al.* (47), l'échographie n'est utile que pour suivre le développement des follicules et du corps jaune, mais au moment de l'ovulation, il n'y a que très rarement (2 cas sur 15 suivis échographiques journaliers) des modifications claires et significatives des images échographiques.

Mais déjà selon BOYD *et al.* (9), l'utilisation d'échographes de haute qualité donnait des résultats satisfaisants sur un petit lot de chiennes pour la prédiction du moment de l'ovulation. De plus, des études plus récentes (26) (28) (46) montrent qu'avec un appareil et un imageur performants, la détection de l'ovulation est possible, bien que difficile ; cependant elles insistent sur le fait que l'échographie ovarienne a encore aujourd'hui un intérêt limité en pratique, en particulier lorsqu'on compare cette méthode aux dosages de progestérone plus accessibles.

Enfin, les données les plus récentes (38) prouvent que le jour de l'ovulation peut être déterminé avec une bonne précision en réalisant des échographies ovariennes journalières à l'aide d'une sonde de 7,5 MHz. FONTBONNE *et al.* (38) concluent même que chez environ 10% des chiennes, toutes races confondues, l'échographie, même réalisée qu'une fois par jour, peut augmenter la précision de la détection de l'ovulation, comparée à des seuls dosages de progestérone.

2-1-2-6- La laparoscopie

Non utilisée en pratique pour des raisons évidentes de temps et de coût, la laparoscopie peut quand même se révéler intéressante lors d'un suivi de chaleurs. En effet, un chien peut couramment tolérer une anesthésie et une laparoscopie toutes les 48 heures pendant 7 à 12 jours. Ni la chirurgie nécessaire à la laparoscopie, ni la fréquence des examens ont un effet sur l'activité ovarienne, le taux de gestation et la taille de la portée (74).

Les follicules sont observés dès que le pro-œstrus débute. 10 jours avant le pic de LH, des structures foncées sont visibles dans le parenchyme ovarien. Le développement maximum des follicules se situe entre 5 jours avant et 1 jour après le pic de LH. A partir de ce moment, apparaît la lutéinisation folliculaire, caractérisée par une augmentation de la vascularisation et un épaississement de la paroi des follicules. 5 jours après le pic de LH, les corps jaunes sont visibles sur les ovaires, mais sur certaines chiennes, des follicules sont présents en même temps que les corps jaunes, durant le métœstrus. Par contre, l'affaissement des follicules et l'hémorragie sur le site de rupture, qui doivent se produire au moment de l'ovulation, ne sont pas visualisés (74).

Ainsi, les changements importants de morphologie ovarienne, détectés initialement un jour après le pic de LH, et observés sur toutes les chiennes trois jours après le pic de LH, suggèrent que l'ovulation se produit à cette période ; mais il est impossible de conclure fermement que l'ovulation est simultanée.

La laparoscopie n'est donc pas une méthode fiable pour déterminer avec précision le moment de l'ovulation.

3- La race Berger Allemand

3-1- Généralités et actualités médicales à propos de la race Berger Allemand

Le Berger Allemand est sans nul doute un des chiens les plus populaires et les plus répandus à travers le monde. Il doit ceci à ses caractéristiques et ses qualités et non à un phénomène de mode.

Les éleveurs ont permis le destin fabuleux de cette race avec une sélection totalement orientée vers le service de l'Homme, aussi bien dans les domaines sportifs, humanitaires que militaires.

Les différents tests de caractère et de courage, les épreuves d'endurance, la sélection sur l'absence de dysplasie des hanches et des coudes pour les meilleurs sujets en France ont contraint les éleveurs à de plus en plus d'efforts (77).

Mais comme toute race canine sélectionnée, le Berger Allemand peut souffrir de maladies génétiques. Celles-ci sont très nombreuses pour la race Berger Allemand, du fait de l'importance de ses représentants dans le monde entier.

Le dépistage des affections héréditaires concerne aussi bien les chiens malades que les chiens porteurs sains. Pour les chiens malades, le dépistage est fondé sur un examen clinique, qui peut être associé à des examens complémentaires. Pour les chiens porteurs sains, on ne peut par définition rien détecter de l'affection du point de vue clinique ; il faut explorer le génome du chien pour déterminer s'il est génétiquement sain ou porteur sain. Concernant le Berger Allemand, aucun test d'affection héréditaire n'est commercialisé actuellement, mais certains sont pourtant déjà mis en œuvre. Les travaux de recherche en cours portent sur la déficience en tyrosine aminotransférase, la myélopathie dégénérative du Berger Allemand, l'insuffisance pancréatique exocrine (40).

La dysplasie coxo-fémorale est la seule maladie du Berger Allemand faisant l'objet d'un plan d'éradication. Son mode de transmission est encore mal connu, cependant il s'agit probablement d'un système polygénique à seuil. L'hérédité est estimée à 0,40. En France, les hanches des chiens sont radiographiées à 12 mois minimum pour le dépistage officiel puis les clichés sont interprétés par un lecteur de la race Berger Allemand. Les hanches sont ainsi gradées (du grade A indemne au grade E très dysplasique) et les chiens les plus atteints sont retirés de la reproduction. En Allemagne, un système plus dynamique et évolutif est mis en place : chaque animal reçoit un nombre appelé Valeur de Race (ZuchtWert) qui tient compte en plus des ascendants, des collatéraux et des éventuels descendants.

Enfin, d'autres maladies dont la composante héréditaire est plus ou moins connue, affectent les chiens de race Berger Allemand. Dans le domaine ostéo-articulaire, la dysplasie du coude fait l'objet d'études récentes ; citons aussi la panostéite qui est une maladie osseuse génératrice de boiteries chez le chiot. Des maladies auto-immunes sont aussi rencontrées chez le Berger Allemand, en particulier le lupus érythémateux disséminé ou la kérato-conjonctivite sèche. Concernant le tractus digestif, la race est parfois sujette à une insuffisance pancréatique dont les symptômes apparaissent vers un an, elle peut aussi être touchée par des diarrhées dues au phénomène de malabsorption – malassimilation. Enfin, les Bergers Allemands sont fréquemment atteints de troubles cutanés et cutanéomuqueux divers : pyodermites, cellulites, otites, fistules périanales (71).

3-2- La reproduction chez la chienne Berger Allemand

3-2-1- Puberté

La puberté chez la chienne Berger Allemand apparaît entre 6 et 12 mois selon GRANDJEAN et HAYMANN (40), avec une moyenne de 8,9 mois (20). La chienne Berger Allemand semble donc être relativement précoce, lorsqu'on la compare à d'autres races. Ces données sont en opposition avec le postulat qui veut que les petites races soient plus précoces, et les grandes races plus tardives.

Tableau I : Age moyen à la puberté pour quelques races (d'après (7))

Race	Age moyen aux premières chaleurs (en mois)
Berger Allemand	8,9
Bouledogue	9,2
Boxer	10,6
Cavalier King Charles	7,75
Colley	10,1
Dogue Allemand	12,3
Golden Retriever	11,1
Lévrier	15,6
Rottweiler	9,4
Terre-Neuve	13,1
West Highland White Terrier	9
Yorkshire	10,6

Cependant MUTEMBEI *et al.* (62) avancent des chiffres totalement différents : l'apparition des premières chaleurs intervient à 519 +/- 41 jours, soit à 17,3 +/- 1,4 mois (intervalle allant de 6 à 25 mois). Pour les auteurs, ces chiffres se situent dans la norme supérieure pour les chiennes de grande race. Ils suggèrent que des facteurs climatiques, environnementaux et nutritionnels dus au pays dans lequel l'étude est menée (à savoir le Kenya) soient à l'origine de cette puberté retardée, en comparaison avec les données obtenues sur les chiennes de grande race des pays tempérés.

3-2-2- Les chaleurs de la chienne Berger Allemand

3-2-2-1- Détermination du moment optimal d'accouplement

Déterminer le moment optimal pour la saillie est indispensable pour obtenir de bons résultats de fertilité, particulièrement chez la chienne Berger Allemand, et cela pour deux raisons. D'une part, dans cette race, de nombreux éleveurs font saillir leurs chiennes en Allemagne et n'ont droit qu'à un seul accouplement au cours d'une période de chaleurs. D'autre part, de nombreuses chiennes Bergers Allemands acceptent l'accouplement plus d'une semaine, alors

que la femelle n'est fécondable que 48 heures ; se fier à leur comportement est donc source d'erreurs.

Les méthodes classiques décrites pour déterminer la période fertile peuvent être utilisées.

Aucune particularité notable n'a été décrite dans la littérature chez la chienne Berger Allemand, à l'exception de la lecture des frottis vaginaux. En effet, d'après DOUCET et VANNIMENUS (20), il n'est pas rare d'observer une coloration non classique sur le frottis des chiennes Bergers Allemands pendant l'œstrus ; une erreur est alors possible dans l'interprétation du frottis.

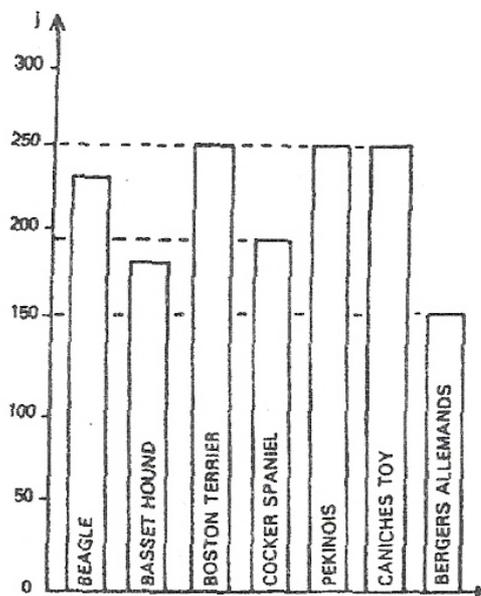
3-2-2-2- Durée des chaleurs

Il existe une prédisposition raciale pour les pro-œstrus longs chez le Berger Allemand. Ainsi, de nombreuses chiennes n'ovulent pas dans la période de 10-15 jours après le début des chaleurs, mais un peu plus tard. Cela incite d'autant plus à réaliser des suivis de chaleurs rigoureux chez la chienne Berger Allemand.

3-2-2-3- Fréquence des chaleurs

Chez les Bergers Allemands, il n'est pas rare que l'interœstrus soit relativement court, au point que certaines chiennes présentent des chaleurs tous les 4,5 mois ou 5 mois. Pour autant, ceci ne signe pas forcément un dérèglement hormonal (40).

Figure 7 : Durée de l'interœstrus selon la race (d'après MIALOT et GUERIN (60)).



Cette figure nous montre que l'interœstrus moyen chez la chienne Berger Allemand est de 150 jours, soit 5 mois. Cette durée est bien inférieure aux autres races, car pour celles-ci l'interœstrus varie de 180 à 250 jours.

Pour DOUCET et VANNIMENUS (20), un peu plus d'une chienne Berger Allemand sur dix présente un interœstrus court, c'est-à-dire inférieur à 5 mois (souvent égal à 4 mois).

Selon GUNZEL-APPEL *et al.* (45), presque 25% (13 chiennes sur 57) des chiennes Bergers Allemands présentent des cycles courts avec des problèmes de fertilité. D'abord, cette étude montre que pour des chiennes à interœstrus court, entre 5 et 45 jour après ovulation, le taux de progestérone est significativement plus bas que pour des chiennes à cycle normal. Donc chez les chiennes à interœstrus court, il y a une baisse de la sécrétion de progestérone par le corps jaune à la fois pendant la phase d'autonomie du corps jaune et pendant la phase de dépendance à la prolactine. De même des chiennes à interœstrus court présentent pendant la gestation des taux insuffisants de progestérone, nécessitant une supplémentation, et des taux bas de relaxine, montrant une perte d'intégrité du placenta en rapport avec des morts ou résorptions embryonnaires. Ces observations démontrent donc que les chiennes à interœstrus court sont prédisposées à des baisses de fertilité.

Par ailleurs, les chiennes Berger Allemand semblent présenter des chaleurs régulières : en effet, seulement 8,8% (6 chiennes sur 68) des chiennes de l'étude (20) présentent des chaleurs irrégulières.

3-2-3- 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.

Rappelons que la fertilité moyenne dans l'espèce canine est de 72 à 78%.

La chienne Berger Allemand semble, elle, présenter une très bonne fertilité, puisqu'elle s'élève à 84,3% selon DOUCET et VANNIMENUS (20) sur 127 chiennes étudiées, et à 81,4% selon CATHENOZ et MARSAN (11) sur 27 chiennes étudiées.

MUTEMBEI *et al.* (62) avance une fertilité encore plus élevée : 95,5% (567 mises bas sur 594 saillies). Les auteurs suggèrent que ce très bon résultat est dû au fait que toutes les chiennes de l'étude étaient saillies naturellement, et tous les jours de l'oestrus tant qu'elles acceptaient le mâle.

3-2-4- La gestation

3-2-4-1- Prolificité

La prolificité est le nombre de chiots nés par portée.

La chienne Berger Allemand a une prolificité supérieure à la prolificité moyenne dans l'espèce canine. En effet, la prolificité moyenne pour la chienne toutes races confondues est de 4,8 chiots (20). Or l'étude (20) portant sur 107 portées de chiennes Berger Allemand indique une prolificité moyenne de 6,2 chiots par portée, l'étude (11) portant sur 22 portées indique 6,4 chiots par portée. Enfin, l'étude (63) portant sur 567 portées de chiots Bergers Allemands avance des chiffres identiques : 6,3 +/- 0,4 chiots par portée. Cette étude montre par ailleurs un déclin net de la prolificité après la cinquième portée, donc après un âge probable de 6 ans.

3-2-4-2- Durée de gestation

D'après CATHENOZ et MARSAN (11), la durée de la gestation, c'est-à-dire l'intervalle saillie-mise bas, est de 60 jours. D'ailleurs l'analyse rétrospective de cette même étude

confirme ce chiffre : 59,8 jours sur 11 chiennes étudiées (dans cette étude, les saillies ont toujours eu lieu après détection de l'ovulation). L'étude (20) portant sur 83 individus avance une durée de gestation semblable : 60,82 jours ; ce chiffre s'inscrivant parfaitement dans la moyenne de l'espèce canine. Enfin, MUTEMBEI *et al.* (62) indiquent une durée de gestation de 60,6 +/- 5,1 jours pour 567 gestations de chiennes Berger Allemand.

Tableau II : Durées de gestation pour quelques races (d'après (11))

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

3-2-4-3- L'insuffisance lutéale, un trouble particulier à la race ?

3-2-4-3-1- Définition

Primitivement décrite chez la femme, l'insuffisance lutéale existe chez de nombreuses espèces, dont la chienne. Elle se définit comme étant le phénomène par lequel le corps jaune ne produit pas assez de progestérone pour permettre à la femelle de maintenir sa gestation jusqu'à terme. C'est donc une cause hormonale d'avortement spontané, puisque l'on sait que la fonction lutéale est nécessaire au bon déroulement de la gestation.

Chez la chienne l'insuffisance lutéale peut intervenir à n'importe quel moment de la gestation, car dans cette espèce il n'existe pas de relais placentaire à la synthèse de progestérone.

Lorsqu'il y a défaut de sécrétion de progestérone en début de gestation, l'implantation du blastocyste dans l'endomètre est impossible. Dans ce cas, les propriétaires consultent en évoquant plutôt des problèmes d'infertilité que des avortements. Si l'insuffisance lutéale apparaît plus tard en cours de gestation, elle peut se traduire de deux façons :

- soit par des résorptions embryonnaires lorsque la progestéronémie chute de façon exagérée avant le 35^{ème} jour de gestation.
- soit par des avortements vrais lorsque le seuil critique de progestérone est passé après 35 jours de gestation.

L'insuffisance lutéale est responsable d'avortements car la chute de la progestéronémie entraîne tout d'abord un phénomène de dislocation placentaire, mais également une sensibilisation de l'utérus aux effets de l'ocytocine.

3-2-4-3-2- Incidence de l'insuffisance lutéale

3-2-4-3-2-1- Dans l'espèce canine

L'incidence des avortements spontanés en espèce canine est encore mal connue. En effet, les morts fœtales, les résorptions embryonnaires ou les infections utérines pendant la gestation

peuvent se manifester par des écoulements vulvaires assez peu différenciables de ceux observés lors de pyométre à col ouvert. De plus, il arrive que des chiennes avortent et mangent leurs avortons, avant même que les propriétaires ne s'aperçoivent que la chienne est gestante. Tous ces cas ne sont donc pas pris en compte dans les données statistiques concernant l'insuffisance lutéale.

Par ailleurs, le diagnostic d'insuffisance lutéale est difficile à poser : en effet une chute du taux de progestérone correspond à une réponse physiologique normale lors d'avortement, et cela quelque en soit la cause. Une insuffisance lutéale sera donc suspectée seulement lorsque aucune cause infectieuse ou autre n'aura été trouvée, ou quand une chienne qui avait avorté par le passé porte la gestation à son terme après avoir reçu une supplémentation en progestérone (54).

Il semble toutefois que l'insuffisance lutéale reste un phénomène anecdotique chez la chienne. Le cumul des cas de cycles anovulatoires et des cas d'insuffisance lutéale représente moins de 15% des suivis de chiennes infertiles toutes races confondues (76).

3-2-4-3-2-2- Chez la chienne Berger Allemand

Malgré la faible incidence de cette affection dans l'espèce canine, il semble quand même exister des prédispositions raciales.

Ainsi, selon FONTBONNE (34) et SILIART (72), il existe une forte prédisposition pour une seule race en particulier : la race Berger Allemand, puisqu'ils ont identifié et suivi plusieurs cas dans cette race.

Dans l'étude de SZIKOLA (76), la race n'arrive qu'en quatrième position, derrière les races Rottweiler, Terre-Neuve et Labrador. L'auteur indique ainsi une incidence de 2% pour les chiennes Berger Allemand (5 chiennes sur 296 chiennes Berger Allemand suivies au CERREC de Lyon entre 1996 et 2001).

De plus, GUNZEL-APEL *et al.* (45) indiquent que sur les années 1998 et 1999, presque 25% (13 chiennes sur 57) des chiennes Berger Allemand qui ont consulté au centre de reproduction d'Hannovre présentaient un interoestrus court (moins de 5 mois) associé à des troubles de la fertilité. Or ces auteurs montrent que chez ces chiennes, de 5 à 45 jours après ovulation, la progestérone plasmatique est significativement plus basse que chez des chiennes à cycle de durée classique. Ces chiennes ont donc besoin d'une supplémentation en progestérone au cours de la gestation. Cela indique également que chez ces chiennes Berger Allemand à interoestrus court, il y a une baisse de la sécrétion de progestérone à la fois pendant la phase « d'autonomie » du corps jaune et pendant la phase qui est sous dépendance de la prolactine.

A l'aide de ces données bibliographiques concernant les différents aspects de la reproduction canine (physiologie, méthodes actuelles de suivis de chaleurs) et les caractères reproductifs propres à la chienne Berger Allemand, nous allons pouvoir décrire et analyser les courbes de progestéronémie de chiennes Berger Allemand ayant consulté au CERCA ces quatre dernières années.

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale

1- Le CERCA

1-1- Présentation

Le CERCA (Centre d'Etudes et de Recherches en Reproduction des Carnivores), situé à l'ENVA (Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort), est actuellement l'un des trois centres publics en France, avec le CERREC (ENVL) et le CIAC (ENVN), consacrés à la reproduction des carnivores domestiques, et à l'amélioration des résultats par l'usage notamment de l'insémination artificielle.

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

Pour chaque nouveau client et nouvel animal, le CERCA crée un dossier où sont notamment consignés quotidiennement les commémoratifs, les interprétations des frottis vaginaux, les résultats du dosage de la progestéronémie et le mode de fécondation (accouplement naturel ou insémination artificielle).

Un questionnaire concernant les résultats de la fécondation (mise bas, nombre de chiots nés vivants ou morts, malformations...) est confié aux propriétaires des lices ; les informations recueillies sont consignées dans le dossier.

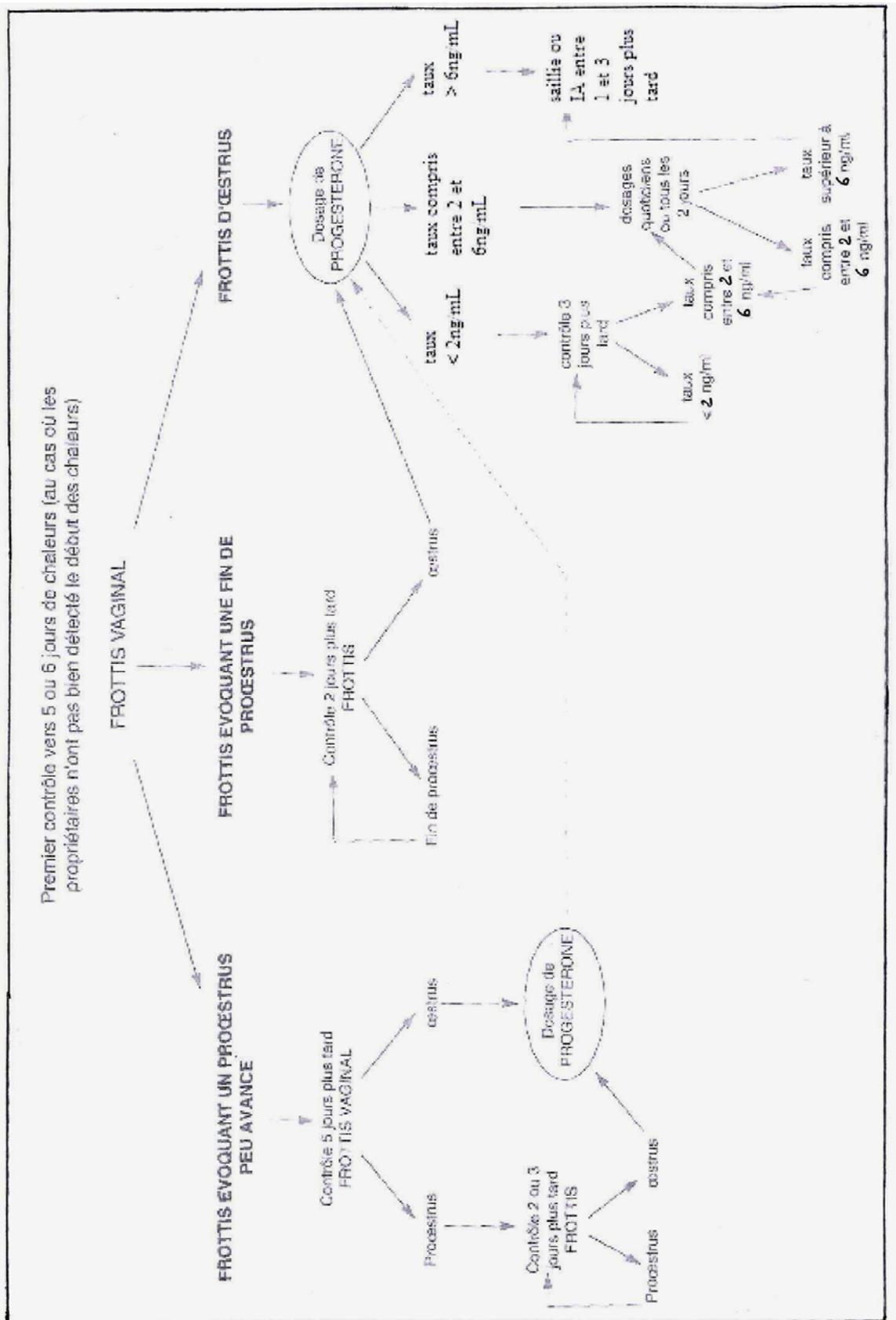
Ce dossier personnel permet d'avoir un suivi de la chienne au cours de sa carrière reproductrice.

1-2- Protocole des suivis de chaleurs

Le personnel du CERCA applique théoriquement le protocole suivant : en considérant le premier jour des écoulements vulvaires comme le premier jour des chaleurs, on réalise un frottis vaginal vers le 5^{ème} ou 6^{ème} 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 à 5 jours plus tard, soit à un dosage de la progestéronémie. 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 2000 par le test ELISA de mesure quantitative OVUCHECK®. En septembre 2000, le CERCA a acquis un nouvel automate de dosage de la progestéronémie (ELECSYS, Roche diagnostics). Les mesures étant différentes entre les deux méthodes, le CERCA a effectué une période de transition en gardant les deux mesures entre septembre 2000 et janvier 2001. Les valeurs pour lesquelles une corrélation était possible se situaient entre 5 et 20 ng/mL (7).

Figure 8 : Protocole utilisé au CERCA lors d'un suivi de chaleurs chez la chienne (modifié, d'après (30))



2- Matériel et méthodes

2-1- Les animaux

Les chiennes incluses dans l'étude sont toutes des chiennes Berger Allemand, reçues en consultation au CERCA pour détermination du moment de l'ovulation sur une période s'étalant de janvier 2001 à mars 2005. En effet, nous n'avons pas étudié les dossiers de chiennes Berger Allemand antérieurs à cette période, puisque le CERCA a changé de méthode de dosage de la progestéronémie à la fin de l'année 2000. Les valeurs de progestéronémie n'étant pas identiques en fonction de la méthode de dosage, un biais important aurait empêché toute comparaison entre courbes de progestéronémie et donc toute conclusion.

L'envoi de sang par courrier express (type Chronopost®) par les vétérinaires pour procéder à son dosage par le laboratoire est très fréquent, c'est pourquoi seul un suivi à distance a été réalisé sur certaines chiennes. Ces chiennes sont donc incluses dans l'étude, même si de nombreux paramètres les concernant ne sont pas connus.

De même, sont incluses dans l'étude quelques chiennes Berger Allemand issues d'un même élevage, et sur lesquelles des prises de sang quotidiennes ont été réalisées et envoyées au CERCA en vue d'un dosage de progestéronémie, dans le cadre d'un protocole expérimental pour un laboratoire. Donc pour ces chiennes, seule une courbe de suivi du taux de progestérone est disponible sans autres renseignements, mais cela demeure très intéressant dans le cadre de notre étude en raison de dosages effectués quotidiennement, c'est pourquoi nous avons aussi intégré ces chiennes dans l'étude.

2-2- Les dosages

Le dosage de la progestérone plasmatique nécessite tout d'abord de réaliser un prélèvement sanguin. On prélève du sang à la veine jugulaire le plus souvent, ou sinon à la veine céphalique ou saphène externe. Le sang est alors immédiatement déposé dans un tube hépariné. Puis le sang est centrifugé pendant 10 minutes à 4500 tours par minute et l'on récupère le plasma. Ensuite soit le plasma est congelé à -20°C en attendant le dosage dans les jours suivants, soit le dosage de la progestéronémie est réalisé dans l'heure qui suit lorsque la saillie semble imminente.

Comme dit précédemment, la méthode de dosage du taux de progestérone plasmatique au CERCA est la même depuis septembre 2000. Cette méthode est un test d'électrochimiluminescence (ECLIA) qui s'utilise sur un analyseur ELECSYS (Roche diagnostics). Son domaine de mesure est compris entre 0,030 ng/mL et 60,00 ng/mL. Des contrôles sont effectués régulièrement sur l'analyseur. Par ailleurs, cet automate est capable de réaliser une analyse en 18 minutes seulement, ce qui présente un grand intérêt pour les éleveurs qui attendent souvent un résultat rapide pour emmener éventuellement leur chienne à l'étranger (le plus souvent en Allemagne) en vue de l'accouplement.

2-3- Saisie et traitement des données

Les renseignements concernant les chiennes ont été recueillis dans les dossiers du CERCA, et ont été traités en plusieurs parties :

- Identité de la chienne

- noms de la chienne et de son propriétaire
- pedigree s'il est disponible
- date de naissance lorsqu'elle est connue du propriétaire, à défaut l'année de naissance.
- date du début des chaleurs si elle est connue du propriétaire

- Saillie : dates des accouplements naturels ou des inséminations artificielles communiquées par les propriétaires

- Progestéronémie

- date de dosage, et éventuellement l'heure si celle-ci est connue
- valeur obtenue pour chaque date

- Résultats des mises bas

- mise bas : oui ou non
- date de la mise bas
- nombre de chiots vivants
- nombre de chiots morts-nés

Les résultats ont été obtenus grâce à une fiche d'information renvoyée par les propriétaires.

Par ailleurs, une autre partie de notre étude concerne l'origine et la généalogie de certaines chiennes. Pour cela, une lettre a été envoyée aux éleveurs concernés afin d'obtenir une photocopie du pedigree de leur chienne (lorsque celui-ci n'était pas disponible dans le dossier) ou à défaut tout renseignement concernant l'ascendance de la chienne pouvant nous être utile.

Nous avons traité et analysé les informations à l'aide de tableaux dans le logiciel EXCEL (MICROSOFT®) ; ces tableaux nous ont permis de trier les animaux selon certains critères pour chaque paramètre étudié, et d'éliminer les valeurs nulles (c'est pourquoi le nombre d'animaux n'est pas le même pour chaque paramètre, certaines informations n'étant pas fournies par les propriétaires).

3- Résultats : exposé et analyse

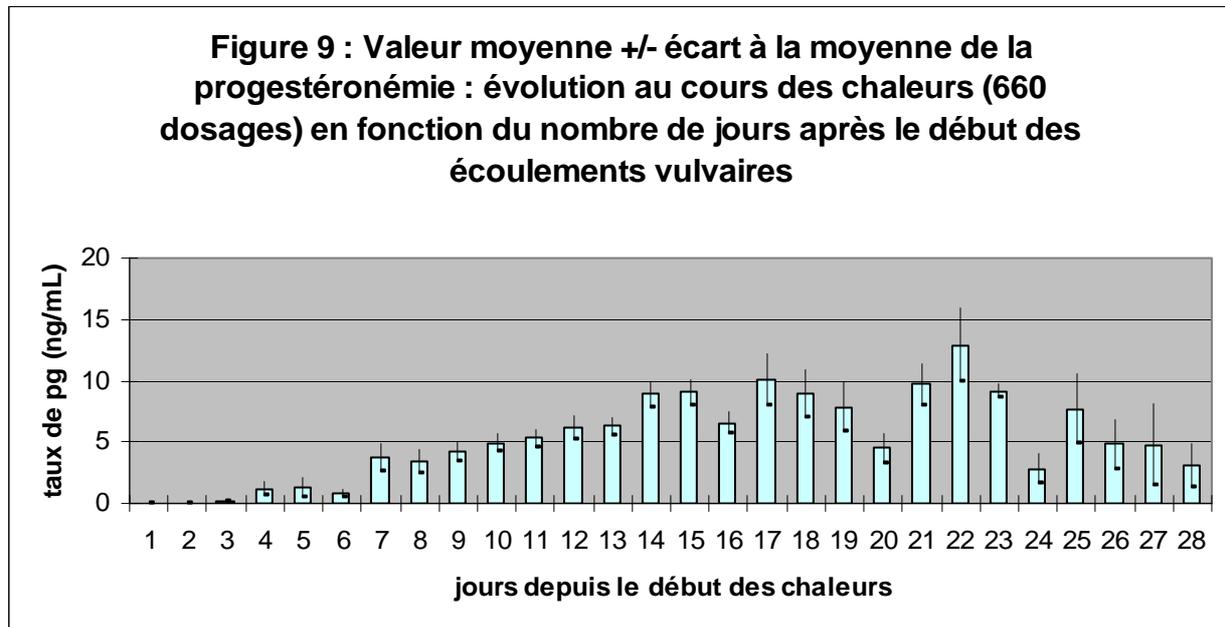
3-1- Etude n°1 : Etude des courbes de progestéronémie

3-1-1- Nombre de cas

Nous avons informatisé 146 dossiers exploitables, correspondant à 258 suivis de chaleurs. Une même chienne peut se retrouver plusieurs fois incluse dans l'étude si elle a été vue pour plusieurs chaleurs différentes.

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

3-1-2- Valeur moyenne de la progestéronémie au cours des chaleurs



■ nombre d'individus dont la progestéronémie a été dosée au jour ji.

Cette figure nous donne une moyenne de la progestéronémie au cours de chaleurs survenues entre 2001 et 2005, sur 146 chiennes Berger Allemand différentes ; pour nombre d'entre elles, des valeurs correspondant à plusieurs périodes de chaleurs ont été répertoriées.

Nous avons pour cela fait la moyenne de tous les dosages de progestéronémie à un jour ji suivant le début des écoulements vulvaires.

C'est entre le 7^{ème} et le 16^{ème} jour suivant le début des chaleurs que la courbe obtenue est la plus fiable puisque les chiennes sont le plus souvent suivies à cette période, de nombreux résultats sont donc disponibles. Par contre avant le 7^{ème} jour et après le 16^{ème} jour, les résultats comportent un biais puisque les données sont insuffisantes.

La courbe de progestéronémie commence à un niveau basal non nul, puis s'élève progressivement. Le passage à la valeur de 6 ng/mL, déterminant l'ovulation, s'effectue vers le 12^{ème} jour en moyenne (215 dosages soit 32,6% sont vers 6 ng/mL au 11, 12 ou 13^{ème} jour des chaleurs). Par la suite les valeurs augmentent jusqu'à 9-10 ng/mL.

Mais ensuite, nous n'observons pas pour notre échantillon de chiennes une valeur moyenne de progestéronémie stable vers 15 ng/mL, comme l'avaient décrit DOUCET et VANNIMENUS (20) pour 1362 dosages de progestéronémie réalisés sur des chiennes de races variées.

La raison semble être la survenue de nombreuses chaleurs prolongées (44 dosages au-delà du 20^{ème} jour) chez les chiennes Berger Allemand. La courbe présente donc après le 16^{ème} jour une évolution différente d'autres races puisque certaines chiennes ont déjà ovulé, d'autres sont en pleine ovulation, et les plus en retard n'ovuleront qu'après le 20^{ème} jour. On enregistre d'ailleurs des valeurs jusqu'au 28^{ème} jour, montrant que certaines chiennes (23 au total sur 146, soit 15,8%, ovulent au 20^{ème} jour ou après) ont des chaleurs extrêmement longues. Par ailleurs, on peut constater que les écarts à la moyenne sont assez élevés, et cela sur toute la période des chaleurs. A un jour j donné, les valeurs de progestéronémie sont donc

notablement différentes entre chiennes, cela confirme donc l'asynchronisme entre les chaleurs de toutes les chiennes de l'étude.

En conclusion, cette figure nous montre ainsi dans cet échantillon de chiennes Berger Allemand que de nombreuses chiennes semblent ne pas ovuler dans les 10 à 15 jours suivant le début des chaleurs mais un peu plus tard.

3-1-3- Moment de l'augmentation brusque de la progestéronémie au cours des chaleurs

Nous avons analysé cette donnée afin, ici encore, de savoir s'il existait une proportion importante de chiennes Berger Allemand présentant une ovulation tardive par rapport au début des chaleurs, puisque nous pouvons considérer que l'ovulation se produit au moment de la montée brusque de la progestérone au-delà de 6 ng/mL (13, 29, 30, 31). Nous avons choisi trois périodes d'ovulation : la période située entre le 11^{ème} et 15^{ème} jour des chaleurs, période classique d'ovulation chez la chienne (20), et les périodes précédant et suivant cet intervalle.

Nous avons retenu pour cette analyse les chiennes pour lesquelles nous connaissions la date de début des chaleurs et pour lesquelles nous disposions d'au moins une valeur en deçà et au-delà de 6 ng/ml ; soit un total de 143 chiennes.

De plus, toutes ces chiennes ont subi le même protocole d'accouplement : celui-ci se déroulait 48 heures environ après le passage au-delà de 6 ng/mL.

Enfin, il est important de rappeler la définition que nous donnons au terme fertilité : c'est ici le pourcentage de mises bas sur le nombre de chiennes saillies ou inséminées.

Tableau III : Moment de la montée brutale de la progestéronémie par rapport au premier jour des chaleurs, fertilité et prolificité associées.

Passage de la Pg au-delà de 6 ng/mL	Nombre de chiennes	Mise bas			Fertilité (%)	Prolificité
		Mise bas oui	Mise bas non	Mise bas inconnue		
Du 4 ^{ème} au 10 ^{ème} jour	16	3	3	10	50	5
Du 11 ^{ème} au 15 ^{ème} jour	86	45	10	31	81,2	5,55
Du 16 ^{ème} au 25 ^{ème} jour	41	18	8	15	69,2	5,94
	Total = 143	66	21	56	Moyenne =66,8	Moyenne =5,60

Ce tableau nous montre que 60 % (86/143) des chiennes Berger Allemand de l'étude présentent une ovulation à un moment classique par rapport au début des chaleurs, et que 11 % (16/143) d'entre elles ont une ovulation précoce, entraînant une baisse de fertilité, même si ces conclusions peuvent sembler hâtives au vu du peu de chiennes concernées.

Mais il nous montre surtout que 29 % (41/143) des chiennes présentent une ovulation tardive, associée à une baisse de la fertilité (fertilité de 69,2 % alors que la fertilité des chiennes Berger Allemand est de plus de 80 % (11, 20)).

Concernant la prolificité, celle-ci est en moyenne de 5,60 pour les 66 chiennes de l'étude dont on dispose des résultats de la mise bas, ce qui est légèrement inférieur à la moyenne connue pour la race Berger Allemand qui est de 6 à 6,4 en fonction des auteurs (11, 20, 63). Sinon, la prolificité s'étale de 5 à 6 en fonction du moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs, et elle est supérieure chez les chiennes présentant une ovulation tardive.

3-1-4- Durée du passage de la progestéronémie de 2 à 6 ng/mL

Depuis quelques années, il est admis que chez la chienne, le passage de 2 ng/mL (correspondant au pic de LH) à 6 ng/mL (correspondant à l'ovulation) se fait en 48 heures environ, et en 4 jours au maximum (26, 74).

Mais certains scientifiques spécialisés en reproduction canine ont pu remarquer une persistance de la courbe de progestéronémie entre 2 et 6 ng/mL pendant plusieurs jours chez certaines chiennes, en particulier de race Berger Allemand, sans jamais pour autant quantifier le nombre de chiennes présentant ce phénomène. Ceci a fait l'objet d'un débat lors du congrès européen de l'EVSSAR à Dublin en 2003 (FONTBONNE, communication personnelle).

Nous avons donc répertorié la durée du passage de la progestéronémie de 2 à 6 ng/mL pour les chiennes de l'étude. Ainsi pour ce tableau, nous avons sélectionné les chiennes présentant au moins une valeur de progestérone en deçà de 2 ng/mL, et le plus proche possible de cette valeur, et au-delà de 6 ng/mL, toujours avec une valeur la plus proche possible de 6 ng/mL. Nous obtenons ainsi un total de 122 chiennes pour lesquelles ces données sont disponibles.

Tableau IV : Durée du passage de la progestéronémie (Pg) de 2 à 6 ng/mL, fertilité et prolificité des chiennes concernées.

Passage de la Pg de 2 à 6 ng/mL en :	Nombre de chiennes				Fertilité (%)	Prolificité
	Total	Mise bas oui	Mise bas non	Mise bas inconnue		
1 à 1,9 jour	22	8	3	11	72,7	6,1
2 à 2,9 jours	62	20	8	34	71,4	6
3 à 3,9 jours	30	9	5	16	64,3	5,5
≥ 4 jours	8	1	1	6	50	5
	122	38	17	67	Moyenne = 64,6	Moyenne = 5,88

On remarque que 50 % des chiennes passent de 2 à 6 ng/mL en 2 à 3 jours, cas décrit comme le plus fréquent dans la littérature (15). On note également que 93 % des chiennes voient leur progestéronémie passer de 2 à 6 ng/mL dans un intervalle de 1 à 4 jours, ce qui montre que seules 7 % des chiennes présentent une durée supérieure à la normale.

En outre, on note pour les chiennes sélectionnées ici que la fertilité est inférieure à la norme de la race Berger Allemand (64,6 % ici contre plus de 80% pour la race) et que la prolificité est elle aussi anormalement basse (5,88 ici contre 6 à 6,4 pour la race).

Enfin, on remarque que la fertilité ainsi que la prolificité baissent lorsque le plateau entre 2 et 6 ng/mL se prolonge, mais les différences ne sont pas significatives étant donné le faible nombre de chiennes.

3-1-5- Etude des courbes de progestéronémie individuelles.

Pour cette étude, nous avons sélectionné des individus pour lesquels nous avons au moins 3 valeurs de taux de progestérone, dont une au moins inférieure à 1 ng/ml et une au moins supérieure à 6 ng/ml, afin d'avoir un suivi correct de la progestéronémie en période pré-ovulatoire.

Nous avons ainsi sélectionné 96 chiennes. Pour certaines d'entre elles (32 chiennes, soit 1 tiers d'entre elles) plusieurs courbes ont pu être tracées. Au total, 137 courbes ont pu être étudiées.

3-1-5-1- Courbes à évolution habituelle

Sur ces 137 courbes, 121 courbes ont présenté un tracé tout à fait classique dans la période pré-ovulatoire, à savoir une élévation de la progestéronémie du niveau basal < 1 ng/ml jusqu'à 2 ng/ml en 2 jours environ, puis un passage de 2 à 6 ng/ml en 2-3 jours également. Les courbes présentent toujours une évolution croissante, aucune valeur de progestéronémie suivant une autre valeur dans le temps ne lui est inférieure.

De plus, sur ces 121 courbes correspondant à 121 périodes de chaleurs, nous avons cherché à savoir si ces chaleurs avaient été suivies de mise bas, et si oui quelle était la date de la mise bas. Le but ici est non pas de connaître la fécondité des chiennes, mais plutôt de déduire la date d'ovulation exacte, afin de la comparer à la date d'ovulation présumée se situant au moment où la progestéronémie dépasse 6 ng/mL. Cette déduction est possible, puisque d'après CONCANNON (15), l'intervalle ovulation-mise bas est de 63 jours en moyenne.

Malheureusement, les propriétaires ne renvoyant que rarement les résultats de mise bas, nous n'avons pu recueillir que 27 dates de mise bas.

Tableau V : comparaison entre la date d'ovulation effective et la date d'ovulation supposée pour les chiennes dont la courbe de progestéronémie a un profil classique.

Date d'ovulation réelle par rapport à la date d'ovulation supposée	Nombre de cas
2 jours avant	7
1 jour avant	7
Le même jour	11
1 jour après	0
2 jours après	2

Ce tableau nous permet de voir que pour 40% des cas, la date d'ovulation supposée correspond exactement à la date d'ovulation réelle. On peut donc en déduire que pour ces chiennes, l'ovulation se produit bien aux alentours de 6 ng/mL.

De plus, 26% des chiennes ovulent un jour avant les prévisions, mais comme l'intervalle ovulation-mise bas n'est pas strictement de 63 jours, mais peut varier de 62 à 64 jours (15), on peut admettre que pour ces chiennes, la détermination de l'ovulation a été correcte. En outre,

ne disposant pas des horaires des dosages de progestéronémie et de mises bas, il peut se créer un décalage d'une journée, pour peu que le dosage soit réalisé le soir et la mise bas se déroule le matin. Cela dit, il reste quand même 7 chiennes sur 27, soit 26%, pour lesquelles le décalage entre ovulation supposée et ovulation réelle existe réellement.

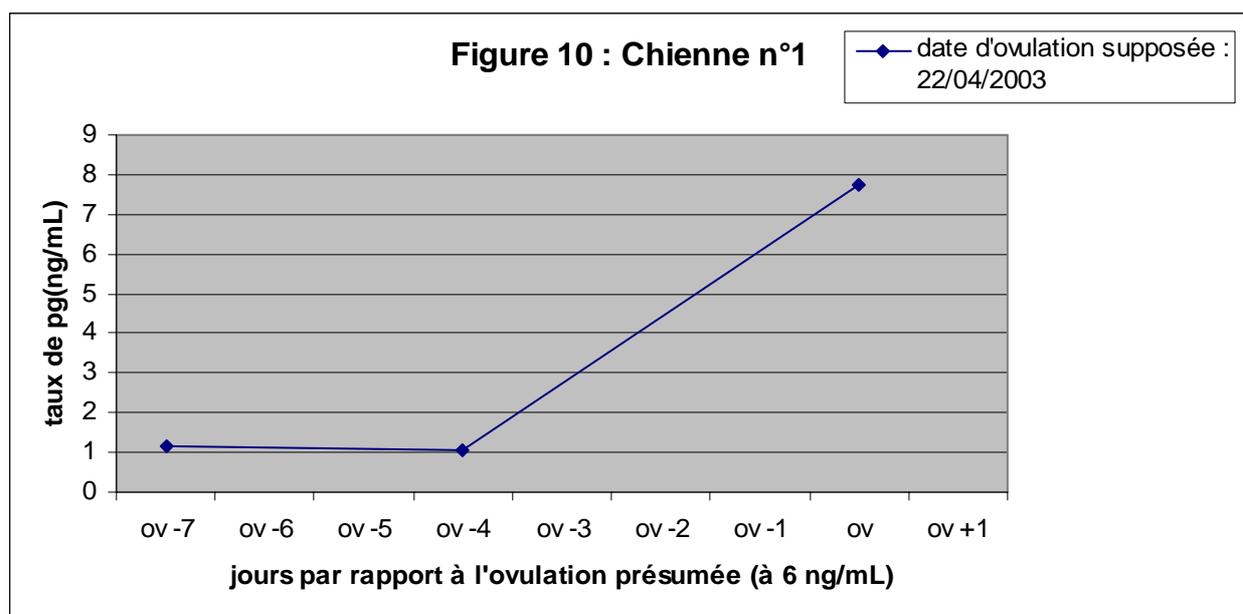
Enfin, seules 7% des chiennes ovulent un peu après la date d'ovulation supposée, soit à des taux de progestérone légèrement plus élevés que les 6 ng/mL.

Par ailleurs, 8 courbes ont présenté une évolution quelque peu différente, et nous allons les détailler ci-après. Ces courbes sont décomposées en deux catégories :

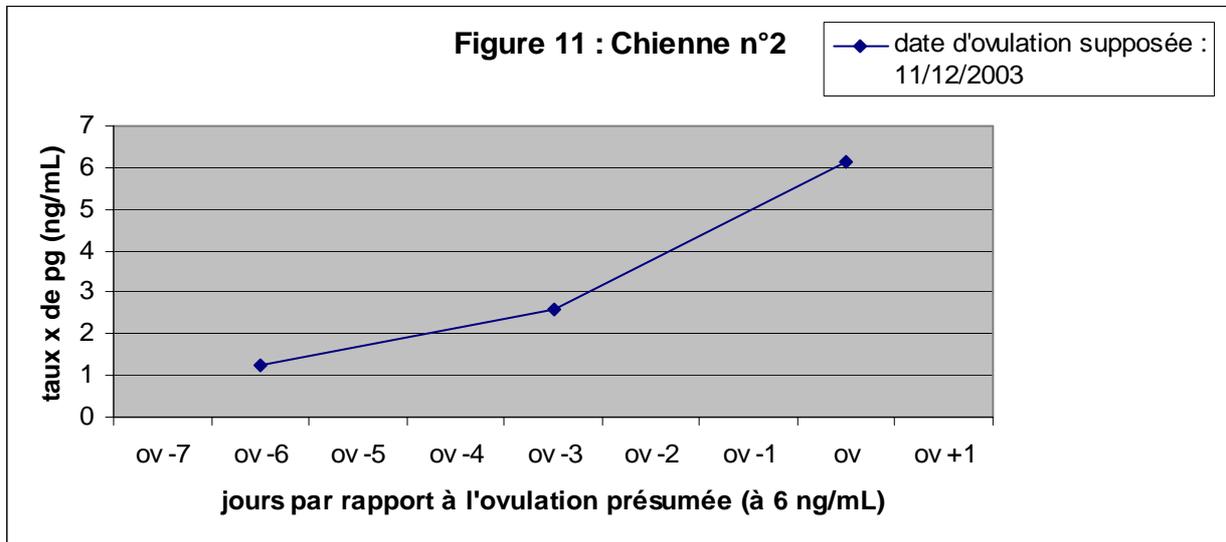
3-1-5-1-1- Progestéronémie ≥ 1 ng/ml au moins 6 jours avant ovulation.

Deux chiennes ont présenté un taux de progestérone supérieur à la valeur seuil de 1 ng/ml pendant 6 à 7 jours précédant l'ovulation, alors que l'intervalle entre 1 et 6 ng/ml est de 5 jours maximum pour toutes les autres courbes :

Voici les courbes de ces deux chiennes :



Cette chienne a ovulé au 13^{ème} jour de ses chaleurs (le 22/04) et un accouplement s'est déroulé deux jours plus tard (le 24/04). Malgré une ovulation dans la période habituelle (entre 10 et 15 jours après le début des chaleurs), cette chienne est restée vide.



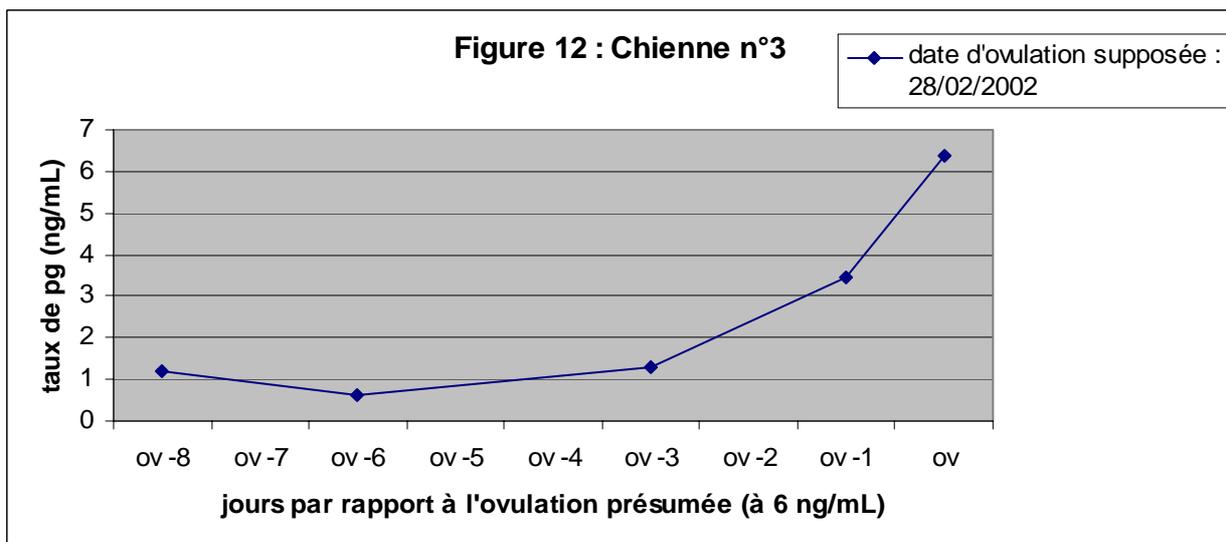
La chienne n°2 a ovulé au 10^{ème} jour de ses chaleurs (le 11/12) et l'accouplement s'est déroulé le 13/12. La mise bas a eu lieu le 13/02/04 (durée de gestation, c'est-à-dire intervalle saillie-mise bas = 62 jours) et 9 chiots sont nés.

Ici tout semble s'être déroulé normalement donc la hausse précoce de la progestéronémie avant l'ovulation n'a pas eu d'influence.

Ces deux cas nous montrent d'abord qu'après l'obtention d'un dosage de progestéronémie supérieur à 1 ng/mL, la survenue de l'ovulation peut être longue, sans pour autant que cela soit à l'origine d'une baisse des performances de reproduction. Ils démontrent ensuite l'intérêt de bien attendre la survenue d'un dosage de progestérone supérieur ou égal à 6 ng/mL avant de pouvoir planifier un accouplement ; car une progestéronémie située vers 1 ng/mL ne signifie pas forcément que l'ovulation va survenir dans les 3 ou 4 jours.

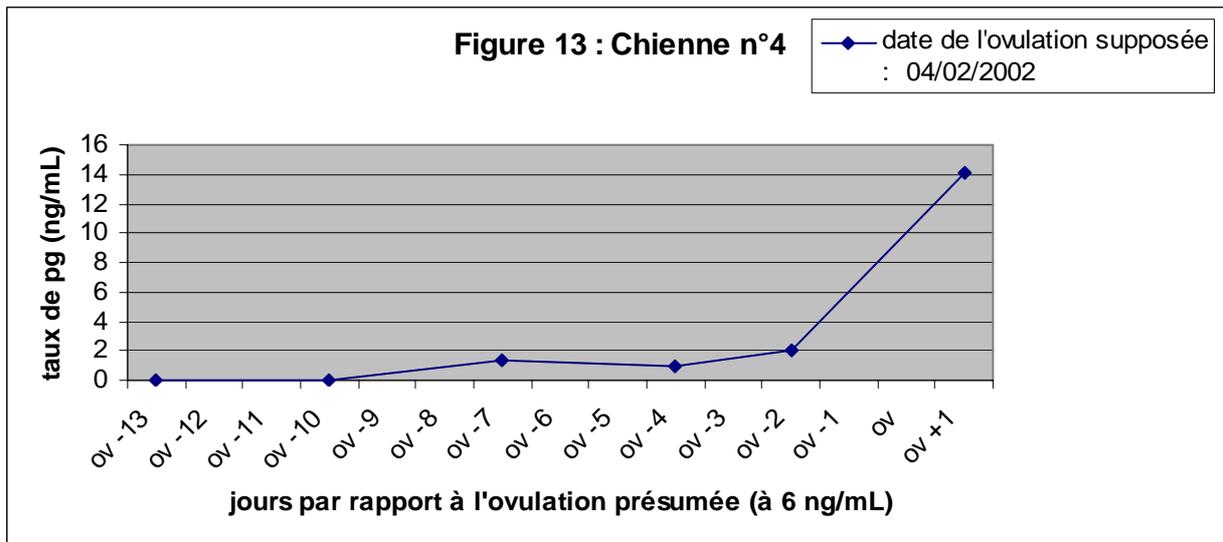
3-1-5-1-2- Courbes présentant un pic ≥ 1 ng/mL bien avant l'ovulation puis une baisse à des valeurs seuils avant de remonter.

Six chiennes sont concernées. Il est important de signaler que parmi ces six suivis de chaleurs, nous avons redosé la progestéronémie pour quatre d'entre eux (tous sauf les chiennes n°3 et n°4), afin de contrôler ces valeurs. Cela apporte donc une certaine fiabilité à notre analyse.



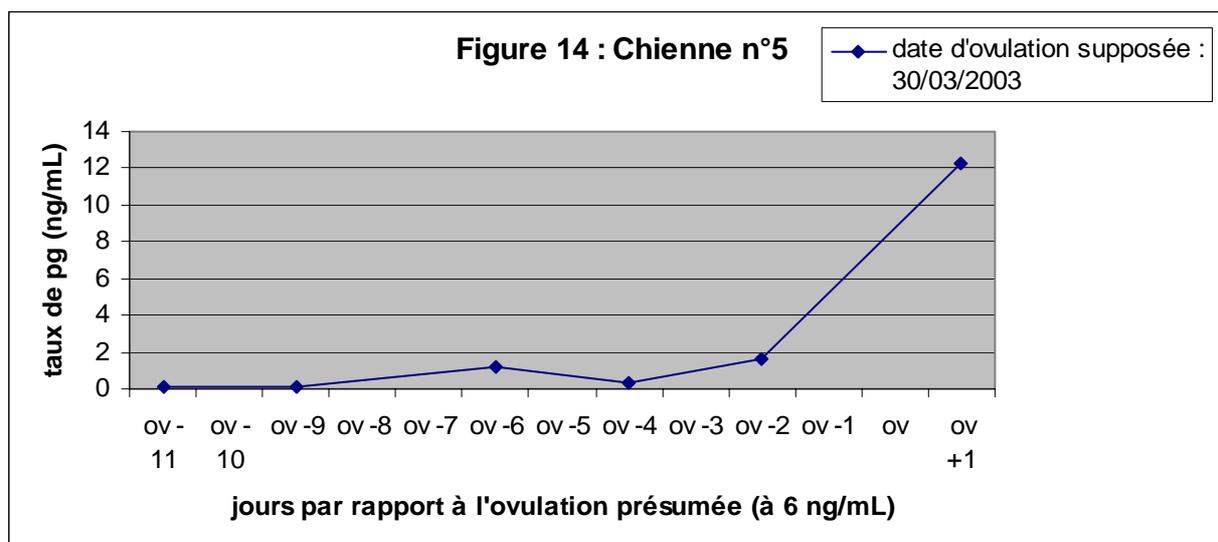
La chienne n°3 a semble-t-il ovulé au 17^{ème} jour de ses chaleurs (le 28/02). Les dates d'accouplement et de mise bas sont inconnues, mais la durée de gestation (c'est-à-dire l'intervalle saillie-mise bas) a été normale (60 jours), 9 chiots sont nés.

L'ovulation est donc tardive pour cette chienne : le premier pic de progestérone à 1,19 ng/mL est suivi de valeurs basales pendant 4 jours, avant une remontée de la courbe précédant l'ovulation. On note qu'aucune conséquence néfaste n'en découle concernant la fertilité de cette chienne.

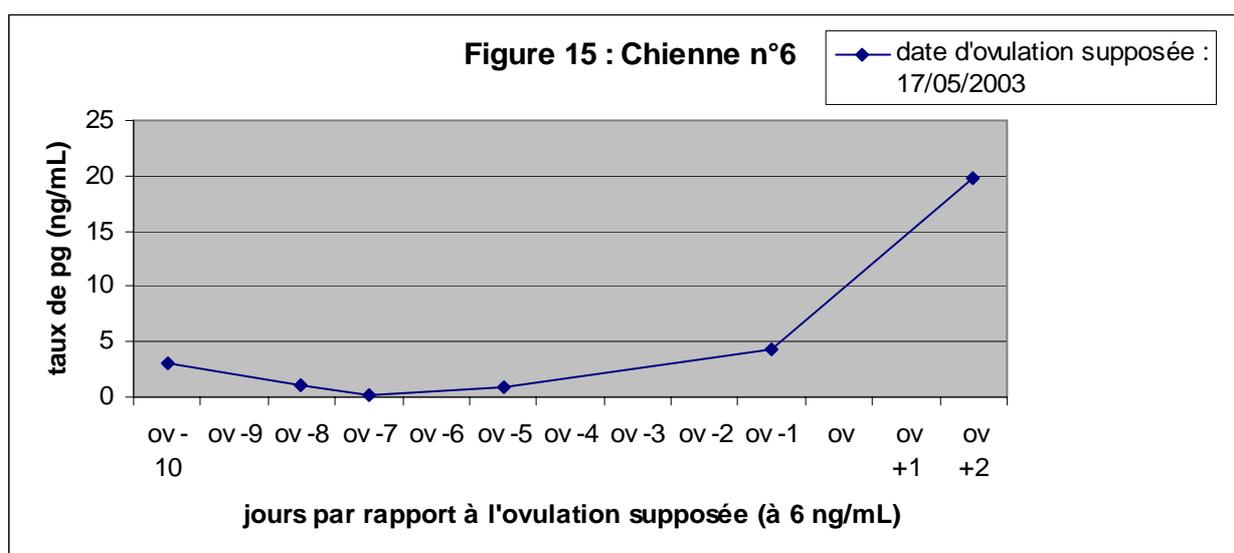


Sur cette chienne n°4, une échographie ovarienne a été pratiquée le 02/02, soit deux jours avant l'ovulation présumée. Une suspicion de kyste ovarien gauche a été émise et une ponction échoguidée de 0,3 mL d'un liquide séro hémorragique a été réalisée. L'ovulation s'est déroulée au 28^{ème} jour des chaleurs (le 04/02) et une saillie a été pratiquée le 06/02/02. La mise bas a eu lieu tout à fait normalement le 03/04/02 (durée de gestation, c'est-à-dire intervalle saillie-mise bas = 58 jours) ; 6 chiots sont nés.

Cette chienne a présenté une ovulation tardive, peut-être à cause du kyste découvert puis ponctionné par la suite. Cela n'a pas altéré le bon déroulement de la gestation puisque la fertilité est correcte et la durée de gestation de 58 jours est habituelle.



Cette courbe présente un profil semblable à celui de la courbe de la chienne précédente. Malheureusement, aucune donnée n'a pu être récoltée à propos des chaleurs de cette chienne n°5.

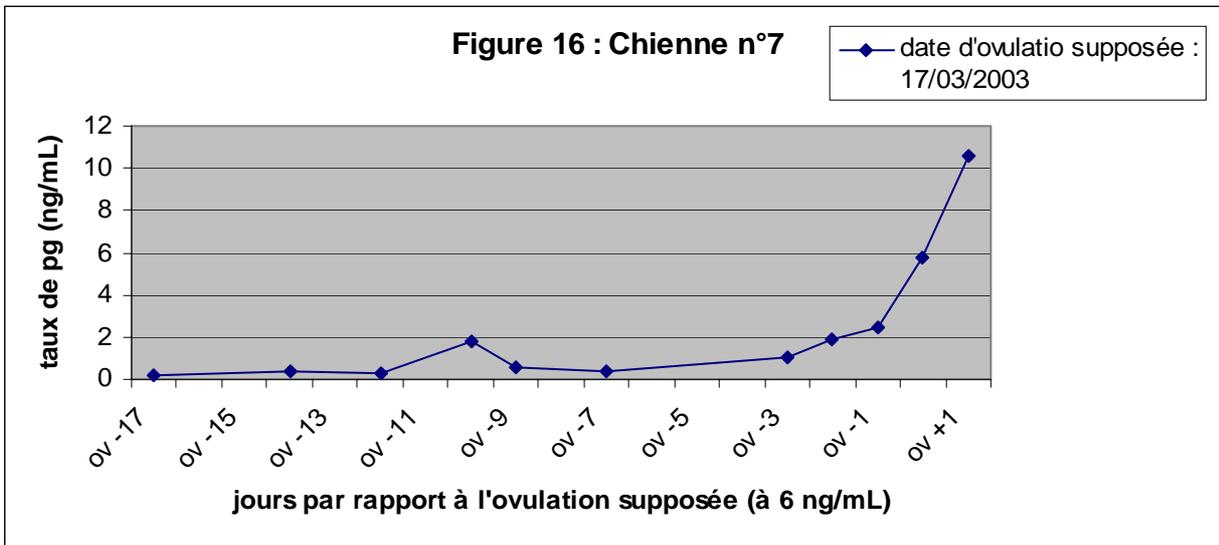


La chienne n°6 a semble-t-il ovulé au 19^{ème} jour de ses chaleurs (le 17/05), un accouplement a été réalisé le 19/05. La mise bas s'est déroulée le 20/07/03, une césarienne a été pratiquée: 2 chiots sont nés, dont 1 mort.

Là aussi l'ovulation est tardive, le pic à 3,01 ng/mL au 9^{ème} jour des chaleurs est suivi de 6 à 7 jours à des valeurs inférieures à 1ng/mL, puis la progestéronémie augmente pour dépasser 6 ng/mL au 19^{ème} jour des chaleurs.

De plus, en considérant un intervalle ovulation-mise bas de 63 jours (15), on obtient avec certitude la date d'ovulation le 17/05, soit bien le jour de l'ovulation supposée. La survenue de cette hausse de la progestéronémie n'aurait donc pas modifié la survenue et le bon déroulement de l'ovulation. Cependant, la mise bas s'étant effectuée par césarienne, il est

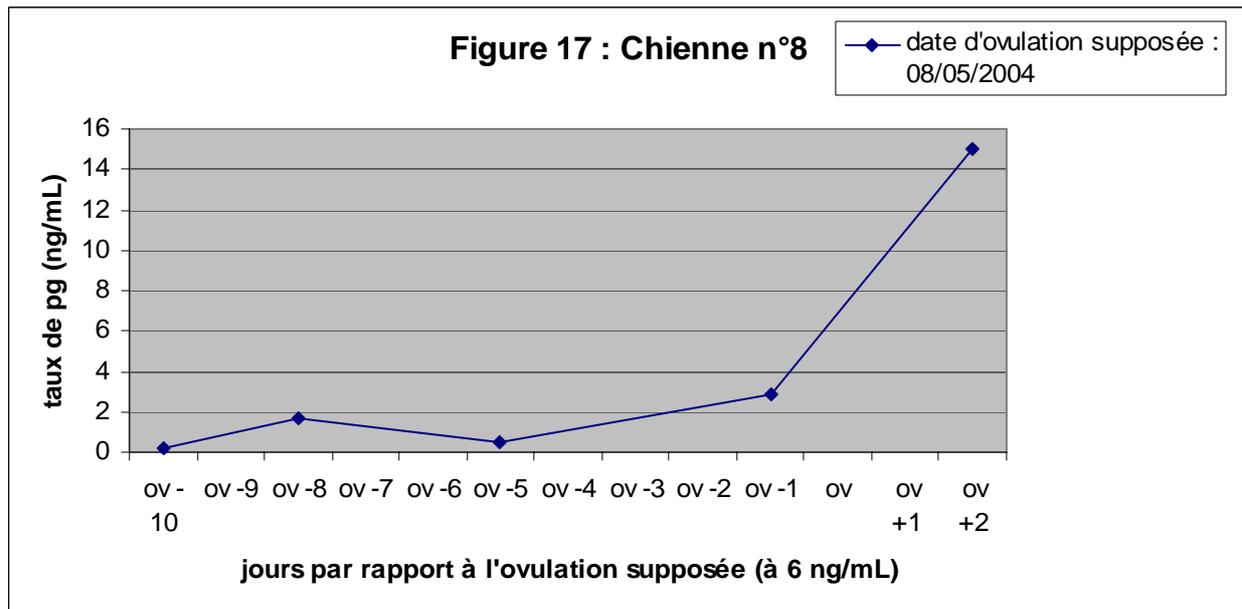
difficile de conclure, car celle-ci a peut être été programmée, justement à l'aide de ces données.



La chienne n°7 a semble-t-il ovulé au 22^{ème} jour des chaleurs (le 17/03), deux accouplements se sont produits : le 18/03 et le 20/03. Une échographie génitale avait été réalisée au 12^{ème} jour des chaleurs : à ce moment, les ovaires montraient des follicules, il n'y avait pas d'image de kyste ni d'anomalie utérine visible.

Un suivi taux de progestérone plasmatique au cours de la gestation a été pratiqué et une supplémentation en progestérone (Utrogestan ND) a été réalisée. Malgré ce suivi, la chienne n'a pas mis bas.

Cette chienne aussi présente donc des chaleurs longues, la survenue de l'ovulation s'est produite 10 jours après la montée fugace de la progestéronémie.



La chienne n°8 a semble-t-il ovulé le 08/05 et l'accouplement a eu lieu le lendemain (09/05). La mise bas s'est déroulée le 09/07, 3 chiots sont nés.

Ayant la date de mise bas, nous pouvons en déduire la date assez précise de l'ovulation, qui s'est donc déroulée le 07/05 (et non le 08/05 comme on pourrait le penser au vu du graphique). Cependant, ce décalage d'un jour n'est pas très significatif.

Là encore une montée de la progestéronémie à 1,65 ng/mL s'est produite bien avant l'ovulation (7 jours avant), mais n'a pas altéré la survenue de cette ovulation.

De ces quelques courbes, plusieurs informations sont à retirer.

D'abord concernant le moment de l'ovulation : pour les quatre résultats disponibles, les jours d'ovulation à partir du début des chaleurs sont : 17^{ème}, 19^{ème}, 22^{ème} et 28^{ème} jour. Ces ovulations sont donc tardives, en effet après quelques jours à des valeurs basales de progestéronémie, la courbe présente un premier pic entre 1 et 2 ng/ml, puis un retour à des valeurs basses pendant quelques jours avant une montée brutale de la progestéronémie correspondant à l'ovulation. Ce pic semble donc accompagner des ovulations tardives mais n'a pas de conséquence sur le bon déroulement de celles-ci.

Ensuite, là encore ces exemples montrent l'intérêt d'un suivi rigoureux du taux de progestérone, jusqu'à l'obtention d'un dosage au moins égal à 6 ng/mL. En effet, le raccourci consistant à dire que vers 2 ng/mL, l'ovulation se déroulera 2 à 3 jours plus tard, est faux pour ces chiennes.

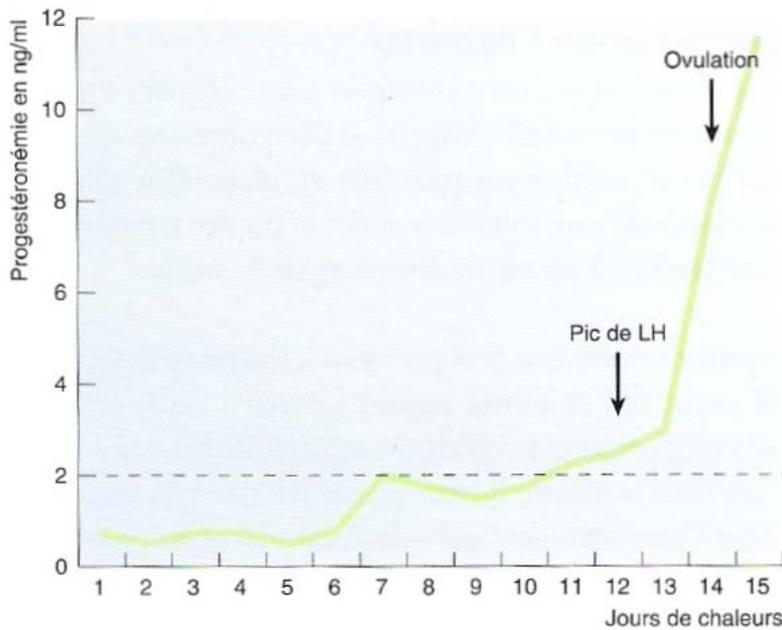
Enfin, il faut savoir que les montées transitoires de progestérone présentes sur ces quelques courbes sont classiquement décrites : elles pourraient être dues à des petites décharges de LH libérées par l'hypophyse, provoquant des hausses modérées et transitoires de la progestéronémie (26).

3-1-5-2- Courbes atypiques : progestéronémie comprise entre 2 et 6 ng/mL pendant plus de 4 jours.

Classiquement, on considère que le passage de 2 ng/mL (correspondant au pic de LH) à 6 ng/mL (correspondant à l'ovulation) se fait en 48 heures environ, et en 4 jours au maximum (26, 74).

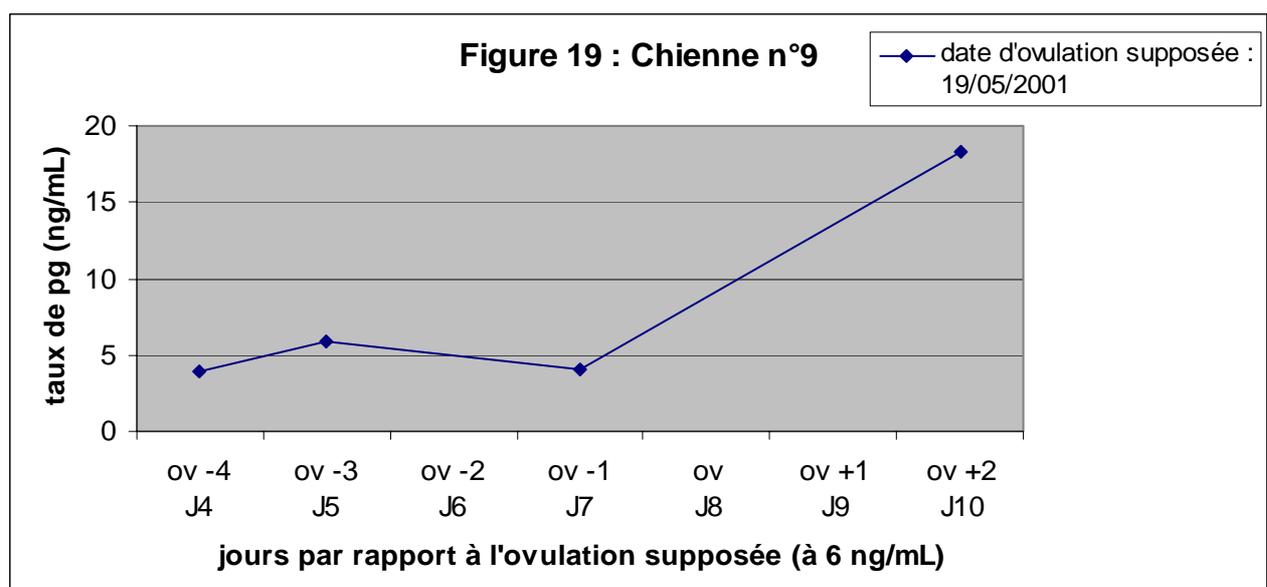
Or, quelques scientifiques spécialisés en reproduction canine ont pu remarquer une évolution différente chez certaines chiennes, en particulier de race Berger Allemand. Cela a d'ailleurs fait l'objet d'un débat lors du congrès européen de l'EVSSAR à Dublin en 2003 (FONTBONNE, communication personnelle).

Figure 18 : suivi de progestéronémie chez une chienne Berger Allemand, d'après FONTBONNE *et al.* (37).



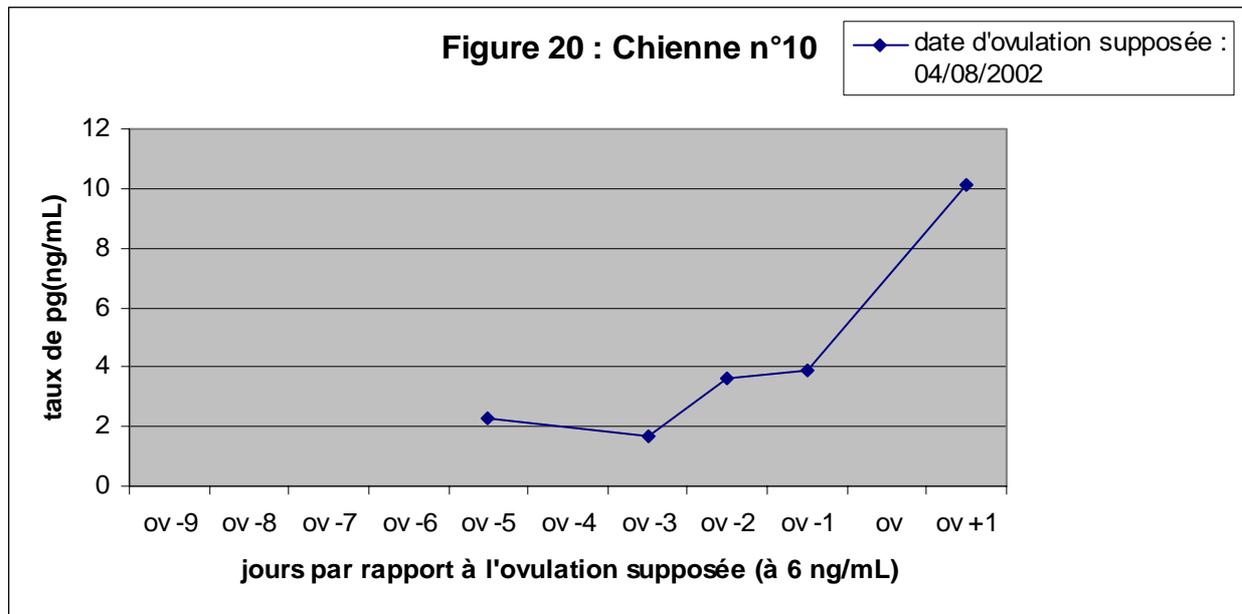
Sur cette courbe, on constate un plateau vers 2 ng/ml pendant 6 jours, avant qu'une élévation brutale de la progestéronémie au-delà de 6 ng/ml ne survienne. Dans ce cas, on aurait donc pu croire que le pic de LH se produisait au 7^{ème} jour des chaleurs (dosage de progestérone à 1,91 ng/ml). En fait, celui-ci est survenu autour du 12^{ème} jour, et l'ovulation le 14^{ème} jour des chaleurs.

Dans notre étude de courbes de progestéronémie, huit chiennes ont présenté une période pré-ovulatoire non habituelle, similaire à l'exemple ci-dessus, avec une courbe de progestéronémie stagnante entre 2 et 6 ng/ml pendant plus de 4 jours.

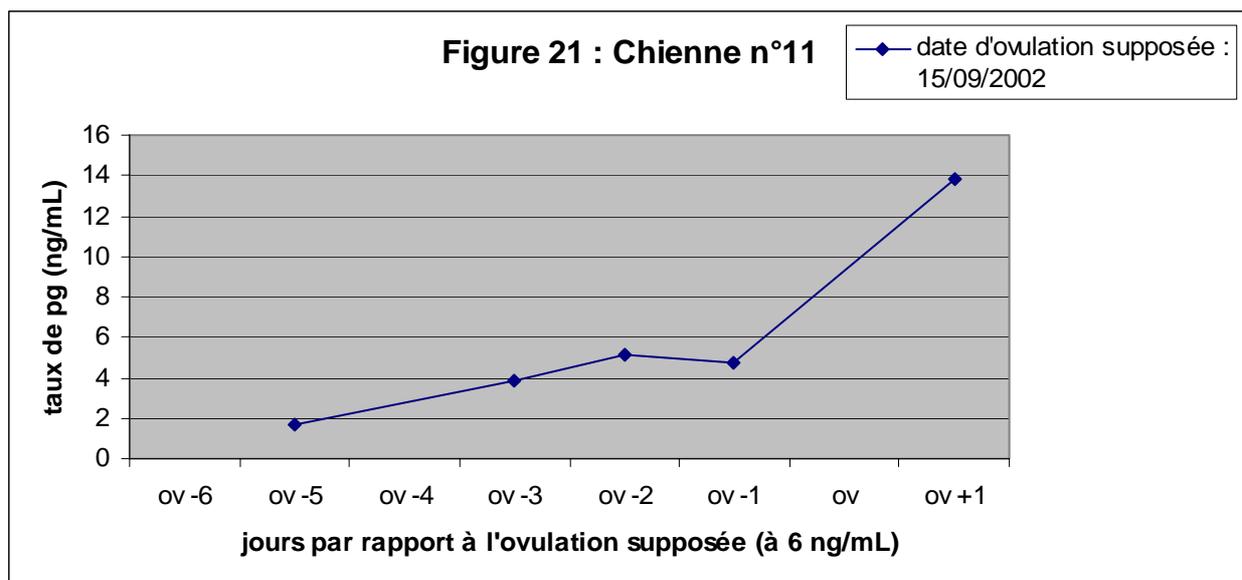


Au vu de la courbe, la chienne n°9 a ovulé semble-t-il au 8^{ème} jour de ses chaleurs (19/05), trois accouplements ont eu lieu les 18, 19 et 20 mai. La chienne a mis bas le 20/07/01 et 5 chiots sont nés. En considérant un intervalle pic de LH-mise bas de 65 jours (15), on peut donc replacer le pic de LH le 16 mai, soit le 5^{ème} jour des chaleurs (J5 sur la courbe). On constate alors que l'ovulation aurait alors eu lieu un jour, ou seulement quelques heures avant l'ovulation supposée.

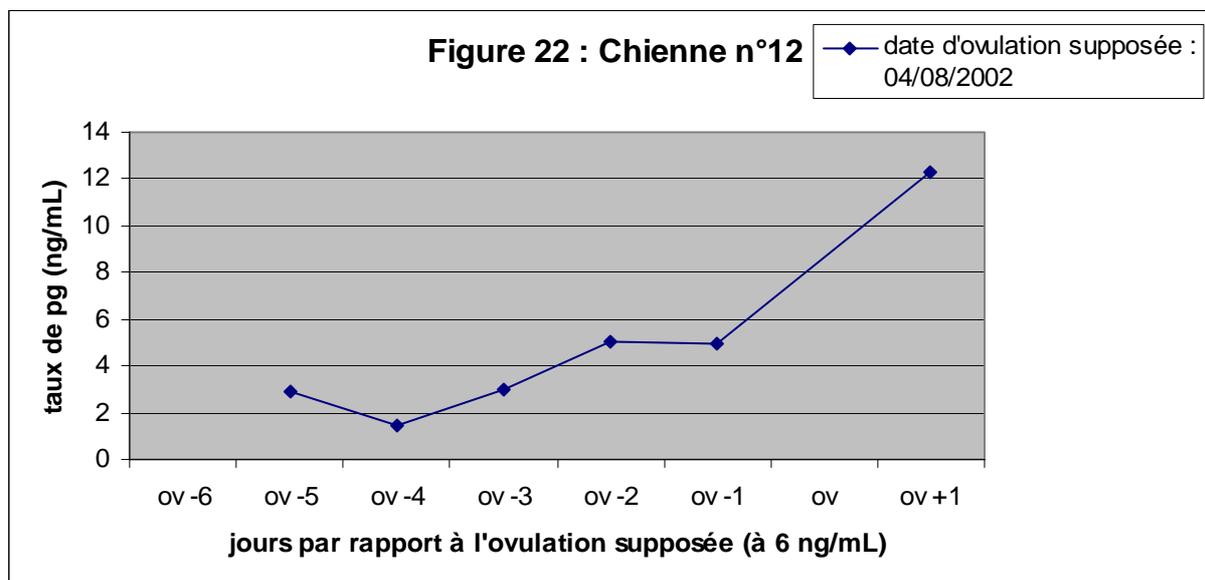
L'existence d'un plateau situé à plus de 2 ng/mL en période pré-ovulatoire n'a donc pas altéré le bon déroulement de l'ovulation, qui a bien eu lieu vers 6 ng/mL pour cette chienne.



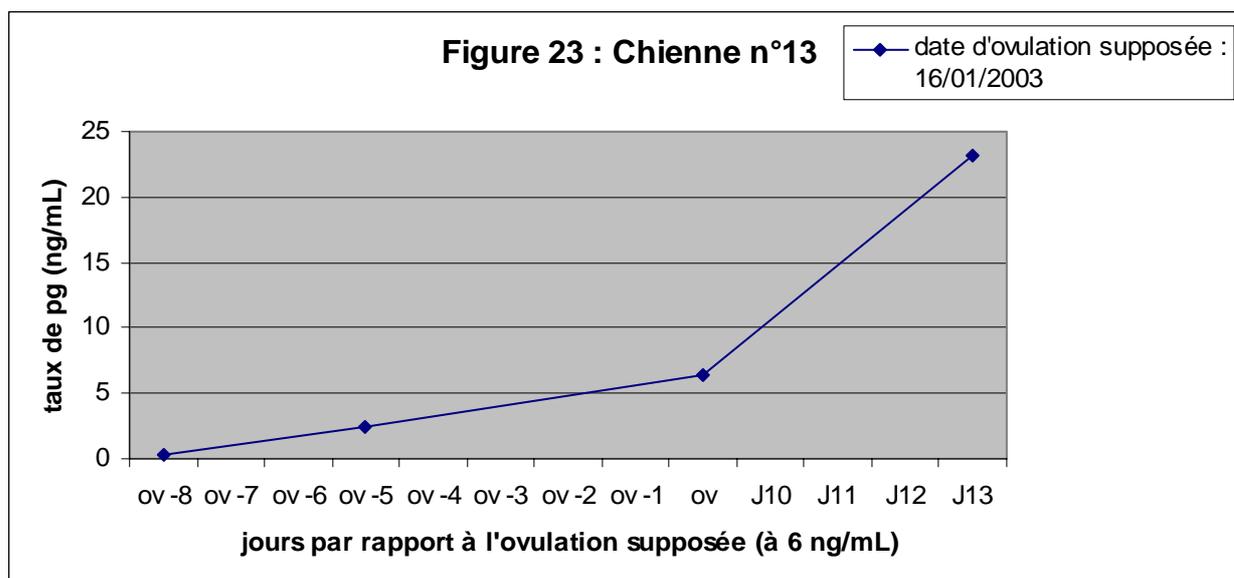
La chienne n°10 a semble-t-il ovulé au 14^{ème} jour de ses chaleurs (le 04/08), deux accouplements ont été pratiqués ensuite les 06 et 07/08. Cependant, la chienne est restée vide. La chienne n'ayant pas subi de diagnostic précoce de gestation par échographie, on ne sait pas si la période pré-ovulatoire a entraîné un mauvais déroulement de l'ovulation, ou si une résorption embryonnaire est à l'origine de cette absence de mise bas.



Au vu de l'évolution de la courbe, la chienne semble avoir ovulé au 14^{ème} jour de ses chaleurs (le 15/09), un seul accouplement le 17/09 s'est produit. La chienne étant restée vide, on ne sait pas si l'ovulation a bien eu lieu à la date supposée.

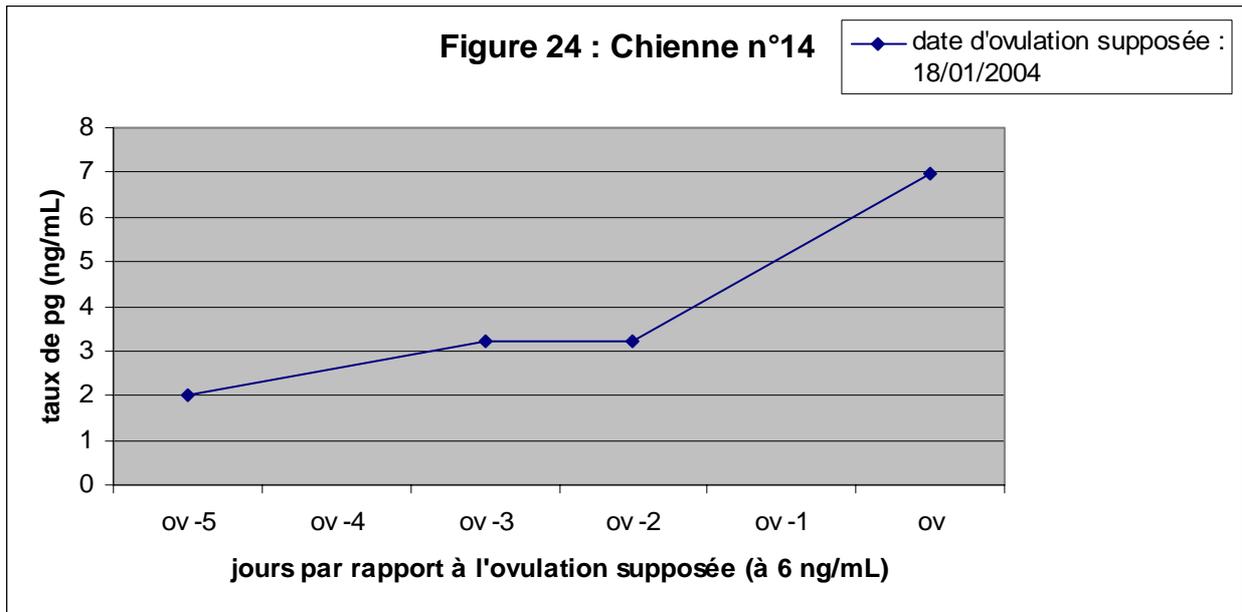


Pour la chienne n°12, l'ovulation supposée se situe au 14^{ème} jour des chaleurs (le 04/08). Un accouplement s'est réalisé le 06/08 puis le 07/08, mais la chienne est restée vide. Là aussi on ne sait pas si l'ovulation s'est déroulée de façon habituelle.

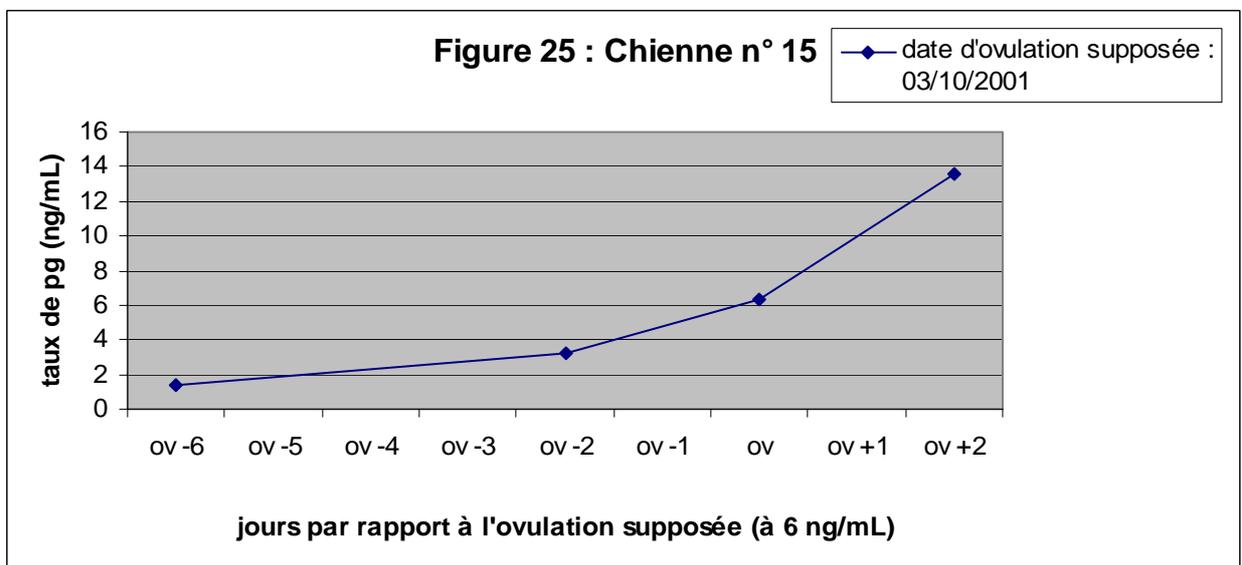


D'après l'évolution de la courbe, l'ovulation a eu lieu le 16/01. Deux accouplements ont été réalisés : le 15/01 puis le 18/01. La mise bas a eu lieu le 19/03, 4 chiots sont nés dont un mort. Là encore en déterminant un intervalle ovulation-mise bas de 63 jours (15), on retrouve une date d'ovulation le 16/01.

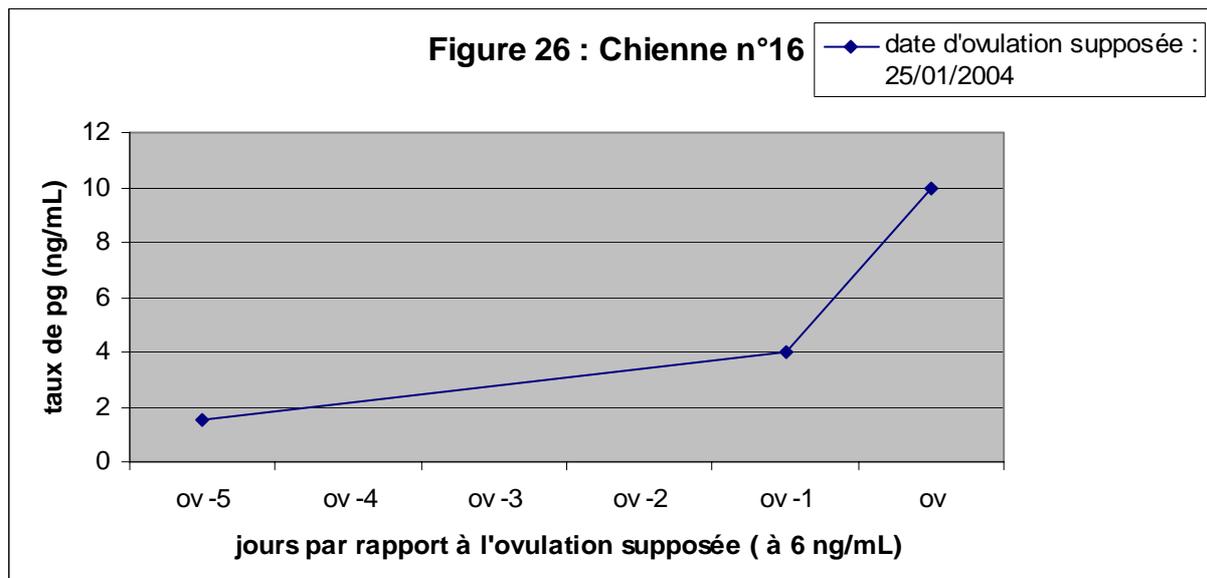
La persistance de la courbe de progestéronémie à plus de 2 ng/mL pendant plusieurs jours en période pré-ovulatoire n'a donc pas modifié le bon déroulement de l'ovulation, qui a bien eu lieu vers 6 ng/mL.



Pour la chienne n°14, d'après ces valeurs de progestéronémie, l'ovulation se serait produite au 15^{ème} jour des chaleurs (le 18/01). Un accouplement a ensuite eu lieu le 20/01. La mise bas s'est déroulée le 21/03, 6 chiots sont nés. Avec un intervalle ovulation-mise bas de 63 jours (15), on retrouve avec certitude le jour de l'ovulation, à savoir le 17/01, soit un jour avant les prévisions. Mais ceci reste tout à fait compatible avec le taux de progestérone plasmatique ce jour du 17/01, qui se situait entre 3,21 et 6,96 ng/mL. Ainsi, là aussi, le plateau observé à plus de 2 ng/mL en période préovulatoire n'a pas empêché la survenue de l'ovulation dans des conditions optimales.



La chienne n°15 semble avoir ovulé au 15^{ème} jour de ses chaleurs (le 03/10), un accouplement a été réalisé le 05/10. Malgré cela, la chienne est restée vide. On ne peut donc pas conclure sur le bon déroulement ou pas de l'ovulation.



D'après la courbe, l'ovulation s'est produite au 13^{ème} jour des chaleurs (le 25/01) pour la chienne n°16. Un accouplement a été fait le 27/01. Mais la chienne n'a pas mis bas. Ici aussi, il est impossible de savoir quand s'est déroulée l'ovulation puisque la chienne n'a pas mis bas.

Ces huit courbes nous permettent de tirer quelques conclusions. D'abord, pour les trois chiennes qui ont mis bas, l'ovulation s'est déroulée de manière classique, à savoir au moment du passage de la progestéronémie vers 6 ng/mL.

Par contre, cinq chiennes n'ont pas mis bas, on ne peut tirer de conclusions à propos de leur ovulation.

Enfin, signalons que pour aucune de ces huit chiennes un diagnostic d'insuffisance lutéale n'a été posé, donc aucune de ces huit chiennes n'a été supplémentée en progestérone.

3-2- Etude n°2 : Etude génétique des chiennes présentant des courbes atypiques

3-2-1- Chiennes dont les pedigrees ont pu être analysés.

Chienne n°13 : Cette chienne est d'origine française par ses deux parents, cependant ses deux grand-pères sont d'origine allemande.

Chienne n°14 : Cette chienne est d'origine belge, son père est italien.

Chienne n°16 : Cette chienne est d'origine française par ses deux parents, son grand-père paternel est italien et son grand-père maternel est allemand.

L'étude de ces pedigrees a montré certains liens de parenté :

- le père de la chienne n°14 n'est autre que le grand-père paternel de la chienne n°16.

- les chiennes n°13 et n°16 ont en commun un aïeul allemand : celui-ci est d'une part grand-père pour la chienne n°13, et d'autre part arrière arrière grand-père côté paternel ainsi qu'arrière grand père côté maternel pour la chienne n°16.

Par contre les chiennes n°13 et 14 n'ont aucun lien génétique.

3-2-2- Chiennes dont on ne dispose que de renseignements oraux.

Seules quelques données ont pu être retrouvées concernant les chiennes n°10, 11, 12 et 15. Il faut noter que ces quatre chiennes proviennent d'un même élevage. Cependant, seules les chiennes n°12 et 15 ont un lien de parenté, elles ont en commun une grand-mère et sont françaises. Les chiennes n°10 et 11 sont toutes deux d'origine allemande mais n'ont aucun lien familial.

3-2-3- Chiennes dont on ne dispose d'aucune donnée

La chienne n°9 ayant été vendue entre sa consultation au CERCA et l'analyse de son dossier, ses nouveaux propriétaires sont restés introuvables et nous ne disposons donc d'aucune information concernant ses origines.

4- Discussion

4-1- Protocole

Quelques remarques sont à faire sur les résultats que nous venons de présenter.

D'abord, les chiennes incluses dans l'étude sont toutes inscrites au LOF. Ceci constitue un atout certain pour notre échantillon, dont nous sommes certains qu'il est composé de chiennes Berger Allemand de pure race.

Cependant, notre échantillon semble restreint (entre 100 et 150 chiennes concernées en fonction des paramètres, 137 courbes de progestéronémie étudiées), et n'est vraisemblablement pas représentatif de la population de chiennes Berger Allemand de pure race. Par ailleurs, des animaux souffrant de troubles de la fertilité consultent de plus en plus souvent au CERCA, donc cet éventuel nombre croissant de chiennes infertiles peut induire des biais dans nos résultats.

Quelques difficultés ont été rencontrées lors de l'analyse des dossiers. En effet, une quantité importante de dossiers étaient égarés, incomplets ou même inexploitable car seuls un ou deux dosages de progestérone avaient été réalisés. Ces dossiers sont au nombre de 111, soit 43% du nombre total de dossiers de chiennes Berger Allemand suivies au CERCA entre janvier 2001 et mars 2005.

Des courriers et appels téléphoniques répétés ont donc été nécessaires pour obtenir plus d'informations, en particulier pour les chiennes présentant des courbes de progestéronémie atypiques.

De plus, des éléments étant manquants, l'échantillon a été différent pour chaque élément étudié au sein des dossiers cliniques ; en effet quelquefois des dossiers ont dû être éliminés par manque d'information, alors qu'ils ont été conservés pour l'analyse d'autres paramètres. Ce tri nécessaire des dossiers n'obéit donc pas à la règle du tirage au sort utilisé dans un protocole d'épidémiologie descriptive.

Par contre, concernant le suivi de la progestéronémie, les chiennes incluses dans l'analyse des courbes ont consulté au CERCA entre 2001 et 2005. Durant cette période, la même technique de dosage par électrochimiluminescence ainsi que le même automate ont été employés.

4-2- Exclusion de certains paramètres

Le but de l'étude étant de mieux connaître l'évolution du taux de progestérone durant la période pré-ovulatoire, et en particulier d'étudier la durée du passage de la progestéronémie de 2 à 6 ng/mL, nous avons délibérément décidé de ne pas exploiter les données disponibles sur les frottis vaginaux au cours de cette période. En effet, les frottis vaginaux ne présentent un intérêt particulier qu'en début de pro-œstrus, alors que la progestéronémie se situe à des valeurs inférieures à 2 ng/mL (57) ; et même lorsque ce taux est inférieur à 2 ng/mL, un frottis majoritairement acidophile est retrouvé chez la plupart des chiennes, et empêche donc de tirer des conclusions précises sur le stade des chaleurs.

De même, nous n'avons pas étudié l'évolution de la progestéronémie au cours de la gestation. En effet, même si l'insuffisance lutéale est une pathologie fréquente chez les chiennes Berger Allemand, c'est bien la période pré-ovulatoire qui nous intéresse ici. De plus, trop peu de chiennes au CERCA font l'objet d'un suivi de la progestéronémie au cours de la gestation ; et si c'est le cas, cela concerne des chiennes suspectes d'insuffisance lutéale (huit chiennes au total dans notre étude) qui sont systématiquement supplémentées en progestérone (Utrogestan ND), le suivi de la progestéronémie est alors inutile car faussé.

Enfin, nous n'avons pas pu étudier d'éventuels dosages de l'hormone LH. En effet, cette hormone n'est pas dosée en routine au CERCA car elle nécessite des dosages journaliers et représente un coût supplémentaire non négligeable pour les propriétaires.

Des dosages de LH auraient été très intéressants à analyser car le pic de LH constitue un très bon repère pour évaluer la date d'ovulation. De plus, il nous aurait permis d'évaluer avec précision l'intervalle pic de LH-ovulation, afin de savoir si oui ou non cet intervalle est augmenté chez certaines chiennes Berger Allemand de l'étude.

4-3- Résultats

4-3-1- Etude n°1 : Etude des courbes de progestéronémie

4-3-1-1- Ensemble des chiennes de l'étude

4-3-1-1-1- Durée des chaleurs

En accord avec les observations de FONTBONNE (32), de nombreuses chiennes de race Berger Allemand présentent des chaleurs longues. Ainsi 28,6% (41 sur 143) d'entre elles ovulent entre le 16^{ème} et le 25^{ème} jour des chaleurs, alors que dans l'étude de DOUCET et VANNIMENUS (20) concernant des chiennes de toutes races, seules 13,3% des chiennes ovulent entre le 16^{ème} et le 25^{ème} jour des chaleurs. Certaines chiennes de notre étude ont même des chaleurs extrêmement longues, se prolongeant de 25 à 33 jours pour sept d'entre elles.

4-3-1-1-2- Fertilité et prolificité

Les chiennes de l'étude présentent une fertilité allant de 64,6 à 66,8 selon le nombre de chiennes incluses. Ce résultat est inférieur aux résultats de la race qui affiche un taux de fertilité supérieur à 80%. Une hypothèse pouvant expliquer cette différence est la grande proportion de chiennes qui viennent consulter au CERCA pour infertilité.

Concernant la prolificité, les résultats pour les chiennes de l'étude vont de 5,6 à 5,9 chiots par portée. Ces chiffres sont légèrement inférieurs aux données trouvées dans la littérature pour les chiennes Berger Allemand (11, 20, 63); cependant ces différences ne sont pas significatives, d'autant que notre échantillon est trop restreint.

4-3-1-1-3- Profil des courbes de progestéronémie

Le profil général de la courbe est à peu près constant pour 121 chiennes sur un total de 137 courbes étudiées, soit 88,3 %. Ce résultat est supérieur à celui de l'espèce canine toutes races confondues, qui est de 83 % d'après GUERIN (41). Cette étude nous montre donc que sur notre échantillon de chiennes Berger Allemand, certes trop restreint pour généraliser à l'ensemble de la race, les chiennes présentent une évolution normale de leur taux de progestérone au cours du temps, même si la montée initiale de ce taux est tardive sur nombre d'entre elles, comme dit précédemment.

La plupart des chiennes Berger Allemand de l'étude présente donc une courbe de progestéronémie conforme aux courbes standards de l'espèce canine toutes races confondues, qui avaient été réalisées à partir d'autres races, en particulier des beagles (46, 74), même si certaines études incluent des races variées (6, 38, 82).

4-3-1-2- Chiennes présentant des courbes de progestéronémie atypiques.

Seulement 8 chiennes présentent une courbe atypique sur un total de 137 courbes étudiées, soit 5,8 %. Ce chiffre est donc très faible et inférieur à nos attentes. D'après les observations des vétérinaires du CERCA concernant le suivi de chaleurs des chiennes Berger Allemand vues ces dernières années, nous pensions en effet être confrontés à des chaleurs anormales dans un plus grand nombre de cas. Cette « fausse impression » est sans doute à mettre sur le compte de chaleurs longues.

En outre, on peut se demander si ces quelques courbes atypiques ne sont pas le fruit d'une défaillance ponctuelle de l'automate qui dose le taux de progestérone plasmatique. Malheureusement, même si le CERCA conserve des échantillons de plasma pendant plusieurs années, nous n'avons retrouvé aucun des échantillons des huit chiennes. Il aurait été très utile de redoser la progestéronémie afin de vérifier l'exactitude des dosages précédents.

4-3-1-2-1- Moment de l'ovulation

4-3-1-2-1-1- Détection de l'ovulation

Les chiennes standard ovulant vers 6 ng/ml, il est intéressant de savoir si lors de ces tracés atypiques, l'ovulation se produit au même taux. En s'aidant des durées de gestation, il est possible de retrouver la date du pic de LH et la date de l'ovulation et donc voir si la date de l'ovulation effective correspond à la date d'ovulation supposée (à savoir le jour où le taux atteint 6 ng/ml) (15).

Figure 27 : Chienne n°9 : progestéronémie et pic de LH

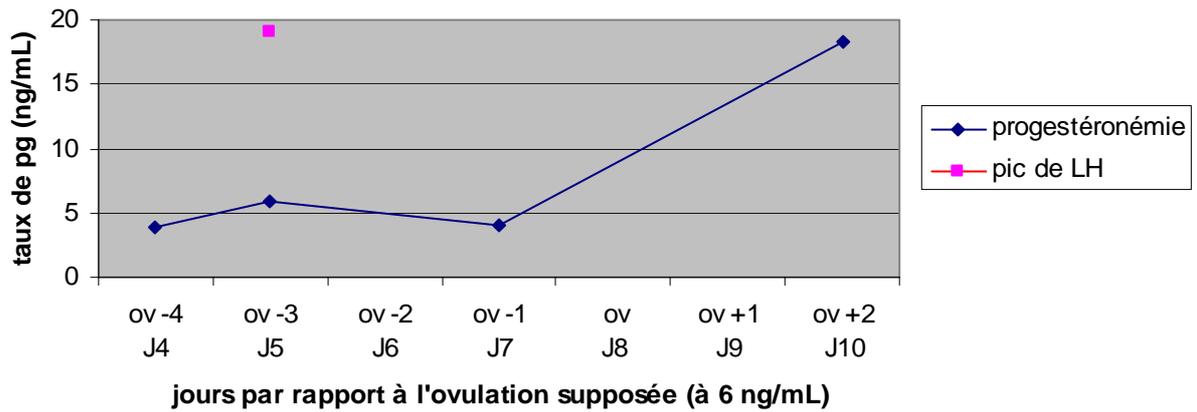


Figure 28 : Chienne n°13 : progestéronémie et pic de LH

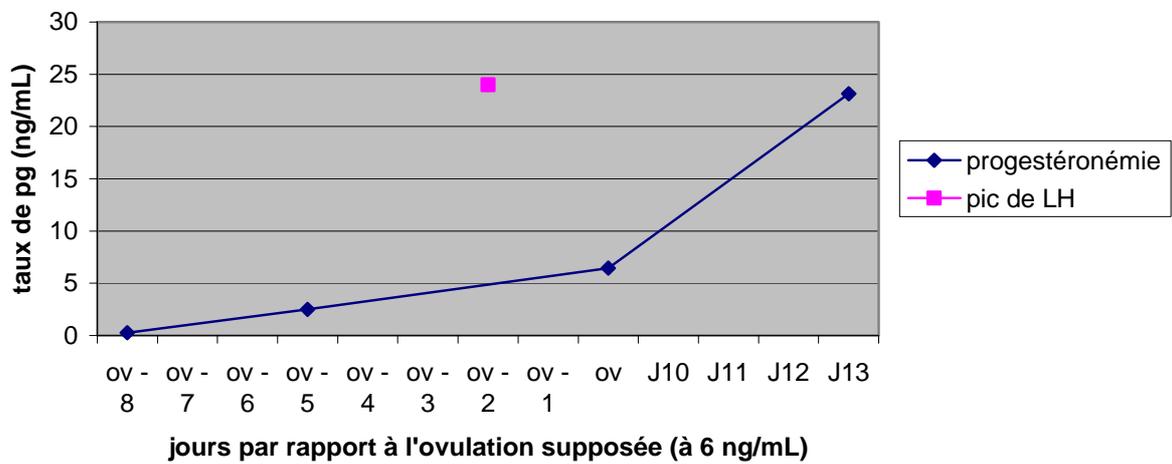
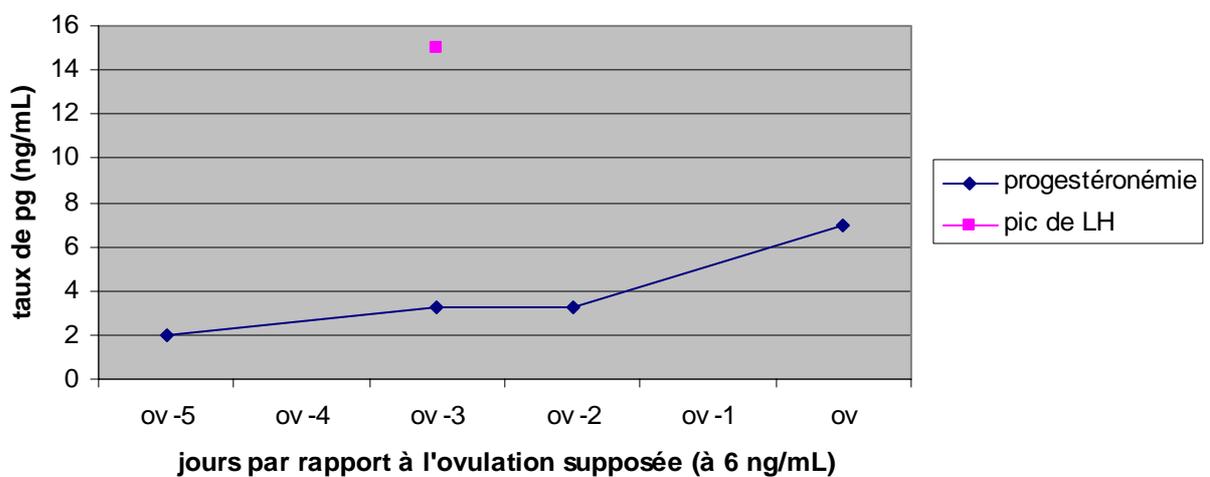


Figure 29 : Chienne n°14 : progestéronémie et pic de LH



Pour les trois chiennes qui ont mis bas, on obtient un pic de LH qui se situe 2 à 3 jours avant la date d'ovulation supposée. Ainsi la date d'ovulation supposée correspond bien à la date d'ovulation réelle. On peut en déduire que ces trois chiennes ont bien ovulé vers 6 ng/ml, le plateau pré-ovulatoire situé entre 2 et 6 ng/mL n'a pas modifié la valeur de la progestéronémie au moment de l'ovulation.

Par contre, des interrogations subsistent concernant les cinq autres chiennes qui n'ont pas mis bas. Est-ce le maintien d'un taux de progestérone plasmatique au dessus de 2 ng/mL pendant plusieurs jours au cours de la période pré-ovulatoire qui a entraîné un mauvais déroulement ou un retard de l'ovulation ? Cette ovulation a-t-elle bien eu lieu, et si oui à quel taux ? Ou bien l'absence de mise bas est-elle due à d'autres facteurs qui sont intervenus plus tard au cours de la fécondation ou du développement embryonnaire ?

Pour avoir des éléments de réponse, il aurait fallu réaliser des diagnostics de gestation par échographie à la suite de ces cinq périodes de chaleurs, ce qui n'a pas été le cas. En effet, si des chiennes avaient été pleines à l'échographie, on aurait pu en déduire que l'ovulation s'était déroulée de façon habituelle, et à un taux de progestérone sans doute proche des 6 ng/mL ; inversement des chiennes vides à l'échographie nous aurait orienter vers un déroulement inhabituel de l'ovulation, à des taux de progestérone non classiques.

4-3-1-2-1-2- Moment de l'ovulation par rapport au début des chaleurs

Pour les huit chiennes concernées, l'ovulation se situe au 13^{ème} jour des chaleurs en moyenne, avec des ovulations allant du 8^{ème} au 15^{ème} jour des chaleurs. Ces durées sont tout à fait dans la norme canine, et même inférieures à la durée moyenne enregistrée pour la race.

4-3-1-2-2- Résultats de mises bas

Seules 3 chiennes ont mis bas sur les 8. Une chienne a eu 5 chiots, une autre 6 et enfin la dernière a eu 4 chiots dont un mort. La prolificité est donc de 5 chiots, ce qui est inférieur à la moyenne admise pour la race, celle-ci étant de 6 à 6,5 chiots.

Mais ce qui est plus remarquable, c'est que 5 des 8 chiennes n'ont pas eu de chiots. L'influence sur la fécondité semble donc très importante, puisque le taux de fécondité n'est que de 37,5%, alors que le taux moyen pour la race Berger Allemand dépasse les 80%.

Ainsi, pour les cinq chiennes restées vides, on peut se demander si l'ovulation s'est déroulée dans des conditions normales. De même, s'est-elle produite au passage des 6 ng/ml ? Dans le cas contraire, la saillie aurait été pratiquée trop tard ou trop tôt et cela pourrait expliquer que ces 5 chiennes soit restées vides.

4-3-1-2-3- Age des chiennes concernées

Sachant qu'un âge égal ou supérieur à 6 ans peut entraîner une baisse de la fertilité et de la prolificité (63), il est intéressant d'étudier l'âge des chiennes concernées afin de déterminer si le facteur âge peut expliquer en partie l'existence de courbes atypiques.

Seul l'âge de la chienne n°13 n'a pu être retrouvé. Pour les autres, leur âge est en moyenne de 3 ans et 3 mois. 5 chiennes sont jeunes (de 1 an à 3 ans et 10 mois) et 2 chiennes (n°9 et n°15) ont un âge bien plus avancé (5 ans et 4 mois d'une part, 6 ans d'autre part).

Dans l'ensemble, ces lices sont donc jeunes, on peut supposer que l'âge ne constitue pas un facteur de risque d'apparition de ces courbes non classiques.

4-3-1-2-4- Durée de l'interœstrus des chiennes concernées

Nous savons déjà qu'un interœstrus court est souvent associé à des troubles de la fertilité, de plus GUNZEL-APPEL *et al.* (45) ont montré aussi que de 5 à 45 jours après ovulation, la progestérone plasmatique est significativement plus basse chez les chiennes à interœstrus court que chez des chiennes à cycle de durée classique.

Il est donc intéressant de se demander si un interœstrus court n'entraîne pas aussi des taux anormaux de progestéronémie en période pré-ovulatoire, ce qui aurait pour conséquence un mauvais déroulement de l'ovulation, facteur qui serait alors aggravant en terme de résultats de fertilité.

Sur les huit chiennes, seules deux durées d'interœstrus n'ont pu être retrouvées, cela concerne les chiennes n°12 et 13. Pour les six résultats dont on dispose, 5 chiennes présentent un interœstrus de durée normale, à savoir 6 mois, et seule la chienne n°9 présente des chaleurs rapprochées, avec un interœstrus de 4 mois.

Ainsi, cela permet de conclure qu'il ne semble pas exister de lien de cause à effet entre la survenue de chaleurs anormalement rapprochées et l'existence d'une courbe de progestéronémie atypique en période pré-ovulatoire.

4-3-1-2-5- Autres chaleurs des chiennes concernées

Nous avons pu analyser des dosages se rapportant à d'autres chaleurs sur six de ces huit chiennes ; ces chaleurs étant antérieures ou postérieures aux chaleurs atypiques en fonction des cas.

Nous constatons que les profils de courbe sont tout à fait normaux. Cela montre donc que ces six chiennes ne présentent pas systématiquement des courbes atypiques, mais qu'elles peuvent avoir des profils de courbe classiques. Cela minimise donc l'importance de la survenue d'un profil anormal, puisqu'on peut s'attendre à un retour à la normale sur les chaleurs suivantes. Par ailleurs, cela confirme la grande variabilité du déroulement des chaleurs en fonction des cycles chez une même chienne (5).

4-3-2- Etude n°2 : Etude génétique des chiennes présentant des courbes atypiques.

GUNZEL-APPEL *et al.* (45) ont émis l'hypothèse que les chiennes Berger Allemand présentant des périodes d'interœstrus courtes associées à des troubles de la fertilité pouvaient présenter un lien génétique, qu'un facteur génétique était peut-être responsables de ces anomalies.

Dans notre étude n°2, en analysant les pedigrees des chiennes présentant sur leur courbe de progestéronémie un plateau situé entre 2 et 6 ng/mL pendant plus de 4 jours, quelques liens génétiques ont pu être décelés. D'une part la chienne n°16 présente un lien génétique avec les chiennes n°13 et 14, d'autre part les chiennes n°12 et 15 ont un lien de sang.

Malgré ces observations, le facteur génétique n'explique sans doute pas la survenue de ces chaleurs atypiques, tant les liens de parenté retrouvés sont minimes et lointains. Cependant, l'hypothèse génétique n'est pas exclue et une étude à plus grande échelle serait fort intéressante pour affirmer ou infirmer cette hypothèse.

CONCLUSION

La reproduction canine est une science encore jeune, mais les recherches actives dans ce domaine ainsi que la création de centres d'études spécialisés à travers le monde, comme le CERCA à Alfort, permettent de faire des progrès rapides.

Dans notre étude, l'analyse des dosages de progestérone plasmatique au cours des chaleurs, à travers 146 dossiers de chiennes Berger Allemand, a tenté de déterminer quelles pouvaient être les spécificités de ces chiennes. La très grande majorité des chiennes étudiées présentent une courbe de progestéronémie d'évolution classique. Pour toutes ces chiennes, le dosage de la progestérone constitue un très bon critère d'évaluation du moment de l'ovulation. Seule une minorité présente une courbe atypique avec une persistance de la progestéronémie entre 2 et 6 ng/mL pendant plus de quatre jours. Dans ces cas, on ne sait pas si la progestéronémie reste un témoin fiable de l'ovulation car de mauvais résultats en terme de fertilité et prolificité ont pu être notés. Mais les chiennes incriminées ont également présenté des courbes de progestéronémie normales au cours d'autres chaleurs, montrant le caractère ponctuel et non définitif de ces anomalies. En tout cas, il semble préférable chez les chiennes Berger Allemand de ne pas se contenter d'estimer à l'avance l'ovulation avec le simple passage à 2 ng/mL, mais de bien attendre le passage à 6 ng/mL avant de programmer l'accouplement.

Cependant, au vu des incertitudes des données et du nombre trop réduit de cas étudiés, les résultats obtenus semblent propres à la clientèle du CERCA et ne peuvent être généralisés à l'ensemble de la population des Bergers Allemands.

A l'avenir, des études sur des populations plus représentatives de Bergers Allemands et englobant des effectifs plus importants pourraient sans doute confirmer ou infirmer nos résultats. De plus, le dosage de l'hormone LH, hormone la plus fiable actuellement car directement liée à l'ovulation, mais aussi l'échographie ovarienne, dont la précision s'améliore d'année en année, pourraient permettre de définir mieux encore le moment de l'ovulation et donc d'apprécier plus facilement d'éventuelles particularités au cours des chaleurs des chiennes Berger Allemand.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) ALLEN W.E. Endocrinology of the oestrus cycle. Vaginal changes of clinical significance. Abnormal bitch physiology and endocrinology. Approach to infertility cases. *In Fertility and Obstetrics in the Dog*, BSAVA Ed., London, 1992, 14-17, 18-28, 129-135.
- (2) ARMSTRONG D.G., WEBB R. Ovarian follicular dominance : novel mechanisms and protein factors. *Rev. Reprod.* 1997, **2**, 139-146.
- (3) ARTHUR G.H., NOAKES D.E., PEARSON H. *et al.* Infertility in the bitch. *Vet. Repro. Obst.*, Ed. W.B. Saunders, Philadelphia (USA), 1996, 516-543.
- (4) AULETTA F.J., FLINT A.P.F. Mechanisms controlling corpus luteum function in the sheep, cows, non human primates and women, especially in relation to the time of luteolysis. *Endocr. Rev.*, 1988, **9**, 88-106.
- (5) BADINAND F., FONTBONNE A. Repeatability of events during successive oestrous periods within bitches : comparison between breeding results and clinical and hormonal data. *J. Repro. Fert. (free communications)*, 1993, **47**, 548-549.
- (6) BADINAND F., FONTBONNE A., MAUREL M.C. *et al.* Fertilization time in the bitch in relation to plasma concentration of oestradiol, progesterone and luteinizing hormone and vaginal smears. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 63-67.
- (7) BARTOLO A. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1999 à 2002.* Thèse Méd. Vét., Alfort 2004, n°59.
- (8) BOUCHARD G.F., MALUGANI N., YOUNGQUIST R.S. *et al.* Determination of ovulation in the bitch with a qualitative progesterone enzymeimmunoassay in serum, plasma and whole blood. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 517-518.
- (9) BOYD J.S., RENTON J.P., HARVEY M.J.A. *et al.* Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 101-105.
- (10) BRICOUT E. *Contribution à la détermination du moment du pic de LH chez la chienne.* Thèse Méd. Vét., Alfort 1994, n°10.
- (11) CATHENOZ L. et MARSAN C. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1990 à 1993.* Thèse Méd. Vét., Alfort 1996, n°38.
- (12) CHRISTIE D.W., BELL E.T. Some observations on the seasonal incidence and frequency of oestrus in breeding bitches in Britain. *J. Small Anim. Pract.*, 1971, **12**, 159-167.

- (13) CONCANNON P.W. Canine Pregnancy and Parturition. *Vet. Cli. North Am. : Small Anim. Pract.* Mai 1986, **16** (3), 453-475.
- (14) CONCANNON P.W. Clinical and endocrine correlates of canine ovarian cycles and pregnancy. In : Kirk (R.W), *Current Veterinary Therapy, Small Animal Practice*, Saunders, Philadelphia, 1986, 1214-1224.
- (15) CONCANNON P.W. Canine Pregnancy : Predicting Parturition and Timing Events of Gestation. Mai 2000. In *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>], (consulté le 18 Septembre 2005).
- (16) CONCANNON P.W., WEINSTEIN P. Suppression of luteal function in dogs by luteinizing antiserum and by bromocryptine. *J. Repro. Fert.*, 1987, **81**, 175-180.
- (17) CONCANNON P.W., WHALEY S., LEIN D. *et al.* Canine gestation length : Variation related to time of mating and fertile life of sperm. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, **44** (10), 1819-1821.
- (18) CONCANNON P.W., Mc CANN J.P., TEMPLE M. Biology and endocrinology of ovulation, pregnancy and parturition in the dog. *J. Repro. Fert.*, 1989, **39**, 3-12.
- (19) DETTLE E.E., BERTSCHINGER H.J. *et al.* Luteolysis in early diestrous beagle bitches. *Theriogenology*, 1988, **29**, 757-763.
- (20) DOUCET F., VANNIMENUS C. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1994 à 1998.* Thèse Méd. Vét., Alfort 2001, n°38.
- (21) DUMON C. Frottis vaginaux chez la chienne. In *Reproduction du chien et du chat.* PMCAC Ed., Paris, 1992, 47-52.
- (22) DUMON C. Physiologie sexuelle de la chienne. In *Reproduction du chien et du chat.* PMCAC Ed., Paris, 1992, 11-18.
- (23) DUPRAT S.A. *Insuffisance lutéale chez la chienne.* Thèse Méd. Vét., Lyon 2003, n°10.
- (24) ENGLAND G., ALLEN W.E. Ultrasonography and histological appearance of the canine ovary. *Vet. Rec.*, 1989, **125**, 555-556.
- (25) ENGLAND G., YEAGER A.E. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus, ovulation and early pregnancy. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 107-117.
- (26) ENGLAND G. CONCANNON P.W. Determination of the optimal breeding time in the bitch : basic considerations. Juin 2002. In *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>], (consulté le 18 Septembre 2005).

- (27) ENGLAND G., ALLEN W.E., PORTER D.J. A comparison of radioimmunoassay with quantitative and qualitative enzyme-linked immunoassay for plasma progestogen detection in bitches. *Vet. Rec.*, 1989, **125**, 107-108.
- (28) ENGLAND G., YEAGER A., CONCANNON P.W. Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. Juillet 2003. *In Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>], (consulté le 18 Septembre 2005).
- (29) FELDMAN E.C., NELSON R.W. *Canine and Feline Endocrinology and reproduction*. 3rd edition, Ed. W.B. Saunders, Philadelphia (USA), 2004, 790-791.
- (30) FONTBONNE A. Utilisation du dosage de la progestérone chez la chienne. *In Reproduction du chien et du chat*. PMCAC Ed., Paris, 1992, 53-58.
- (31) FONTBONNE A. Suivi de chaleurs et de gestation : approche diagnostique en cas de troubles de la reproduction et thérapeutique. *In : Comptes rendus du congrès CNVSPA 1993*, 564-567.
- (32) FONTBONNE A. *Faire reproduire son chien ou sa chienne. Les clefs d'une pratique réussie*. Maradi Ed., Isle en Dodon, 1996, 15-75, 244-252.
- (33) FONTBONNE A. Les pièges des frottis vaginaux chez la chienne. *Point vét.*, 1996, **28**, 19-25.
- (34) FONTBONNE A. Conduite à tenir lors d'avortement chez la chienne. *Point vét.*, 1997, **28** (183), 33-40.
- (35) FONTBONNE A., BUFF S., GARNIER F. Données récentes en physiologie et endocrinologie sexuelles dans l'espèce canine. *Point Vét.*, 2000, **31** (209), 395-401.
- (36) FONTBONNE A., REYNAUD K., MARSELOO N. *et al.* In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. *In : Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 144-146.
- (37) FONTBONNE A., ARUS MARTI J., ENGLAND G.C.W. *et al.* *Reproduction canine, Manuel de l'éleveur Royal Canin*, Aniwa, 2005, 34-47.
- (38) FONTBONNE A., MARSELOO N., BASSU G. *et al.* Comparison of ovarian ultrasound examinations with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. *Theriogenology*, sous presse.
- (39) GOUGEON A. Regulation of ovarian follicular development in primates : facts and hypotheses. *Endocr. Rev.*, 1996, **17**, 121-155.
- (40) GRANDJEAN D., HAYMANN F. *Encyclopédie Royal Canin du Berger Allemand*. Aniwa Publishing 2003, 226-236.

- (41) GUERIN C. L'insémination artificielle dans l'espèce canine. *Point vét.*, 1997, **28**, 33-42.
- (42) GUERIN C. Détermination du moment de l'ovulation chez la chienne, implication pour la saillie ou l'insémination artificielle. *Rec. Méd. Vét.*, 1998, **174** (7-8), 117-123.
- (43) GUERIN C., FONTBONNE A. Les frottis vaginaux et le suivi du cycle oestral chez les carnivores. Intervet Ed., Angers, 1997, 1-16.
- (44) GUERIN C., PETIT C., BADINAND F. Fécondité chez la chienne après saillie ou insémination artificielle : étude sur 202 chiennes. *Point vét.*, 1996, **28**, 51-56.
- (45) GUNZEL-APEL A.R., ZABEL S., BUNCK C.F. *et al.* An investigation on the luteal phase and pregnancy in normal and short cycling german shepherd dogs. In : *Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 41-43.
- (46) HASE M., HORI T., KAWAKAMI E. *et al.* Plasma LH and Progesterone Levels before and after Ovulation and Observation of Ovarian Follicles by Ultrasonographic Diagnosis System in Dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 2000, **62** (3), 243-248.
- (47) HAYER P., GUNZEL-APEL A.R., LUERSSSEN D. *et al.* Ultrasonographic monitoring of follicular development, ovulation and the early luteal phase in the bitch. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 93-100.
- (48) HEKERMAN T.W.M., OKKENS A.C., DE VOGEL J.W.A. *et al.* Influence of litter size and breed on variation in length of gestation in the dog. *Vet. Quart.*, 1993, **15**, 160-161.
- (49) HERAUD V. *La prolactine : mécanisme de contrôle de sa sécrétion, rôles physiologiques et applications thérapeutiques des antiprolactiniques chez la chienne*. Thèse Méd. Vét., Nantes 1997.
- (50) HEWITT D. ENGLAND G. Assessment of optimal mating time in the bitch. *In Practice*, January 2000, 24-33.
- (51) HOFFMAN B., HOVELER R. and al. Ovarian and pituitary functions in dogs after hysterectomy. *J. Repro. Fert.*, 1992, **96**, 837-845.
- (52) 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. *J. Repro. Fert.*, **39**, 1989, 277-287.
- (53) JEFFCOATE I.A., LINDSAY F.E.F. Clinical methods of estimating the optimum period for natural and artificial insemination in the bitch. *J. Repro. Fert. (free communications)*, 1993, **47**, 556-557.
- (54) JOHNSTON S.D., ROOT KUSTRITZ M.V., OLSON P.N.S. *Canine and Feline Theriogenology*. W.B. Saunders, Philadelphia, 2001, 592.

- (55) LENNOZ (ROLLAND) M. *Physio-pathologie du corps jaune chez la chienne*. Thèse Méd. Vét., Lyon 1975.
- (56) LEVASSEUR M.C. Utero-ovarian relationships in the placenta mammals : role of the uterus and embryo in the regulation of progesterone secretion by the corpus luteum. A review. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1983, **23**, 783-816.
- (57) LUC A. *Intérêt de l'interprétation des frottis vaginaux chez la chienne en début de pro-oestrus lors du suivi de chaleurs : Etude expérimentale*. Thèse Méd. Vet., Alfort 2005, n°32.
- (58) MARSELOO N., FONTBONNE A., BASSU G. *et al.* Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. In : *Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 75-77.
- (59) MAUVAIS-JARVIS P., SCHAISON G., TOURAINE P. *Médecine de la reproduction*. 3^{ème} édition, 1997, 40-43.
- (60) MIALOT J.P., GUERIN C. Données pratiques de physiologie sexuelle dans l'espèce canine. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, 1983, **18** (2), 5-9.
- (61) MONGET P., MONNIAUX D., Growth factors and the control of folliculogenesis. *J. Repro. Fert.*, 1995, **49**, 321-333.
- (62) MUTEMBEI H.M., MUTIGA E.R., TSUMA V.T. A retrospective study on some reproductive parameters of German shepherd bitches in Kenya. *J. S. Af. Vet. Assoc.*, 2000, **71** (2), 115-117.
- (63) MUTEMBEI H.M., MUTIGA E.R., TSUMA V.T. An epidemiological survey demonstrating decline in reproductive efficiency with age and non-seasonality of reproductive parameters in German shepherd bitches in Kenya. *J. S. Af. Vet. Assoc.*, 2002, **73** (1), 36-37.
- (64) NEVEUX M., Les frottis vaginaux chez la chienne. *Point vét.*, 1999, **30**, 37-44.
- (65) NYLAND T.G., MATTOON J.S. *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, 2nd edition, Ed. Saunders, Philadelphia, 2002, 232-233.
- (66) OKKENS A.C., BEVERS M.M. *et al.* Evidence for prolactin as the main luteotrophic factor in the cyclic dog. *The Veterinary Quarterly*, 1990, **12** (4), 193-201.
- (67) ONCLIN K., VERSTEGEN J.P. The role of corpus luteum in pregnancy and anoestrus regulation in the bitch. In : *Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 290-292.
- (68) ONCLIN K., SILVA L.D.M. *et al.* Luteotrophic action of prolactin in dogs and effects of a dopamine agonist, cabergoline. *J. Repro. Fert.*, 1993, **47**, 403-409.

- (69) REYNAUD K., FONTBONNE A., MARSELOO N. *et al.* Maturation ovocytaire, fécondation et développement embryonnaire chez la chienne. *Bull. Ac. Vét. Fr.*, 2005, **158** (2), 167-172.
- (70) ROOT KUSTRITZ M.V. Use of Commercial Luteinizing Hormone and Progesterone Assay Kits in Canine Breeding Management. Mai 2001. *In : Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>], (consulté le 03 Octobre 2005).
- (71) ROSSI V. *Le Berger Allemand*. Editions de Vecchi, 2000.
- (72) SILIART B. Biochimie clinique des hormones gonadiques. *In : Encyclopédie vétérinaire*. Paris, 1992, 1500-1508.
- (73) SILIART B., MONTARDE M.P., LEBRETON A. Endocrinologie de la reproduction. *In Reproduction du chien et du chat*. PMCAC Ed., Paris, 1992, 37-46.
- (74) SILVA L.D.M., ONCLIN K., VERSTEGEN J.P. Assessment of ovarian changes around ovulation in bitches by ultrasonography, laparoscopy and hormonal assays. *Vet. Radio Ultras.*, 1996, **37** (4), 313-320.
- (75) SOKOLOWSKI J.H. The effect of ovariectomy on pregnancy maintenance in the bitch. *Lab. Anim. Sci.*, 1971, **21**, 696-699.
- (76) SZIKOLA M. *Insuffisance lutéale chez la chienne*. Thèse Méd. Vét., Lyon 2001, n°69.
- (77) TEICH ALASIA . *L'encyclopédie du Berger Allemand*. Editions de Vecchi, 2000.
- (78) THIBAUT C., LEVASSEUR M.C., *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. INRA éditions, Ellipses éditions, 2001, 316-347, 479-503.
- (79) TSUTSUI T. Gamete physiology and timing of ovulation and fertilization in dogs. *J. Repro. Fert.*, 1989, **39**, 269-275.
- (80) TSUTSUI T., SHIMIZU T. Studies on the reproduction in the dog. IV. On the fertile period of ovum after ovulation. *Jap. J. Anim. Repro.*, 1975, **21**, 65-69.
- (81) TSUTSUI T., HORI T., ENDO S. *et al.* Intrauterine transplantation of the early canine embryos. *In : Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 271-273.
- (82) VAN HAAFTEN B., DIELEMAN S.J., OKKENS A.C. *et al.* Timing the mating of dogs on the basis of blood progesterone concentration. *Vet. Rec.*, 1989, **125**, 524-526.
- (83) VERSTEGEN J., ONCLIN K. Contrôle endocrinien du corps jaune chez la chienne. *In : Conditions et limites des traitements endocriniens et reproduction animale*, Association pour l'étude de la reproduction animale, Maisons Alfort, 26 janvier 1995, 111-121.

- (84) WALLACE S.S., MAHAFFEY M.B., MILLER D.M. *et al.* Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. *Am. J. Vet. Research*, 1992, **53**, 209-215.
- (85) WRIGHT P.J. Application of vaginal cytology and plasma progesterone determinations to the management of reproduction in the bitch. *J. Small Anim. Pract.*, 1990, **31**, 335-340.
- (86) WRIGHT P.J. Practical aspects of the estimation of the time of ovulation and of insemination in the bitch. *Austr. Vet. J.*, 1991, **68** (1), 10-13.
- (87) YAMADA S. *et al.* Maturation, fertilization and development of dog oocytes in vitro. *Biol. Repro.*, 1992, **46**, 853-858.

ETUDE DE LA PERIODE PRE-OVULATOIRE
CHEZ LA CHIENNE BERGER ALLEMAND

NOM et Prénom: BARON François

RESUME:

Dans un premier temps, l'auteur rappelle les principales notions de physiologie de la reproduction chez la chienne, puis les différentes méthodes de détermination du moment de l'ovulation. Ensuite, il présente les particularités de la reproduction qui ont pu être décrites chez la chienne de race Berger Allemand.

Dans un deuxième temps, il étudie les courbes de progestéronémie (obtenue par électrochimiluminescence) relevées à partir des dossiers cliniques des chiennes Berger Allemand suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores de Maisons-Alfort entre janvier 2001 et mars 2005. Une analyse des résultats a été effectuée et montre qu'un large pourcentage de chiennes de race Berger Allemand présente des profils de courbe typiques, ce pourcentage étant conforme à l'espèce canine. Cependant, pour 5,8% d'entre elles (8 sur 137), un plateau entre 2 et 6 ng/mL de progestérone plasmatique est observé pendant plus de quatre jours. Les chiennes concernées constituant un effectif réduit, il est impossible de savoir si pour elles la progestéronémie reste un témoin fiable de l'ovulation ou pas. En tout état de cause, ces chiennes présentent pour la plupart des résultats anormaux en terme de fertilité et de prolificité. L'étude du pedigree de ces chiennes n'a pu mettre en évidence de lien génétique direct entre ces chiennes.

MOTS-CLES: REPRODUCTION, PROGESTERONE, OVULATION, CERCA, CARNIVORE, CHIENNE, BERGER ALLEMAND.

JURY:

Président : Pr.
Directeur : Dr. FONTBONNE Alain
Assesseur : Dr. TIRET Laurent

Adresse de l'auteur:

M. BARON François, 1 chemin du Pont Jaquet, 27800 Boisney

STUDY OF PRE-OVULATORY PERIOD
ON GERMAN SHEPHERD BITCHES

SURNAME and Given name: BARON François

SUMMARY:

The author, at first, reminds us about the genital and sexual characteristics of the bitch and the methods to detect ovulation timing. Then, he presents the patterns of reproduction of German shepherd bitches.

In the second part, he studies progesterone plasma levels (detected by electrochemiluminescence) found in German shepherd bitches clinical files followed at the Center of Study for Carnivores Reproduction (CERCA) between January 2001 and March 2005. An analysis of results is made and shows that the large majority of German shepherd bitches have normal curve profiles, like the majority of other bitches. Nevertheless, in a few bitches (5,8%, 8 among 137), a plateau between 2 and 6 ng/mL of plasma progesterone is observed for more than four days. Because there is only a small number of these bitches, it is impossible to know if progesteronemia is a good indicator of ovulation for them. In any case, these bitches show poor fertility and prolificity rates. Analysis of the pedigree of these bitches was done. We failed to underline a direct genetic link between them.

KEY WORDS: REPRODUCTION, PROGESTERONE, OVULATION, CERCA, SMALL ANIMAL, BITCH, GERMAN SHEPHERD.

JURY:

President: Pr.

Director: Dr. FONTBONNE Alain

Assessor: Dr. TIRET Laurent

Author's address:

Mr. BARON François, 1 chemin du Pont Jaquet, 27800 Boisney