VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 - Thèse n° 22

ANALYSE DES FACTEURS DE PERFORMANCE EN INSEMINATION ARTIFICIELLE CANINE. APPLICATION AUX DONNEES DU CERREC

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 13 Septembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

VIVIN Fiona

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 - Thèse n° 22

ANALYSE DES FACTEURS DE PERFORMANCE EN INSEMINATION ARTIFICIELLE CANINE. APPLICATION AUX DONNEES DU CERREC

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 13 Septembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

VIVIN Fiona

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-06-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DEMONT	Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Pascal GAUCHERAND,

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,

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

Mes hommages respectueux.

À Monsieur le Docteur Samuel BUFF,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour m'avoir conseillée et encadrée tout au long de ce projet,

Mes sincères remerciements.

À Madame le Professeur Jeanne-Marie BONNET-GARIN,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury de thèse,

Pour votre bonne humeur et votre altruisme au sein de l'école,

Mes sincères remerciements.

À Madame le Docteur Emilie ROSSET,

De VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon

Pour m'avoir aidée tout au long de ce projet,

Pour votre confiance et votre soutien au quotidien,

Mes sincères remerciements.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES 13

TABLE DES FIGURES 15

TABLE DES TABLEAUX 17

LISTE DES ABBREVIATIONS 19

INTRODUCTION 21

PARTIE 1 : Rappels d'anatomie et de physiologie sexuelle de la chienne 23

I) Anatomie de l'appareil génital de la chienne 23

A) La vulve 23

B) Le vestibule du vagin 24

C) Le vagin 24

D) L'utérus 24

E) Les trompes utérines 25

F) Les ovaires 25

G) Bilan sur l'anatomie de l'appareil génital de la chienne 26

II) Physiologie sexuelle de la chienne 28

A) La puberté 28

B) Cycle sexuel de la chienne 28

C) Endocrinologie du cycle sexuel 31

D) Durée de gestation 34

PARTIE 2 : L'insémination artificielle chez la chienne 37

I) Indications de l'insémination artificielle 37

A) Trouble comportemental 37

B) Manque d'expérience de la part d'un ou des deux reproducteurs 39

C) Affection ostéo-articulaire 40
D) Disproportion morphologique entre mâle et femelle 40
E) Malformation congénitale du vagin et de la vulve 41
F) Raisons sanitaires 41
G) Eloignement géographique 42
H) Bilan sur les indications de l'insémination artificielle.....42
II) Réglementation de l'insémination artificielle 43
III) Le suivi de chaleurs : détermination du moment idéal pour inséminer.....44
A) La cytologie vaginale 44
B) Le dosage de progestérone 49
C) Autres méthodes de suivi de chaleurs 51
D) Bilan sur le suivi de chaleurs 55
IV) Choix de la semence.....56
A) Type de semence 56
B) Récolte de la semence 58
C) Evaluation de la qualité de la semence 61
V) Techniques d'insémination artificielle 65
A) Insémination intra-vaginale 65
B) Insémination intra-utérine 67
C) Bilan sur les différentes techniques d'insémination artificielle 71
VI) Résultats attendus 72
A) En saillie naturelle.....72
B) En insémination artificielle.....72
C) Bilan sur les résultats attendus 73
PARTIE 3 : Analyse des dossiers du CERREC.....75
I) Matériels et méthodes 76
A) Echantillon 76
B) Recueil et saisie des données 76
C) Analyse des données.....77
D) Mise en forme des résultats.....77

II) Résultats : Etude descriptive 78
A) Echantillon 78
B) Suivi de chaleurs 81
C) Semence utilisée 84
D) Insémination artificielle 85
E) Taux de gestation et prolificité globaux 88
F) Durée de gestation 89
G) Bilan sur l'étude descriptive 90
III) Etude de quelques facteurs de performance 91
A) Influence du groupe de race 91
B) Influence de l'âge 93
C) Influence du rang de gestation 94
D) Influence d'un traitement antibiotique 95
E) Influence du type de semence utilisé 96
F) Influence de la qualité de la semence utilisée 96
G) Influence du nombre d'inséminations 97
H) Influence du timing de l'insémination 98
I) Influence de la méthode d'insémination 99
J) Influence de l'inséminateur 100
K) Bilan sur l'étude des facteurs de performance 100
IV) Régression logistique 101
V) Discussion sur les résultats de l'étude descriptive 102
A) Echantillon 102
B) Suivi de chaleurs 102
C) Insémination artificielle 103
D) Taux de gestation et prolificité globaux 104
E) Durée de gestation 104
VI) Discussion sur l'étude des facteurs de performance 106
A) Influence du groupe de race 106
B) Influence de l'âge 106

C) Influence du rang de gestation 107
D) Influence d'un traitement antibiotique 107
E) Influence du type de semence utilisé 107
F) Influence de la qualité de la semence utilisée 108
G) Influence du nombre d'inséminations 108
H) Influence du timing de l'insémination 110
I) Influence de la méthode d'insémination 111
J) Influence de l'inséminateur 111

CONCLUSION 113

BIBLIOGRAPHIE 115

ANNEXES 119

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Certificat de saillie utilisé au CERREC…….…..119

Annexe 2 : Fiche de spermogramme utilisée au CERREC……..…..121

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Appareil génital en vue dorsale, partiellement ouvert médialement 27

Figure 2 : Variations hormonales au cours du cycle sexuel de la chienne 34

Figure 3 : Frottis de pro-œstrus 46

Figure 4 : Frottis d'œstrus.....47

Figure 5 : Frottis de début de métœstrus.....48

Figure 6 : Frottis d'anœstrus.....49

Figure 7 : Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale en début de pro-œstrus 51

Figure 8 : Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale au cours de l'œstrus.....52

Figure 9 : Follicule ovarien de 9 mm chez une chienne en période péri-ovulatoire 53

Figure 10 : Matériel utilisé au CERREC pour le prélèvement de semence.....59

Figure 11 : Schéma des principales anomalies morphologiques des spermatozoïdes.....63

Figure 12 : Matériel nécessaire à l'insémination intra-utérine par méthode norvégienne.....68

Figure 13 : Matériel en place pour l'insémination intra-utérine par méthode norvégienne ..69

Figure 14 : Répartition des chiennes en fonction des groupes cynophiles.....79

Figure 15 : Répartition des chiennes en fonction de l'âge au moment de la présentation au CERREC 80

Figure 16 : Répartition des chiennes en fonction du rang de gestation 81

Figure 17 : Courbe des fréquences cumulées de la durée entre le début des chaleurs et le début du suivi de chaleurs 82

Figure 18 : Courbe des fréquences cumulées de la durée entre le début des chaleurs et l'ovulation 83

Figure 19 : Part des différents types de semence utilisés en insémination artificielle au CERREC 84

Figure 20 : Jour de l'insémination par rapport à l'ovulation chez les chiennes inséminées une seule fois 86

Figure 21 : Jours des inséminations par rapport à l'ovulation chez les chiennes inséminées deux fois 87

Figure 22 : Proportion des différentes des techniques d'insémination en fonction des années 88

Figure 23 : Durée de gestation des chiennes inséminées au CERREC.....89

Figure 24 : Taux de gestation en fonction de l'âge des chiennes 93

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques des différents types de sonde à ballonnet utilisées pour l'insémination intra-vaginale canine 66

Tableau II : Taux de fertilité selon le groupe de race 91

Tableau III : Nombre moyen de chiots par portée selon le groupe de race 92

Tableau IV : Prolificité en fonction de l'âge de la chienne 94

Tableau V : Taux de réussite en insémination selon le type de semence 96

Tableau VI : Fertilité et prolificité en fonction du nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles inséminés 97

Tableau VII : Taux de gestation selon la méthode d'insémination intra-utérine et le type de semence 99

LISTE DES ABBREVIATIONS

AIC : Critère d'Information Akaike

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

FCI : Fédération Cynologique Internationale

FSH : Follicle-Stimulating Hormone ; Hormone folliculo-stimulante

GnRH : Gonadotrophin-releasing hormone ; Hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires

LH : Luteinizing hormone ; Hormone lutéinisante

LOF : Livre des Origines Françaises

PNN : Polynucléaire neutrophile

INTRODUCTION

L'insémination artificielle est une technique de reproduction assistée consistant à introduire la semence d'un individu mâle dans les voies génitales d'un individu femelle.

L'insémination artificielle dans l'espèce canine est réalisée avec succès pour la première fois en 1780 par le biologiste italien Lazzaro Spallanzani. Il utilise à l'époque une chienne Barbet qui met bas de trois chiots 62 jours après l'insémination. Ce succès donne lieu à la première insémination artificielle humaine environ 10 années plus tard. Aujourd'hui, l'insémination artificielle est une technique largement répandue en médecine de la reproduction humaine et animale. Elle prend désormais toute sa place chez les animaux de production mais aussi chez les animaux de loisir et de compagnie.

En France, le chien de race est en popularité grandissante. En dépit des problématiques économiques actuelles, le nombre d'inscriptions au LOF augmente chaque année : en 2018, le nombre d'inscriptions était de 234 073, soit près de 20% de plus qu'il y a 10 ans (1,2). Le marché du chien de race est donc en plein essor.
Afin de satisfaire la demande, les éleveurs canins doivent augmenter leurs performances. Le recours à un suivi de chaleurs et à une insémination artificielle permet d'obtenir de meilleurs résultats en termes de fertilité et de prolificité, de remédier à des problèmes d'infertilité, d'améliorer le potentiel génétique des chiens de race. Ainsi, l'insémination artificielle canine s'est considérablement développée ces dernières années, notamment dans des centres d'inséminations comme le CERREC. A titre d'exemple, le CERREC réalisait seulement une soixantaine d'inséminations par an avant 2000, a atteint la centaine d'inséminations en 2007 et a procédé à plus de 150 inséminations en 2017 (3).

Les vétérinaires, principaux collaborateurs des éleveurs, sont donc eux aussi constamment soucieux d'améliorer leurs compétences et la qualité des services qu'ils proposent. Au CERREC, les pratiques ont considérablement évolué au fil des années. Régulièrement, des études de performances sont entreprises afin de poser un regard critique sur les méthodes employées (3,4).

L'objectif de cette thèse sera donc de détailler les résultats obtenus en insémination artificielle au CERREC ces dernières années et d'étudier quels facteurs peuvent avoir une influence positive ou négative sur ces résultats.

Ce manuscrit sera exposé en 3 parties. En premier lieu, nous ferons des rappels d'anatomie et de physiologie sexuelle de la chienne. Puis, nous nous intéresserons à l'insémination artificielle canine et sa réalisation pratique depuis le suivi de chaleurs. Enfin, nous présenterons l'étude statistique des dossiers du CERREC et l'analyse de différents facteurs de performance.

PARTIE 1 : Rappels d'anatomie et de physiologie sexuelle de la chienne

Afin de mieux appréhender les parties ultérieures, il nous a semblé important de présenter une première partie constituée de rappels d'anatomie et de physiologie sexuelle de la chienne. En effet, la connaissance de l'anatomie de l'appareil génital de la chienne est nécessaire à la bonne réalisation des techniques de suivi de chaleurs et d'insémination artificielle. D'autre part, la bonne compréhension du cycle de la chienne et des variations hormonales associées est également indispensable à l'interprétation des frottis vaginaux et des dosages de progestérone, fréquemment utilisés lors du suivi de chaleurs.

I) Anatomie de l'appareil génital de la chienne

A) La vulve

La vulve correspond à la partie externe de l'appareil génital femelle. Son ouverture est une fente verticale délimitée par 2 lèvres, qui se raccordent en une commissure dorsale et une commissure ventrale.
La partie externe de la vulve est constituée de peau et la partie interne est tapissée par une muqueuse lisse et pigmentée.

Ventralement, à l'entrée de la vulve, la fosse clitoridienne est palpable. Il s'agit d'une cavité profonde de 2 cm pour un diamètre de 1 cm, abritant le clitoris (5). Cette notion anatomique est importante car, lors de la réalisation de frottis vaginaux, il faudra orienter l'écouvillon dorsalement afin de ne pas l'introduire dans la fosse clitoridienne.

La morphologie de la vulve varie au cours du cycle sexuel. Au moment des chaleurs, un œdème vulvaire se développe. Ceci est dû à l'augmentation du taux d'œstrogènes dans le sang durant cette période. A la fin des chaleurs, le taux d'œstrogènes diminue et la vulve retrouve une morphologie normale.

B) Le vestibule du vagin

Le vestibule du vagin est un conduit de 5 à 6 cm de long communiquant crânialement avec le vagin et s'ouvrant à l'extérieur par l'orifice vulvaire. Son orientation est caudo-crâniale et ventro-dorsale.
La muqueuse du vestibule du vagin est lisse et rouge, plus foncée que la muqueuse vaginale. Le plancher du vestibule du vagin porte le méat urinaire ou ostium externe de l'urètre. Il est situé à environ 5 cm de la commissure ventrale de la vulve chez une chienne de taille moyenne (5).

C) Le vagin

Le vagin est un canal dilatable étendu horizontalement dans la cavité pelvienne. Il reçoit le pénis au cours de l'accouplement et permet le passage du fœtus lors de la parturition. Il est situé entre l'utérus crânialement et le vestibule du vagin caudalement.

Le vagin est particulièrement long chez la chienne : environ 12 cm de long et 1,5 cm de diamètre chez une chienne de 10 kg (6).
A l'extrémité crâniale du vagin, le col utérin fait saillie sur 0,5 à 1 cm et crée autour de lui un cul-de-sac circulaire appelé fornix du vagin (5,6).

La muqueuse du vagin, mince et aglandulaire, est composée d'un épithélium squameux stratifié d'apparence variable selon le stade du cycle œstral. Macroscopiquement, cette muqueuse est pâle et constituée de nombreux plis longitudinaux (5).

D) L'utérus

L'utérus est le siège de la gestation. Il assure l'implantation des œufs fécondés, puis leur développement jusqu'à la parturition. Il est constitué d'un col, d'un corps et de 2 cornes.

L'utérus de la chienne est de type bipartite, c'est-à-dire que les cornes utérines sont bien plus longues que le corps : chez une chienne nullipare de 10 kg, la longueur de chaque corne varie entre 10 et 14 cm et la longueur du corps varie entre 1,4 et 3 cm (6).

Le col de l'utérus sépare le vagin du corps de l'utérus. Il mesure 1,5 à 2 cm de long (6).
L'utérus est maintenu en région dorso-latérale de la paroi abdominale par une partie du ligament large appelée mésométrium.

La taille de l'utérus varie considérablement selon l'âge, l'existence ou non de gestations antérieures et le stade physiologique.

E) Les trompes utérines

Les trompes utérines, ou oviductes, sont 2 conduits très sinueux de 6 à 10 mm de long, reliant les ovaires aux cornes utérines. Elles reçoivent les ovocytes libérés par les ovaires lors de l'ovulation, aident à la remontée des spermatozoïdes jusqu'à l'ampoule de la trompe où a lieu la fécondation, puis assurent la nutrition et le transit des œufs fécondés jusqu'à l'utérus (5).

Chaque trompe utérine est composée de 3 parties :

- l'infundibulum ou pavillon de la trompe reçoit les ovocytes lors de l'ovulation. Il forme un entonnoir de 5 à 8 mm de diamètre en regard de l'ovaire (5). De nombreuses franges mobiles sont présentes à son extrémité. Au cours de l'ovulation, ces franges sont gonflées et mobiles, ce qui permet à tous les ovocytes d'être correctement dirigés dans la trompe utérine (6) ;
- l'ampoule fait suite à l'infundibulum. C'est une portion dilatée de la trompe ou se déroule la fécondation ;
- l'isthme de la trompe, de diamètre plus réduit, relie l'ampoule à l'utérus.

Les trompes utérines sont portées par une portion du ligament large appelée mésosalpinx.

F) Les ovaires

Les ovaires sont les gonades femelles. Ce sont des organes pairs, de forme ovale, légèrement aplatis. Ils sont situés dans la partie dorsale de la cavité abdominale, caudalement aux reins.
Chez une chienne de 10 kg, la taille moyenne d'un ovaire est de 1,5 cm de long pour 0,7 cm de large (6).

Chaque ovaire est constitué de 2 bords et 2 extrémités :

- le bord ventral, correspondant au bord libre de l'ovaire ;
- le bord dorsal, ou bord mésovarique. Le mésovarium est une partie du ligament large qui attache l'ovaire à la paroi abdominale dorso-latéralement. Il est renforcé par le ligament suspenseur de l'ovaire dans sa partie crâniale ;
- l'extrémité tubaire (pôle crânial), unie à la trompe utérine, qui la contourne latéralement, par le ligament tubo-ovarique ou fimbria ovarica ;
- l'extrémité utérine (pôle caudal), reliée à la corne utérine par le ligament propre de l'ovaire.

D'un point de vue structural, les ovaires sont composés d'une médulla centrale et d'un cortex périphérique.
La médulla est composée de vaisseaux sanguins et lymphatiques, de nerfs, et de fibres musculaires lisses dans un tissu conjonctif.
Le cortex contient un grand nombre de follicules ovariques à différents stades d'évolution.
En périphérie du cortex, le tissu conjonctif se condense pour former l'albuginée, qui elle-même est recouverte par du péritoine viscéral (6).

Chaque ovaire est enfermé dans une cavité délimitée par le mésovarium et le mésosalpinx, appelée bourse ovarique. La bourse ovarique est presque complètement close, ne laissant persister qu'une ouverture médio-ventrale étroite de 8 ou 9 mm (5).

G) Bilan sur l'anatomie de l'appareil génital de la chienne

Au départ de la vulve, l'appareil génital interne de la chienne est orienté dorsalement et crânialement. Ventralement, à l'entrée de la vulve, se trouve la fosse clitoridienne, à éviter lors de la réalisation de frottis vaginaux.
La vulve et la muqueuse vaginale présentent des modifications notables au cours du cycle sexuel, utiles lors de la réalisation du suivi de chaleurs.
L'utérus de la chienne est de type bipartite.
Les ovaires sont enfermés dans une bourse ovarique et sont maintenus plaqués au plafond de la cavité abdominale par le mésovarium et le ligament suspenseur de l'ovaire.

L'appareil génital de la chienne est représenté sur la figure 1 en vue dorsale (6).

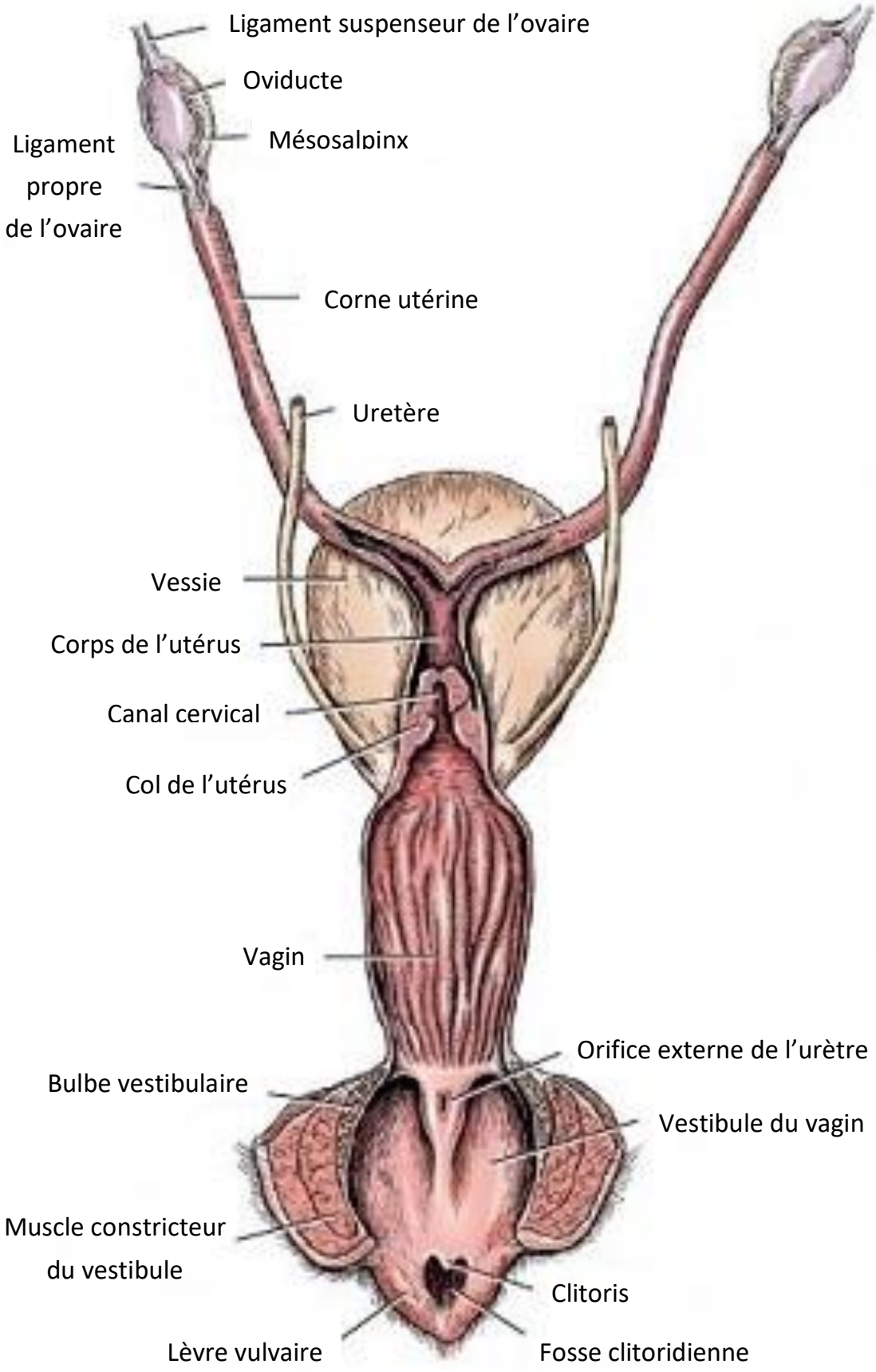

Figure 1 : Appareil génital en vue dorsale, partiellement ouvert médialement

II) Physiologie sexuelle de la chienne

A) La puberté

La puberté chez la chienne est définie comme l'âge d'apparition des premières chaleurs. L'âge de la puberté dépend de la taille à l'âge adulte et varie généralement entre 4 et 18 mois (7). Chez les petites races, la puberté survient plutôt avant l'âge de 9 mois alors que les chiennes de races grandes à géantes peuvent présenter leurs premières chaleurs à plus de 15 mois (7,8).

On parlera d'impubérisme si une chienne n'a pas présenté ses premières chaleurs à 2 ans, mais cela est rare (les premières chaleurs passant facilement inaperçues chez certaines chiennes) (7).

B) Cycle sexuel de la chienne

La chienne est mono-œstrienne non saisonnière : il n'y a qu'une période d'ovulation spontanée par cycle de reproduction, et ces cycles sont généralement indépendants de la saison.

Il est courant de dire que la chienne présente deux cycles par an. En effet, l'intervalle entre deux épisodes de chaleurs, dénommé intervalle interœstrus, dure 7 mois en moyenne. En réalité, il existe une variabilité raciale et individuelle importante. Par exemple, certaines races primitives comme le Dogue du Tibet et le Basenji ont conservé une activité saisonnière : elles ont un seul cycle par an en hiver. Inversement, le Berger allemand présente un intervalle interœstrus plus court que la moyenne (9).

Le cycle sexuel de la chienne est découpé en 4 étapes : pro-œstrus, œstrus, métœstrus et anœstrus.
Le pro-œstrus et l'œstrus correspondent à la période des chaleurs. Durant ces phases a lieu la maturation des follicules ovariens puis l'ovulation.
Le métœstrus est la phase de mise en place et de fonctionnement du corps jaune.
Enfin, l'anœstrus est une période de repos sexuel.

1) Pro-œstrus

Le pro-œstrus débute par l'apparition d'un écoulement séro-hémorragique à la vulve de la chienne. Cette période est également caractérisée un œdème vulvaire et une attirance des mâles. Toutefois, la chienne n'est pas encore réceptive au mâle est peut même présenter de l'agressivité à son égard.
D'autres modifications comportementales sont également caractéristiques du pro-œstrus : la chienne est généralement plus excitée et a tendance à perdre l'appétit (10).

Le pro-œstrus dure 9 jours en moyenne, mais sa durée est très variable : de 2 à 15 jours (10).

Au fil des jours, les écoulements vulvaires passent de séro-hémorragiques à séreux et sont de moins en moins abondants. La chienne est de plus en plus réceptive au mâle.

2) Œstrus

La phase suivante, l'œstrus, est caractérisée par l'acceptation du mâle, en plus de tous les signes précédents. A l'approche du mâle, la chienne présente une attitude caractéristique (lordose, déviation de la queue sur le côté).

L'œstrus dure en moyenne 10 jours et sa durée peut varier de 3 à 12 jours (10).

L'ovulation se produit généralement dans les 5 premiers jours de l'œstrus, bien que plus de 70% des chiennes ovulent dans les 3 premiers jours de l'œstrus (10).
L'ovulation chez la chienne correspond à la libération d'un oocyte primaire, non fécondable. Celui-ci doit compléter sa méïose dans l'oviducte. Cette maturation dure 36 à 48h (soit environ 2 jours). Ensuite, l'ovocyte mature reste fécondable pendant 2 jours, parfois un peu plus (11).

3) Métœstrus et diœstrus

Théoriquement, on distingue le métœstrus (mise en place du corps jaune) et le diœstrus (période d'activité du corps jaune). En réalité, ces 2 phases sont le plus souvent regroupées, soit sous le terme de métœstrus, soit sous le terme de diœstrus. Par la suite, nous parlerons donc de métœstrus au sens large.

La chienne est en métœstrus lorsqu'elle n'accepte plus le mâle. De plus, l'œdème et les écoulements vulvaires disparaissent rapidement dès les premiers jours du métœstrus.

Chez la chienne, une activité lutéale est toujours présente, que la chienne soit gestante ou non. Chez la chienne non gestante, le corps jaune reste fonctionnel pendant 55 à 90 jours, et en moyenne 65 jours (10). Dans le cas où la chienne est gestante, le fonctionnement du corps jaune est interrompu au moment de la mise-bas.

4) Anœstrus

Il s'agit d'une période de repos sexuel et d'inactivité ovarienne. La durée de cette étape est extrêmement variable : de 40 à 270 jours. Cela explique la variabilité de l'intervalle interœstrus entre les chiennes.

Cette phase est importante car elle conditionne le bon déroulement du cycle suivant. En effet, c'est pendant l'anœstrus qu'a lieu l'involution utérine après la mise-bas. Sachant que l'involution utérine dure 135 jours, on considère donc que la durée minimale normale de l'anœstrus est également de 135 jours, soit 4,5 mois (9).

5) Bilan sur le cycle sexuel de la chienne

La chienne est mono-œstrienne non saisonnière et présente des chaleurs tous les 7 mois en général.
Le cycle sexuel est composé de 4 phases : pro-œstrus, œstrus, métœstrus et anœstrus.
Le pro-œstrus et l'œstrus constituent les chaleurs et correspondent à la maturation des follicules ovariens. Les chaleurs durent en moyenne 3 semaines et sont caractérisées par un œdème vulvaire, des écoulements vulvaires séro-hémorragiques et une attirance des mâles.
L'ovulation survient au cours de l'œstrus et correspond à la libération d'un oocyte primaire, qui doit compléter sa maturation pendant 2 jours avant d'être fécondable. L'oocyte une fois mature reste fécondable pendant 2 jours.
Le métœstrus est la période de fonctionnement du corps jaune, indispensable au maintien de la gestation. Chez la chienne, le corps jaune reste fonctionnel même en l'absence de gestation.
L'anœstrus est une période d'inactivité ovarienne.

C) Endocrinologie du cycle sexuel

Les hormones qui interviennent dans le cycle sexuel sont sécrétées à 3 niveaux : hypothalamique (GnRH), hypophysaire (FSH et LH) et gonadique (œstrogènes et progestérone).

1) GnRH

La GnRH est une hormone sécrétée de manière pulsatile par l'hypothalamus. La GnRH stimule la libération des gonadotrophines hypophysaires FSH et LH.
La sécrétion de GnRH est elle-même influencée par des sollicitations nerveuses et hormonales. Par exemple des stimuli sensitifs tels que la vue, l'ouïe, l'odorat, sont capables de stimuler sa sécrétion (11).
L'augmentation de la fréquence des pulses de libération de la GnRH marque le passage de l'anœstrus au pro-œstrus, en stimulant indirectement la croissance folliculaire par l'intermédiaire de la FSH.

2) FSH

La FSH est une hormone sécrétée par l'hypophyse antérieure en réponse à une stimulation par la GnRH.
La FSH induit la croissance et la maturation des follicules ovariens au cours du pro-œstrus.

3) LH

La LH est également une hormone hypophysaire sécrétée lors de la stimulation de l'hypophyse par la GnRH.
La LH agit en synergie avec la FSH sur la croissance des follicules ovariens.
De plus, le pic de sécrétion de LH en fin de pro-œstrus est à l'origine de la lutéinisation pré-ovulatoire des follicules (sécrétion de progestérone par les cellules folliculaires) puis de l'ovulation 30 à 48 heures plus tard (12).

4) Les œstrogènes

Les œstrogènes (et en particulier le 17-β-œstradiol) sont sécrétés par les cellules de la thèque interne des follicules ovariens en croissance. Ils sont responsables des modifications physiques et comportementales caractéristiques des chaleurs.
Au cours du pro-œstrus, la concentration plasmatique d'œstradiol augmente progressivement jusqu'à la fin du pro-œstrus, où elle atteint un pic 1 à 2 jours avant le pic de sécrétion de LH (13). Enfin, celle-ci chute rapidement en parallèle de l'élévation de la progestéronémie.

5) La progestérone

La progestérone est sécrétée par les follicules ovariens en période pré-ovulatoire, puis par le corps jaune après l'ovulation.
Elle est responsable de la dentellisation de la muqueuse utérine, la préparant ainsi à la nidation. De plus, elle inhibe la motricité utérine et maintient le col fermé pendant la gestation (11).

La progestéronémie, d'abord basale à une concentration inférieure à 1 ng/ml, atteint une concentration de 2 à 3 ng/ml (6 à 9 nmol/L environ) au moment du pic de LH (13,14).
A l'ovulation, ce taux se situe à des valeurs de 4 à 10 ng/ml selon les laboratoires (13,14).

Pendant le métœstrus, le corps jaune sécrète de la progestérone en quantité importante, que la chienne soit gestante ou non. Puis le corps jaune régresse et la progestéronémie diminue en parallèle. Si la chienne n'est pas gestante, la décroissance est progressive, alors que chez la chienne gestante, une chute brutale de la progestéronémie se produit 2 jours avant la mise bas (11).

6) Notion de rétrocontrôle

L'activité hypothalamo-hypophysaire est finement régulée par les hormones hypophysaires et les stéroïdes sexuels. On parle donc de rétrocontrôle.
Un rétrocontrôle négatif est exercé par les hormones hypophysaires FSH et LH sur la sécrétion de GnRH. Il s'agit d'un rétrocontrôle « court » (11).

Les hormones ovariennes exercent quant à elles un rétrocontrôle « long » sur la sécrétion de GnRH :

- les œstrogènes en forte concentration en fin de pro-œstrus exercent un rétrocontrôle positif sur la sécrétion de GnRH, ce qui induit une sécrétion plus importante de FSH et LH, à l'origine du pic pré-ovulatoire de LH ;
- la progestérone en forte concentration exerce un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de GnRH, FSH et LH (11).

7) Bilan des variations hormonales au cours du cycle

Les hormones qui interviennent dans le cycle sexuel sont sécrétées à 3 niveaux : hypothalamique, hypophysaire et ovarien.
La GnRH est sécrétée par l'hypothalamus et stimule la sécrétion de FSH et LH par l'hypophyse.
La FSH permet la croissance et la maturation des follicules ovariens.
La LH agit en synergie avec la FSH dans le développement des follicules ovariens. De plus, le pic de LH en fin de pro-œstrus est à l'origine de la lutéinisation pré-ovulatoire des follicules, puis de l'ovulation environ 2 jours plus tard.
Les œstrogènes sont sécrétés par les follicules en croissance ; ils sont responsables des modifications morphologiques, histologiques et comportementales caractéristiques des chaleurs.
La progestérone est produite par les follicules ovariens en période pré-ovulatoire, puis par le corps jaune après l'ovulation et pendant toute la durée de la gestation.
La sécrétion de ces hormones est finement régulée grâce à des rétrocontrôles.

La figure 2 représente les variations hormonales au cours du cycle sexuel de la chienne (15). Les éléments notables sont : l'augmentation de l'œstradiol jusqu'à un pic en fin de pro-œstrus, puis le pic de LH, rapidement suivi d'une forte élévation de la progestérone. Cette élévation de la progestéronémie au-dessus du seuil de 4 à 10 ng/ml permet de détecter l'ovulation lors du suivi de chaleurs.

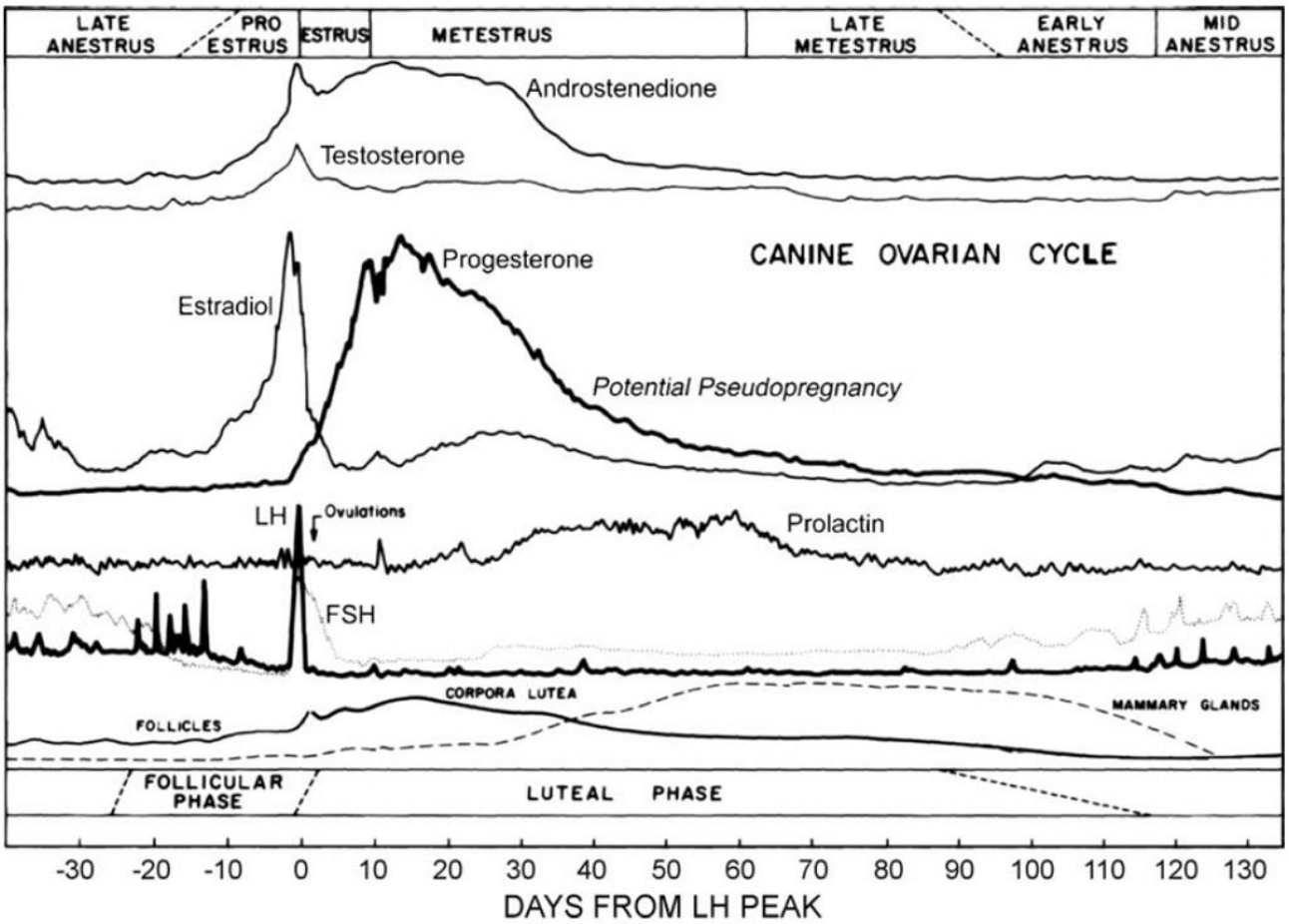

Figure 2 : Variations hormonales au cours du cycle sexuel de la chienne

D) Durée de gestation

1) Durée de gestation selon l'évènement pris comme point de départ

La durée de gestation est extrêmement variable selon l'évènement défini comme point de départ de la gestation.

Si le premier accouplement est considéré comme point de départ, la durée de gestation varie entre 57 et 72 jours (16). Cette différence s'explique notamment par :

- la longue période de réceptivité de la femelle (jusqu'à 12 jours d'œstrus) ;
- la viabilité prolongée des spermatozoïdes dans les voies génitales de la femelle : au maximum 9 jours (16) ;
- la maturation de 2 jours obligatoire de l'ovocyte après l'ovulation. Pendant cette période, la fécondation est impossible.

Ainsi, une chienne saillie le premier jour de l'œstrus peut sans problème être fécondée 7 jours plus tard (en supposant que l'ovulation ait lieu 5 jours après le début de l'œstrus, et en ajoutant la durée de 2 jours de maturation de l'ovocyte).

En pratique, c'est le pic de LH ou l'ovulation (2 jours après le pic de LH) qui sont considérés comme point de départ de la gestation car l'intervalle entre le pic de LH pré-ovulatoire/l'ovulation et la mise bas est beaucoup moins variable :

- d'après une étude sur 54 chiennes Beagle, la durée entre le pic de LH et la mise bas était de 64 à 66 jours, avec une moyenne de 65,1 jours (16);
- d'après une autre étude sur 1146 chiennes de toutes races, cette durée était de 65 +/-1,9 jours (17) ;
- dans une étude de 2011 sur 162 gestations, la durée moyenne de gestation en prenant pour point de départ l'ovulation (définie comme le jour où la progestéronémie atteignait une valeur de 6 ng/ml) était de 63,1 +/- 2,1 jours, et 77,8% des chiennes mettaient bas entre 61 et 65 jours post ovulation (18).

La durée de gestation de la chienne en prenant pour point de départ l'ovulation est donc généralement comprise entre 61 et 65 jours.

Un autre évènement peut également être considéré comme point de départ de la gestation : le premier jour de métœstrus. La durée de gestation est alors de 57 jours en moyenne. Récemment, une étude sur 24 chiennes a montré que prendre le premier jour de métœstrus comme point de départ permettait de prédire la date de mise-bas avec plus de précision qu'avec le pic de LH ou l'ovulation (19).

2) Facteurs de variation de la durée de gestation

En dehors de tout phénomène pathologique, la durée de gestation peut varier en fonction de nombreux paramètres intrinsèques et extrinsèques :

- le nombre de chiots : il a été montré que la durée de gestation était inversement corrélée à la taille de la portée. Il n'est donc pas rare d'observer de plus longues durées de gestation au-delà de 65 jours lors de chiot unique par exemple, sans que cela ne soit forcément pathologique (18) ;
- le poids de la chienne : la durée de gestation est plus longue chez les grandes races que chez les petites races (18) ;
- la méthode de dosage de la progestérone, le calibrage de l'appareil et la valeur définie comme correspondant au seuil ovulatoire. Ainsi, chaque centre de reproduction est

familier avec ses méthodes et les durées de gestation sont généralement bien connues. Au CERREC, il est communément admis que la durée de gestation est de 61 à 63 jours après l'ovulation.

3) Bilan sur la durée de gestation de la chienne

La durée de gestation varie considérablement selon l'évènement considéré comme point de départ.
La première saillie ne peut pas raisonnablement être considérée comme point de départ de la gestation car la durée de gestation est alors très peu précise : entre 57 et 72 jours. Or, il est nécessaire de prédire la date du terme avec le plus de précision possible afin de prévenir les éventuelles dystocies.
D'autres évènements doivent donc être pris en considération. Généralement, c'est l'ovulation (déterminée par dosage de la progestéronémie) qui est prise comme point de départ de la gestation ; la durée de gestation est alors comprise entre 61 et 65 jours (entre 61 et 63 jours au CERREC). Le pic de LH et plus récemment le premier jour du métœstrus peuvent également être utilisés.
La durée de gestation de la chienne dépend de nombreux facteurs intrinsèques (poids de la chienne, nombre de chiots, phénomène pathologique, etc.) et extrinsèques (méthode de dosage de la progestérone, seuil défini pour l'ovulation, etc.).

PARTIE 2 : L'insémination artificielle chez la chienne

Cette seconde partie sera consacrée à l'insémination artificielle chez la chienne.
Dans un premier temps, nous développerons les principales indications de l'insémination artificielle chez la chienne, suivies de quelques points de réglementation.
Puis, nous présenterons des notions beaucoup plus pratiques autour de l'insémination artificielle, en suivant un ordre chronologique ; nous détaillerons d'abord les différents moyens de réaliser un suivi de chaleurs, dont l'objectif est de déterminer le moment optimal pour réaliser une insémination. Puis, nous nous intéresserons au choix de la semence et à l'évaluation de sa qualité. Enfin, nous décrirons les différentes techniques d'insémination artificielle ainsi que les résultats que l'on peut obtenir à partir de données issues de la littérature.

I) Indications de l'insémination artificielle

D'après le règlement international d'élevage de la FCI, pour des raisons éthiques, le recours à l'insémination artificielle n'est à envisager que si la saillie naturelle a déjà été réalisée auparavant (20).
Il est possible de pratiquer exceptionnellement l'insémination artificielle en première intention si cela est justifié à des fins d'amélioration de la santé ou du pool génétique de la race, ou pour le bien-être de la chienne (20). Ces critères justifient la réalisation d'inséminations artificielles en élevage notamment.

Il existe de nombreuses causes d'échec de la saillie naturelle, qui peuvent concerner l'étalon et/ou la lice.

A) Trouble comportemental

Il s'agit ici de tout refus de la saillie, de la part de la lice ou de l'étalon, qui ne soit pas dû à un problème médical.

1) Différence hiérarchique entre l'étalon et la lice

Si la lice est de nature très dominante par rapport au mâle, la saillie peut être compromise. En effet, la femelle peut se dérober ou même manifester de l'agressivité à l'approche du mâle. Dans le même sens, un mâle plutôt soumis n'osera pas toujours aller à l'encontre de la femelle.

2) Manque de libido chez le mâle

Certaines races sont réputées pour avoir peu ou pas de libido, comme le Basset hound, le West Highland white terrier et le Golden Retriever (21).

3) Phénomène de préférence sexuelle

Même dans des conditions à priori idéales pour la saillie naturelle, en dehors de tout problème hiérarchique, une chienne peut totalement refuser un mâle et en accepter un autre, et inversement pour le chien mâle : c'est le phénomène de préférence sexuelle (21).

4) Défaut de socialisation

Il existe une période sensible durant laquelle le jeune chiot est plus facilement influencé par ce qui l'entoure. Les expériences vécues pendant cette période auront des conséquences sur le tempérament de l'animal pendant toute sa vie. Chez le chiot, cette période commence à 3 semaines et se termine à 12 semaines. Durant cette période, le chiot s'identifie à sa propre espèce, et apprend à interagir avec des individus de son espèce ou d'une espèce différente. Ainsi, une période de socialisation mal gérée avec trop peu de contacts sociaux peut conduire à des troubles du comportement sexuel (21).

5) Traumatisme lors des saillies précédentes

Un traumatisme physique ou psychologique lors d'une saillie peut induire un blocage à l'occasion de saillies ultérieures.

6) Cas particulier : le syndrome de féminisation

Chez le chien mâle, il s'agit d'un syndrome paranéoplasique consécutif à la sécrétion excessive d'œstrogènes par une tumeur testiculaire (sertolinome) ou plus rarement surrénalienne (7).

La modification du comportement constitue un motif de consultation fréquent pour les propriétaires. Les symptômes classiquement retrouvés sont :

- dermatologiques : alopécie non prurigineuse bilatérale, intéressant le plus souvent la sphère génitale et périnéale ainsi que le ventre, et épargnant la tête et les extrémités. Parfois, on retrouve uniquement une dermatose au niveau du fourreau, caractérisée par de l'érythème et de l'hyperpigmentation ;
- morphologiques : ptose du fourreau, gynécomastie et diminution de la masse musculaire ;
- comportementaux : baisse de la libido, comportement de femelle (chien qui attire les autres mâles et qui urine comme une femelle) (7).

Face à ce type de symptômes, il convient de palper les testicules à la recherche d'une asymétrie ou d'une cryptorchidie. En cas de cryptorchidie, le risque d'apparition de sertolinome est élevé surtout si le testicule ectopique est en position abdominale (7).

Le traitement consiste en une castration chirurgicale, afin de retirer la tumeur. De plus, il n'est pas raisonnable de faire reproduire un chien cryptorchide en raison du risque de transmission de cette anomalie à la descendance (7).

B) Manque d'expérience de la part d'un ou des deux reproducteurs

Une saillie entre deux reproducteurs expérimentés se fera en général plus rapidement que s'il s'agit d'une première expérience pour les reproducteurs. La saillie possède une part d'apprentissage, c'est pourquoi il vaut mieux que l'un des deux reproducteurs soit expérimenté pour que la saillie ait plus de chance de bien se dérouler (21).

C) Affection ostéo-articulaire

Toute affection débilitante et/ou douloureuse peut être à l'origine d'un échec de la saillie. Selon la nature de cette affection, il sera possible ou non d'envisager une insémination artificielle.

1) Douleur ostéo-articulaire

Que cela concerne l'étalon ou la lice, l'existence d'une douleur ostéo-articulaire limite physiquement les possibilités de saillie.
Si c'est la chienne qui est atteinte, il sera peut-être judicieux de l'écarter au moins temporairement de la reproduction car la prise de poids engendrée par la gestation peut être source de souffrance et d'aggravation de l'affection présentée.
Dans le cas d'une affection ostéo-articulaire touchant l'étalon, on peut tout à fait envisager une insémination artificielle selon la nature de l'affection douloureuse.

2) Fracture de l'os pénien chez le mâle

La fracture de l'os pénien est rare. Elle est due le plus souvent à un traumatisme, moins fréquemment à une tumeur (7).

Les symptômes sont variables : la fracture de l'os pénien peut rester asymptomatique mais dans les cas plus graves, les fragments osseux ou le cal peuvent provoquer une obstruction de l'urètre pénien et secondairement une insuffisance rénale post-rénale. La douleur occasionnée lors de l'érection est responsable d'une diminution de la libido (7).

La réparation chirurgicale est délicate : la cicatrisation se fait par seconde intention (7).

D) Disproportion morphologique entre mâle et femelle

Chez certaines races, le mâle peut être physiologiquement de poids beaucoup plus important que la femelle. Il peut également y avoir un problème d'obésité de l'étalon. On procèdera alors à une insémination artificielle dans le but d'épargner à la femelle une éventuelle douleur lors du chevauchement.

E) Malformation congénitale du vagin et de la vulve

Chez la chienne, un certain nombre d'anomalies congénitales peuvent être à l'origine d'un échec de la saillie : Vulve étroite, vulve barrée, bride vaginale, septum vaginal, etc.
Le colley et le berger picard présentent fréquemment une vulve barrée. Il s'agit d'un recouvrement partiel ou total de la vulve par le repli périnéal (7).
La bride vaginale est due à une formation anormale de l'hymen ou à une déchirure prénatale anormale de celui-ci.
Le septum vaginal correspond à une grande bride. Si la bride peut éventuellement se rompre pendant la saillie, ce n'est généralement pas possible dans le cas d'un septum.

Les malformations du vagin et de la vulve peuvent être responsables d'infertilité et de dystocie mais aussi de vaginites et de cystites récidivantes.

F) Raisons sanitaires

Il est préférable de procéder à une insémination artificielle si l'un des reproducteurs est porteur d'une maladie contagieuse ou sexuellement transmissible (dermatose parasitaire, herpès virose, mycoplasmose, etc.).

1) Exemple de l'herpès virose

L'herpès virose canine est due à un herpès virus et est principalement responsable d'infertilité, d'avortements et de mortinatalité. La transmission est oro-sinusale, vénérienne et trans-placentaire (7).
Chez l'adulte, des signes respiratoires ou des lésions de l'appareil génital (vésicules et ulcères) peuvent également survenir. Chez le chiot nouveau-né, la maladie se traduit par un syndrome fébrile et des troubles digestifs, apparaissant le plus souvent avant l'âge d'une semaine. Le chiot peut ensuite développer des troubles neurologiques et des troubles de l'hémostase (pétéchies). La mort est fréquente en quelques jours (7).

Le diagnostic chez la chienne passe par la réalisation d'une sérologie ou d'une PCR sur écouvillon vaginal.
Il n'existe pas de traitement spécifique. Par contre, une prophylaxie médicale est possible en vaccinant la mère. Le protocole classique est de 2 injections à 1 mois d'intervalle dont une 10 à 14 jours avant la mise bas (7).

2) Exemple des mycoplasmoses

Les mycoplasmoses sont des maladies dues à des bactéries du genre Mycoplasma.
Les mycoplasmes sont des bactéries commensales de la sphère génitale de la chienne, mais au-delà d'une certaine quantité, ils deviennent pathogènes et sont responsables de vaginites, d'infertilité, d'avortements et de mortinatalité. Chez le chien mâle, ils peuvent entrainer des balanoposthites, des urétrites ou également de l'infertilité (7).

Le diagnostic est réalisé par bactériologie sur écouvillon vaginal ou prélèvement de semence. L'implication des mycoplasmes dans un trouble de la reproduction est établie au-delà d'une concentration de 10^6 UFC/ml, douteuse entre 10^4 et 10^6 UFC/ml et exclue en dessous de 10^4 UFC/ml (8).
Le traitement fait appel à des antibiotiques de la famille des macrolides (josamycine), des tétracyclines (doxycycline) ou des fluoroquinolones (7).

G) Eloignement géographique

En élevage canin, les deux reproducteurs choisis pour la portée sont souvent éloignés l'un de l'autre. Dans ce cas, il est plus simple et plus rapide d'envoyer la semence réfrigérée ou congelée pour une insémination artificielle.

H) Bilan sur les indications de l'insémination artificielle

Réglementairement et pour des raisons éthiques, l'insémination artificielle constitue une technique d'aide à la reproduction et ne devrait donc pas systématiquement être envisagée en première intention. Il est possible d'envisager directement une insémination artificielle dans certains cas exceptionnels (raisons de santé ou amélioration du pool génétique de la race).
Les indications de l'insémination artificielle sont nombreuses : échec de la saillie pour raisons comportementales, médicales ou sanitaires, disproportion morphologique entre mâle et femelle, anomalie congénitale, ou encore éloignement géographique des reproducteurs.

II) Réglementation de l'insémination artificielle

Une insémination artificielle est un acte vétérinaire, mais peut, sous certaines conditions, être réalisée par l'éleveur (celui-ci est autorisé à réaliser une insémination intra-vaginale en semence fraiche).

Tout vétérinaire, s'il souhaite pratiquer une activité de reproduction dans sa clientèle, est habilité à réaliser une insémination artificielle en semence fraîche. Par contre, la réalisation d'une insémination en semence réfrigérée ou congelée est réservée aux vétérinaires agrées, c'est- à dire ayant suivi une formation spécifique dans une école vétérinaire. Dans le cas contraire, la portée issue de l'insémination peut ne pas être admissible au LOF (22).

D'après le règlement international d'élevage de la FCI, pour toute insémination artificielle, le vétérinaire qui prélève la semence doit rédiger un document attestant de l'identité de l'étalon dont la semence a été récoltée et l'envoyer au service tenant le livre des origines (20).

De plus, le vétérinaire inséminateur doit lui aussi rédiger une attestation d'insémination artificielle pour le service tenant le livre des origines, en précisant l'identification de la lice et de l'étalon (20). Le certificat de saillie rédigé au CERREC est détaillé en Annexe 1.

L'insémination artificielle est réalisée par un vétérinaire et dans certains cas par l'éleveur. Tout vétérinaire peut inséminer en semence fraiche mais l'utilisation de semences préparées est réservée aux vétérinaires formés spécifiquement.
Certains points de réglementation sont à respecter afin qu'une portée issue d'une insémination artificielle soit admissible au LOF.

III) Le suivi de chaleurs : détermination du moment idéal pour inséminer

Le suivi de chaleurs a pour objectif de déterminer avec précision la date d'ovulation et par conséquent d'inséminer au moment optimal de fertilité de la chienne.

La période fertile de la chienne est courte : l'ovocyte mature n'est fécondable que pendant 2 jours. Le suivi de chaleurs est donc particulièrement recommandé dans cette espèce, que l'on souhaite procéder à une saillie naturelle ou à une insémination artificielle.

En plus d'augmenter les chances de gestation, la détermination de la date d'ovulation permet d'avoir une meilleure estimation de la date de mise bas. Cela prend toute son importance lorsqu'une dystocie est prévisible (race prédisposée, chiot unique, antécédents de dystocie).

Il existe différentes techniques permettant d'effectuer un suivi de chaleurs chez la chienne. Nous détaillerons essentiellement la cytologie vaginale et le suivi de la progestéronémie, qui sont les méthodes les plus communément utilisées car elles sont simples à mettre en œuvre, rapides et fiables lorsqu'elles sont associées.

A) La cytologie vaginale

Au cours des chaleurs, l'augmentation du taux sanguin d'œstrogènes est à l'origine d'un épaississement de l'épithélium vaginal. Le nombre de couches cellulaires augmente, et les cellules les plus superficielles subissent une kératinisation et une dégénérescence. De ce fait, différents types cellulaires se mettent en place (14). Le type de cellules visualisées et leur proportion permet alors d'indiquer au clinicien si la chienne est en pro-œstrus, en œstrus, en métœstrus ou en anœstrus.

La cytologie vaginale est un examen simple de première intention, qui doit être couplé à un autre examen complémentaire comme le dosage de progestérone si l'on veut connaître avec précision la date d'ovulation de la chienne (14).

En pratique, le premier frottis vaginal est généralement réalisé 5 à 6 jours après le début des pertes sanguines (14).

1) Réalisation d'une cytologie vaginale

Un écouvillon stérile est introduit verticalement dans le vagin, de façon à éviter la fosse clitoridienne, puis horizontalement afin de se rapprocher le plus possible du col utérin. Un mouvement de rotation de l'écouvillon contre la muqueuse vaginale permet de récolter les cellules épithéliales.

L'écouvillon est ensuite roulé 2 à 3 fois sur une lame dans le sens de la longueur, de manière à réaliser des étalements parallèles. La lame est ensuite séchée puis colorée.
Il existe différentes colorations possibles : Coloration RAL 555, coloration de May-Grünwald Giemsa ou coloration de Harris Shorr. La coloration de Harris Shorr est plus longue à effectuer mais est intéressante dans l'interprétation des frottis vaginaux car elle permet de distinguer les cellules acidophiles (rouges) des cellules basophiles (bleues).

2) Interprétation du frottis vaginal

Lors de la lecture du frottis vaginal, on peut observer différents types de cellules : des cellules épithéliales vaginales, des hématies, des PNN et des bactéries.

Les cellules épithéliales peuvent être de 3 types en fonction de leur degré de différentiation :

- les cellules parabasales sont les plus petites cellules épithéliales vaginales. Elles sont bien rondes, basophiles et possèdent un gros noyau central ;
- les cellules intermédiaires sont de plus grande taille par rapport aux cellules parabasales. Leur rapport nucléocytoplasmique est plus faible mais reste élevé. Leur contour est plutôt régulier ;
- les cellules superficielles sont des cellules très kératinisées et très déshydratées. Leur cytoplasme est acidophile et de grande taille, et le rapport nucléocytoplasmique est très faible. Ce sont des cellules aux contours très irréguliers et anguleux ce qui constitue un critère majeur de reconnaissance. Ces cellules peuvent également être pliées sur elles-mêmes.

a) Frottis de pro-œstrus

Lorsque la chienne est en pro-œstrus, les 3 types de cellules épithéliales vaginales peuvent être retrouvés sur le frottis, avec une proportion faible de cellules superficielles.
On observe des hématies en quantité importante surtout en début de pro-œstrus.

On ne doit normalement pas observer de PNN. Leur présence témoigne soit d'une infection, soit d'un frottis de métœstrus. Dans les deux cas, c'est la présentation clinique de la chienne qui permettra au clinicien de s'orienter.

La figure 3 correspond à un frottis classiquement retrouvé lors de pro-œstrus.

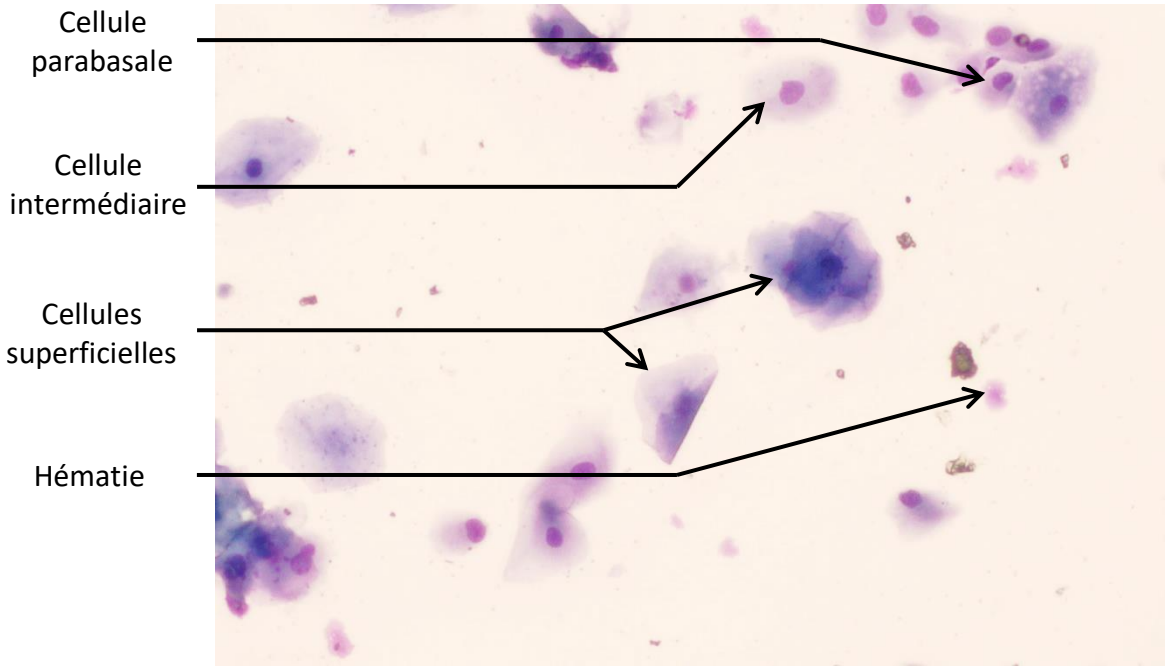

Figure 3 : Frottis de pro-œstrus

Au cours d'un suivi de chaleurs, la visualisation d'un frottis de pro-œstrus indique que la chienne n'est pas prête à ovuler. Un nouveau frottis est à réaliser 3 à 5 jours plus tard (14).

b) Frottis d'œstrus

On parle de frottis d'œstrus lorsque l'on observe plus de 50 % de cellules superficielles. On peut retrouver les 3 types de cellules épithéliales en début d'œstrus, mais un frottis de fin d'œstrus montrera quasiment 100 % de cellules superficielles. On visualisera classiquement de nombreuses cellules superficielles en amas, comme le montre la figure 4.
La présence d'hématies est possible, mais en quantité moins importante que lors du pro-œstrus. La visualisation de PNN à ce stade doit faire penser à un frottis de métœstrus, signifiant qu'il est trop tard pour inséminer.

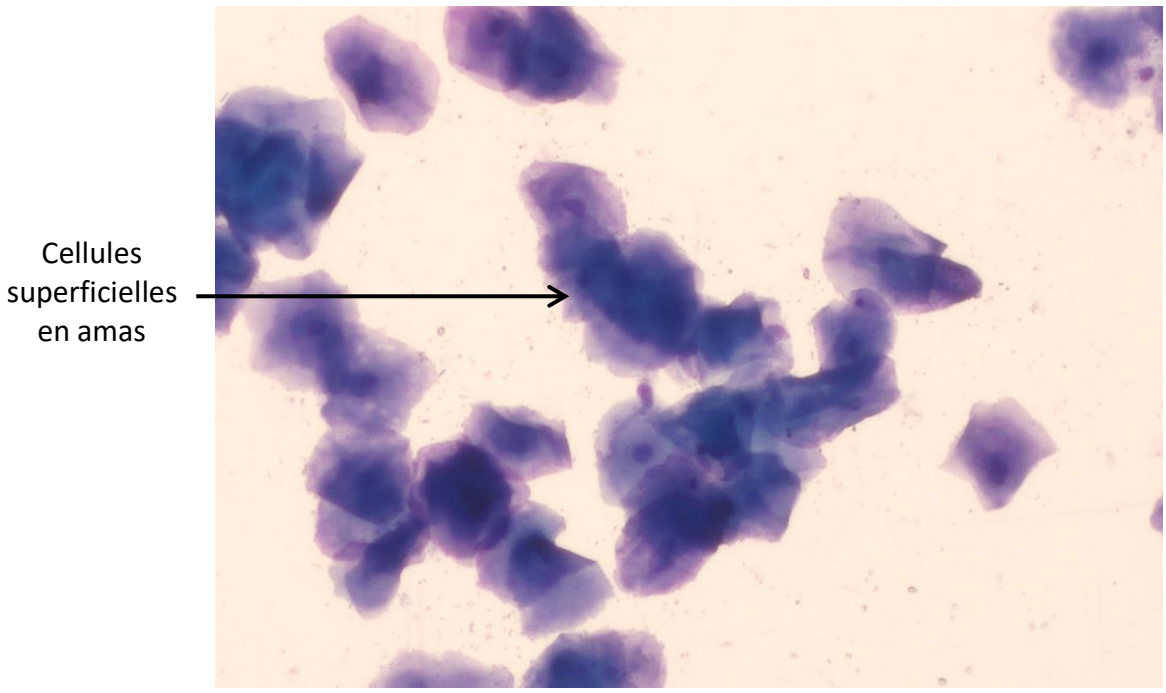

Figure 4 : Frottis d'œstrus

c) Frottis de métœstrus

A la cytologie vaginale, le passage d'œstrus à métœstrus est caractérisé par l'apparition de PNN. Dans les premiers jours de métœstrus, on retrouvera classiquement les 3 types de cellules épithéliales (parabasales, intermédiaires et superficielles) ainsi que des PNN, comme cela est représenté sur la figure 5.
Au cours du métœstrus, la proportion de cellules superficielles chute en quelques jours jusqu'à ce que l'on ne retrouve que des cellules parabasales.

La visualisation d'un frottis de métœstrus signifie qu'il est trop tard pour inséminer la chienne. Il est donc important de toujours réaliser une cytologie vaginale avant d'inséminer pour être certain que la chienne est toujours dans la période fertile.

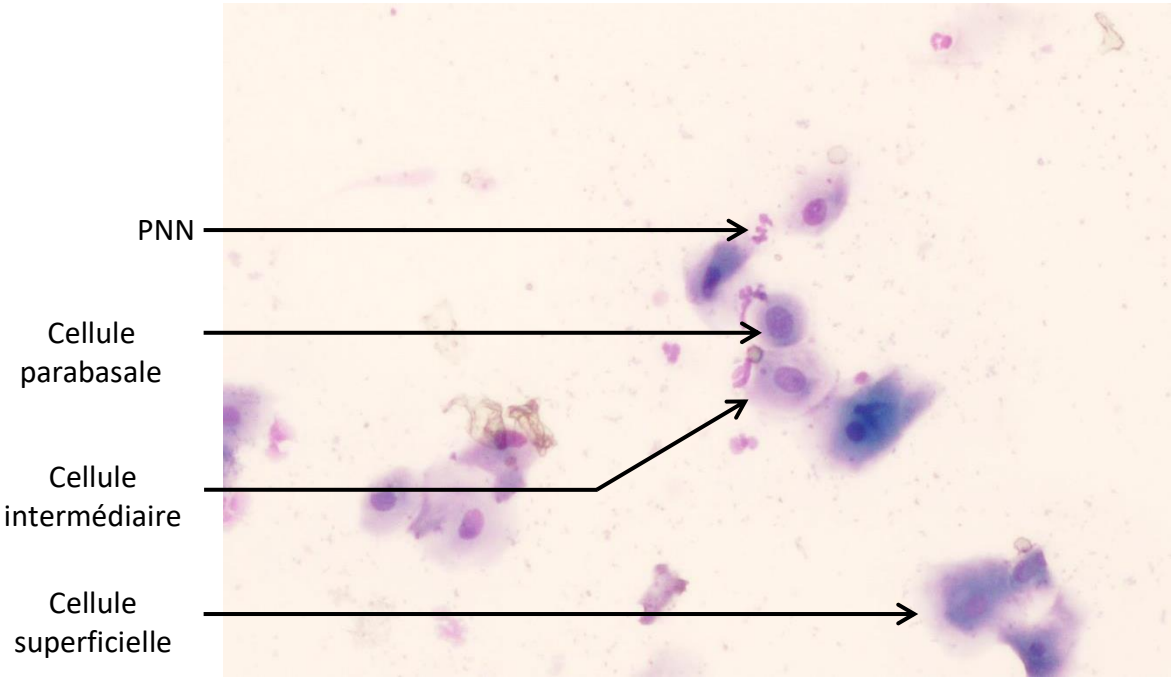

Figure 5 : Frottis de début de métœstrus

d) Frottis d'anœstrus

Sur un frottis d'anœstrus, on retrouve uniquement des cellules parabasales en très faible quantité.
La figure 6 montre un frottis caractéristique d'anœstrus.

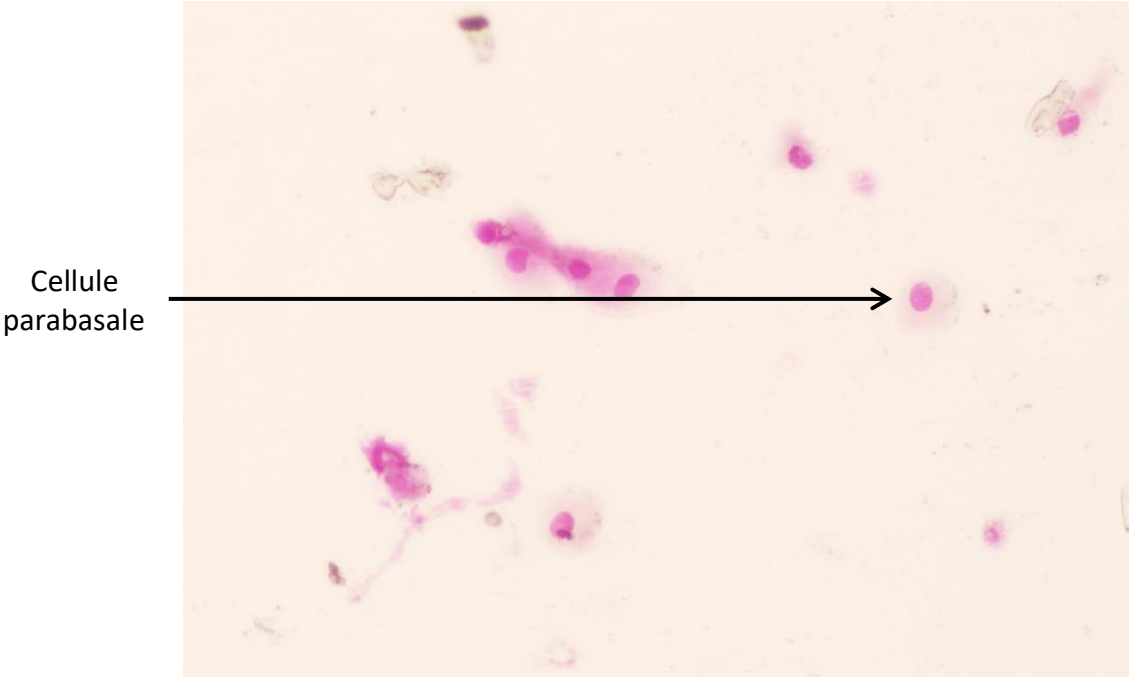

Figure 6 : Frottis d'anœstrus

B) Le dosage de progestérone

Chez la chienne, la cinétique suivie par la progestéronémie en période péri-ovulatoire est relativement stable. La progestéronémie, d'abord basale, augmente lentement autour du pic de LH. Puis il s'en suit une augmentation rapide et importante autour de l'ovulation (23).
De plus, les valeurs de la progestéronémie sont très bien corrélées au pic de LH et à l'ovulation, ce qui en fait une technique de choix pour la réalisation d'un suivi de chaleurs.

La cytologie vaginale et le dosage de progestérone sont fréquemment associés lors d'un suivi de chaleurs. Pour des raisons pratiques et financières, on ne réalisera généralement un dosage de la progestéronémie qu'à partir de la visualisation d'un frottis évocateur d'œstrus ou de fin de pro-œstrus (23).

1) Prélèvement de l'échantillon

Un prélèvement de sang sur tube hépariné est réalisé. Il est ensuite immédiatement centrifugé, et le plasma est récolté dans un tube sec. Si l'échantillon n'est pas analysé immédiatement, il peut être conservé réfrigéré ou congelé (13).

2) Méthodes de dosages

Le dosage de la progestérone peut être effectué grâce à des méthodes quantitatives ou semi-quantitatives.
Les dosages quantitatifs font appel à des techniques d'immuno-analyse comme la radio-immunologie ou la chimioluminescence.
Les dosages semi-quantitatifs de type ELISA, sont plus facilement accessibles mais sont moins précis (14).

Une étude sur la comparaison des valeurs de la progestéronémie péri-ovulatoire obtenues à l'aide de trois méthodes (radio-immunologie, chimioluminescence, ELISA) chez 33 chiennes a montré des valeurs significativement différentes entre ces trois méthodes (24).
Deux valeurs de progestéronémie obtenues avec la même technique de dosage peuvent également être différentes d'un appareil à un autre, en fonction de la calibration de ces appareils (23).
Il convient donc d'utiliser systématiquement la même méthode et la même machine afin de limiter au maximum les erreurs d'interprétation.

3) Interprétation de la progestéronémie

D'une valeur initialement inférieure à 1 ng/ml en anœstrus et en début de pro-œstrus, la progestéronémie commence à augmenter à partir du pic de LH, soit environ 2 à 3 jours avant l'ovulation (8).
On considère que le pic de LH a eu lieu lorsque la progestéronémie est supérieure à 2 ng/ml (8). Le suivi de chaleurs se doit donc d'être plus rapproché lorsque l'on obtient cette valeur.

Le jour de l'ovulation est déterminé par une valeur de progestéronémie comprise entre 4 et 10 ng/ml selon les laboratoires (8,13,14).

C) Autres méthodes de suivi de chaleurs

1) Suivi endoscopique de la muqueuse vaginale ou vaginoscopie

Les modifications macroscopiques de l'épithélium vaginal au cours du cycle sexuel peuvent être visualisées par endoscopie et donner une indication sur la phase du cycle sexuel.

En début de pro-œstrus, la muqueuse vaginale apparaît fortement œdématiée et de couleur rose. De nombreux et profonds plis se forment (14,25). Ces modifications sont visibles plusieurs jours avant le début des pertes vulvaires (25).
L'aspect endoscopique de la muqueuse vaginale en début de pro-œstrus est présenté sur la figure 7 (26).

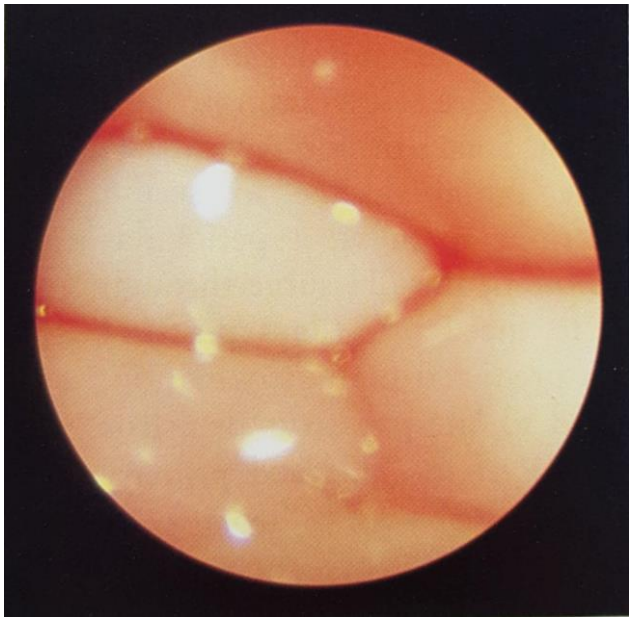

Figure 7 : Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale en début de pro-œstrus

En milieu et fin de pro-œstrus, l'œdème de la muqueuse régresse et les plis commencent à se rétracter, tout en gardant des contours arrondis (25).

L'œstrus est caractérisé par une rétraction et une angulation marquée des plis de la muqueuse vaginale (25). L'aspect endoscopique de la muqueuse vaginale au cours de l'œstrus est présenté sur la figure 8 (26).

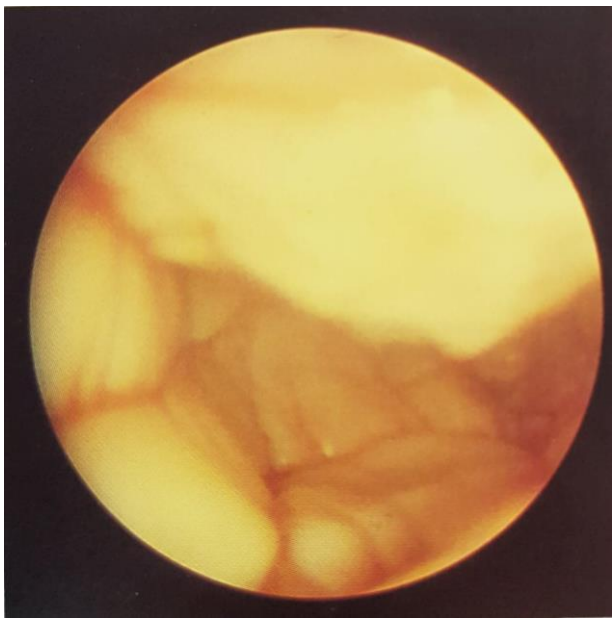

Figure 8 : Aspect endoscopique de la muqueuse vaginale au cours de l'œstrus

Lors du métœstrus, les replis de la muqueuse vaginale retrouvent une forme arrondie, et des bandes hyperhémiées apparaissent, donnant à la muqueuse vaginale un aspect « tigré » (25).

Enfin, en période d'anœstrus, les replis de la muqueuse vaginale sont faibles, arrondis et la muqueuse apparaît amincie (25).

Tout comme la cytologie vaginale, cet examen ne donne donc pas d'information précise sur la date de l'ovulation.
La vaginoscopie semble être un examen simple à réaliser en première intention, mais elle est peu précise et nécessite du matériel d'endoscopie coûteux et un opérateur expérimenté, c'est pourquoi elle est peu réalisée en pratique.

2) Echographie ovarienne

L'aspect échographique des ovaires varie considérablement au cours du cycle œstral chez la chienne.
Au cours du pro-œstrus, les follicules ovariens sont visualisables grâce à leur cavité remplie de liquide folliculaire, qui apparaît anéchogène avec un renforcement postérieur (27). Ces follicules grossissent progressivement au cours du pro-œstrus, atteignant un diamètre maximal de l'ordre de 6 à 9 mm (13,27). Les ovaires augmentent aussi progressivement de taille et il est de plus en plus aisé de les identifier.
L'aspect échographique d'un ovaire avec follicule est présenté sur la figure 9.

Figure 9 : Follicule ovarien de 9 mm chez une chienne en période péri-ovulatoire

L'ovulation est déterminée échographiquement par la diminution du nombre et de la taille des follicules ovariens (28). De plus, l'aspect échographique de l'ovaire passe d'anéchogène (lié à la présence des follicules) à mixte hypo- et hyperéchogène (29).

Suite à l'ovulation, les corps jaunes se mettent en place. Ils sont discernables des follicules par leur aspect hypoéchogène, leur paroi épaisse, et leur capacité à déformer légèrement les contours de l'ovaire (30). En pratique, la différence est assez difficile à observer, surtout en période péri-ovulatoire.

Tous les auteurs s'accordent sur le fait que l'échographie ovarienne peut constituer une aide à la détection de l'ovulation, mais qu'elle reste un examen délicat à interpréter, car les différentes modifications échographiques de l'ovaire sont inconstantes et difficiles à observer. Par exemple, la disparition des follicules lors de l'ovulation est rarement complète : d'après une étude, il restait au moins 1 follicule présent chez la majorité des chiennes échographiées au moment de l'ovulation (28).
De plus, les modifications décrites se produisent sur un intervalle de temps court, ce qui nécessite plusieurs examens journaliers (toutes les 12 heures) (30).

3) Dosage de LH

Le dosage de la LH sérique est possible grâce à des méthodes radio-immunologiques ou ELISA. Le délai entre le pic de LH et l'ovulation étant relativement constant, il pourrait théoriquement être intéressant de doser indifféremment la LH ou la progestérone. Cependant, le pic de LH est de courte durée, l'élévation de la LH pouvant durer seulement 24 heures (8). Par conséquent, à moins de faire plusieurs prélèvements journaliers, le pic de LH peut être facilement manqué.

Le dosage de la progestérone apparait donc comme une méthode beaucoup plus fiable et beaucoup moins coûteuse et chronophage pour le propriétaire.

4) Dosage d'œstrogènes

Le dosage des œstrogènes sanguins, en plus d'être difficile et coûteux à réaliser, apporte peu d'informations sur la survenue de l'ovulation. En effet, le taux d'œstrogènes sanguins augmente au cours du pro-œstrus, puis diminue rapidement au cours de l'œstrus (8).

D) Bilan sur le suivi de chaleurs

Lorsqu'une insémination artificielle est envisagée, la réalisation d'un suivi de chaleurs au préalable est indispensable. Celui-ci a pour objectif de dater l'ovulation et permet donc d'inséminer la chienne au moment optimal de fertilité. De plus, connaître la date d'ovulation permet d'estimer avec précision la date de mise-bas et donc de prévenir les éventuelles dystocies (qui peuvent être extrêmement fréquentes chez certaines races).

Le suivi de chaleurs est le plus souvent réalisé en associant des frottis vaginaux et des dosages de progestérone plasmatique. Le frottis vaginal offre des informations sur la phase du cycle de la chienne (pro-œstrus, œstrus, métœstrus, anœstrus) et le dosage de la progestéronémie permet d'estimer la date de l'ovulation. L'ovulation survient lorsque la progestéronémie atteint une valeur comprise entre 4 et 10 ng/ml, selon les laboratoires.

D'autres méthodes peuvent être utilisées dans le cadre d'un suivi de chaleurs, comme l'endoscopie vaginale, l'échographie ovarienne ou le dosage de la LH sanguine, mais celles-ci sont généralement moins fiables et plus difficiles à mettre en œuvre.

IV) Choix de la semence

A) Type de semence

Trois types de semence sont utilisés en insémination artificielle chez le chien : fraîche, réfrigérée et congelée.

1) Semence fraiche

Une semence fraîche est une semence qui vient d'être récoltée, qui n'a pas subi de modifications thermiques et qui n'a reçu aucun additif. Le prélèvement du mâle est directement suivi de l'insémination de la femelle.

La réfrigération et la congélation de la semence entrainent systématiquement une altération de celle-ci ; l'insémination en semence fraiche est donc à privilégier afin de maximiser les chances de gestation. Cependant, elle nécessite la présence du mâle au moment où l'insémination est décidée, ce qui n'est pas toujours réalisable en pratique.

2) Semence réfrigérée

Une semence réfrigérée est une semence à laquelle a été rajouté un dilueur, permettant sa conservation plusieurs jours à +4°C : 2 à 5 jours en pratique, et jusqu'à 11 jours pour une semence d'excellente qualité au moment du prélèvement et dans des conditions optimales de conservation (31).

L'avantage de l'utilisation de semence réfrigérée est de permettre la reproduction d'un chien et d'une chienne éloignés géographiquement, à un coût abordable et avec moins d'altérations que si l'on utilisait de la semence congelée.

Peu de matériel est nécessaire pour réfrigérer de la semence : une centrifugeuse pour récupérer la fraction spermatique, un réfrigérateur pouvant refroidir à +4°C, un dilueur réfrigéré, des tubes, et une bouteille thermos pour le transport éventuel (7).

Concernant le dilueur, il peut être préparé soi-même ou acheté dans le commerce. Il possède 4 grands rôles :

- tampon : afin de limiter les variations de pH et d'osmolalité de la semence. Les tampons classiquement utilisés sont le tris(hydroxyméthyl)aminométhane, l'hydroxyde de potassium, le citrate de sodium ;
- nutritif : les sources d'énergie utilisables sont le fructose, le dextrose, le lactose et le glucose ;
- protecteur vis-à-vis des basses températures : le jaune d'œuf est utilisé lors de préparation de semence réfrigérée ou congelée ;
- antibiotique : des pénicillines sont généralement utilisées (8).

Une fois réfrigérée, la semence se dégrade inévitablement au fil des jours. Il est donc recommandé de l'utiliser le plus rapidement possible. En effet, d'après une étude comparant la semence réfrigérée et congelée de 6 chiens, la semence réfrigérée était nettement supérieure à la semence congelée jusqu'à 2 jours de réfrigération, et était jugée de qualité équivalente au bout de 5 jours (32). Une autre étude a montré que la semence réfrigérée pendant 7 à 11 jours pouvait rester fécondante, avec des taux de gestation corrects : 50% avec une insémination intra-vaginale, et 70% avec 2 inséminations intra-vaginales (31).

3) Semence congelée

Une semence congelée est une semence à laquelle a été rajouté un dilueur, lui permettant d'être conservée indéfiniment dans de l'azote liquide à -196°C.

L'intérêt de la semence congelée est que celle-ci peut être utilisée de nombreuses années après sa collecte. On procède à la congélation de semence pour préserver la semence d'un étalon de grande valeur, en prévention d'un accident ou d'un décès par exemple. De plus, la congélation est nécessaire lorsque l'on prévoit de faire reproduire 2 individus trop éloignés géographiquement pour envisager un envoi de semence réfrigérée (22).

Par contre, la congélation étant à l'origine d'importantes altérations, celle-ci doit être envisagée pour des semences d'excellente qualité au départ (8).

Le dilueur pour semence congelée contient globalement les mêmes éléments que le dilueur pour semence réfrigérée, mais du glycérol est ajouté en plus du jaune d'œuf pour son effet cryoprotecteur plus important (cryoprotecteur intracellulaire) (8).

4) Bilan sur les types de semences

En insémination artificielle canine, trois types de semence sont utilisés : fraiche, réfrigérée et congelée.
Une semence qualifiée de fraiche n'a subi aucune modification, et le prélèvement du mâle est directement suivi de l'insémination de la femelle.
Les semences réfrigérée et congelée sont des semences auxquelles a été rajouté un dilueur, permettant de les conserver dans le temps tout en préservant leur pouvoir fécondant, même si leur altération reste inévitable.
Une semence réfrigérée peut être conservée en moyenne 2 à 5 jours à +4°C, et une semence congelée peut être conservée indéfiniment dans de l'azote liquide à -196°C.
Les semences préparées présentent un grand intérêt en reproduction canine car elles permettent de marier deux reproducteurs éloignés géographiquement ou temporellement.

B) Récolte de la semence

1) Méthode de prélèvement

La méthode de choix pour la récolte de la semence est le prélèvement manuel, en présence d'une chienne en chaleurs.
La récolte par électroéjaculation, utilisée surtout chez le chat, est possible mais s'avère rarement nécessaire et peut parfois entrainer une contamination de la semence par de l'urine (8).

2) Matériel nécessaire au prélèvement

Le prélèvement requiert peu de matériel :

- un cône souple en silicone, de taille adaptée à la taille du chien ;
- un tube de centrifugation stérile.

Il est important que le matériel en contact avec la semence ait été abondamment rincé à l'eau après nettoyage puis laissé sécher à l'air libre afin de limiter toute altération de la semence (8).
La figure 10 montre le matériel de prélèvement utilisé au CERREC.

Figure 10 : Matériel utilisé au CERREC pour le prélèvement de semence

3) Environnement idéal pour le prélèvement

La récolte doit se dérouler dans un lieu calme, en présence ou non du propriétaire selon le comportement du chien. Le sol ne doit pas être glissant.
Il est tout à fait possible d'obtenir de la semence en l'absence d'une chienne dans la pièce, mais cela peut s'avérer nécessaire si le mâle à prélever est anxieux ou s'il présente peu ou pas de libido. De plus, la présence d'une chienne, surtout si elle est en chaleurs, améliore la qualité de la semence prélevée (8).
A défaut de la présence d'une chienne, un écouvillon vaginal réalisé chez une chienne en chaleurs peut être conservé congelé, puis décongelé et présenté au mâle avant et pendant le prélèvement (8).

4) Technique de prélèvement

Idéalement, 3 personnes sont présentes : une personne tient la chienne en chaleur, une autre tient le mâle et la dernière personne s'occupe de la récolte.
Le mâle est présenté au niveau de l'arrière-train de la femelle. Une stimulation manuelle vigoureuse des bulbes érectiles est réalisée jusqu'à l'érection, puis le pénis est extériorisé. Le

cône de prélèvement est alors rapidement mis en place avant l'éjaculation. Le pénis peut être retourné en arrière afin de reproduire au maximum les conditions naturelles d'une saillie (7,8). Il est important de maintenir une striction en arrière des bulbes érectiles durant toute la durée de l'éjaculation pour maintenir une érection (8).
A la fin du prélèvement, il convient de ne pas oublier de replacer le pénis dans le fourreau afin d'éviter toute striction de l'extrémité distale du pénis, pouvant conduire à un œdème et une nécrose ischémique (8).

5) Fréquence de prélèvement

Une étude sur 28 chiens Beagle s'est intéressée à la qualité de la semence et de la libido en fonction de la fréquence de prélèvement. Les chiens étaient prélevés 1 fois tous les 3,5 jours, 1 fois tous les 2 jours, 1 fois par jour ou 2 fois par jour. La fréquence de prélèvement n'a pas affecté le volume de semence, la mobilité des spermatozoïdes et la libido. Par contre, une fréquence de prélèvement supérieure à 1 fois tous les 2 jours entrainait une diminution du nombre de spermatozoïdes mobiles par éjaculat. Les auteurs ont donc conclu que la fréquence maximale de prélèvement n'entrainant pas de modification de la qualité de la semence était d'une fois tous les 2 jours (33).

Cependant, il peut y avoir un intérêt à prélever le mâle deux fois à quelques heures d'intervalle. En effet, une étude sur 65 chiens de races différentes a comparé la qualité de la semence entre 2 prélèvements à environ 1 heure d'intervalle. La mobilité et le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux étaient comparables entre les 2 prélèvements. Bien que la concentration soit significativement diminuée dans le second prélèvement, cela permettait d'obtenir environ 70% de spermatozoïdes supplémentaires en vue d'une insémination (34).

Il semblerait qu'une période de repos trop longue entre 2 éjaculations entraine une diminution de la mobilité des spermatozoïdes et une augmentation du pourcentage de spermatozoïdes anormaux. Cela a très peu été étudié et une étude sur 5 chiens Beagle n'a pas montré de différence significative concernant la qualité de la semence après 6 semaines d'inactivité sexuelle (35).

6) Bilan sur la récolte de la semence

La méthode idéale de prélèvement de semence est le prélèvement manuel, en présence d'une chienne en chaleurs. Le prélèvement requiert peu de matériel : cône souple en silicone et tube de centrifugation. Le prélèvement doit se faire dans un lieu calme, en présence ou non du propriétaire. La fréquence maximale de prélèvement n'entrainant pas de modification de la semence est d'une fois tous les deux jours.

C) Evaluation de la qualité de la semence

1) Aspect normal de la semence canine

La semence du chien est composée de 3 fractions :

- la fraction pré-spermatique, d'origine prostatique. De couleur claire, elle est peu volumineuse (entre 0,5 et 5 ml) et contient peu ou pas de spermatozoïdes ;
- la fraction spermatique, d'origine épididymaire. De faible volume également (entre 1 et 4ml), elle est généralement d'aspect laiteux car riche en spermatozoïdes. Une fraction spermatique de couleur claire ou translucide doit donc alerter l'inséminateur car cela témoigne d'une faible concentration en spermatozoïdes. Il convient de toujours effectuer un comptage au microscope car la fraction spermatique peut présenter une couleur normale et pourtant être peu concentrée ;
- la fraction prostatique, de volume beaucoup plus important allant de 1 à 80 ml, de couleur claire et contenant peu ou pas de spermatozoïdes (8).

Au final, le volume normal d'une semence canine varie entre 2,5 et 80 ml environ. Le volume étant en grande partie déterminé par la troisième fraction ou fraction prostatique, il ne constitue donc pas un indicateur de bonne qualité de la semence.

Trois caractéristiques apparaissent essentielles dans l'évaluation de la qualité de la semence : la mobilité, la morphologie et le nombre de spermatozoïdes. Au CERREC, une fiche est remplie après chaque prélèvement et examen de semence. Celle-ci figure en Annexe 2.

2) Mobilité

L'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes est réalisée au microscope rapidement après le prélèvement, en plaçant une goutte de semence non diluée entre lame et lamelle. Pour les semences très concentrées, il est possible de diluer légèrement la goutte avec du liquide prostatique, sans conséquences (36). Après avoir placé la lame sous le microscope, l'évaluation doit être immédiate car la chaleur de la lampe peut altérer la mobilité.
Cette évaluation est visuelle, subjective. Un spermatozoïde normal doit se déplacer en ligne droite et rapidement traverser le champ microscopique. Le pourcentage normal de mobilité des spermatozoïdes est de 70% ou plus (8,37).

3) Morphologie

L'examen morphologique des spermatozoïdes est réalisé idéalement à l'aide d'un microscope à contraste de phase, afin d'éviter toute altération due à une éventuelle coloration. Tous les laboratoires n'étant pas équipés de ce type de microscope, l'évaluation peut néanmoins être faite au microscope classique après coloration à l'éosine-nigrosine ou de type May-Grünwald Giemsa, mais l'interprétation sera plus délicate (8).

Les anomalies morphologiques des spermatozoïdes peuvent être classées selon :

- la partie anatomique où se situe l'anomalie ;
- leur caractère primaire (développement de l'anomalie pendant la spermatogénèse) ou secondaire (développement au cours du stockage dans l'épididyme ou lors de la coloration après prélèvement par exemple) ;
- leur caractère mineur ou majeur, selon que les anomalies génèrent un trouble de la fertilité ou non.

La figure 11 représente les principales anomalies morphologiques des spermatozoïdes (7).

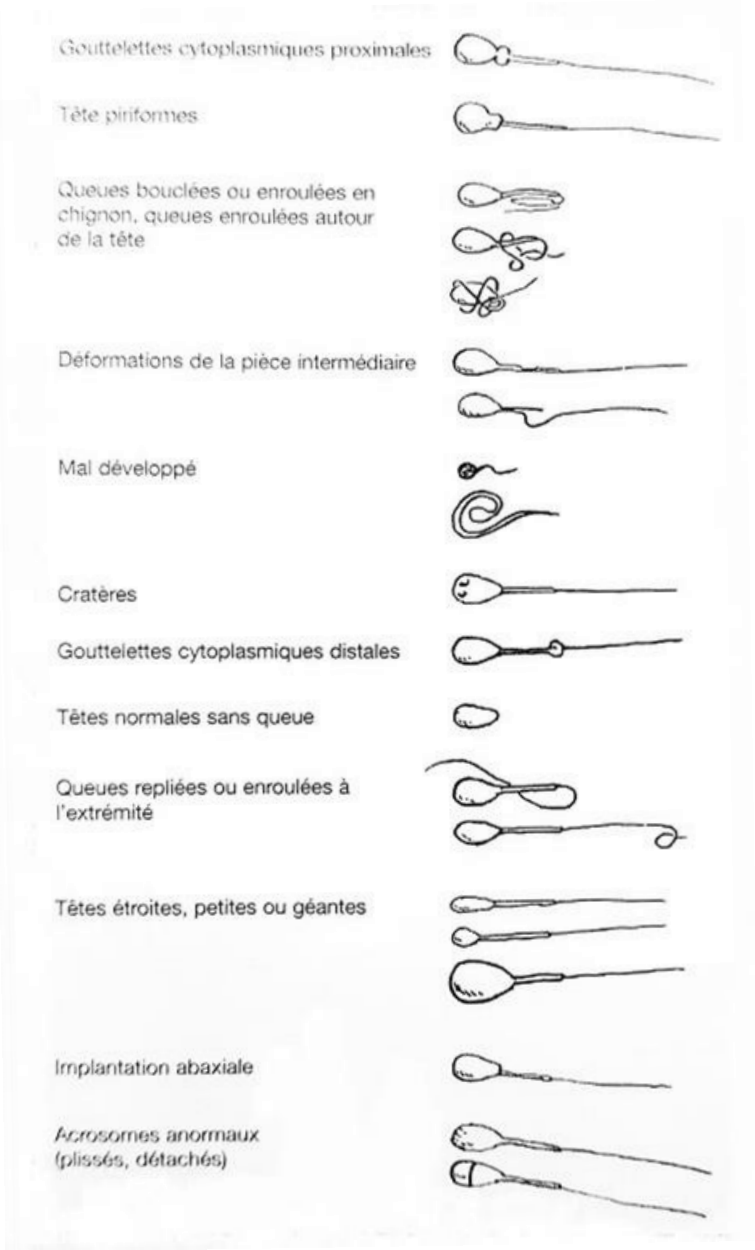

Figure 11 : Schéma des principales anomalies morphologiques des spermatozoïdes

Une étude sur 67 chiens mâles de races et d'âges variés s'est intéressée à l'influence du pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux sur le taux de réussite en insémination artificielle. Il a été montré qu'un pourcentage inférieur à 60% entravait la fertilité (le taux de gestation était de 61% et de 13% avec un taux de spermatozoïdes morphologiquement normaux respectivement supérieur ou inférieur à 60%) (38). Il est donc admis que le taux de spermatozoïdes morphologiquement normaux minimum acceptable est de 60%.

4) Concentration et quantité totale

La concentration étant inversement proportionnelle au volume de l'éjaculat, on préfèrera plutôt évaluer la quantité totale de spermatozoïdes dans la semence à inséminer. La quantité totale de spermatozoïdes dans un éjaculat dépend du gabarit de l'animal et est comprise entre 300 millions et 2 milliards (8,37).

Un paramètre plus intéressant encore est la quantité totale de spermatozoïdes morphologiquement normaux, obtenue par multiplication du nombre total de spermatozoïdes avec le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux. En semence fraîche, la quantité minimale de spermatozoïdes morphologiquement normaux recommandée pour l'insémination est de 220-250 millions (37).

5) Bilan sur l'évaluation de la qualité de la semence

La semence canine est constituée de 3 fractions : pré-spermatique, spermatique et prostatique. Les spermatozoïdes sont essentiellement contenus dans la fraction spermatique, et la simple évaluation visuelle de cette fraction peut donner un aperçu de la concentration en spermatozoïdes de la semence.
La qualité de la semence est généralement évaluée selon 3 grands critères : la mobilité, les anomalies morphologiques et la quantité totale de spermatozoïdes morphologiquement normaux. Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles considéré comme satisfaisant est de 70% ou plus. Le taux de spermatozoïdes morphologiquement normaux minimum acceptable est de 60%. La quantité minimale de spermatozoïdes morphologiquement normaux à inséminer est d'environ 220 à 250 millions en semence fraiche.

V) Techniques d'insémination artificielle

A) Insémination intra-vaginale

L'insémination intra-vaginale consiste en l'introduction de la semence directement dans le vagin le plus près possible du col utérin à l'aide d'une sonde d'insémination adaptée.

L'insémination artificielle intra-vaginale est une technique largement répandue en clientèle car elle est simple à réaliser et ne nécessite pas de matériel coûteux.

1) Matériel nécessaire à l'insémination intra-vaginale

La réalisation d'une insémination artificielle intra-vaginale nécessite :

- une sonde d'insémination stérile de taille adaptée au gabarit de la chienne. La longueur idéale de la sonde correspond à la distance entre le col utérin et la vulve. Celle-ci peut être déterminée soit par palpation abdominale du col utérin, soit en divisant par 2 la longueur entre l'arc costal et la vulve (8). La plupart des sondes possèdent un ballonnet à leur extrémité, qui lorsqu'il est gonflé permet de limiter le reflux de la semence en dehors du vagin. La liste des sondes utilisables est décrite dans le tableau I ;
- une seringue stérile ;
- des gants en vinyle.

Tableau I : Caractéristiques des différents types de sonde à ballonnet utilisées pour l'insémination intra-vaginale canine

Type de sonde	**Caractéristiques**
Sonde Osiris	Rigide Ballonnet gonflable 1 seule taille, qui convient mieux aux chiennes de petite et moyenne taille
Sonde de Foley	Très souple : maniabilité diminuée Ballonnet gonflable Existe en 2 diamètres
Sonde Mavic	Rigide Ballonnet gonflable Existe en 3 longueurs : adaptée à chaque taille de chienne

2) Technique d'insémination intra-vaginale

La chienne est maintenue debout sur ses 4 membres pendant l'insémination. De la même manière que pour la réalisation d'un frottis vaginal, la sonde lubrifiée est introduite d'abord verticalement pour éviter la fosse clitoridienne, puis crânialement le plus loin possible.

Le ballonnet est ensuite gonflé. Puis, la semence est introduite dans la sonde d'insémination à l'aide d'une seringue. Il est possible d'introduire la totalité de l'éjaculat sans séparation des 3 phases, ou bien uniquement la phase spermatique préalablement séparée (39,40).

Afin d'optimiser le passage de la semence à travers le col utérin, il convient ensuite d'injecter 1 à 2 ml d'air dans la sonde (40). Si les 3 phases ont été séparées, il est possible d'injecter plutôt une partie de la fraction prostatique dans le même objectif (39).
Enfin, le ballonnet est dégonflé et la sonde est retirée.

Il est généralement recommandé de garder les postérieurs de la chienne surélevés pendant 5 à 10 minutes (40). Cela favoriserait ainsi le passage de la semence à travers le col par gravité. Toutefois, une étude s'est intéressée au taux de réussite en insémination artificielle intra-vaginale en fonction de la durée d'élévation des postérieurs. Pour le premier groupe de

chiennes, les membres postérieurs étaient maintenus surélevés pendant 10 minutes, contre seulement 1 minute pour le second groupe de chiennes. L'étude n'a montré aucune différence significative entre les 2 groupes concernant les taux de gestation et la prolificité (p> 0,30) (41).

B) Insémination intra-utérine

L'insémination intra-utérine correspond à l'introduction de la semence dans l'utérus. On distingue les techniques d'insémination transcervicales, qui sont les plus employées, des techniques chirurgicales.

L'insémination intra-utérine est indiquée lors de l'utilisation de semence congelée et de manière générale lorsque la semence est de mauvaise qualité, afin d'augmenter les chances de réussite. De plus, l'insémination intra-utérine est conseillée chez les chiennes de grande race ou de race géante, car pour ces chiennes l'insémination intra-vaginale est associée à une perte de semence dans les replis vaginaux (42).

1) Insémination intra-utérine transcervicale

Il s'agit d'une insémination intra-utérine réalisée par cathétérisme du col utérin.

Ce type d'insémination ne requiert généralement pas de tranquillisation. Si nécessaire, une sédation légère à l'aide de butorphanol, d'acépromazine ou d'alpha-2-agonistes (dexmédétomidine, xylazine) peut être réalisée, mais il est important que la chienne reste assez vigile pour se maintenir debout (42).

Deux méthodes sont utilisées en France : la méthode norvégienne et la méthode endoscopique.

a) Insémination transcervicale par endoscopie

Il s'agit de la méthode d'insémination transcervicale la plus commune aujourd'hui. Le col utérin est visualisé grâce à un endoscope, ce qui permet de guider facilement le passage de la sonde à travers celui-ci. L'endoscope utilisé peut être un cystoscope ou un urétéroscope.

Avec un cystoscope, le cathéter d'insémination utilisé est un cathéter vésical classique en polypropylène. Ce type d'endoscope est parfois trop court pour inséminer des chiennes de grand format.

L'avantage de l'urétéroscope est qu'il est plus fin, ce qui est plus pratique pour inséminer des chiennes de très petit format, et également plus long, permettant son utilisation sur des chiennes de grand format. L'angle de vue de 5°, contre 30° pour la plupart des cystoscopes, permet d'insérer la sonde dans le col utérin avec une plus grande précision. Par contre, les sondes en polypropylène sont inutilisables car trop courtes. Il faut donc prévoir des sondes spécialement adaptées à l'urétéroscope (42).

D'après une étude sur 10 chiennes Labrador inséminées avec cette méthode, le cathétérisme du col utérin s'était déroulé sans aucune difficulté dans 80% des inséminations, et le cathétérisme était jugé très difficile dans seulement 6% des cas (43).

b) Insémination transcervicale par méthode scandinave ou norvégienne

L'insémination intra-utérine par la méthode Norvégienne consiste en l'introduction de la semence dans l'utérus « à l'aveugle », le col utérin étant maintenu par palpation abdominale.

La sonde utilisée est appelée sonde norvégienne ; elle est généralement constituée d'un guide en nylon et d'un cathéter en acier, et existe en différentes tailles selon le gabarit de la chienne.

Les figures 12 et 13 représentent le matériel nécessaire à l'insémination par sonde norvégienne : seringue, guide et sonde.

Figure 12 : Matériel nécessaire à l'insémination intra-utérine par méthode norvégienne

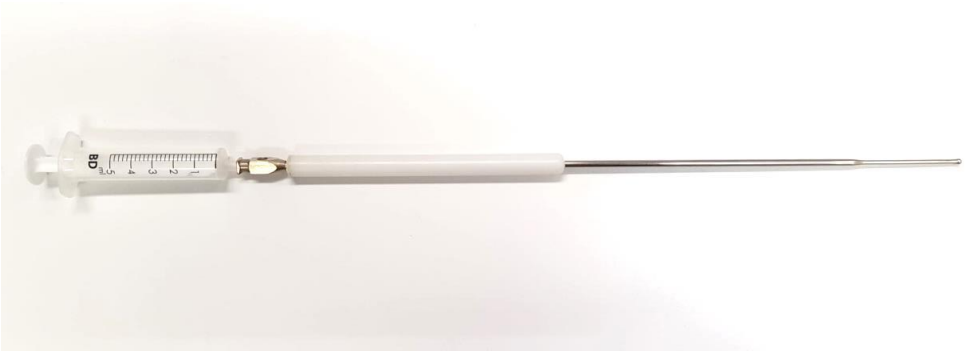

Figure 13 : Matériel en place pour l'insémination intra-utérine par méthode norvégienne

Pour réaliser une insémination par méthode norvégienne, la chienne, non sédatée, est placée sur une table et maintenue debout sur ses 4 membres à l'aide d'un assistant. L'opérateur identifie et saisit le col utérin par palpation abdominale, et réalise un mouvement de traction crânialement et ventralement. Ainsi, l'axe du vagin et du col utérin passe d'un angle physiologique de 45°C à une orientation horizontale. Le guide est introduit dans le vagin jusqu'à l'entrée du col utérin. Le cathéter métallique est alors inséré dans le guide puis à travers le col utérin.

Cette technique, très simple à comprendre, est cependant plus difficile à réaliser que la méthode endoscopique car elle nécessite une plus grande expérience de l'opérateur. De plus, la palpation du col utérin peut être délicate si la chienne est de grand format, en surpoids ou si son abdomen est tendu (42).

2) Insémination intra-utérine chirurgicale

a) Insémination intra-utérine par laparotomie

Il s'agit de l'injection de semence directement dans les cornes utérines par laparotomie, sous anesthésie générale.
La réalisation d'une insémination par laparotomie est simple. La chienne anesthésiée est placée en décubitus dorsal. Après tonte et désinfection de la peau, l'ouverture est réalisée par laparotomie médiane. L'utérus est extériorisé puis inspecté à la recherche d'éventuelles anomalies. Le col utérin est maintenu fermé avec une main, puis l'injection de la semence est réalisée dans une des cornes utérines grâce à un cathéter ou une aiguille. L'utérus est massé afin de faciliter le déplacement de la semence en direction des oviductes. Puis l'abdomen est refermé de manière classique (39).

Selon différents auteurs, l'insémination intra-utérine par laparotomie serait réalisée pour des raisons de praticité (éviter un cathétérisme difficile du col utérin) ou pour évaluer visuellement l'utérus à la recherche d'anomalies comme des kystes par exemple (40,44).
En réalité, cette méthode, même si elle est efficace, pose un problème éthique car elle nécessite une anesthésie générale, est invasive, et ses indications sont discutables. De nos jours, il est relativement aisé de pratiquer une insémination transcervicale à l'aide d'un endoscope. De plus, les anomalies morphologiques de l'utérus, visibles par échographie, ne sont pas souvent significatives. Pour toutes ces raisons, l'insémination intra-utérine par laparotomie est peu utilisée de nos jours en France.

b) Insémination intra-utérine par laparoscopie

La technique décrite ci-après est celle employée au cours d'une étude sur 5 chiennes de race Beagle (45).
La chienne anesthésiée est placée en décubitus dorsal. Après tonte et désinfection chirurgicale de l'abdomen, une aiguille de Veress est introduite dans l'abdomen, environ 1 cm crânialement à l'ombilic dans le plan médian. Du CO2 est alors insufflé dans l'abdomen afin de permettre une meilleure visualisation des organes avec le laparoscope.
Le laparoscope est ensuite introduit dans l'abdomen à l'aide d'un trocart, 1 cm en arrière de l'ombilic dans le plan médian. Les cornes utérines sont localisées.
Un autre trocart est introduit dans l'abdomen latéral et permet le passage d'une pince endoscopique. La corne utérine est saisie et rapprochée de la paroi musculaire abdominale. Un cathéter est alors introduit à travers la paroi abdominale jusque dans la corne utérine et la semence est injectée. Le matériel est ensuite retiré et les 3 ouvertures sont refermées.
L'objectif de cette étude était de comparer les résultats obtenus par laparoscopie et par saillie naturelle. 5 chiennes étaient inséminées 2 fois en semence fraiche par laparoscopie et 5 chiennes étaient saillies naturellement 2 fois. Toutes les chiennes avaient été gestantes, et il n'avait pas été mis en évidence de différence significative entre les 2 méthodes pour le nombre de chiots moyen par portée (toutefois, la puissance de ce résultat était remise en cause par la faible taille de l'échantillon étudié) (45).

Cette méthode d'insémination, efficace, et un peu moins invasive que la laparotomie, est aussi beaucoup plus technique et coûteuse du fait du matériel nécessaire. Elle n'est donc pas utilisée en pratique courante.

c) Insémination intra-tubaire

Une autre technique chirurgicale consiste à inséminer directement dans les oviductes (46). Cette technique ne sera pas développée car elle est extrêmement difficile à réaliser et jamais utilisée en pratique courante.

C) Bilan sur les différentes techniques d'insémination artificielle

En insémination artificielle canine, la semence peut être déposée dans le vagin ou dans l'utérus.
L'insémination intra-vaginale est la technique la plus simple à réaliser et elle ne nécessite pas de matériel coûteux. Elle est employée lorsque la semence utilisée est de bonne qualité.
Il est préférable de procéder à une insémination intra-utérine lors de l'utilisation de semence congelée ou lorsque la semence est de mauvaise qualité en général.
Deux méthodes de cathétérisme du col utérin sont généralement utilisées en France : la méthode endoscopique et la méthode norvégienne. Avec la méthode endoscopique, le col utérin est visualisé grâce à un endoscope, alors qu'avec la méthode norvégienne, le col utérin est maintenu par palpation abdominale et l'insémination est réalisée à l'aveugle.
Il existe également des techniques d'insémination intra-utérines chirurgicales, mais celles-ci ne sont pas couramment utilisées en raison de leur caractère invasif.

VI) Résultats attendus

A) En saillie naturelle

Lors de saillie naturelle, la fertilité de la chienne peut être excellente. Avec un suivi de chaleurs, les études ont décrit des taux de gestation variant de 80 à 92% (47,48).

B) En insémination artificielle

1) En semence fraiche

Selon diverses études, le taux de gestation lors d'insémination en semence fraiche peut varier de 64,4% à 94% (47–52). Les auteurs ayant comparé la saillie naturelle et l'insémination en semence fraiche, qu'elle soit intra-vaginale ou intra-utérine, n'ont pas mis en évidence de différence significative de résultats, que ce soit en terme de fertilité ou de prolificité, ce qui indique que ces 2 méthodes de reproduction sont équivalentes (47,48).

2) En semence réfrigérée

Les auteurs s'accordent à dire que l'insémination en semence réfrigérée peut donner des résultats équivalents à la saillie naturelle et à l'insémination en semence fraiche, si la semence est de bonne qualité et est utilisée dans les 2 jours suivant la réfrigération (22,52,53). En effet, comme dit précédemment, le résultat de l'insémination est très dépendant des conditions de réfrigération.

3) En semence congelée

D'après de nombreuses études, la fertilité lors d'insémination en semence congelée varie entre 51,1% et 84,4% (17,48–51,54).

Il est clairement établi que l'insémination en semence congelée offre de moins bons résultats que l'insémination en semence fraiche ; plusieurs études comparatives ont montré qu'une insémination en semence fraiche intra-vaginale était significativement plus efficace qu'une insémination en semence congelée intra-utérine (17,50,51).

De plus, les performances en semence congelée sont dépendantes de la méthode d'insémination (intra-vaginale ou intra-utérine). En effet, dans une étude sur 327 inséminations en semence congelée, la fertilité et la prolificité moyennes étaient de 84,4% et 5,4 chiots lors d'insémination intra-utérine, contre 58,8% et 4 chiots lors d'insémination intra-vaginale, avec une différence significative ($p < 0,001$) (54). Il apparait donc indispensable de procéder à une insémination intra-utérine lors d'utilisation de semence congelée.

C) Bilan sur les résultats attendus

Dans des conditions de réalisation optimales, c'est-à-dire avec un suivi de chaleurs et une semence de bonne qualité, l'insémination en semence fraiche peut donner d'excellents résultats, équivalents à ceux d'une saillie naturelle.
L'insémination en semence réfrigérée peut elle aussi donner des résultats équivalents à ceux d'une saillie naturelle ou d'une insémination en semence fraiche, mais cela dépend beaucoup des conditions de préparation et de conservation.
Par contre, il a été montré que l'insémination en semence congelée offrait de moins bons résultats que les autres types d'insémination, en raison de la forte altération engendrée par le processus de congélation. Il est donc recommandé de procéder à une insémination intra-utérine lors d'utilisation de semence congelée afin d'optimiser les chances de réussite.

PARTIE 3 : Analyse des dossiers du CERREC

Dans cette dernière partie, nous présenterons les résultats d'une étude rétrospective de 786 cas d'insémination artificielle au CERREC.

Le CERREC (Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et Elevage des Carnivores) est situé au sein de VetAgro Sup – Campus vétérinaire de Lyon. Il accueille des particuliers ou des professionnels, propriétaires de chiens ou de chats souhaitant faire reproduire leur animal, et propose différents services :

- le suivi de chaleurs par frottis vaginaux et dosages de progestérone ;
- l'insémination artificielle intra-utérine en semence fraîche, réfrigérée ou congelée ;
- la récolte de semence et l'évaluation de sa qualité ;
- la conservation de la semence réfrigérée ou congelée, par l'intermédiaire du CRB CryAnim (Centre de Ressources Biologiques de VetAgro Sup) ;
- le diagnostic, le suivi de gestation et la gestion des éventuelles dystocies ;
- le diagnostic et le traitement de l'infertilité mâle et femelle.

Le CERREC a également une fonction pédagogique car il accueille quotidiennement des étudiants en rotation de Reproduction des petits animaux.

Le premier objectif de cette étude rétrospective était d'évaluer de manière générale les résultats du CERREC en insémination artificielle canine. Pour cela, nous avons comparé les taux de fertilité des chiennes inséminées au CERREC aux résultats obtenus dans d'autres centres de reproduction.

Dans un second temps, nous avons étudié les résultats du CERREC en fonction de certains facteurs individuels (race, âge, etc.) ou techniques (méthode d'insémination, type de semence, opérateur, etc.). L'objectif était alors d'identifier si ces paramètres avaient ou non une influence sur les résultats de l'insémination, toujours dans cette optique d'évaluation des performances du CERREC et de mise en avant des points positifs et des points à améliorer.

Le dernier objectif était d'étudier les durées de gestation des chiennes inséminées au CERREC. Cette idée venait d'une impression que certaines chiennes mettaient bas précocement par rapport aux dates calculées à partir de la date d'ovulation. La durée de gestation étant non compressible, nous suspections alors une erreur dans l'estimation de la date d'ovulation.

I) Matériels et méthodes

A) Echantillon

Les chiennes inclues dans l'étude sont toutes les chiennes inséminées au CERREC entre Novembre 2005 et Juin 2018, dont les dossiers étaient accessibles. Au total, 786 inséminations ont été étudiées.

B) Recueil et saisie des données

Pour chaque chienne, un dossier manuscrit regroupait un ensemble d'informations, telles que :

- commémoratifs : identification, âge, race, portées antérieures, antécédents d'infertilité, coordonnées du propriétaire ;
- informations sur le suivi de chaleurs : date du début des chaleurs, résultats des différents frottis vaginaux et dosages de progestérone, date d'ovulation ;
- informations sur l'insémination : nombre d'inséminations, méthode d'insémination, nom de l'inséminateur, type de semence utilisée et qualité ;
- résultats de l'insémination : gestation ou non, date de mise bas, nombre et sexe des chiots.

Il est important de préciser que les données citées ci-dessus n'étaient pas systématiquement toutes présentes dans les dossiers manuscrits. En particulier :

- la date d'ovulation n'était pas toujours précisée, or chaque inséminateur n'utilisait pas le même intervalle de progestéronémie pour définir l'ovulation, de ce fait un certain nombre de données n'ont pas pu être exploitées ;
- le résultat de l'insémination n'était pas toujours retranscrit dans le dossier.

Afin d'obtenir un maximum de données, environ 200 propriétaires de chiennes ont été contactés par téléphone. Du fait de la grande quantité de résultats à recueillir dans le temps imparti, tous les propriétaires n'ont pas pu être contactés. Il a donc été décidé d'appeler uniquement les propriétaires de chiennes inséminées « récemment », c'est-à-dire en 2017 et 2018, afin d'obtenir les informations les plus fiables possibles.

L'ensemble des données nécessaires à l'étude a été regroupé dans un tableur EXCEL 2010.

C) Analyse des données

L'analyse statistique des résultats a été réalisée à l'aide des logiciels EXCEL 2010 et R STUDIO.

Le logiciel EXCEL a surtout servi au tri des données au préalable de leur analyse avec R STUDIO.

Le logiciel R STUDIO a permis de réaliser l'étude descriptive et l'analyse des facteurs de performances, d'abord individuellement, avec l'utilisation de deux tests statistiques : le test du chi-2 d'indépendance et le test de la somme des rangs.
Le test du chi-2 d'indépendance a été utilisé pour étudier l'influence de certains facteurs sur la fertilité et le test non paramétrique de la somme des rangs (Mann-Whitney-Wilcoxon) a été réalisé pour étudier l'influence de ces facteurs sur le nombre de chiots par portée. Pour ce dernier test, il était au préalable nécessaire de vérifier que les distributions ne suivaient pas une loi normale avec le test de Shapiro Wilk et par examen visuel des distributions.

Une fois les facteurs d'intérêt mis en évidence, ceux-ci ont été étudiés ensemble et non plus séparément à l'aide d'une régression logistique réalisée avec R STUDIO.

D) Mise en forme des résultats

Les résultats ont été représentés sous la forme de tableaux ou de graphiques réalisés à l'aide d'EXCEL 2010.

II) Résultats : Etude descriptive

A) Echantillon

1) Race

95,4% des inséminations concernaient des races reconnues par la FCI. Au total, 103 races reconnues étaient représentées.
La race n'était pas mentionnée dans le dossier pour une chienne, une autre chienne était croisée, et 34 autres chiennes étaient de races non reconnues par la FCI (32 American Bully, 1 Bulldog Américain et 1 Husky Toy).

Les chiennes ont été regroupées selon les groupes cynophiles définis par la FCI (55) :

- Groupe 1 : Chiens de berger et de bouvier (sauf chiens de bouvier suisses)
- Groupe 2 : Chiens de type Pinscher et Schnauzer - Molossoïdes et chiens de montagne et de bouvier suisses et autres races
- Groupe 3 : Terriers
- Groupe 4 : Teckels
- Groupe 5 : Chiens de type Spitz et de type primitif
- Groupe 6 : Chiens courants, Chiens de recherche au sang et Races apparentées
- Groupe 7 : Chiens d'arrêt
- Groupe 8 : Chiens rapporteurs de gibier - Chiens leveurs de gibier - Chiens d'eau
- Groupe 9 : Chiens d'agrément et de compagnie
- Groupe 10 : Lévriers

La répartition des chiennes en fonction du groupe cynophile est représentée dans la figure 14.

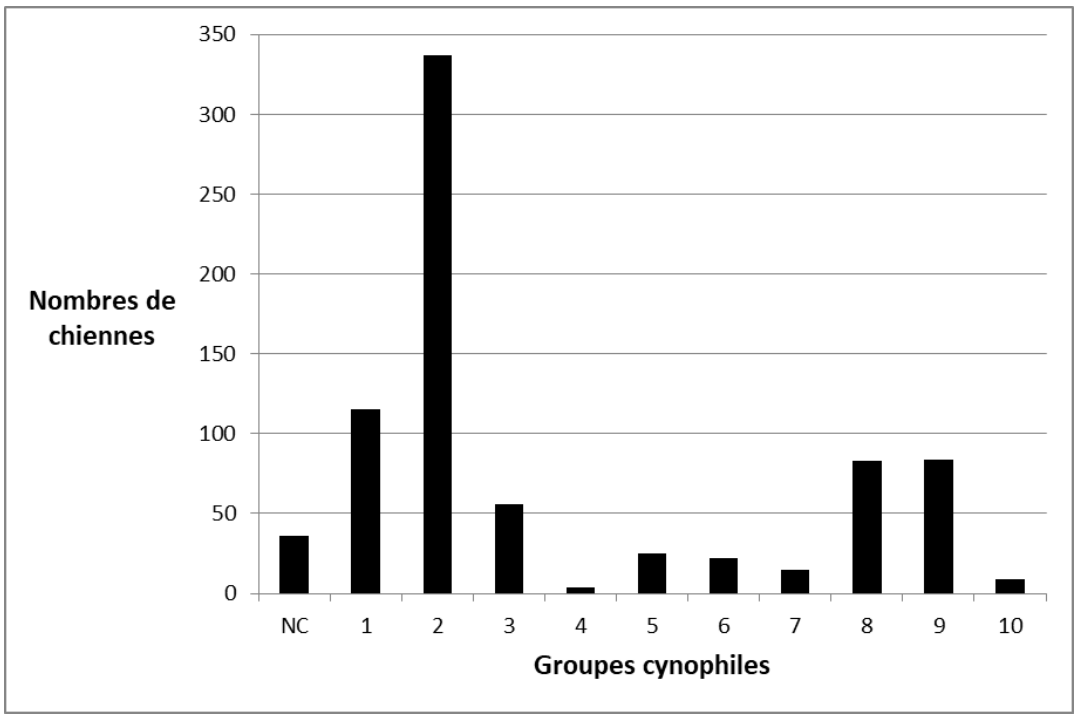

Figure 14 : Répartition des chiennes en fonction des groupes cynophiles
(NC = Non classée : chienne croisée, de race inconnue, ou race non reconnue par la FCI)

Le groupe 2 était largement représenté (42,9% des chiennes), suivi par le groupe 1 (14,6%) et le groupe 9 (10,6%).

Les races les plus représentées étaient le Terre Neuve (12,6% des chiennes), le Dogue Allemand (7,6%) et le Bouledogue Français (5,7%).

2) Age

L'âge n'était pas connu pour 134 chiennes (17,0%).

La répartition des chiennes en fonction de l'âge au moment de la présentation au CERREC est donnée dans la figure 15.

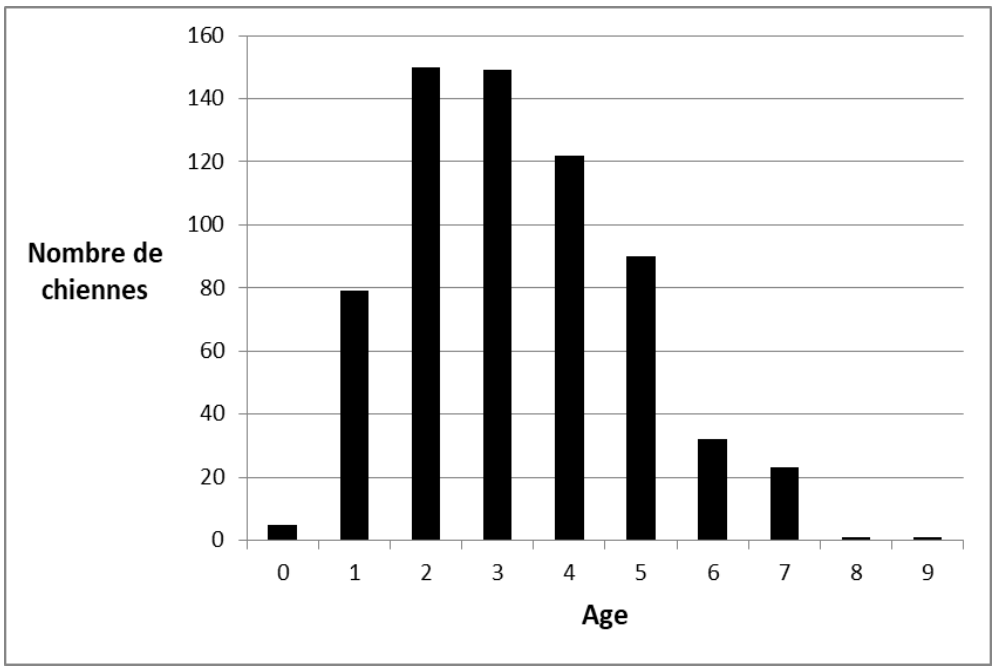

Figure 15 : Répartition des chiennes en fonction de l'âge au moment de la présentation au CERREC

L'âge moyen au moment de la présentation au CERREC était de 3,3 ans. 75,7% des chiennes inséminées étaient âgées de 5 ans ou moins.

3) Portées précédentes

Le rang de gestation n'était pas mentionné chez 61% des chiennes.

La répartition des chiennes en fonction du rang de gestation est présentée dans la figure 16.

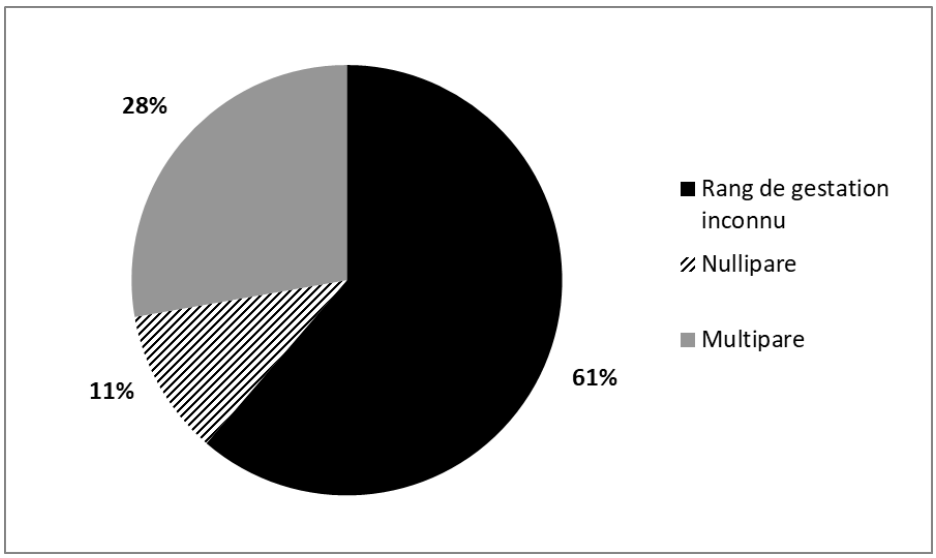

Figure 16 : Répartition des chiennes en fonction du rang de gestation

On remarque qu'il y avait 2 fois plus de chiennes multipares que de chiennes nullipares.

B) Suivi de chaleurs

1) Début du suivi de chaleurs

La date du début des chaleurs était inconnue ou non mentionnée pour 232 chiennes (29,5%).

Les chiennes étaient présentées en moyenne 7 jours après le début des chaleurs. L'intervalle entre le début des chaleurs et la présentation au CERREC pour le début du suivi variait entre 1 et 21 jours.

Le nombre de jours entre le début des chaleurs et le début du suivi de chaleurs est représenté dans la figure 17 sous la forme d'une courbe de fréquences cumulées.

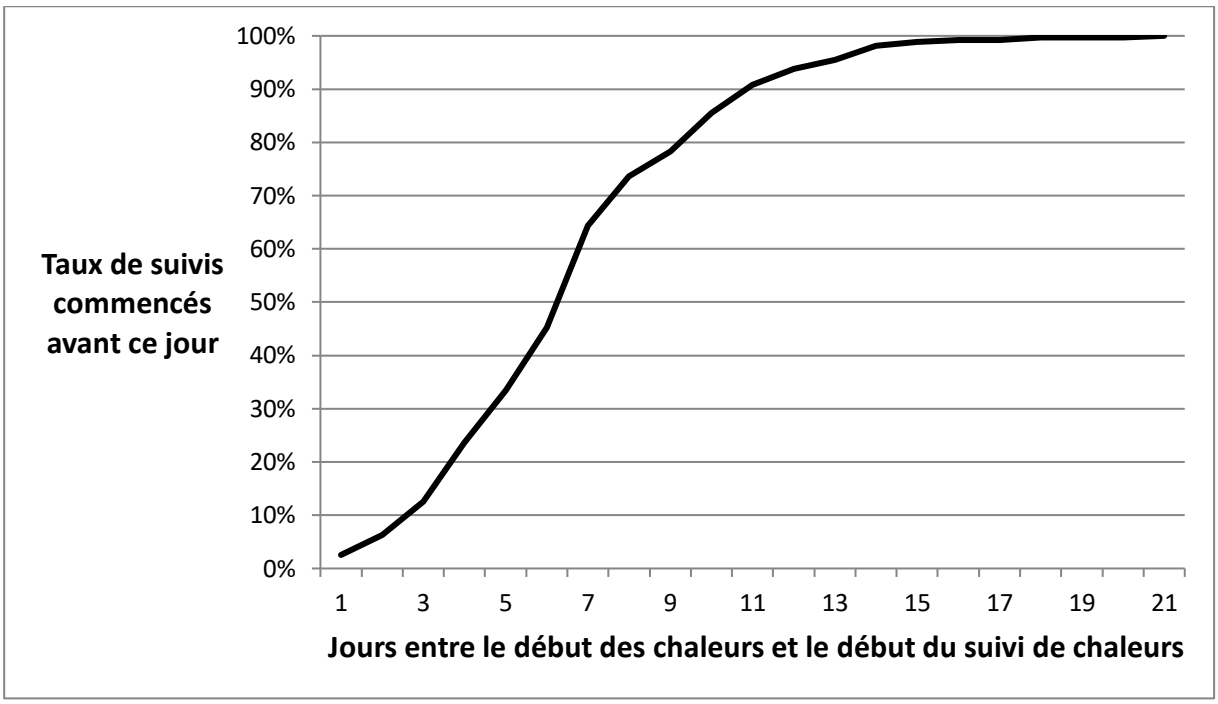

Figure 17 : Courbe des fréquences cumulées de la durée entre le début des chaleurs et le début du suivi de chaleurs

Cette courbe montre que la quasi-totalité des chiennes était présentée au cours des 2 premières semaines de chaleurs. On note également que 45% des chiennes étaient présentées avant le 6ème jour des chaleurs inclus, et que plus de de la majorité des chiennes était présentée avant le 7ème jour des chaleurs inclus.

2) Durée du suivi de chaleurs

La durée du suivi de chaleurs était définie comme le nombre de jours entre la première présentation de la chienne et le dernier dosage de progestéronémie. Elle était en moyenne de 6,5 jours.
Il est important de remarquer que pour 143 chiennes (18,2%), le suivi de chaleurs au CERREC n'a duré qu'un seul jour.

3) Détermination de la date d'ovulation

Au CERREC, des frottis vaginaux et des dosages de progestérone étaient réalisés systématiquement à chaque visite. L'intervalle entre 2 visites était généralement de 2 ou 3 jours, parfois plus au tout début des chaleurs.
Au CERREC, il était considéré que la progestéronémie à l'ovulation était comprise entre 25 et 30 nmol/l.

3 dosages de progestérone étaient réalisés en moyenne pour déterminer la date de l'ovulation. Le nombre de dosages réalisés variait entre 0 et 13.

4) Durée entre le début des chaleurs et l'ovulation

La durée moyenne entre le début des chaleurs et l'ovulation était de 12,3 jours. Le nombre de jours entre le début des chaleurs et l'ovulation est représenté dans la figure 18 sous la forme d'une courbe de fréquences cumulées.

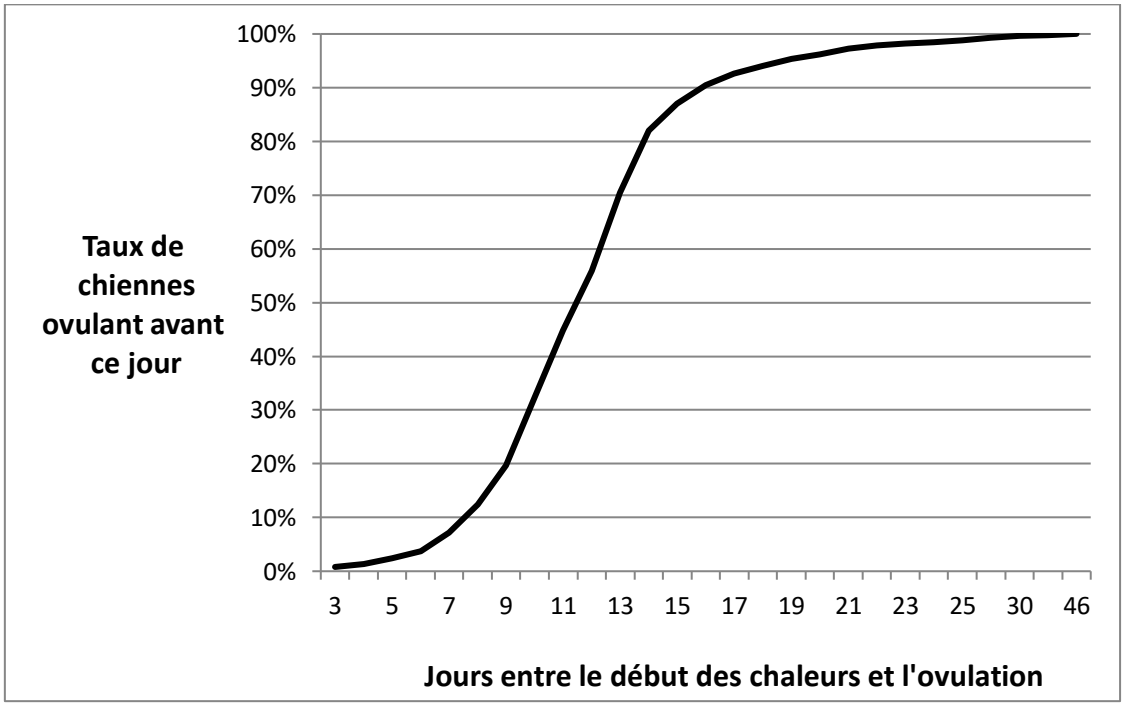

Figure 18 : Courbe des fréquences cumulées de la durée entre le début des chaleurs et l'ovulation

Cette courbe montre que les chiennent ont ovulé entre le 3ème et le 30ème jour des chaleurs. De plus, 20% des chiennes avaient ovulé avant le 9ème jour des chaleurs inclus.

C) Semence utilisée

1) Type de semence utilisé

Les différents types de semence utilisés sont représentés dans la figure 19.

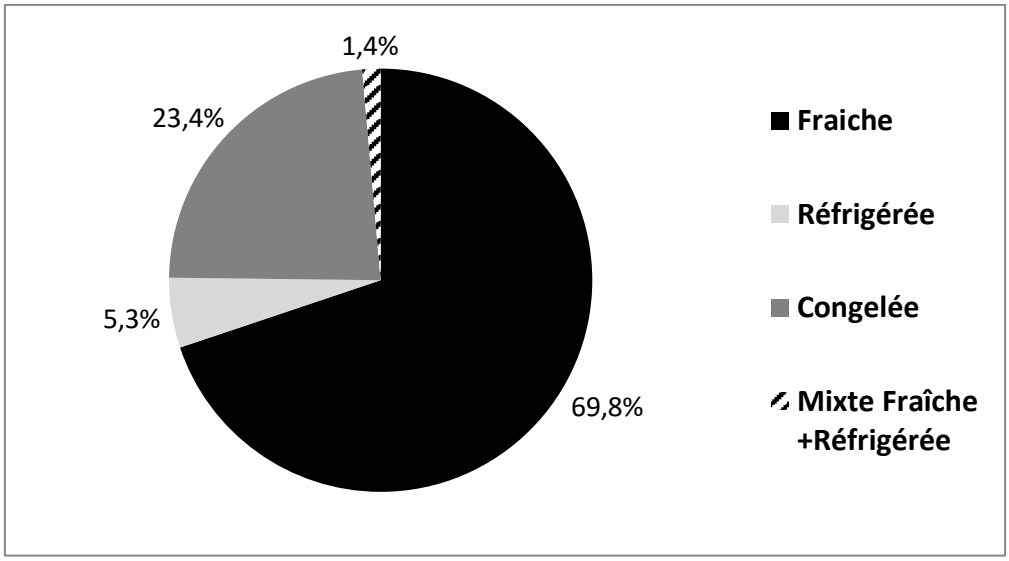

Figure 19 : Part des différents types de semence utilisés en insémination artificielle au CERREC

La semence fraiche était la plus utilisée (69,8% des cas), venait ensuite la semence congelée puis la semence réfrigérée.
Dans quelques cas (1,4%), l'insémination était réalisée en semence fraiche, puis de la semence était réfrigérée en vue d'une seconde insémination le lendemain.

2) Qualité de la semence utilisée

Après la récolte, la semence était systématiquement évaluée : volume des trois phases, mobilité, pourcentage de spermatozoïdes normaux, concentration.

La mobilité était appréciée de manière subjective au microscope et donnée en pourcentage. Le décompte des anomalies morphologiques était réalisé au microscope à contraste de phase et donné en pourcentage de spermatozoïdes normaux.

L'appréciation de la qualité globale de la semence était finalement réalisée ; la semence était qualifiée de satisfaisante, moyenne ou insuffisante sur la base du nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles, calculé en multipliant le nombre total de spermatozoïdes par le pourcentage de spermatozoïdes morphologiquement normaux et par le pourcentage de mobilité.

Au CERREC, il était convenu qu'une semence de qualité satisfaisante contenait au moins 300 millions de spermatozoïdes normaux et mobiles. Si une semence était jugée insuffisante, il était généralement conseillé au propriétaire de changer d'étalon. Au final, la plupart des semences utilisées étaient de très bonne qualité, même s'il arrivait rarement d'utiliser une semence de moins bonne qualité en connaissance de cause.

Concernant la semence réfrigérée et congelée, une appréciation de la mobilité était également réalisée juste avant l'utilisation.

D) Insémination artificielle

1) Nombre d'inséminations

La majorité des chiennes étaient inséminées une (45,9%) ou deux (52,3%) fois. 13 chiennes ont été inséminées trois fois et 1 chienne a été inséminée quatre fois.

Les inséminateurs conseillaient les propriétaires en fonction du suivi de chaleurs (estimation précise ou non de la date d'ovulation, possibilité d'inséminer au moment optimal ou non). Le nombre d'inséminations était finalement choisi par le propriétaire.

2) Date des inséminations par rapport à l'ovulation

Le(s) jour(s) de(s) insémination(s) par rapport à l'ovulation (notée J0) sont représentés sur les figures 20 et 21.

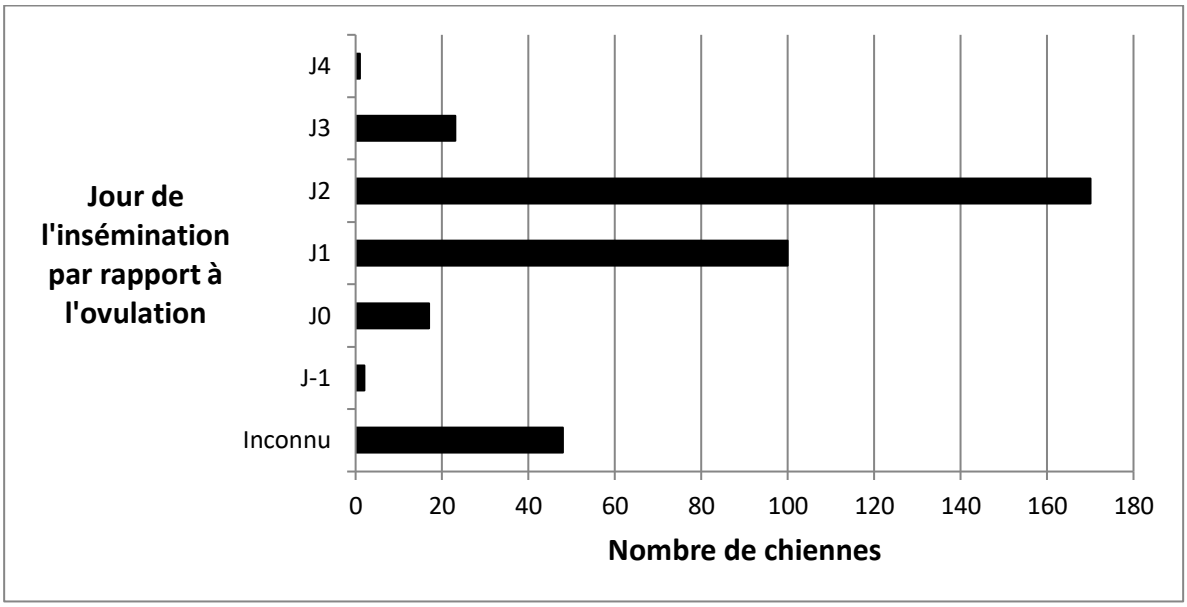

Figure 20 : Jour de l'insémination par rapport à l'ovulation chez les chiennes inséminées une seule fois

En excluant les résultats inconnus, 85,7% des chiennes inséminées une fois étaient inséminées le lendemain ou deux jours suivant la date présumée de l'ovulation. Une minorité de chiennes étaient inséminées le jour de l'ovulation ou trois jours après.

La date de l'insémination était considérée comme inconnue lorsque la date de l'ovulation n'était pas renseignée précisément. En effet :

- Certaines chiennes étaient suivies chez leur vétérinaire traitant et les valeurs de progestéronémie n'étaient pas retranscrites dans le dossier ;
- Certaines chiennes étaient tout simplement présentées trop tard ou trop tôt, mais l'insémination était quand même réalisée.

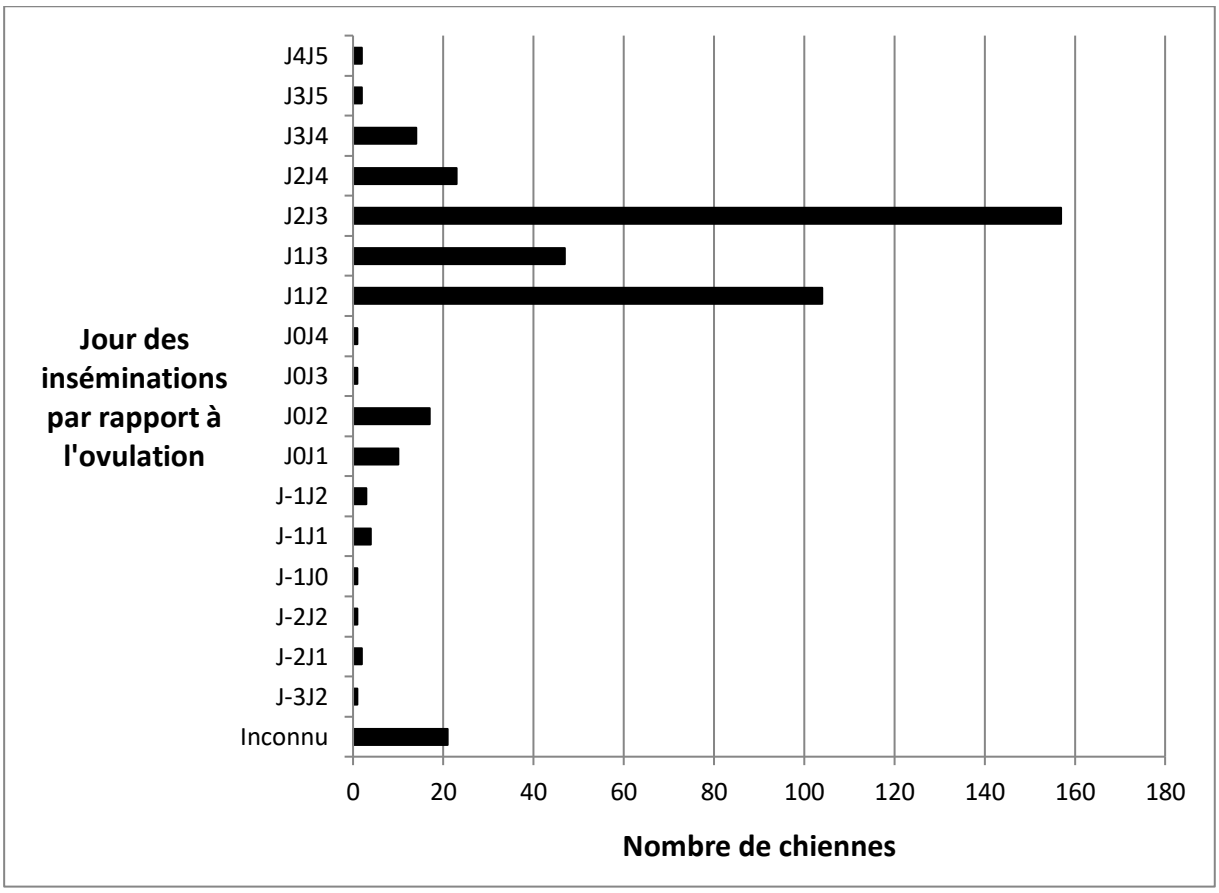

Figure 21 : Jours des inséminations par rapport à l'ovulation chez les chiennes inséminées deux fois

Les chiennes étaient majoritairement inséminées à J2 et J3 suivant l'ovulation et à J1 et J2 suivant l'ovulation.

3) Technique d'insémination

Pour 39 chiennes (5%), la technique d'insémination n'était pas renseignée dans le dossier.

Les inséminations étaient quasi-exclusivement intra-utérines avec 91% des inséminations. 2,5% des chiennes ont été inséminées en intra-vaginal, soit par échec de l'insémination transcervicale, soit par volonté du propriétaire.

Pour certaines chiennes divers types d'insémination ont été réalisés au cours d'un même cycle (par exemple : insémination intra-utérine par endoscopie, puis insémination intra-utérine norvégienne, ou bien : insémination intra-utérine, puis insémination intra-vaginale).

La proportion des différentes techniques d'insémination réalisées en fonction des années est représentée dans la figure 22.

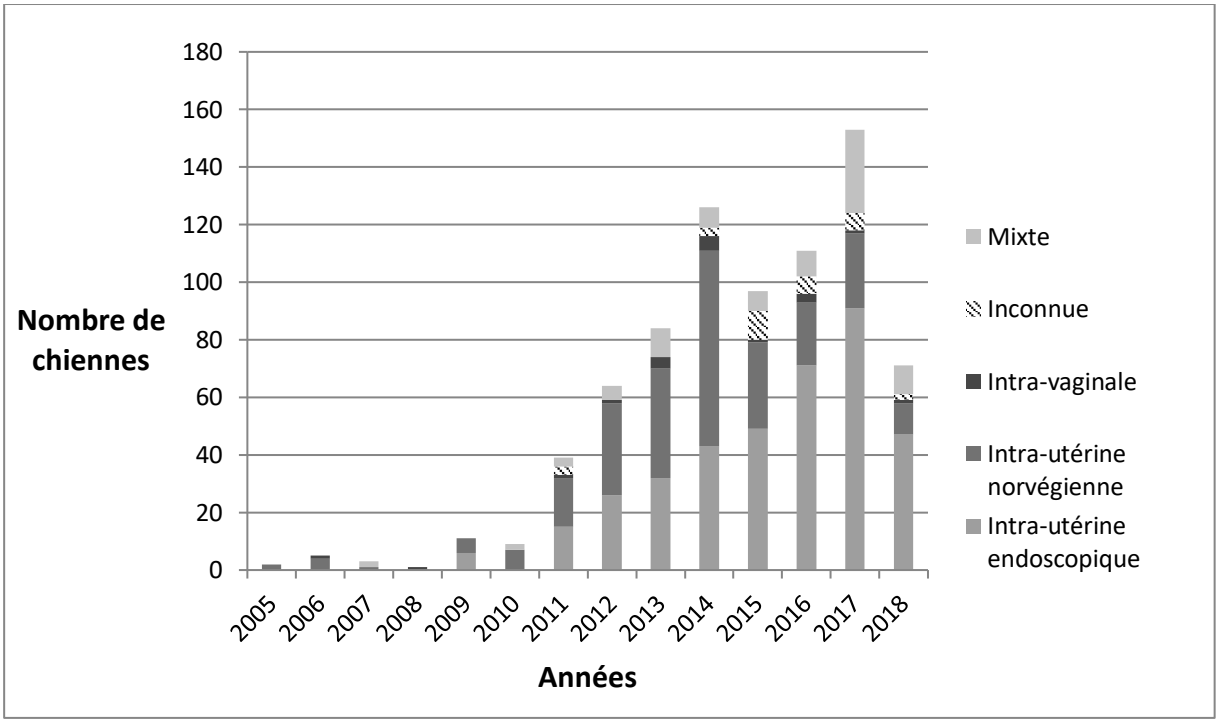

Figure 22 : Proportion des différentes des techniques d'insémination en fonction des années

Entre 2011 et 2017, on constate une augmentation du nombre de chiennes inséminées au cours des années, et un développement majeur de la technique d'insémination transcervicale par endoscopie.

E) Taux de gestation et prolificité globaux

En excluant les dossiers dont le résultat était inconnu, le taux de gestation global était de 73,8%. Le nombre moyen de chiots par portée était de 5,9.
La fertilité était de 78,3% en semence fraiche, 58,8% en semence réfrigérée et 61,3% en semence congelée.

F) Durée de gestation

Parmi les chiennes dont la réussite de l'insémination était connue, seulement 46,8% des durées de gestations étaient connues et ce après les appels téléphoniques.

La répartition des durées de gestation est présentée dans la figure 23.

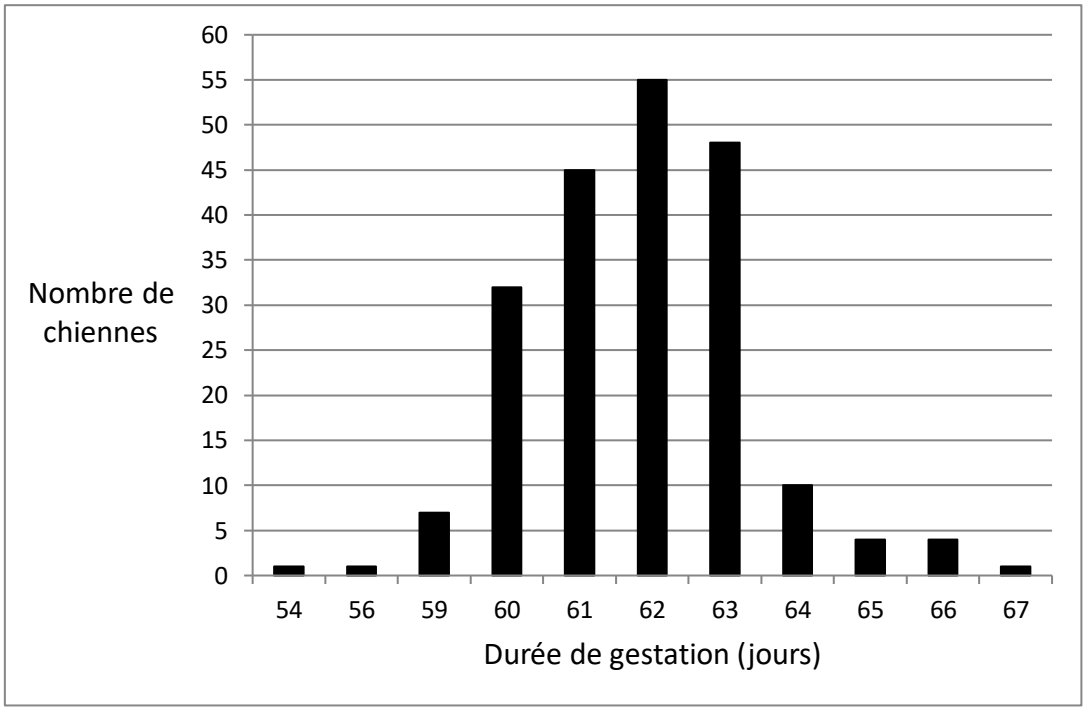

Figure 23 : Durée de gestation des chiennes inséminées au CERREC

La durée moyenne de gestation était de 61,8 jours.

La grande majorité des chiennes (71,2%) a mis bas entre 61 et 63 jours après l'ovulation, comme annoncé par le personnel du CERREC.

Toutefois, une part non négligeable des chiennes ont mis bas avant 61 jours : 15,4% des chiennes ont mis bas à 60 jours, et de manière globale 19,7% des chiennes ont mis bas entre 54 et 60 jours après l'ovulation. À noter que certaines dates sont physiologiquement impossibles et seront abordées dans la discussion.

G) Bilan sur l'étude descriptive

Cette étude décrit les résultats de 786 inséminations entre Novembre 2005 et Juin 2018.
Les chiennes de race Terre Neuve, Dogue Allemand et Bouledogue Français étaient largement représentées. La grande majorité des chiennes présentées pour insémination étaient âgées de moins de 5 ans.
Les chiennes étaient présentées en moyenne 7 jours après le début de chaleurs et le suivi de chaleurs durait en moyenne 6,5 jours. 3 dosages de progestérones étaient nécessaires en moyenne pour déterminer la date d'ovulation.
L'ovulation était confirmée lorsque la progestéronémie atteignait 25-30 nmol/L.
Les inséminations étaient majoritairement réalisées en semence fraiche, par méthode intra-utérine. Les chiennes étaient rarement inséminées plus de deux fois.
La fertilité globale était de 73,8%. La fertilité était de 78,3% en semence fraiche, 58,8% en semence réfrigérée et 61,3% en semence congelée.
Le nombre moyen de chiots par portée était de 5,9 chiots.
La durée moyenne de gestation était de 61,8 jours. Près de 20% des chiennes ont mis bas entre 54 et 60 jours après l'ovulation présumée.

III) Etude de quelques facteurs de performance

Dans cette partie, les résultats de fertilité et de prolificité ont été comparés en fonction de différents paramètres : race, âge, rang de gestation, prise d'antibiotiques, type de semence, qualité de la semence, nombre d'inséminations, timing de l'insémination, techniques d'insémination et inséminateur. Chaque paramètre a dans un premier temps été étudié seul à l'aide de tests de comparaison (chi-2 et somme des rangs). Par la suite, une régression logistique a été réalisée afin d'étudier ensemble les facteurs les plus pertinents, et ainsi limiter les biais d'interaction entre eux.

A) Influence du groupe de race

1) Fertilité

Le taux de fertilité selon le groupe de race est présenté dans le tableau II.

Tableau II : Taux de fertilité selon le groupe de race

Groupe de race	Taux de gestation	Effectif
NC (Non classé)	76,0%	25
1	61,8%	76
2	75,4%	272
3	74,4%	39
4	0,0%	1
5	77,3%	22
6	77,8%	18
7	44,4%	9
8	75,4%	61
9	83,3%	72
10	50,0%	6

Ces taux ont été comparés à l'aide d'un test du chi-2. Les groupes 4, 6, 7 et 10 ont été exclus car les effectifs étaient trop faibles. En comparant tous les autres groupes entre eux, les différences de taux de fertilité n'étaient pas significatives ($p = 0,08$).

Le test du chi-2 a une nouvelle fois été réalisé en effectuant des regroupements : les groupes NC, 2, 3, 5 et 8 ont été rassemblés car leurs taux de fertilité étaient similaires (entre 74,4% et 77,8%). Ce groupe de résultats intermédiaires a ensuite été comparé au groupe 1, dont le taux de fertilité semblait plus faible (61,8%), et au groupe 9, dont le taux de fertilité semblait plus élevé (83,3%). Cette fois-ci, la différence est apparue comme significative (p = 0,008).

2) Prolificité

Le nombre moyen de chiots par portée en fonction du groupe de race est représenté dans le tableau III.

Tableau III : Nombre moyen de chiots par portée selon le groupe de race

Groupe de race	**Nombre de chiots moyen par portée**	**Effectif**
NC (Non classé)	6,7	11
1	4,6	30
2	6,8	118
3	6	19
4	-	0
5	4,5	13
6	4,3	12
7	3,7	3
8	6,3	42
9	4,6	49
10	4,5	2

Le nombre de chiots par portée en fonction du groupe de race n'a été étudié que pour les groupes 1, 2, 8 et 9 en raison du faible effectif pour les autres groupes.
Il est apparu que la prolificité du groupe 2 était significativement meilleure que la prolificité du groupe 1 (p = 0,01) et celle du groupe 9 (p = 0,003).
De même, la prolificité du groupe 8 était significativement meilleure que la prolificité du groupe 1 (p = 0,023) et celle du groupe 9 (p = 0,028)

B) *Influence de l'âge*

1) Fertilité

Les taux de gestation selon l'âge de la chienne ont été calculés et comparés à l'aide d'un test du chi-2 d'indépendance.
En raison du faible effectif de chiennes d'âge inférieur à 1 an et supérieur à 6 ans, des regroupements ont été effectués afin de pouvoir réaliser le test du chi-2.
Les résultats sont présentés dans la figure 24.

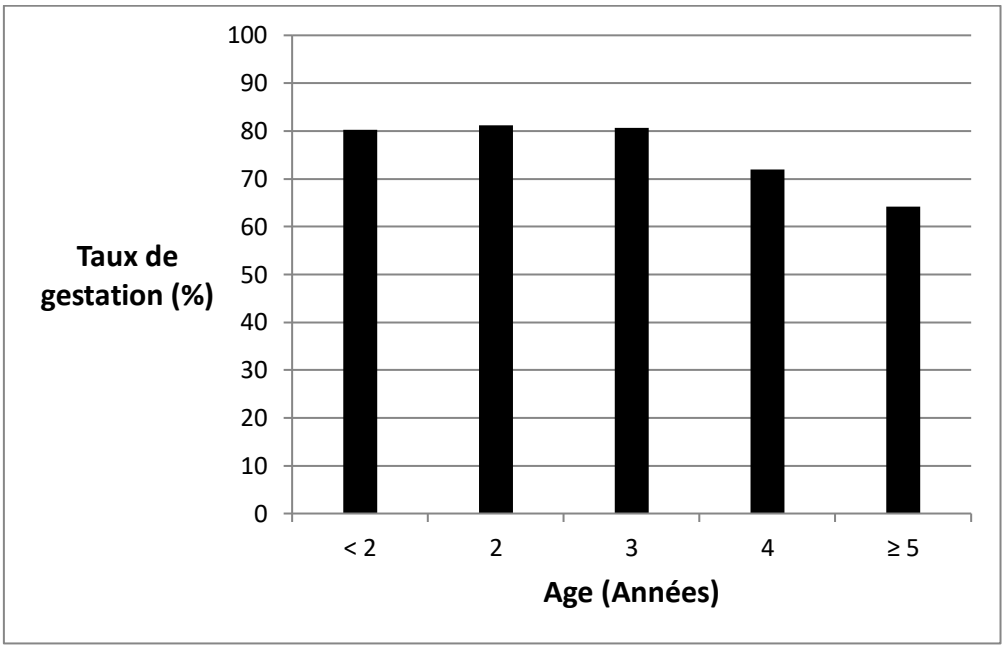

Figure 24 : Taux de gestation en fonction de l'âge des chiennes

Les taux de gestation étant relativement stables entre 1 et 3 ans (autour de 80%), on observe une nette diminution de la fertilité à 4 ans et encore plus à partir de 5 ans. Les différences observées sont significatives (p = 0,01).

2) Prolificité

Le nombre de chiots moyen par portée en fonction de l'âge de la chienne est reporté dans le tableau IV.

Tableau IV : Prolificité en fonction de l'âge de la chienne

Age de la chienne	**Nombre de chiots moyen par portée**	**Effectif**
< 2	6,23	44
2	6,19	69
3	6,09	58
4	5,15	48
≥ 5	4,88	41

Il semblerait qu'il y ait une diminution de la prolificité avec l'âge, néanmoins la différence observée n'est pas apparue comme significative (p =0,09).

C) Influence du rang de gestation

1) Fertilité

Les chiennes ont été classées en 2 groupes : nullipare et multipare. Un test du chi-2 d'indépendance a ensuite été réalisé. Les taux de fertilité étaient respectivement de 80,0% et de 75,8% pour les chiennes nullipares et multipares, et la différence n'était pas significative (p=0,59).

2) Prolificité

Le nombre moyen de chiots par portée était de 6,4 pour les chiennes nullipares et de 5,3 pour les chiennes multipares. La différence n'est pas apparue comme significative (p = 0,09).

D) Influence d'un traitement antibiotique

1) Fertilité

15,8% des chiennes ont reçu un traitement antibiotique au cours du suivi de chaleurs, et étaient donc sous traitement au moment de l'insémination. En effet, un grand nombre d'éleveurs consultent au CERREC pour infertilité. Pour ces chiennes, une bactériologie vaginale et une recherche de mycoplasmes sont généralement proposées, et un ou deux traitements antibiotiques peuvent être instaurés en conséquence. Si une souche bactérienne est présente en quantité majoritaire, un antibiogramme est demandé au laboratoire et le traitement antibiotique adéquat et compatible avec un début de gestation est administré. Par exemple, en cas de résultat positif et d'absence de résistance pour cette famille d'antibiotiques, de la céfalexine peut être prescrite à la dose de 15 mg/kg per os matin et soir pendant 3 semaines. En cas de présence de mycoplasmes en quantité trop importante (au-delà d'une dilution 10^{-4}), c'est un traitement à base de josamycine (famille des macrolides) à la dose de 25 mg/kg per os 2 fois par jour qui est généralement prescrit pour une durée de 3 semaines.

La fertilité des chiennes ayant reçu un traitement antibiotique a été comparée avec la fertilité des chiennes n'ayant pas reçu de traitement antibiotique grâce à un test du chi-2 d'indépendance. Le taux de gestation des chiennes sous traitement antibiotique au moment de l'insémination était de 73,3% et le taux de gestation des chiennes n'ayant pas reçu de traitement antibiotique était de 74%. La différence n'était pas significative (p= 0,99).

2) Prolificité

Le nombre moyen de chiots par portée était de 6,1 pour les chiennes ayant reçu un traitement antibiotique et de 5,8 pour les chiennes n'ayant pas reçu d'antibiotiques. La différence n'était pas significative (p = 0,5).

E) Influence du type de semence utilisé

1) Fertilité

Le taux de gestation selon le type de semence (fraîche, réfrigérée ou congelée) est représenté dans le tableau V.
Les chiennes inséminées en semence « mixte » c'est-à-dire plusieurs fois avec différents types de semence ont été exclues en raison du trop faible effectif.

Tableau V : Taux de réussite en insémination selon le type de semence

Semence	**Taux de gestation**
Fraîche	78,30%
Réfrigérée	58,80%
Congelée	61,30%

On observe un taux de gestation nettement plus élevé en semence fraîche qu'en semences réfrigérée et congelée. Les différences sont significatives (p=0,00009).

2) Prolificité

La prolificité lors d'insémination en semence réfrigérée n'a pas été étudiée en raison du trop faible nombre de résultats connus.

Le nombre moyen de chiots obtenus lors d'insémination en semence fraiche était de 6,1 contre 4,8 en semence congelée. La différence était significative (p = 0,002).

F) Influence de la qualité de la semence utilisée

Seule la semence fraiche a été étudiée car il s'agit de la semence la plus utilisée au CERREC et car les données concernant la qualité de la semence fraiche étaient directement accessibles dans les dossiers contrairement aux données concernant la semence congelée.

Il a été choisi d'étudier l'influence de la quantité de spermatozoïdes normaux et mobiles car ce paramètre reflétait au mieux la qualité de la semence dans sa globalité.
En fonction du nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles, la semence fraîche a été classée en quatre groupes. La fertilité et la prolificité associées à chaque groupe de qualité sont représentées dans le tableau VI.

Tableau VI : Fertilité et prolificité en fonction du nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles inséminés

Nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles (millions)	Taux de gestation	Nombre moyen de chiots par portée	Taille de l'échantillon
< 200	63,40%	4,8	41
[200 ; 300[	85,70%	5,3	42
[300 ; 400[	80,90%	5,9	47
> 400	81,50%	6,5	254

1) Fertilité

Il en ressort un taux de gestation nettement moins important si le nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles est inférieur à 200 millions. Les taux de gestation ont été comparés à l'aide d'un test du chi-2 et la différence était significative ($p = 0,016$).

2) Prolificité

Concernant la prolificité, on observe une augmentation significative de la prolificité lorsque le nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles augmente ($p = 0,048$).

G) Influence du nombre d'inséminations

1) Fertilité

Les taux de gestation en fonction du nombre d'inséminations (une ou deux) ont été comparés à l'aide d'un test du chi-2 d'indépendance. Les cas de trois inséminations ou plus ont été exclus en raison du faible effectif.

Toutes semences et méthodes confondues, le taux de gestation était de 71,8% lorsqu'une seule insémination était réalisée et de 75,2% lorsque deux inséminations étaient réalisées. La différence n'était pas significative (p = 0,4).

Le nombre d'inséminations a également été comparé en distinguant les types de semences utilisées (fraiche et congelée). Le nombre d'inséminations en semence réfrigérée n'a pas été étudié en raison du faible effectif.
Il n'a pas non plus été mis en évidence de différence significative entre le fait de réaliser une ou deux inséminations, que ce soit en semence fraîche (p = 0,2) ou congelée (p = 1).

2) Prolificité

Les nombres moyens de chiots par portée étaient respectivement de 6,6 et 5,4 avec une et deux inséminations, la différence étant jugée significative (p = 0,002).

H) Influence du timing de l'insémination

1) Cas d'une insémination unique en semence fraiche

Malheureusement, seules les inséminations réalisées à J1 et J2 ont pu être comparées car pour les autres dates, l'effectif était trop réduit.

La fertilité était de 70,8% et 80,5% pour les chiennes inséminées respectivement un jour après l'ovulation et 2 jours après l'ovulation, sans que la différence soit significative (p = 0,2).
Le nombre moyen de chiots par portée était respectivement de 7,8 et 6,6 chiots, la différence n'étant pas non plus significative (p= 0,1).

2) Cas de deux inséminations en semence fraiche

De la même manière que dans le cas d'une insémination unique, toutes les dates n'ont pas pu être comparées à cause du trop faible effectif. Seules les inséminations réalisées à J1J2 et J2J3 après l'ovulation étaient comparables.

Les taux de gestation étaient respectivement de 81% et 75% pour les chiennes inséminées à J1J3 après l'ovulation et à J2J3 jours après l'ovulation. La différence n'est pas apparue comme significative (p = 0,5).
Le nombre moyen de chiots par portée était de 5,5 chiots pour les 2 groupes.

I) Influence de la méthode d'insémination

Les deux techniques d'insémination transcervicales les plus employées, endoscopique et norvégienne, ont été comparées d'abord toutes semences confondues, puis en étudiant tour à tour les inséminations en semence fraiche et congelée.

L'étude des inséminations en semence réfrigérée n'a encore une fois pas été réalisée en raison du trop faible effectif.

1) Fertilité

Les taux de gestation selon la méthode d'insémination intra-utérine et selon le type de semence sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII : Taux de gestation selon la méthode d'insémination intra-utérine et le type de semence

		Méthode d'insémination	
		Norvégienne	Endoscopique
Semence	Toutes semences confondues	72,0%	74,5%
	Semence fraîche	77,0%	79,5%
	Semence congelée	51,4%	66,7%

Si la méthode endoscopique apparait supérieure à la méthode norvégienne, en particulier en semence congelée, les différences ne sont pas significatives (p> 0,05).

2) Prolificité

Le nombre moyen de chiots par portée était de 6,1 avec la méthode norvégienne et de 5,8 chiots avec la méthode endoscopique. Ces moyennes ont été comparées à l'aide du test de la somme des rangs et la différence n'était pas significative (p = 0,5).

J) Influence de l'inséminateur

5 inséminateurs ont été comparés. Les inséminateurs qui n'avaient pas réalisé assez d'inséminations ont été exclus pour pouvoir faire les tests de comparaison.

1) Fertilité

Les taux de gestation variaient entre 70,3% et 75,7% et la différence n'était pas significative (p = 0,9).

2) Prolificité

Le nombre moyen de chiots par portée variait de 5,1 à 7,7 et la différence n'était pas non plus significative (p = 0,064).

K) Bilan sur l'étude des facteurs de performance

Différents facteurs ont été étudiés un à un à l'aide de tests statistiques de comparaison, afin d'évaluer s'ils pouvaient avoir une influence sur la fertilité et la prolificité.
Le rang de gestation, la prise d'un traitement antibiotique, le timing de l'insémination, la méthode d'insémination endoscopique/norvégienne et l'inséminateur ne sont pas apparus comme des facteurs influençant les résultats de l'insémination artificielle.
En revanche, une influence significative du groupe de race, de l'âge, du type de semence et de la qualité de la semence utilisée a été mise en évidence.
Une influence significative du nombre d'inséminations sur la prolificité a également été établie, néanmoins ce résultat est à interpréter avec précaution et sera abordé en discussion.

IV) Régression logistique

Après avoir analysé différents facteurs un par un, indépendamment les uns des autres, et mis en évidence les facteurs déterminants, il semblait important d'analyser ces derniers ensemble, en tenant compte des interactions éventuelles entre eux.
Nous avons donc réalisé une régression logistique puis utilisé le critère d'information d'Akaike (AIC) afin de mettre en évidence l'association de facteurs la plus pertinente pour la prédiction du résultat d'une insémination.

Une régression logistique permet d'étudier un modèle explicatif, en identifiant et en précisant les effets de plusieurs facteurs sur une variable d'intérêt (ici, gestation ou absence de gestation) en prenant en compte les effets des autres facteurs. Le critère d'information d'Akaike est un nombre, permettant d'évaluer la qualité d'un modèle statistique et de mettre en évidence un éventuel modèle plus intéressant. Une fois la régression logistique effectuée avec un premier modèle, un premier AIC est indiqué. Le logiciel R STUDIO étudie ensuite d'autres modèles en retirant un à un les facteurs pris en compte dans le premier modèle, de sorte que l'AIC soit le plus faible possible (plus l'AIC est faible et meilleur est le modèle).

Dans notre cas, les facteurs pris en compte dans la régression logistique étaient :

- la race : Groupe 1 / Groupe 9 / Autres groupes ;
- l'âge : Moins de 5 ans / Plus de 5 ans ;
- le type de semence : Fraiche / Non fraiche (congelée ou réfrigérée) ;
- le nombre d'inséminations : 1 insémination / 2 inséminations et plus. Le nombre d'inséminations a été intégré dans la régression logistique malgré l'absence d'influence significative sur la fertilité dans l'étude précédente car ce paramètre fait l'objet de résultats controversés dans la littérature.

Finalement, le modèle dont l'AIC était le plus faible retenait 3 facteurs : la race, l'âge et le type de semence. Cependant, pour le facteur racial, le fait qu'une chienne soit de groupe 9 n'avait cette fois pas d'influence significative sur la fertilité. Seul le groupe 1 restait déterminant.

Après avoir étudié différents facteurs indépendamment les uns des autres, les facteurs les plus pertinents ont été intégrés dans une régression logistique afin de les étudier ensemble. L'âge et la race de la chienne, le type de semence et le nombre d'inséminations ont donc été pris en compte.
Les paramètres retenus comme ayant une action significative sur la fertilité étaient finalement la race, l'âge et le type de semence.

V) Discussion sur les résultats de l'étude descriptive

A) Echantillon

L'échantillon a été décrit selon la race des chiennes, leur âge et leur rang de gestation au moment de leur présentation au CERREC. Si la race était quasiment toujours mentionnée, la date de naissance et le rang de gestation ne figuraient pas dans les dossiers dans 17% des cas et 61% des cas, respectivement. La description de l'échantillon a donc pu manquer de précision, surtout en ce qui concernait les gestations antérieures.

B) Suivi de chaleurs

1) Début du suivi de chaleurs

Tout d'abord, la date du début des chaleurs n'était pas mentionnée pour 29,5% des chiennes. De plus, la date du début des chaleurs était obtenue par questionnement du propriétaire, or il n'est pas toujours aisé de déceler le début des chaleurs au jour près. L'analyse du suivi de chaleurs a donc pu manquer de précision.

D'après la courbe des fréquences cumulées, seulement 45% des chiennes étaient présentées avant le 6ème jour inclus. Or, nous avons vu précédemment qu'il était généralement conseillé de commencer le suivi de chaleurs entre le 5ème et le 6ème jour des chaleurs. Ce résultat montre que les propriétaires ne sont pas assez informés sur la réalisation optimale du suivi de chaleurs.

2) Durée du suivi de chaleurs

Un résultat notable était que, pour près de 20% des chiennes, la durée du suivi de chaleurs au CERREC n'était que d'un seul jour. Cela montre que de nombreux éleveurs font réaliser les frottis et les dosages de progestérone par leur vétérinaire traitant, puis se rendent au CERREC uniquement pour l'insémination artificielle.

3) Détermination de la date d'ovulation

Certaines chiennes étaient inséminées alors qu'aucun dosage de progestérone n'avait été réalisé au CERREC. Cela appuie la remarque précédente selon laquelle certains éleveurs présentent leur chienne au CERREC uniquement pour l'insémination, le suivi de chaleur étant réalisé ailleurs.

L'ovulation était généralement confirmée lorsque la progestéronémie était comprise entre 25 et 30 nmol/l. Toutefois, un point important à soulever est que l'interprétation de la progestéronémie pouvait être très différente entre les inséminateurs. Par exemple, pour une chienne, la progestéronémie le 23 Mars était à 21,7 nmol/l et le lendemain à 36,3 nmol/l. L'ovulation était notée le 24 Mars, alors qu'un autre inséminateur aurait noté l'ovulation le 23 Mars.

4) Durée entre le début des chaleurs et l'ovulation

La courbe des fréquences cumulées montrait que l'ovulation pouvait survenir tôt au cours des chaleurs. Par exemple, 20% des chiennes avaient ovulé avant le 9ème jour des chaleurs inclus, alors que d'après la courbe précédente 22% des suivis de chaleurs étaient commencés après 9 jours de chaleurs. Cela illustre bien l'importance de commencer précocement le suivi de chaleurs si l'on veut dater l'ovulation avec précision.

C) Insémination artificielle

Peu d'inséminations étaient répertoriées avant 2010. En fait, le nombre d'inséminations entre 2005 et 2010 n'était pas interprétable car une partie des dossiers n'était pas accessible au moment de l'étude.
Le nombre d'inséminations en 2018 correspond aux inséminations entre Janvier 2018 et Juin 2018, date de la fin de la récolte de données, ce qui explique le faible nombre par rapport aux années précédentes.

D) Taux de gestation et prolificité globaux

Dans de nombreux cas, la réussite de l'insémination n'était pas mentionnée dans le dossier. Environ 200 appels ont été passés afin de préciser au mieux les résultats de cette étude. À la suite de l'enquête téléphonique, il restait 185 résultats inconnus soit 23,5% des dossiers d'insémination, ce qui est globalement satisfaisant.

Il semble important de préciser que la grande majorité des propriétaires contactés ont répondu à l'enquête. De plus, nous avons remarqué que les propriétaires ou éleveurs appréciaient d'être contactés pour des nouvelles, même plusieurs années après leur passage au CERREC. Enfin, sans preuve chiffrée, il a également été remarqué que la majorité des propriétaires appelés annonçaient un résultat d'insémination positif, et un avis satisfaisant concernant la prise en charge au CERREC.

Suite à ces observations, il serait peut-être intéressant d'établir un système de communication sur les semaines, mois qui suivent l'insémination ; cela permettrait à la fois d'affiner les statistiques et de conserver une relation client. On pourrait penser par exemple à un mail ou à une lettre (plus personnelle) automatisés en s'inspirant de ce qui se fait en clientèle vétérinaire pour les rappels de vaccination par exemple.

En ce qui concerne les taux de gestation, il apparait que les résultats en semence fraiche et congelée sont conformes aux résultats de la littérature. La fertilité en semence réfrigérée semble plus faible comparativement aux données bibliographiques. Cela sera discuté ultérieurement (discussion sur l'influence du type de semence).

E) Durée de gestation

19,7% des chiennes ont mis bas entre 54 et 60 jours après l'ovulation, alors qu'au CERREC, il est admis que la durée de gestation est de 61 à 63 jours après l'ovulation.
Ce résultat confirme donc l'impression que certaines durées de gestation étaient « trop courtes ».

3 hypothèses sont envisageables pour expliquer ces résultats :

- un problème au niveau de la récolte de données. En effet, la date de mise bas n'était que très rarement inscrite dans les dossiers initialement. La plupart des dates de mise bas exposées dans cette étude ont été obtenues après appels téléphoniques, passés

parfois jusqu'à 2 ans après l'insémination. Si, subjectivement, les éleveurs contactés avaient l'air très investis et plutôt sûrs des dates fournies, une erreur de quelques jours reste possible. D'autant plus que pour une chienne, la durée de gestation de 54 jours était physiologiquement impossible (en dessous de 56 jours de gestation, les fœtus canins ne sont pas viables) ;

- l'existence de césariennes programmées chez les races à fort risque de dystocie, comme par exemple le bouledogue français, fortement représenté dans notre échantillon. Chez ces races, une césarienne peut être programmée entre 58 et 60 jours de gestation. Or, cette information n'a pas été prise en compte dans l'étude ;
- une erreur concernant la détermination de la date d'ovulation, qui serait en réalité plus précoce qu'annoncée. Au CERREC, l'ovulation est généralement confirmée pour une progestéronémie entre 25 et 30 nmol/L. Hors, certains auteurs considèrent que l'ovulation est confirmée entre 4 et 10 ng/ml, soit entre 12 et 30 nmol/L environ (8,13,14). L'interprétation de la progestéronémie est donc bien différente entre les consultants. Nous avons d'ailleurs pu le constater au sein même du personnel du CERREC dans une partie précédente.

Il apparaît finalement que, pour être en mesure de tirer des conclusions précises, les informations concernant la mise-bas devraient être renseignées rapidement dans les dossiers, au travers d'une enquête comme suggéré précédemment.

VI) Discussion sur l'étude des facteurs de performance

A) Influence du groupe de race

Dans cette étude, la fertilité était significativement plus faible pour le groupe 1 et significativement plus élevée pour le groupe 9, comparativement aux autres groupes réunis.

L'influence du groupe de race sur la fertilité n'a jamais fait l'objet d'études. En revanche, selon les études, certaines races apparaissent plus fertiles que d'autres. Une étude a mis en évidence de très bons résultats chez le Greyhound, avec un taux de gestation de 87,5% chez 137 chiennes inséminées une seule fois avec la méthode intra-utérine endoscopique et en semence congelée (56). Une autre étude sur 1203 chiennes a mis en évidence une fertilité significativement meilleure chez le Greyhound et le Labrador, avec des taux de gestation de 88% et 94%, contre 71,3% pour toutes les autres races ($p < 0,001$) (17).

La prolificité est apparue significativement plus élevée pour les groupes 2 et 8 par rapport aux groupes 1 et 9. L'influence du groupe de race sur la prolificité n'a pas non plus été étudiée par d'autres auteurs. En effet, il a été montré que la taille de la portée augmente significativement avec le poids de la chienne. Or, selon la classification de la FCI, les races sont regroupées selon leurs aptitudes et non selon leur taille. Le groupe de race n'apparaît donc pas clairement comme un facteur pertinent de variation de la prolificité. Par conséquent, d'autres études seraient intéressantes pour appuyer nos observations.

B) Influence de l'âge

Cette étude a mis en évidence une fertilité significativement diminuée avec l'augmentation de l'âge. Ce résultat s'accorde avec ceux d'autres auteurs, qui avaient également montré une influence de l'âge sur la fertilité. Une étude sur 1203 chiennes avait mis en évidence une diminution linéaire de la fertilité avec l'augmentation de l'âge (17). Une autre étude avait obtenu des taux de gestation significativement plus faibles chez les chiennes de plus de 6 ans, comparativement à des chiennes de moins de 6 ans (57).

Concernant la prolificité, la diminution du nombre moyen de chiots par portée avec l'augmentation de l'âge n'est pas apparue comme significative. Malgré tout, ce résultat va dans le même sens que les résultats d'autres études, où la prolificité diminuait significativement avec l'augmentation de l'âge des chiennes (17,58).

C) Influence du rang de gestation

Il n'a pas été mis en évidence de différence significative de fertilité entre les chiennes nullipares et multipares. Ce résultat va à l'encontre du résultat d'une étude sur 202 chiennes, où la fertilité était apparue significativement meilleure chez les chiennes multipares (85,9%) par rapport aux chiennes primipares (70,4%) (47). Les résultats dans la présente étude sont très certainement biaisés par le manque de données concernant les portées antérieures (le rang de gestation n'était pas connu dans 61% des cas).

D) Influence d'un traitement antibiotique

Il n'a pas été mis en évidence d'influence d'un traitement antibiotique sur la fertilité et la prolificité. Ces résultats permettent d'infirmer l'hypothèse selon laquelle un traitement antibiotique ou un antécédent d'infertilité (les deux étant étroitement liés) seraient associés à une diminution des résultats globaux du CERREC en insémination artificielle.

E) Influence du type de semence utilisé

Les taux de fertilité étaient de 78,30% en semence fraiche, 58,80% en semence réfrigérée et 61,30% en semence congelée. La fertilité lors d'insémination en semence fraiche est apparue significativement meilleure que lors d'insémination en semence congelée et réfrigérée, et la fertilité en semence congelée est apparue significativement meilleure qu'en semence réfrigérée.

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de la littérature (détaillés dans la partie bibliographique) en ce qui concerne la semence fraiche et la semence congelée. Par contre, un tel écart entre la semence fraiche et la semence réfrigérée est surprenant puisque nous avons vu que les résultats en semence fraiche et réfrigérée pouvaient être équivalents.

Il y a 2 hypothèses pour expliquer les résultats en semence réfrigérée :

- le faible effectif : le taux de gestation de 58,8% correspond à un taux calculé à partir de seulement 34 inséminations, contre 434 pour les inséminations en semence fraiche et 124 pour les inséminations en semence congelée. Les résultats ont donc pu manquer de précision ;

- pour toutes les chiennes inséminées en semence réfrigérée, les semences ne provenaient pas du CERREC mais étaient envoyées depuis d'autres centres d'insémination. Or la qualité de la semence peut considérablement varier selon la durée de conservation avant utilisation, le dilueur et le contenant utilisés (59,60). Il est donc tout à fait plausible d'envisager une altération au cours du transport ou une durée de réfrigération trop longue avant l'arrivée et l'utilisation au CERREC.

Concernant la prolificité, celle-ci était significativement meilleure en semence fraiche par rapport à la semence congelée. Ce résultat est également en accord avec les résultats de la littérature.

F) Influence de la qualité de la semence utilisée

Dans cette étude, la fertilité est apparue significativement plus faible lorsque le nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles était en dessous de 200 millions, alors que les résultats étaient plutôt similaires au-delà de 200 millions. Ces résultats indiquent donc que le seuil habituel du CERREC de 300 millions de spermatozoïdes normaux et mobiles pour qualifier une très bonne semence pourrait être abaissé à 200 millions.

Concernant la prolificité, elle était significativement plus grande lorsque le nombre de spermatozoïdes normaux et mobiles augmentait. Ce résultat laisse imaginer que l'on pourrait facilement augmenter la prolificité d'une chienne en inséminant plus de spermatozoïdes. Pourtant, il parait évident qu'on ne peut pas obtenir autant de chiots d'une chienne Chihuahua que d'une chienne Labrador à quantité égale de spermatozoïdes. Le résultat est donc peu interprétable du fait de l'existence d'un biais de confusion, à savoir la race des chiens. En effet, la quantité de spermatozoïdes par éjaculat est positivement corrélée à la taille du chien (37), et plus une chienne est de grande race plus elle est susceptible d'avoir beaucoup de chiots.

G) Influence du nombre d'inséminations

Dans cette étude, il n'a pas été mis en évidence de différence de fertilité entre le fait de réaliser une ou deux inséminations.
D'après divers travaux, l'intérêt de réaliser 1 ou 2 inséminations n'est pas clairement établi. Certains auteurs n'ont pas obtenu de meilleurs taux de gestation en réalisant plusieurs inséminations (17,51,57). D'autres ont pu obtenir des taux de gestation significativement

meilleurs en multipliant les inséminations en intra-vaginal mais pas en intra-utérin (50,54). Lors d'une étude réalisée il y a 10 ans au CERREC, une amélioration significative de la fertilité avait été mise en évidence lorsque 2 inséminations étaient réalisées, toutes méthodes confondues (intra-vaginale ou intra-utérine) et tous types de semences confondus (3).
Finalement, une étude sur 526 chiennes suggère une hypothèse importante, selon laquelle le nombre d'inséminations réalisées importe peu si l'insémination est réalisée au moment optimal et avec une semence de qualité. En comparant tous les résultats d'insémination artificielle, la fertilité était significativement améliorée lorsque deux inséminations étaient réalisées. Mais en ne prenant que les résultats d'inséminations réalisées au moment optimal (défini dans l'étude comme le fait de réaliser au moins une insémination 2 ou 3 jours après la date présumée de l'ovulation), il n'y avait alors pas de différence significative entre le fait de réaliser une ou deux inséminations (57).

Au CERREC, les suivis de chaleurs sont réalisés de manière plutôt rigoureuse, et la décision de réaliser 1 ou 2 inséminations est clairement influencée par le timing de la première insémination (l'insémination est généralement unique si elle est réalisée au moment optimal, et doublée si le personnel considère que la première insémination n'était pas réalisée au moment optimal). Par conséquent, cette hypothèse peut tout à fait s'appliquer aux résultats du CERREC.

En ce qui concerne la prolificité, celle-ci était significativement plus faible lorsque deux inséminations étaient réalisées. Les résultats obtenus sont surprenants voire improbables et mettent en évidence un biais. Le fait d'obtenir moins de chiots en réalisant 2 inséminations qu'avec une seule insémination pourrait laisser suggérer que les éleveurs qui réalisent une seule insémination au CERREC font également une saillie naturelle ou une autre insémination ailleurs.
De plus, on pourrait imaginer un biais de données manquantes ; du fait de l'absence de nouvelles de la part des propriétaires et de l'absence de la prise de nouvelles régulières de la part du CERREC, le nombre de chiots était connu dans seulement 38% des cas.
Dans la littérature, l'influence du nombre d'inséminations sur le nombre de chiots est controversée de la même manière que pour la fertilité. Certains auteurs n'ont pas mis en évidence de différence significative de prolificité (17,51), tandis que d'autres obtenaient de meilleurs résultats en réalisant 2 inséminations (50,57).

H) Influence du timing de l'insémination

Il avait été choisi ici de distinguer les inséminations en semence fraiche et congelée, afin d'éviter un biais du fait que le jour de l'insémination dépend inévitablement du type de semence, et que le résultat de l'insémination dépend également du type de semence. Toutefois, l'étude du timing de l'insémination en semence congelée n'a pas pu être réalisée car l'effectif était trop faible pour réaliser un test du chi-2. Cette étude aurait été intéressante car la moindre qualité de la semence congelée par rapport à la semence fraiche impose un timing beaucoup plus précis pour l'insémination.

1) Cas d'une insémination unique en semence fraiche

Il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre le fait d'inséminer à J1 après l'ovulation ou à J2 après l'ovulation. Ce résultat indique qu'une insémination en semence fraiche peut être réalisée indifféremment un jour après l'ovulation ou 2 jours après l'ovulation. Ce résultat était attendu car nous avons vu précédemment que la viabilité de la semence fraiche dans les voies génitales de la chienne est de plusieurs jours.

2) Cas de deux inséminations en semence fraiche

Il n'y avait pas de différence significative entre le fait d'inséminer à J1J2 après l'ovulation ou à J2J3 après l'ovulation. Ce résultat permet lui aussi, comme attendu, de conclure à une équivalence de ces 2 timings d'insémination.

L'objectif ici était de comparer les résultats lorsque l'insémination était réalisée au moment optimal et lorsqu'elle l'était moins. Au CERREC, pour diverses raisons (disponibilité de l'étalon, week-end, etc.), il arrivait que l'insémination soit légèrement avancée ou retardée par rapport à la date voulue. Malheureusement, pour des raisons d'effectifs, seules des dates optimales d'inséminations étaient comparables. Il semble donc logique de ne pas avoir obtenu de différences significatives de résultats.

I) Influence de la méthode d'insémination

La comparaison des méthodes endoscopique et norvégienne n'a pas mis en évidence de différence significative de fertilité et de prolificité. Ce résultat indique donc que ces deux méthodes d'insémination transcervicales sont équivalentes, ce qui était attendu car, dans la mesure où elles sont correctement réalisées, le dépôt de la semence doit se faire dans les deux cas en intra-utérin.

J) Influence de l'inséminateur

La fertilité et la prolificité ont été étudiées en fonction de l'inséminateur, dans l'hypothèse où la technicité pourrait avoir un effet sur ces résultats. En effet, les inséminateurs du CERREC n'ont pas le même niveau d'expérience puisqu'il y a des professeurs et des résidents en formation.
Il n'a pas été mis en évidence de différence significative de résultats entre les inséminateurs, ce qui indique que les différents inséminateurs du CERREC sont tous aussi performants, quel que soit leur niveau de formation.

CONCLUSION

La popularité grandissante du chien de race pousse l'éleveur et le vétérinaire dans une quête d'amélioration constante de leurs performances. Le CERREC propose depuis plus de 20 ans des services d'aide à la reproduction aux propriétaires de carnivores domestiques, et s'inscrit plus récemment dans une démarche d'amélioration continue au travers de la certification ISO 9001 : 2015 de ses activités.

Ce travail a consisté en une étude rétrospective portant sur 786 inséminations réalisées au CERREC entre 2005 et 2018. Les données extraites des dossiers cliniques ont été complétées à l'occasion d'une enquête téléphonique.

Les taux de fertilité, la prolificité et la durée de gestation ont été analysés en tenant compte de facteurs tels que la qualité et la nature de la semence utilisée, le nombre d'inséminations et les techniques employées, l'âge, la race, le rang de portée et les antécédents de reproduction de la chienne, … mais aussi le vétérinaire consultant et le délai de prise de décision par rapport à la datation de l'ovulation. Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à une étude statistique descriptive permettant d'identifier les facteurs déterminants, et nous avons complété ce travail dans un second temps par une étude de régression logistique permettant de mettre en évidence les éventuelles interactions entre ces composantes.

Il ressort de ce travail que les taux de fertilité et la prolificité sont conformes aux données de la littérature, mais que l'utilisation de semences réfrigérées est moins satisfaisante, probablement en raison d'une moindre qualité des échantillons reçus. Les performances de l'équipe sont indépendantes du consultant ayant pratiqué l'insémination et de la technique employée (cathéter norvégien ou endoscopie). Le nombre d'inséminations réalisées ne contribue pas à améliorer le pronostic de gestation ou la prolificité de manière significative, tandis que l'âge de la chienne demeure un facteur préjudiciable, notamment lorsqu'elle entre dans sa 5ème année.

Notre étude a également permis de mettre en évidence des pistes d'amélioration des modes opératoires du CERREC pour la consolidation des informations résultant du travail réalisé, notamment un recueil plus précoce et plus proactif du nombre de chiots nés au terme de la gestation prévue.

BIBLIOGRAPHIE

1. SOCIETE CENTRALE CANINE. Stats LOF 2008 [Internet]. 2009 [cité 3 juin 2019]. Disponible sur : https://www.centrale-canine.fr/

2. SOCIETE CENTRALE CANINE. Le chien de race en 2018 : Bousculades dans le Top 20 du LOF [Internet]. 2019 [cité 3 juin 2019]. Disponible sur : https://www.centrale-canine.fr/

3. BARTHELEMY C. Etude statistique des résultats d'inséminations réalisées au CERREC depuis 1995 [Thèse de doctorat vétérinaire (Lyon)]. 2009. 116 p.

4. ROSTAGNAT L. Contribution à l'étude de l'insémination artificielle dans l'espèce canine : analyse des dossiers du Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et en Elevage des Carnivores [Thèse de doctorat vétérinaire (Lyon)]. 2003. 148p.

5. COLLIN B. Anatomie du chien. Liège: Editions Derouaux Ordina; 2003. 562 p.

6. DE LAHUNTA A, EVANS HE. Miller's anatomy of the dog. Fourth Edition. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier; 2013. 850 p.

7. FONTBONNE A, LEVY X, FONTAINE E, GILSON C. Guide pratique de reproduction clinique canine et féline. Paris: Editions Med'Com; 2007. 272 p.

8. JOHNSTON SD, ROOT KUSTRITZ MV, OLSON PNS. Canine and feline theriogenology. 1st ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2001. 592 p.

9. V. ROOT KUSTRITZ M. Managing the Reproductive Cycle in the Bitch. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2012 ;42(3):423-37.

10. PINEDA MH. McDonald's veterinary endocrinology and reproduction. 5th edition. Armes: Iowa State Press; 1991. 597 p.

11. DUMON C, FONTBONNE A. Reproduction du chien et du chat. P.M.C.A.C. 1992. 289 p. (Les indispensables de l'animal de compagnie).

12. FONTBONNE A, BUFF S, GARNIER F. Données récentes en physiologie et endocrinologie sexuelles dans l'espèce canine. Point Vét. 2000 ;31(209):27-33.

13. BOGAERTS P. Détermination de l'ovulation chez la chienne. Point Vét. 2008 ;39(Numéro spécial):7-12.

14. GOGNY A. Comment réaliser un suivi de chaleurs chez la chienne. Dépêche Tech. 2018 ;(157):6-11.

15. CONCANNON PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. Anim Reprod Sci. 2011 ;124(3-4):200-210.

16. CONCANNON P, WHALEY S, LEIN D, WISSLER R. Canine gestation length : variation related to time of mating and fertile life of sperm. Am J Vet Res. 1983 ;44(10 1819-1821.

17. HOLLINSHEAD FK, HANLON DW. Factors affecting the reproductive performance of bitches: A prospective cohort study involving 1203 inseminations with fresh and frozen semen. Theriogenology. 2017 ;101:62-72.

18. MIR F, BILLAULT C, FONTAINE E, SENDRA J, FONTBONNE A. Estimated pregnancy length from ovulation to parturition in the bitch and its influencing factors : A retrospective study in 162 pregnancies. Reprod Domest Anim. 2011 ;46(6):994-8.

19. DE CRAMER K, NÖTHLING J. Predicting parturition and timing cesarean section in the bitch, evidence and questions (Towards fixed date, fixed time preparturient cesarean sections in bitches). Reprod Domest Anim. 2019 ;54(Supplément 2):9-10.

20. FCI. Règlement international d'élevage de la FCI [Internet]. 1979 [cité 1 juill 2019]. Disponible sur : http://fci.be/fr/Elevage-42.html

21. FONTBONNE A. Faire reproduire son chien ou sa chienne. Les clés d'une pratique réussie. L'Isle en Dodon: Editions Maradi; 1996. 303 p.

22. DUMON C. Insémination artificielle dans l'espèce canine : actualités. Bull Académie Vét Fr. 2007 ;160(2):133-41.

23. BUFF S, SALESSE H. Suivi de chaleurs chez une chienne. Point Vét. 2000 ;31(208):65-8.

24. GLORIA A, CONTRI A, CARLUCCIO A, ROBBE D. Blood periovulatory progesterone quantification using different techniques in the dog. Anim Reprod Sci. 2018 ;192:179-84.

25. LINDSAY FEF. The normal endoscopic appearance of the caudal reproductive tract of the cyclic and non-cyclic bitch: post-uterine endoscopy. J Small Anim Pract. 1983 ;24(1):1-15.

26. TAMS TR, éditeur. Small animal endoscopy. St. Louis, Mo. u.a: C.V. Mosby Company; 1990. 426 p.

27. DAVIDSON AP, BAKER TW. Reproductive Ultrasound of the Bitch and Queen. Top Companion Anim Med. 2009 ;24(2):55-63.

28. WALLACE SS, MAHAFFEY MB, MILLER DM, THOMPSON FN, CHAKRABORTY PK. Ultrasonographic appearance of the ovaries of dogs during the follicular and luteal phases of the estrous cycle. Am J Vet Res. 1992 ;53(2):209-15.

29. SILVA LDM, ONCLIN K, VERSTEGEN JP. Assessment of ovarian changes around ovulation in bitches by ultrasonography, laparoscopy and hormonal assays. Vet Radiol Ultrasound. 1996 ;37(4):313-20.

30. NAUTRUP CP, TOBIAS R, BOARD V. Guide pratique d'échographie canine et féline. Paris: Editions Méd'com; 2005. 400 p.

31. VERSTEGEN JP, ONCLIN K, IGUER-OUADA M. Long-term motility and fertility conservation of chilled canine semen using egg yolk added Tris–glucose extender : In vitro and in vivo studies. Theriogenology. 2005 ;64(3):720-33.

32. ENGLAND GCW, PONZIO P. Comparison of the quality of frozen-thawed and cooled-rewarmed dog semen. Theriogenology. 1996;46(1):165-71.

33. BOUCHER JH, FOOTE RH, KIRK RW. The evaluation of semen quality in the dog and the effects of frequency of ejaculation upon semen quality, libido, and depletion of sperm reserves. Cornell Vet. 1958 ;48(1):67-86.

34. ENGLAND GCW. Semen quality in dogs and the influence of a short-interval second ejaculation. Theriogenology. 1999 ;52(6):981-6.

35. TAHA MB, NOAKES DE, ALLEN WE. The effect of the frequency of ejaculation on seminal characteristics and libido in the Beagle dog. J Small Anim Pract. 1983 ;24(5):309-15.

36. FOOTE RH. The influence of frequency of semen collection, fractionation of the ejaculate, and dilution rate on the survival of stored dog sperm. Cornell Vet. 1964 ;54:89-97.

37. ROOT KUSTRITZ MV. The value of canine semen evaluation for practitioners. Theriogenology. 2007;68(3):329-37.

38. OETTLE EE. Sperm morphology and fertility in the dog. J Reprod Fertil Suppl. 1993 ;47:257-60.

39. MASON SJ. Current Review of Artificial Insemination in Dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2018 ;48(4):567-80.

40. MAKLOSKI CL. Clinical Techniques of Artificial Insemination in Dogs. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2012 ;42(3):439-44.

41. PINTO CRF, EILTS BE, PACCAMONTI DL. The effect of reducing hindquarter elevation time after artificial insemination in bitches. Theriogenology. 1998 ;50(2):301-5.

42. ROMAGNOLI S, LOPATE C. Transcervical Artificial Insemination in Dogs and Cats : Review of the Technique and Practical Aspects. Reprod Domest Anim. 2014 ;49:56-63.

43. MACEDO SP, MALM C, HENRY MRJM, TELLED LF, FIGUEIREDO MS, Fukushima FB, et al. Endoscopic transcervical intrauterine artificial insemination in Labrador Retriever bitches. Res Vet Sci. 2012 ;92(3):494-500.

44. BURGESS D, MITCHELL K, THOMAS P. Coeliotomy-assisted intrauterine insemination in dogs : a study of 238 inseminations. Aust Vet J. 2012 ;90(8):283-90.

45. SILVA LDM, ONCLIN K, SNAPS F, VERSTEGEN J. Laparoscopic intrauterine insemination in the bitch. Theriogenology. 1995 ;43(3):615-23.

46. TSUTSUI T, HORI T, YAMADA A, KIRIHARA N, KAWAKAMI E. Intratubal Insemination with Fresh Semen in Dogs. J Vet Med Sci. 2003 ;65(5):659-61.

47. GUERIN C. Fécondité chez la chienne après saillie ou insémination artificielle : étude sur 202 chiennes. Point Vét. 1997 ;28(180):51-6.

48. FARSTAD W. Bitch fertility after natural mating and after artificial insemination with fresh or frozen semen. J Small Anim Pract. 1984 ;25(9):561-5.

49. NIZANSKI W. Intravaginal insemination of bitches with fresh and frozen-thawed semen with addition of prostatic fluid : Use of an infusion pipette and the Osiris catheter. Theriogenology. 2006;66(2):470-83.

50. LINDE-FORSBERG C, FORSBERG M. Results of 527 controlled artificial inseminations in dogs. J Reprod Fertil Suppl. 1993 ;47:313-23.

51. LINDE-FORSBERG C, FORSBERG M. Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination with fresh and frozen semen. J Reprod Fertil Suppl. 1989 ;39:299-310.

52. PINTO CRF, PACCAMONTI DL, EILTS BE. Fertility in bitches artificially inseminated with extended, chilled semen. Theriogenology. 1999 ;52(4):609-16.

53. GILSON C, BUFF S. Insémination en semence réfrigérée chez le chien. Point Vét. 2008 ;39(Numéro spécial):33-7.

54. LINDE-FORSBERG C, STRÖM HOLST B, GOVETTE G. Comparison of fertility data from vaginal vs intrauterine insemination of frozen-thawed dog semen : A retrospective study. Theriogenology. 1999 ;52(1):11-23.

55. FCI. Nomenclature des races de la FCI [Internet]. Fédération Cynologique Internationale. 2019 [cité 20 avr 2019]. Disponible sur : http://www.fci.be/fr/Nomenclature/

56. PRETZER SD, LILLICH RK, ALTHOUSE GC. Single, transcervical insemination using frozen–thawed semen in the Greyhound: A case series study. Theriogenology. 2006 ;65(6):1029-36.

57. THOMASSEN R, SANSON G, KROGENAES A, FOUGNER JA, BERG KA, FARSTAD W. Artificial insemination with frozen semen in dogs : A retrospective study of 10 years using a non-surgical approach. Theriogenology. 2006 ;66(6-7):1645-50.

58. GAVRILOVIC BB, ANDERSSON K, LINDE-FORSBERG C. Reproductive patterns in the domestic dog—A retrospective study of the Drever breed. Theriogenology. 2008 ;70(5):783-94.

59. GOERICKE-PESCH S, KLAUS D, FAILING K, WEHREND A. Longevity of chilled canine semen comparing different extenders. Anim Reprod Sci. 2012 ;135(1-4):97-105.

60. LOPES G, SIMOES A, FERREIRA P, MARTINS-BESSA A, ROCHA A. Differences in preservation of canine chilled semen using different transport containers. Anim Reprod Sci. 2009;112(1-2):158-63.

ANNEXES

Annexe 1 : Certificat de saillie utilisé au CERREC

SOCIETE CENTRALE CANINE
pour l'amélioration des races de chiens en France

155 avenue Jean Jaurès
F - 93535 AUBERVILLIERS Cedex
Tél: +33 (0)1 49 37 54 00 - Fax: +33 (0)1 49 37 01 20
Fax LOF : +33 (0)1 49 37 55 99

Inscrit sous le N° _____

Le :

Cadre réservé à la S.C.C.

www.scc.asso.fr

SCC-SAI /03-2014

CERTIFICAT DE SAILLIE

N° ELEVEUR

A adresser à la S.C.C. par le propriétaire de la chienne dans les 8 semaines suivant la saillie
Ce formulaire doit être rempli en lettres capitales.

MODIFICATION : ADRESSE ☐ TELEPHONE ☐ COURRIEL ☐ S'agit-il d'une première déclaration ? ☐

PROPRIETAIRE DE LA CHIENNE Monsieur ☐ Madame ☐ Mademoiselle ☐

NOM _____ Prénom _____

Adresse _____

Code Postal _____ VILLE _____ Tél: _____

Courriel _____ @ _____

AFFIXE _____

ADRESSE de VISITE de la CHIENNE SI DIFFERENTE de L'ADRESSE du PROPRIETAIRE

_____

_____

SAILLIE | Naturelle | Artificielle | Cocher la case choisie

DATE DE SAILLIE

JOUR MOIS ANNEE

PROPRIETAIRE DE L'ETALON

NOM _____

Prénom _____

Rue _____

VILLE _____

Code postal _____ PAYS _____

LA CHIENNE

Race _____

N° LOF ☐☐☐☐☐☐/☐☐☐☐☐ Née le _____

Nom _____

Taille * _____ Poil _____

Couleur ** _____

N° Tatouage _____

N° Transpondeur ☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

(*) Préciser en centimètres : obligatoire pour les Caniches et les Spitz
(**) Obligatoire, à reprendre à partir du pedigree

L'ETALON

Race _____

N° LO ☐☐☐☐☐☐/☐☐☐☐☐ Né le _____

Nom _____

Taille * _____ Poil _____

Couleur ** _____

N° Tatouage _____

N° Transpondeur ☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐☐

(*) Préciser en centimètres : obligatoire pour les Caniches et les Spitz
(**) Obligatoire, à reprendre à partir du pedigree

Information ADN

Seule l'identification génétique permet de garantir scientifiquement les origines mentionnées sur les documents généalogiques. Pour vous permettre de valoriser votre production et la fiabilité de votre élevage par cette garantie, la SCC vous propose des tests ADN à un tarif avantageux et vous invite à faire identifier génétiquement sans attendre vos reproducteurs et vos produits.

Afin que votre certificat de saillie soit enregistré, il y a lieu de joindre à votre courrier un règlement de 10 € pour participation aux frais de dossier (Décision du Comité S.C.C. du 5/6/02).

Pour accord du PROPRIETAIRE DE LA CHIENNE qui s'engage par ailleurs à laisser libre accès à son élevage en cas de contrôle par la S.C.C.

A

SIGNATURE

Je certifie l'exactitude des présentes déclarations
LE PROPRIETAIRE DE L'ETALON

le 20

SIGNATURE

ATTENTION LIRE IMPERATIVEMENT LES INSTRUCTIONS FIGURANT AU VERSO

Annexe 2 : Fiche de spermogramme utilisée au CERREC

CRB VetAgro Sup	ENREGISTREMENT **Examen spermogramme chien**	Code du document : **CRB-OPE-M03-E01** Indice de version : **Version 2**

Identification

Date d'examen : ___/___/___

N° CERREC : [ ]

- **Déposant**

Nom : _____
Prénom : _____
Adresse : _____
_____
_____
Tel. _____
Fax. _____
E-mail _____

- **Etalon**

Nom : _____
Race : _____
Date de naissance : ___/___/___
Identification : _____

➡ vérification ❑ conforme ❑ non conforme

Visa : [ ]

Prélèvement

Date de dernière récolte : ___/___/___
Libido de l'étalon :
❑ satisfaisante ❑ moyenne ❑ insuffisante
❑ présence d'une femelle (œstrus / anœstrus)

Récolte : ❑ facile ❑ difficile
❑ manuelle ❑ autre : _____
❑ utilisation d'un écouvillon de phéromones

Evaluation de la semence

Tube	Volume	Couleur	pH	Phase
1				1 2 3
2				1 2 3
3				1 2 3

Mélange des tubes : ❑ non ❑ oui : 1 2 3
Centrifugation : ❑ 720 ×*g*, 5 min
Volume de reprise : _____ mL

Résultats manuels :
Mobilité immédiate : _____ %
Concentration : _____.10^6 spz/ml
Numération totale : _____.10^6 spz

Résultats CASA *(facultatifs)* **:**
Mobilité totale : _____ %
Progressivité : _____ %
Numération totale : _____.10^6 spz

Cytologie : Normaux : _____ %
Anomalies : ❑ pièces intermédiaires _____ % ❑ têtes _____ %
❑ flagelle _____ % ❑ décapités _____ %

➡ _____.10^6 **spz normaux et mobiles**

Qualité de la semence : ❑ satisfaisante ❑ moyenne ❑ insuffisante

Utilisation de la semence

❑ Fraiche ❑ réfrigérée ❑ congelée (compléter CRB-OPE-P04-E01) ❑ contrôle
Si réfrigération, volume après reprise en dilueur de semence réfrigérée : _____ mL
Si congélation, volume après reprise en dilueur de semence congelée : _____ mL

Examen(s) complémentaire(s) : ❑ oui (voir au verso) ❑ non

Visa : [ ]

VIVIN Fiona

ANALYSE DES FACTEURS DE PERFORMANCE EN INSEMINATION ARTIFICIELLE CANINE. APPLICATION AUX DONNEES DU CERREC

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon*, le 13 Septembre 2019*

RESUME :

La popularité grandissante du chien de race pousse l'éleveur et le vétérinaire dans une quête d'amélioration constante de leurs performances. Les techniques de reproduction assistée comme le suivi de chaleurs et l'insémination artificielle permettent d'optimiser les résultats et d'améliorer le potentiel génétique des races canines.
Notre travail a porté sur l'analyse rétrospective de 786 inséminations réalisées au CERREC entre 2005 et 2018. Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à une étude descriptive des différents facteurs pouvant influer sur les résultats de l'insémination. Dans un second temps, nous avons cherché à déterminer le rôle de chacun de ces facteurs et leurs interactions, au travers d'une régression logistique. Nous constatons ainsi que les taux de fertilité et la prolificité ne dépendent ni de la technique employée, ni du consultant, mais plus de la qualité intrinsèque de l'échantillon. L'âge de la chienne devient préjudiciable au-delà de la 5ème année et le nombre d'inséminations réalisées ne modifie pas les résultats obtenus.

MOTS CLES :

- Chien
- Insémination artificielle
- Statistiques

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Pascal GAUCHERAND
1er Assesseur :	Monsieur le Docteur Samuel BUFF
2ème Assesseur :	Madame le Professeur Jeanne-Marie BONNET-GARIN
Membre invité :	Madame le Docteur Emilie ROSSET

DATE DE SOUTENANCE : 13 Septembre 2019