

Année 2008

**LA DUREE DE GESTATION REELLE CHEZ LA  
CHIENNE ET LES FACTEURS L'INFLUENÇANT :  
ETUDE RETROSPECTIVE EFFECTUEE AU CENTRE  
D'ETUDE EN REPRODUCTION DES CARNIVORES  
ENTRE 2001 ET 2006**

THESE

Pour le

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

Présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

Le 16 octobre 2008

par

**Catherine, Maud BILLAULT**

Née le 18 février 1982 à Choisy le roi (Val-de-Marne)

JURY

**Président : M.**

**Professeur à la Faculté de Médecine de CRETEIL**

**Membres**

**Directeur : M. Alain FONTBONNE**

**Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort**

**Assesseur : M. Jean-François COURREAU**

**Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort**



# **LA DUREE DE GESTATION REELLE CHEZ LA CHIENNE, ET LES FACTEURS L'INFLUENÇANT : ETUDE RETROSPECTIVE EFFECTUEE AU CENTRE D'ETUDE EN REPRODUCTION DES CARNIVORES ENTRE 2001 ET 2006**

BILLAULT Catherine

## Résumé

Dans un premier temps, l'auteur rappelle les principales notions de physiologie de la reproduction chez la chienne. Puis elle présente les différentes méthodes de détermination de la date d'ovulation, de diagnostic de gestation et de détermination de la date de parturition.

Dans un deuxième temps, elle étudie les durées de gestation réelles (ovulation-mise bas) obtenues en exploitant les dossiers de 151 chiennes (représentant 162 suivis de chaleurs) de 53 races différentes suivies au Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores (CERCA) de Maisons-Alfort entre Janvier 2001 et Décembre 2006. En considérant que l'ovulation a lieu dès que la progestéronémie atteint 6 ng/ml, la durée de gestation réelle moyenne obtenue est de 63,1 jours. L'analyse des résultats fait apparaître une influence de la race, du format et de la taille de la portée sur la durée de la gestation, alors que des facteurs tels que la régularité des chaleurs, l'âge de la chienne, la parité et le mode de reproduction (IA ou saillie) ne semblent pas influencer la durée de la gravidité.

Mots clés : REPRODUCTION / GESTATION / DUREE DE GESTATION / AGE / PARITE /  
RACE / CARNIVORE / CHIENNE / CERCA

Jury :

Président : Pr.

Directeur : M. FONTBONNE

Assesseur : M. COURREAU

Adresse de l'auteur :

Mademoiselle Catherine BILLAULT  
63 rue Mirabeau  
94600 Choisy le roi

# **A RETROSPECTIVE STUDY OF THE DURATION OF GESTATION IN THE BITCH AND THE DIFFERENT FACTORS AFFECTING IT MADE AT THE CENTER OF STUDY OF THE CARNIVORE REPRODUCTION BETWEEN 2001 AND 2006**

BILLAULT Catherine

## Summary

The author, at first, reminds us about the genital and sexual characteristics of the bitch. Then she presents the methods to detect ovulation timing and their implications on reproduction, to diagnostic the gestation and to determine the parturition date.

In the second part, she studies the duration of real gestation (ovulation-parturition date) obtained by consulting the clinical files of 151 bitches (representing 162 gestations) of 53 different breeds that have been seen between January 2001 and December 2006 at the Center of Study of the Carnivore Reproduction (CERCA). Considering that the ovulation occurred at a plasma progesterone concentration from 6 ng/ml, the duration of gestation obtained in this study is 63,1 days. The results also reveal that breed, size of the bitch and litter size have an influence on the gestation length. Other factors like regular heats, age of the bitch, parity and reproduction method (AI or covering) don't have any influence on the gestation length of the bitch.

Keywords: REPRODUCTION / GESTATION / GESTATION LENGTH / AGE / PARITY / BREED / CARNIVORE / BITCH / CERCA

Jury:

President: Pr.

Director: Mr FONTBONNE

Assessor: Mr COURREAU

Author's address:

Mrs Catherine BILLAULT  
63 rue Mirabeau  
94600 Choisy le roi

## LISTE DES MEMBRES DU CORPS ENSEIGNANT

Directeur : M. le Professeur MIALOT Jean-Paul

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

Professeurs honoraires: MM. BRUGERE Henri, BUSSIERAS Jean, CERF Olivier, CLERC Olivier, LE BARS Henri, MILHAUD Guy, ROZIER Jacques,

### DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET PHARMACEUTIQUES (DSBP)

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

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

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

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

<p><b>- UNITE DE MEDECINE</b> M. POUCHELON Jean-Louis, Professeur* Mme CHETBOUL Valérie, Professeur M. BLOT Stéphane, Maître de conférences M. ROSENBERG Charles, Maître de conférences Mme MAUREY Christelle, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE DE CLINIQUE EQUINE</b> M. DENOIX Jean-Marie, Professeur M. AUDIGIE Fabrice, Maître de conférences* Mme GIRAUDET Aude, Praticien hospitalier Mme MESPOULHES-RIVIERE Céline, Maître de conférences contractuel Mme PRADIER Sophie, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE DE REPRODUCTION ANIMALE</b> Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, Maître de conférences* (rattachée au DPASP) M. NUDELMANN Nicolas, Maître de conférences M. FONTBONNE Alain, Maître de conférences M. REMY Dominique, Maître de conférences (rattaché au DPASP) M. DESBOIS Christophe, Maître de conférences Mme CONSTANT Fabienne, Maître de conférences (rattachée au DPASP) Mme DEGUILLAUME Laure, Maître de conférences contractuel (rattachée au DPASP)</p> <p><b>- DISCIPLINE : URGENCE SOINS INTENSIFS</b> Mme Françoise ROUX, Maître de conférences contractuel</p>	<p><b>- UNITE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE</b> M. FAYOLLE Pascal, Professeur * M. MAILHAC Jean-Marie, Maître de conférences M. NIEBAUER Gert, Professeur associé Mme VIATEAU-DUVAL Véronique, Maître de conférences Mme RAVARY-PLUMIOEN Bérandère, Maître de conférences (rattachée au DPASP) M. ZILBERSTEIN Luca, Maître de conférences contractuel M. JARDEL Nicolas, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE D'IMAGERIE MEDICALE</b> Mme BEGON Dominique, Professeur* Mme STAMBOULI Fouzia, Praticien hospitalier</p> <p><b>- DISCIPLINE : OPHTALMOLOGIE</b> Mme CHAHORY Sabine, Maître de conférences contractuel</p> <p><b>- UNITE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES</b> M. CHERMETTE René, Professeur * M. POLACK Bruno, Maître de conférences M. GUILLOT Jacques, Professeur Mme MARIIGNAC Geneviève, Maître de conférences contractuel Mme HALOS Lénaïg, Maître de conférences M. HUBERT Blaise, Praticien hospitalier</p> <p><b>- DISCIPLINE : NUTRITION-ALIMENTATION</b> M. PARAGON Bernard, Professeur M. GRANDJEAN Dominique, Professeur</p>
--	--

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

**Chef du département : M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences - Adjoint : Mme DUFOR Barbara, Maître de conférences**

<p><b>- UNITE DES MALADIES CONTAGIEUSES</b> M. BENET Jean-Jacques, Professeur* Mme HADDAD/ HOANG-XUAN Nadia, Maître de conférences Mme DUFOR Barbara, Maître de conférences</p> <p><b>- UNITE D'HYGIENE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE</b> M. BOLNOT François, Maître de conférences * M. CARLIER Vincent, Professeur Mme COLMIN Catherine, Maître de conférences M. AUGUSTIN Jean-Christophe, Maître de conférences</p> <p><b>- DISCIPLINE : BIostatISTIQUES</b> M. SANAA Moez, Maître de conférences</p>	<p><b>- UNITE DE ZOOTECHNIE, ECONOMIE RURALE</b> M. COURREAU Jean-François, Professeur M. BOSSE Philippe, Professeur Mme GRIMARD-BALLIF Bénédicte, Professeur Mme LEROY Isabelle, Maître de conférences M. ARNE Pascal, Maître de conférences M. PONTER Andrew, Maître de conférences*</p> <p><b>- UNITE DE PATHOLOGIE MEDICALE DU BETAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR</b> M. MILLEMANN Yves, Maître de conférences* Mme BRUGERE-PICOUX Jeanne, Professeur (rattachée au DSBP) M. MAILLARD Renaud, Maître de conférences M. ADJOU Karim, Maître de conférences</p>
---	--

M ; PHILIPS, Professeur d'Education Physique

\* Responsable de l'Unité



# REMERCIEMENTS

A notre Jury de thèse :

## **A Monsieur le professeur**

De la faculté de Médecine de Créteil

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

*Hommage respectueux.*

## **Au Docteur Alain Fontbonne**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour m'avoir confié cette étude,

*Hommage respectueux.*

## **Au Professeur Jean-François Courreau**

De l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Pour avoir accepté de participer à notre jury de thèse,

*Sincères remerciements.*





**A ma Mémé qui nous a quittés le 2 mai 2008 et qui me manque terriblement.**

Elle était toujours là pour moi, pour me soutenir et me conseiller.

**A mon Pépé adoré,**

Merci pour ton soutien. J'espère t'avoir encore longtemps près de moi.

**An Opa und Oma**

Die ich über alles liebe und die mich immer unterstützt haben.

**A mes parents**

Pour leur soutien et leurs encouragements tout au long de mes études.

**A Pascal,** mon petit frère.

**An Sabine, meine Goti, und an Jessica und Angelina meine Kusunchen**

**A Daniel,**

L'homme de ma vie. Merci d'être à mes côtés et de me soutenir en permanence.

**A Elodie et Sonia mes meilleures amies**

**A mes amis,**

Anne, Seb et Nina ; Magali, Jean-Yves et Erwan ; Marine et David ; Alban et Elodie ; Laurent, Mickael, Emilie, Christophe, Cédric, Benoît et Karine.

**A mon groupe de clinique,**

Jérôme, Virginie, Candy, Elodie, Antoine, Céline et bien sûr les meilleures : **Mathilde et Mélanie** qui ont toujours été là pour moi et qui sont devenues de vraies amies.



# TABLE DES MATIERES

<b>Liste des tableaux</b> .....	5
<b>Liste des figures</b> .....	7
<b>Glossaire</b> .....	9
<b>Introduction</b> .....	11
<b>Première partie : Rappels sur la physiologie de la reproduction chez la chienne</b> .....	13
1. Le cycle de reproduction.....	15
1.1. <u>La puberté</u> .....	15
1.2. <u>L'intervalle interoestral</u> .....	15
1.3. <u>Les différentes phases du cycle œstral</u> .....	15
1.3.1. L'anoestrus.....	16
1.3.2. Le pro-œstrus.....	16
1.3.3. L'œstrus.....	16
1.3.4. Le metœstrus ou diœstrus.....	16
1.4. <u>Endocrinologie de la reproduction</u> .....	17
1.4.1. Les hormones.....	18
1.4.1.1. Les hormones hypothalamiques.....	18
1.4.1.2. Les hormones antéhypophysaires.....	18
1.4.1.2.1. FSH.....	19
1.4.1.2.2. LH.....	19
1.4.1.2.3. Prolactine.....	19
1.4.1.3. Les hormones gonadiques.....	20
1.4.1.3.1. Œstrogènes.....	20
1.4.1.3.2. Progestérone.....	20
1.4.1.4. Relaxine.....	21
1.4.2. Profil hormonal du cycle.....	21
1.4.2.1. L'anoestrus.....	22
1.4.2.2. Le pro-œstrus.....	22
1.4.2.3. L'œstrus.....	23
1.4.2.4. Le metœstrus.....	23
1.4.3. Récapitulatif des événements biologiques se produisant pendant les chaleurs...	26
1.4.3.1. La phase folliculaire.....	26
1.4.3.2. L'ovulation et la maturation ovocytaire.....	27
1.4.3.3. La phase lutéale.....	27
2. Le transport des spermatozoïdes dans le tractus génital de la chienne.....	28
3. La gestation.....	29
3.1. <u>La durée de gestation</u> .....	29
3.1.1. Définir la durée de gestation.....	29
3.1.1.1. Du pic de LH à la mise bas.....	30
3.1.1.2. De l'ovulation à la mise bas.....	30
3.1.1.3. Du metœstrus cytologique à la mise bas.....	30
3.1.1.4. De la saillie à la mise bas.....	31
3.1.2. Facteurs influençant la durée de gestation.....	33
3.2. <u>Déroulement de la gestation</u> .....	35
3.2.1. La période embryonnaire.....	35
3.2.1.1. Les premiers stades de la vie embryonnaires.....	35
3.2.1.2. Les annexes embryonnaires.....	36

3.2.1.3.	Le placenta.....	38
3.2.2.	La période fœtale.....	40
3.3.	<u>Modifications physiologiques de la chienne gestante</u> .....	41

<b>Deuxième partie : Suivi de la reproduction chez la chienne</b> .....	43
1. Détermination de la date d'ovulation.....	45
1.1. <u>Indications</u> .....	45
1.2. <u>Modifications comportementales</u> .....	46
1.3. <u>Signes cliniques</u> .....	46
1.3.1. L'aspect des écoulements vulvaires.....	46
1.3.2. Crénulation vaginale (vagnoscopie).....	46
1.4. <u>Examens complémentaires</u> .....	47
1.4.1. Cytologie vaginale.....	47
1.4.1.1. Interprétation du frottis.....	47
1.4.1.2. Evolution de la cytologie vaginale au cours des différentes phases du cycle sexuel.....	48
1.4.1.3. Intérêts et limites.....	49
1.4.2. Mesure de la résistivité vaginale.....	50
1.4.3. L'échographie ovarienne.....	50
1.4.3.1. Présentation.....	50
1.4.3.2. Technique.....	50
1.4.3.3. Observations.....	50
1.4.3.4. Intérêts et limites.....	51
1.4.4. Les dosages Hormonaux.....	52
1.4.4.1. Dosage de l'œstradiol.....	52
1.4.4.2. Dosage de la LH.....	52
1.4.4.3. Dosage de la progestérone plasmatique.....	53
1.4.4.3.1. Evolution de la progestéronémie au cours du cycle.....	54
1.4.4.3.2. Réalisation pratique.....	55
1.4.4.3.3. Intérêts et limites.....	56
2. Implications pour la saillie ou l'insémination artificielle.....	56
2.1. <u>Implications pour la saillie</u> .....	59
2.2. <u>Implications pour l'insémination artificielle</u> .....	60
2.2.1. Date d'ovulation et mode d'insémination.....	60
2.2.1.1. Insémination en semence fraîche.....	60
2.2.1.2. Insémination en semence réfrigérée.....	60
2.2.1.3. Insémination en semence congelée.....	61
2.2.2. Comparaison des résultats des différents modes et techniques d'insémination.....	61
2.2.2.1. Comparaison IAF / IAR / IAC.....	61
2.2.2.2. Comparaison inséminations intra-vaginale et intra-utérine.....	62
3. Diagnostic et suivi de la gestation.....	62
3.1. <u>Anamnèse</u> .....	63
3.2. <u>Examen clinique</u> .....	63
3.3. <u>Examens complémentaires</u> .....	64
3.3.1. Les analyses sanguines.....	64
3.3.1.1. Paramètres Hématologiques.....	64
3.3.1.2. Paramètres biochimiques.....	64
3.3.2. Les dosages hormonaux.....	65
3.3.3. L'imagerie médicale.....	66
3.3.3.1. La radiographie.....	66
3.3.3.2. L'échographie.....	66

3.4. <u>Evolution des paramètres cliniques et événements observables lors de la gestation.</u>	67
4. <u>Détermination de la date de parturition.</u>	69
<b>Troisième partie : Etude expérimentale.</b>	75
1. <u>Le CERCA.</u>	77
1.1. <u>Présentation.</u>	77
1.2. <u>Protocole des suivis de chaleurs et inséminations artificielles.</u>	77
1.2.1. <u>Protocole des suivis de chaleurs.</u>	77
1.2.2. <u>Protocole des inséminations artificielles.</u>	78
2. <u>Matériel et méthodes.</u>	78
2.1. <u>Nombre de dossiers étudiés.</u>	78
2.2. <u>Saisie et traitement des données.</u>	78
2.3. <u>Critères de choix des dossiers inclus dans l'étude.</u>	79
2.4. <u>Analyse statistique.</u>	80
3. <u>Résultats.</u>	80
3.1. <u>Résultats globaux.</u>	80
3.1.1. <u>Répartition des durées de gestation.</u>	80
3.1.2. <u>Evolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006.</u>	81
3.2. <u>Etude de la durée de gestation en fonction de la race et du format des chiennes.</u>	82
3.2.1. <u>En fonction de la race.</u>	82
3.2.2. <u>En fonction du format.</u>	84
3.3. <u>Etude de la durée de gestation en fonction de la régularité des chaleurs.</u>	85
3.4. <u>Etude de la durée de gestation en fonction de l'âge des chiennes.</u>	85
3.5. <u>Etude de la durée de gestation en fonction de la parité.</u>	86
3.6. <u>Etude de la durée de gestation en fonction de la taille de la portée.</u>	87
3.7. <u>Etude de la durée de gestation en fonction du sex-ratio de la portée.</u>	88
3.8. <u>Durée de gestation et insémination artificielle.</u>	89
3.8.1. <u>Etude de la durée de gestation en fonction du mode de reproduction.</u>	89
3.8.2. <u>Etude de la durée de gestation en fonction du type de la semence.</u>	90
3.9. <u>Durée de gestation en fonction de la méthode de détermination de l'ovulation.</u>	91
4. <u>Discussion.</u>	91
4.1. <u>Protocole.</u>	91
4.2. <u>Les résultats.</u>	92
<b>Conclusion.</b>	95
<b>Annexe 1.</b>	97
<b>Annexe 2.</b>	99
<b>Annexe 3.</b>	101
<b>Annexe 4.</b>	103
<b>Annexe 5.</b>	105
<b>Annexe 6.</b>	107
<b>Bibliographie.</b>	123



# LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b> Principaux événements du cycle sexuel de la chienne	17
<b>Tableau 2 :</b> Développement embryonnaire du chiot: caractères reconnaissables à l'échographie	40
<b>Tableau 3 :</b> Déroulement des différents événements d'une gestation chez la chienne	68
<b>Tableau 4 :</b> Informations utilisables pour connaître le moment de la mise bas	73





# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : Régulation hormonale du cycle	18
<b>Figure 2</b> : Concentration plasmatique de LH et de FSH chez une chienne Beagle de 5 ans pendant la période péri-ovulatoire	19
<b>Figure 3</b> : Evolution hormonale (LH, progestérone et œstradiol) au cours du cycle sexuel chez la chienne gestante	21
<b>Figure 4</b> : Représentation schématique de la courbe de progestérone chez une chienne gestante et non gestante	25
<b>Figure 5</b> : Variations hormonales durant le pro-œstrus et l'œstrus chez la chienne Beagle et durée moyenne des différents paramètres cliniques	26
<b>Figure 6</b> : Chronologie des premières étapes du développement embryonnaire	35
<b>Figure 7</b> : Le développement des annexes embryonnaires	36
<b>Figure 8</b> : le fœtus et ses annexes	37
<b>Figure 9</b> : Placenta zonaire	38
<b>Figure 10</b> : Placentation endothélio-choriale	39
<b>Figure 11</b> : Correspondance entre le pic de LH et le début de l'augmentation du taux de Progestérone	53
<b>Figure 12</b> : Les différents évènements se produisant durant les chaleurs de la chienne	57
<b>Figure 13</b> : Protocole de suivi des chaleurs	59
<b>Figure 14</b> : Schéma de reproduction en saillie ou IAF	60
<b>Figure 15</b> : Schéma de reproduction en IAR	61
<b>Figure 16</b> : Schéma de reproduction en IAC	61
<b>Figure 17</b> : Diagnostic de gestation chez la chienne	62
<b>Figure 18</b> : Répartition des durées de gestation	80
<b>Figure 19</b> : Evolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006	81
<b>Figure 20</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de la race	83
<b>Figure 21</b> : Etude de la durée de gestation en fonction du format de la chienne	84
<b>Figure 22</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de la régularité des chaleurs	85
<b>Figure 23</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de l'âge des chiennes	86
<b>Figure 24</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de la parité	87
<b>Figure 25</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de la taille de la portée	88
<b>Figure 26</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de la sex-ratio de la portée	89
<b>Figure 27</b> : Etude de la durée de gestation en fonction du mode de reproduction	90
<b>Figure 28</b> : Etude de la durée de gestation en fonction de l'état de la semence	91



# GLOSSAIRE

**CERCA** : Centre d'Etude en Reproduction des Carnivores  
**CERREC** : Centre d'Etude et de Recherche en Reproduction et Elevage des Carnivores  
**CIAC** : Centre D'Insémination Artificielle Canine  
**ENVA** : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort  
**ENVL** : Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon  
**ENVN** : Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes  
**ECLIA**: Electrochimiluminescence  
**EIA**: Immunoenzymologie  
**ELISA**: Enzyme Linked Immunosorbent Assay  
**FSH**: Folliculo Stimulating Hormone  
**GnRH**: Gonadotropine Releasing Hormone  
**IA**: Insémination artificielle  
**IAC**: Insémination artificielle en semence congelée  
**IAF**: Insémination artificielle en semence fraîche  
**IAIU**: Insémination artificielle intra-utérine  
**IAIV**: Insémination artificielle intra-vaginale  
**IAR**: Insémination artificielle en semence réfrigérée  
**IE**: Index Eosinophilique  
**LH** : Hormone Lutéinisante  
**RIA** : Radioimmunologie



# INTRODUCTION

Pouvoir prévoir le plus précisément possible la date de parturition d'une chienne gestante permet de préparer au mieux cet événement. Ainsi on peut éviter ou minimiser les pertes en intervenant au moment le plus approprié. Par exemple, la connaissance de la date de la mise bas est capitale pour programmer une césarienne dans certaines races à dystocie fréquente. De plus, les techniques de reproduction assistée chez le chien, tels que la synchronisation de l'œstrus ou le transfert d'embryon demandent une détermination précise du moment de l'ovulation et de la date de mise bas. De ce fait il est nécessaire de connaître au mieux la durée de la gestation dans cette espèce.

Le but de cette étude est donc de déterminer la durée de gestation réelle chez la chienne, c'est-à-dire l'intervalle entre l'ovulation, moment où la progestéronémie atteint 6ng/ml, et la mise bas. Nous allons également chercher à savoir quels sont les facteurs influençant cette durée.

Ainsi, après un rappel sur la physiologie et les méthodes de suivi de la reproduction chez la chienne, nous allons, à travers l'étude des dossiers de chiennes suivies au CERCA entre 2001 et 2006, déterminer d'une part la durée de gestation réelle chez la chienne et d'autre part l'influence de divers facteurs tels que la race, la parité de la chienne, la taille de la portée sur cette durée.



**Première partie :**  
**Rappels sur la physiologie de la reproduction chez la chienne**





# 1. Le cycle de reproduction

## 1.1. La puberté

Chez la chienne, la puberté apparaît entre 6 et 24 mois avec une moyenne située entre 6 et 12 mois, âges auxquels les chiennes ont atteint les deux tiers de leur poids adulte. Elle est en général plus tardive chez les chiennes de grandes races. (19)

Une chienne pubère acquiert l'aptitude à ovuler, son appareil génital fonctionne alors de manière cyclique.

Il faut bien faire la distinction entre la puberté et la nubilité, aptitude à mener à terme une gestation et une mise bas. Une chienne n'est pas toujours nubile dès ses premières chaleurs car sa croissance n'est pas achevée. Il n'est donc pas conseillé de la faire porter au début de son activité sexuelle. (55)

Les premières chaleurs, et parfois même les secondes, ont un aspect clinique modifié. Il n'est pas rare d'observer des chaleurs incomplètes, ovulatoires ou non. Ces « fausses chaleurs » se présentent sous la forme d'un développement vulvaire et de pertes dont la durée n'excède pas une semaine. En général, après un maximum de trois périodes de chaleurs qui s'enchaînent à intervalles rapprochés d'une semaine à deux mois, un cycle ovulatoire normal est observé. Ces chaleurs sont qualifiées de disjointes ou également appelées en anglais « split-heats ». (33)

Des chaleurs dites « silencieuses » peuvent également survenir. Elles sont nommées ainsi car il y a peu voire aucune manifestation clinique, ainsi le propriétaire n'observant rien peut croire à un retard de puberté (3), ce qui est rare chez la chienne à moins que cette dernière présente un trouble nutritionnel (19) ou ait été traitée de façon abusive avec des antimycosiques ou des stéroïdes. (3)

## 1.2. L'intervalle interœstral

Cet intervalle se nomme également interœstrus, il correspond à la phase séparant deux périodes de chaleurs successives. Il regroupe le diœstrus et l'anoœstrus. L'interœstrus dure en moyenne 7 mois (environ 31 semaines) mais peut varier de 4,5 à 13 mois voire plus. (26) Des variations existent en fonction des races : certaines présentent un interœstrus court comme le Berger allemand (environ 6,5 mois) et d'autres ont un interœstrus pouvant aller jusqu'à 8 mois comme le Teckel (environ 8,3 mois). Les variations peuvent également être individuelles. Enfin, avec l'âge, l'interœstrus tend à s'allonger. (19)

## 1.3. Les différentes phases du cycle œstral

Le cycle de la chienne est qualifié de *mono-œstrien*, c'est-à-dire qu'il n'y a qu'une seule période d'ovulation par cycle. La chienne *ovule spontanément*, aucun stimulus extérieur ne semble déclencher l'ovulation. Selon les races on peut avoir un à deux cycles par an.

Ce cycle est constitué de quatre phases distinctes : l'anoœstrus, le pro-œstrus, l'œstrus et le diœstrus. Chacune est caractérisée par des particularités cliniques, anatomiques et endocrinologiques. (Voir tableau 1)

Ce qui caractérise principalement le cycle sexuel de la chienne est sa grande variabilité que ce soit d'une race à l'autre ou d'une chienne à l'autre voire d'un cycle à l'autre.

### 1.3.1.L'anœstrus

L'anœstrus, ou phase de repos sexuel apparent, est une période longue et obligatoire marquée par une inactivité ovarienne, une involution utérine et une réparation de l'endomètre. La vulve est petite et il n'y a pas de pertes vulvaires. D'un point de vue comportemental la chienne n'a aucun intérêt sexuel pour les mâles.

Cette phase dure de 2 à 8 mois selon Fontbonne *et al.* (33) et 1 à 6 mois selon Blendinger. (5) Elle débute avec la parturition chez la chienne gestante et prend fin avec l'apparition des chaleurs. Chez la chienne non gestante il est difficile de distinguer cliniquement le début de cette phase du cycle.

### 1.3.2.Le pro-œstrus

C'est la période d'imprégnation œstrogénique et de croissance folliculaire caractérisée par des manifestations comportementales et génitales. Elle débute par des écoulements séro-hémorragiques à hémorragiques d'origine utérine à la commissure inférieure de la vulve. Cette dernière s'œdématie et devient turgescence. La chienne attire les mâles mais refuse l'accouplement par un comportement agressif ou joueur.

La durée du pro-œstrus varie de 3 jours à 3 semaines avec une moyenne de 9 jours selon Blendinger (5) et, de 6 à 11 jours avec un intervalle pouvant s'étendre de 2-3jours à 25 jours selon Marti. (51)

En fin de pro-œstrus, au moment du pic d'œstradiol, le comportement de défense vis-à-vis des mâles est moindre et les sécrétions vaginales tendent à s'estomper.

### 1.3.3.L'œstrus

Cette phase débute lorsque la chienne accepte la saillie, cela se traduit par l'apparition du réflexe d'Amantéa : l'attouchement de la région périnéale provoque l'extension du tronc, le relèvement de la croupe, la déviation latérale de la queue, l'élévation et l'ouverture de la vulve. Ce comportement est dû à une baisse brutale du taux d'œstradiol et à une augmentation de la progestéronémie.

C'est pendant cette phase qu'ont lieu l'ovulation et la fécondation. L'ovulation se produit 48 à 72 heures après le début de l'œstrus (38) ou 12 jours après le début du pro-œstrus mais cela varie beaucoup et peut aller de 5 à 27 jours après le début des chaleurs. (60)

L'œstrus comportemental dure en moyenne 7 jours avec un intervalle allant de 3 jours à 3 semaines selon Blendinger (5). Selon Verstegen *et al.* (63), il peut débiter de 5 jours avant à 3 jours après l'ovulation.

Les chaleurs regroupent les phases de pro-œstrus et d'œstrus.

### 1.3.4.Le metœstrus ou diœstrus

Cette période, appelée phase lutéale, regroupe la fin de la mise en route du corps jaune (metœstrus) et la phase d'état de celui-ci (diœstrus), les deux étant le plus souvent confondues chez la chienne. (33)

Le diœstrus est caractérisé par une activité importante des corps jaunes qui sécrètent la progestérone à un taux élevé, que la chienne ait été ou non fécondé.

Il débute par l'arrêt de l'acceptation du mâle. Sa fin est plus difficile à définir, en général on prend comme critère la reconstitution complète de l'endomètre, 2 à 3 mois lors d'absence de gestation. (5) La vulve reprend un aspect semblable à ce qui peut être observé en anoestrus.

Cette phase dure en moyenne 75 jours avec un intervalle allant de 60 à 90 jours (8) et peut aller jusqu'à 110-140 jours selon CATHENOZ et MARSAN. (7)

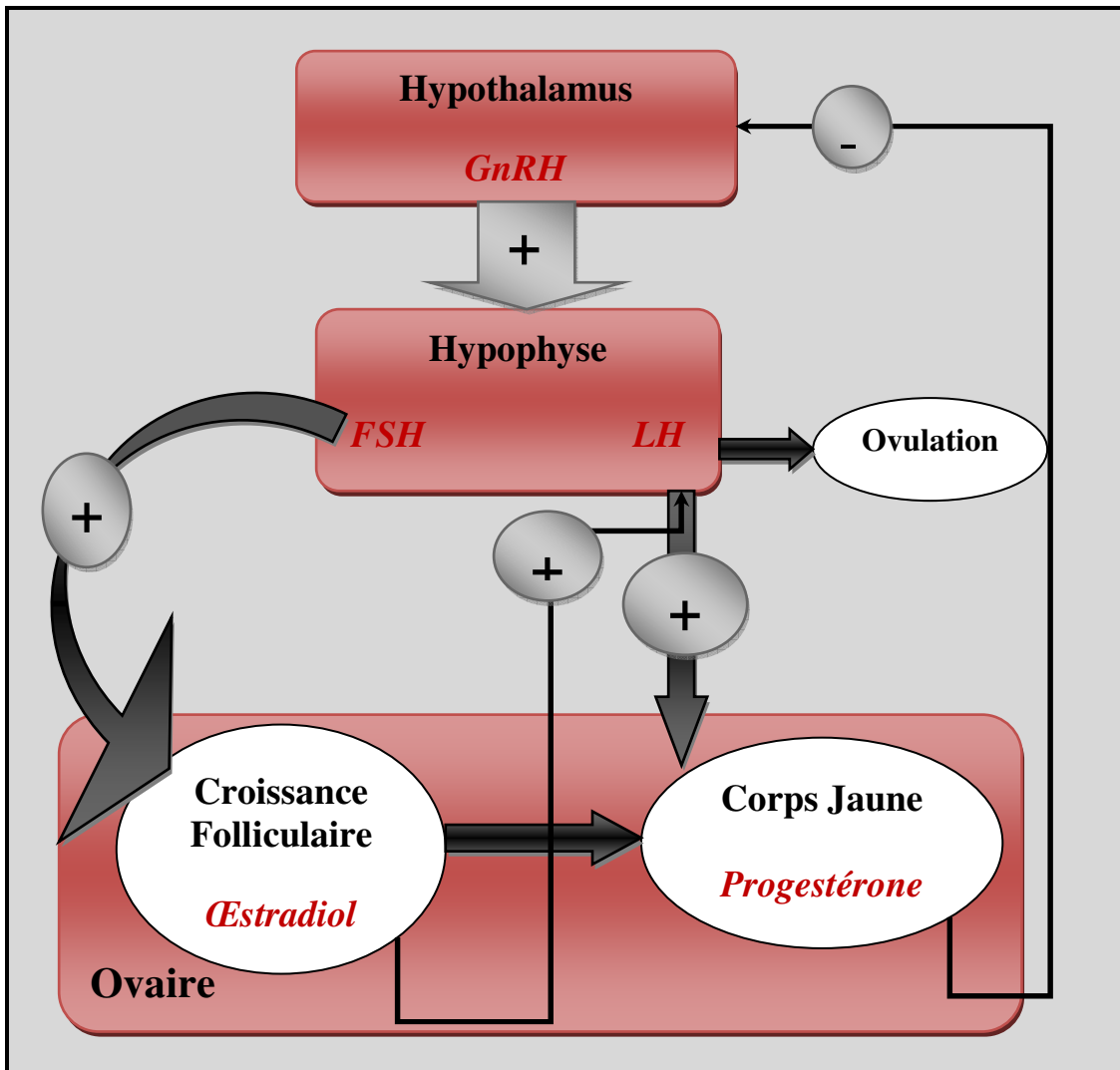
**Tableau 1 : Principaux événements du cycle sexuel de la chienne d'après Fontbonne (30)**

Modifications		Phases			
		Pro-œstrus (7 à 10 jours)	Œstrus (5 à 10 jours)	Metœstrus (60 à 120 jours)	Anoestrus (longueur variable)
Cliniques et comportementales		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vulve augmentée de volume</li> <li>• Pertes vulvaires sanguines</li> <li>• Attraction des mâles</li> <li>• Refus de l'accouplement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vulve oedématiée</li> <li>• Pertes vulvaires réduites</li> <li>• Attraction des mâles</li> <li>• Réflexe de posture et acceptation du mâle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nidation, Gestation</li> <li>• Mise bas et lactation ou Pseudogestation</li> <li>▶ <b>Durée de vie du corps jaune</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de signe extérieur</li> <li>• Période optimale pour les interventions de convenances</li> </ul>
		Anatomiques		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Croissance folliculaire rapide</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ovulation puis Développement du CJ</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Congestion</li> <li>• Augmentation des glandes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prolifération de l'endomètre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nidation, gestation</li> <li>• Phase sécrétoire de l'endomètre, puis desquamation et restauration</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Phase de repos</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rouge, oedématiée</li> <li>• Présence de plis</li> <li>• Sécrétions fluides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rougeâtre, moins oedématiée</li> <li>• Plis profonds et serrés</li> <li>• Dessèchement de la surface</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rose</li> <li>• Plis séparés, peu profonds</li> <li>• Surface à reflets humides</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Lisse (rose)</li> <li>• Plis effacés</li> <li>• Modérément humide</li> </ul>

#### 1.4. Endocrinologie de la reproduction

Le contrôle de l'activité gonadique fait intervenir le système neuroendocrinien. Par l'intermédiaire de neurotransmetteurs, le système nerveux régule l'axe hypothalamo-hypophysaire, qui lui-même oriente l'activité gonadique. (Voir Figure 1)

Figure 1 : Régulation hormonale du cycle (schéma simplifié)



#### 1.4.1. Les hormones (9) (14) (17) (45) (59) (63)

##### 1.4.1.1. Les hormones hypothalamiques

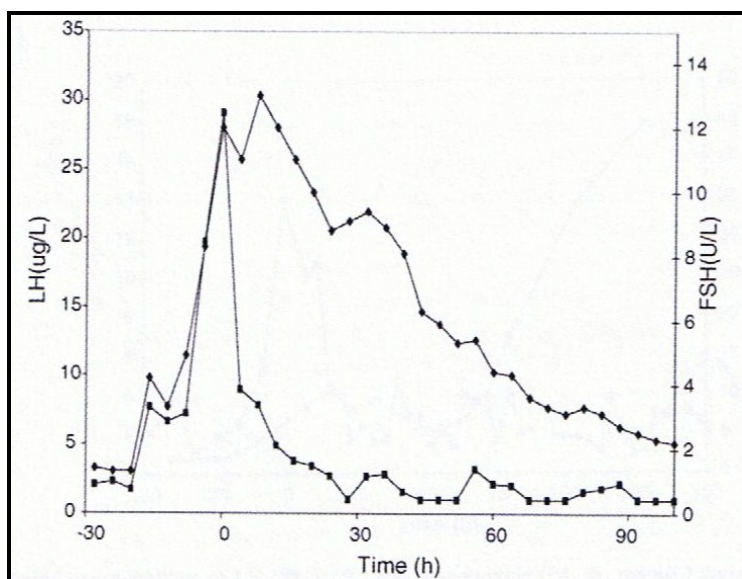
La GnRH (Gonadotrophin releasing hormone ou gonadolibérine) est sécrétée de manière pulsatile et permanente par l'hypothalamus. Elle stimule la synthèse de LH et de FSH. La libération de GnRH est influencée par des sollicitations nerveuses (ouïe, odorat, vue) et hormonales.

##### 1.4.1.2. Les hormones antéhypophysaires

Ce sont les gonadotrophines (LH, FSH et Prolactine). Il s'agit de glycoprotéines synthétisées par le lobe antérieur de l'hypophyse.

Les taux sériques de LH et de FSH sont caractérisés par un niveau de base faible : *la sécrétion tonique*, soumise à de petites fluctuations rythmiques à peine perceptibles. Il se produit périodiquement un pic important de sécrétion de ces hormones : *la sécrétion cyclique*, peu avant l'ovulation. (45) (Voir Figure 2)

**Figure 2 : Concentration plasmatique de LH et de FSH chez une chienne Beagle de 5 ans pendant la période péri-ovulatoire d'après De Gier *et al.* (20)**



L'alternance entre les sécrétions de LH et de FSH est régie par l'hypothalamus d'une part, et par les hormones gonadiques d'autre part.

#### 1.4.1.2.1.FSH

La FSH (Folliculo Stimulating Hormone) déclenche le retour en chaleurs de la chienne et stimule sa croissance folliculaire. Elle agit en synergie avec la LH en induisant la synthèse d'œstrogènes par les cellules de la thèque interne des follicules ovariens.

#### 1.4.1.2.2.LH

La LH (Luteostimulating Hormone) est l'hormone de la lutéinisation, sa durée de vie est plus courte que celle de la FSH. Elle active la maturation folliculaire, provoque l'ovulation et stimule la synthèse de progestérone par les corps jaunes ovariens. Elle est aussi responsable, chez la chienne, avec la prolactine, du maintien en activité de ces corps jaunes au cours de la gestation (action lutéotrope).

#### 1.4.1.2.3.Prolactine

La sécrétion de prolactine par les cellules lactotrophes de l'antéhypophyse est réglée par de multiples neurotransmetteurs et hormones. Le mécanisme de contrôle principal de cette sécrétion est inhibiteur, il provient de neurones dopaminergiques à action anti-prolactinique situés dans l'hypothalamus.

La prolactine semble être responsable de certains changements comportementaux comme la fabrication de nid, et de l'apparition de la lactation. (17)

Cette hormone est également une hormone lutéotrope importante et semble être une condition absolue pour la sécrétion de progestérone à partir du trentième jour après ovulation. (59)

### 1.4.1.3. Les hormones gonadiques

#### 1.4.1.3.1. Œstrogènes

Ils sont présents principalement sous forme d'œstrone et de 17- $\beta$ -œstradiol, sécrétés par les cellules de la thèque interne des follicules ovariens et par le corps jaune. Les œstrogènes sont responsables des manifestations comportementales et histologiques des chaleurs.

Ils ont pour effet :

- La congestion et l'œdème de la vulve et du vagin.
- La multiplication des cellules de l'épithélium vaginal, la kératinisation et la desquamation des cellules de la couche épithéliale superficielle.
- L'hyperplasie de l'utérus.
- L'augmentation de la contractilité de l'utérus et l'ouverture du col.

#### 1.4.1.3.2. Progestérone

Elle est principalement sécrétée par le corps jaune et accessoirement par les follicules ovariens matures. Cette lutéinisation pré-ovulatoire des cellules de la granulosa est une particularité du cycle sexuel de la chienne.

Les effets de cette hormone sur le tractus génital sont :

- la mucification du vagin
- l'épaississement de la muqueuse utérine et la préparation à la nidation
- l'inhibition de la motricité utérine et le maintien de la fermeture du col utérin
- la stimulation de l'activité sécrétoire de l'endomètre (prolifération des glandes)

La progestérone permet le maintien de la gestation en stimulant le développement de l'endomètre et du placenta et en inhibant les contractions utérines. Chez la chienne, l'unique source de progestérone est l'ovaire, il n'y a pas de relais placentaire, ce qui est une autre particularité de l'espèce canine. Une ovariectomie pendant la gestation conduit donc à un avortement.

Même si la progestéronémie des chiennes gestantes est similaire à celle des non gestantes pendant le diœstrus, elle ne reflète pas réellement la production ovarienne. En effet, la production de progestérone est significativement augmentée chez une lice gestante. Mais cette dernière présente également un métabolisme beaucoup plus important ce qui aboutit à une concentration importante des métabolites de la progestérone dans le plasma et les fèces. (63)

La synthèse de progestérone par le corps jaune (CJ) est régulée par d'autres hormones:

- des *hormones lutéotropes* qui stimulent la synthèse de progestérone par le corps jaune:

➤ la prolactine (PRL) (à partir de 30 jours de gestation): des anti-prolactiniques utilisés en fin de gestation entraînent un avortement.

➤ la LH: l'hypophysectomie provoque un avortement immédiat (Concannon 1980, Okkens et al., 1986) (63)

Le rôle de ces hormones est surtout net lors du deuxième mois de gestation, les mécanismes lutéotropes lors du premier mois sont moins connus. La dépendance du corps jaune vis-à-vis de la prolactine et de la LH semble varier lors de la gestation. Le CJ est plus indépendant pendant le premier tiers de la gestation, et plus on est proche de pic de LH plus l'indépendance est grande. Il n'y a pas encore d'explications connues à ce phénomène. (63)

- des *hormones lutéolytiques*, les prostaglandines F2 $\alpha$ , qui provoquent une diminution de la synthèse de progestérone après 10 à 15 jours de gestation. Ces dernières sont synthétisées en fin de gestation par l'utérus gravide, peut être en réponse à la sécrétion fœtale de cortisol.

#### 1.4.1.4. Relaxine (42)(60)

La relaxine est un polypeptide de la même famille que l'insuline, c'est actuellement la seule hormone connue, qui est spécifique de la gestation chez la chienne. Elle est sécrétée par le placenta dès la nidation.

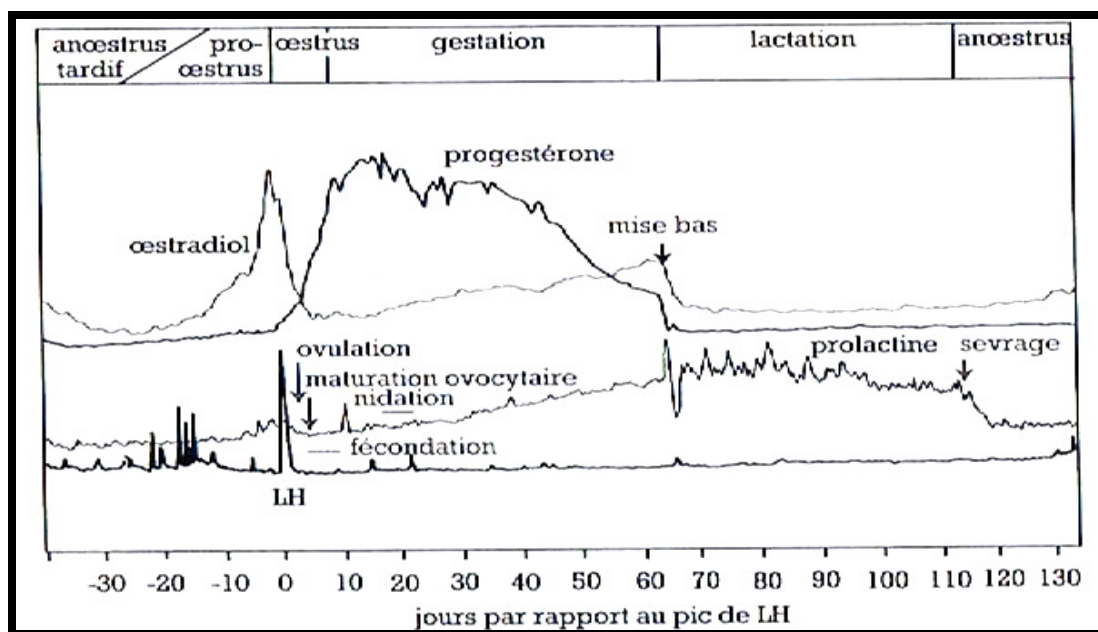
Elle est détectable à partir de 3 à 4 semaines de gestation, son taux le plus élevé (4-6 ng/ml) est atteint 2 à 3 semaines avant la mise bas puis il commence à décliner dans les 48 heures précédant le part et reste à des valeurs comprises entre 0,5 et 2 ng/ml pendant 4 à 9 semaines. (42)

Le placenta est la principale source de relaxine mais sa sécrétion post-partum laisse supposer une production utérine et ovarienne. (42)

Elle joue un rôle important dans le maintien de la gestation : elle inhibe les contractions du myomètre et favorise la croissance utérine : dans la deuxième moitié de la gestation, elle est un protagoniste de la maturation cervicale car elle induit la prolifération épithéliale et stromale. Elle prépare également l'appareil génital au part en rendant plus élastique la ceinture pelvienne et en dilatant le col de l'utérus et en induisant la formation de récepteurs à l'ocytocine. (36)

#### 1.4.2. Profil hormonal du cycle

**Figure 3 : Evolution hormonale (LH, progestérone et œstradiol) au cours du cycle sexuel chez la chienne gestante d'après Fontbonne *et al.* (33)**



#### 1.4.2.1.L'anoestrus

Les concentrations d'œstradiol sont basales pendant l'anoestrus. Le taux de progestérone n'est jamais basal avant J130-J160 du cycle (J0 étant le pic de LH). Les valeurs les plus basses, entre 10 et 50 pg/ml, sont observées en milieu et fin d'anoestrus. La concentration en FSH est variable mais plus élevée que dans d'autres étapes du cycle, sauf pendant le pic pré-ovulatoire de GnRH. La LH présente une concentration variable mais basse en moyenne avec des pulses tous les moins de 8 à 12H. (63)

#### 1.4.2.2.Le pro-œstrus

- En début de pro-œstrus :

Juste avant le début du pro-œstrus, il y a une augmentation des fréquences pulsatiles de LH et de FSH. Les intervalles entre les pulses sont de 1-2 heures voire moins. Il en résulte une augmentation importante de la concentration moyenne de LH. L'origine de ces changements est sans doute une augmentation de la fréquence pulsatile et de la magnitude des pics de GnRH et possiblement un changement de sensibilité de l'hypophyse vis-à-vis de cette hormone.

L'augmentation des concentrations de LH et surtout de FSH provoque la stimulation d'une « cohorte » de follicules ovariens qui se développent en follicules pro-œstraux sécrétant des œstrogènes. La chienne est de nouveaux en chaleurs.

- Pendant le pro-œstrus :

Le développement rapide des follicules ovariens provoque l'élévation progressive de la concentration d'œstradiol circulante. Ceci a pour effet un déclin concomitant des taux de LH et de FSH (effet inhibiteur de l'œstradiol).

- En fin de pro-œstrus :

L'augmentation du relargage d'œstradiol aboutit à un pic qui prépare l'hypophyse et l'hypothalamus à une décharge massive de LH et de FSH. Le taux d'œstradiol passe d'une valeur basale située entre 2 et 10 pg/ml à une valeur située entre 50 et 120 pg/ml selon Goodman (37), entre 30 et 70 pg/ml selon Fontbonne *et al.* (33). Cette augmentation se fait sur une période de 10 à 14 jours. (37) Le pic a lieu 2 à 3 jours avant le début de l'œstrus. (37) Les follicules ont atteint un plafond, ils combinent un métabolisme et une clairance élevés de l'œstradiol. Il en résulte un déclin de son taux. Cette baisse de sécrétion d'œstradiol provoque un pic de GnRH et un pic de LH présumés concomitants. (11)

La progestéronémie augmente 24 à 48 heures avant le pic de LH, au moment de la chute du taux d'œstradiol. Cette sécrétion pré-ovulatoire de progestérone semble déterminante pour le déclenchement du pic de LH. Concannon a démontré que si la montée de la progestéronémie ne se fait pas et que le ratio Progestérone/Œstradiol reste inchangé alors le pic de LH ne se produit pas et il n'y a pas d'ovulation. (63)

Le pic de LH débute lorsque le taux de progestérone passe rapidement de valeurs basales, inférieures à 1 nmol/L, à des valeurs comprises entre 3 et 6 nmol/L. (33) Cette augmentation rapide de la concentration de progestérone ne peut être dissociée chronologiquement de l'augmentation du taux de LH. (11)



#### 1.4.2.3.L'œstrus

- La phase pré-ovulatoire :

Le pic de LH est responsable de la croissance terminale rapide et de la lutéinisation des follicules pré-ovulatoires. Ainsi, sous son influence, des follicules de 3-4 mm de diamètre sécrétant des œstrogènes sont transformés en follicules de 8-9 mm de diamètres sécrétant de la progestérone. Ce pic déclenche aussi l'ovulation. Il est souvent considéré comme le point central du cycle de la chienne, à partir duquel les évènements sont datés (J0), il marque le début de l'œstrus endocrinologique alors que l'œstrus comportemental apparaît en moyenne à J1 avec des variations pouvant aller de J-3 à J+4 du cycle. (11) La durée de la décharge ovulante semble varier de 1 à 3 jours selon Concannon *et al.* (11), de 24 à 96h selon Chaffaux *et al.* (8), dure en moyenne 3,3 jours selon Fontbonne *et al.* (33), et 36+/-5 heures d'après De Gier *et al.* (20) Son taux sérique varie de 10 à 22 ng/ml selon Fontbonne *et al.* (33) et est en moyenne de 18,7+/-5,8 ng/ml selon De Gier *et al.*

Le pic de FSH précède également l'ovulation et dure trois fois plus longtemps que le pic de LH. Il s'étend sur 110+/-8 heures. Le métabolisme et la clairance de cette hormone sont plus lents. (11)

- La phase ovulatoire :

Le pic pré-ovulatoire de LH déclenche l'ovulation 30 à 48 heures plus tard, cela peut dépasser 96h dans certains cas. (20) On considère que l'ovulation a eu lieu lorsque le taux circulant de progestérone dépasse 5 à 10 ng/ml. (33)

Lors de l'ovulation les ovocytes n'ont pas encore achevés leur maturation, ils ne sont donc pas immédiatement fécondables car bloqués en prophase de la première division méiotique. La phase de maturation ovocytaire dure 48 heures.

- La phase post-ovulatoire :

Les concentrations de LH et de FSH retrouvent progressivement leurs valeurs basales. Le taux d'œstradiol décroît et atteint un niveau basal entre le 6<sup>ième</sup> et le 11<sup>ième</sup> jour de l'œstrus endocrinologique, moment où débute le metœstrus cytologique.

La progestéronémie augmente rapidement avec l'installation des corps jaunes, et atteint des valeurs comprises entre 10 et 25 ng/ml au cours des 48 heures suivant l'ovulation, moment où l'ovocyte devient mature. (60)

#### 1.4.2.4.Le metœstrus

Que la chienne soit gestante ou non, le corps jaune sécrète de la progestérone à des taux élevés. Le taux circulant atteint un maximum entre le 15<sup>ième</sup> et le 30<sup>ième</sup> jour suivant le pic LH avec des valeurs variant de 15 à 90 ng/ml selon Goodman et de 15 à 80 ng/ml selon Blendinger, puis décline jusqu'à atteindre un taux inférieur à 1 ng/ml à J60-J70 post pic LH ce qui marque la fin du diœstrus. (37)(5)

Les profils hormonaux d'une chienne gestante et d'une chienne non gestante sont très proches, cependant il existe quelques différences.

• Lors de gestation : (Voir Figure 3)

- Après son pic, la progestéronémie chute légèrement. Cependant une légère remontée se produit entre le 25<sup>ième</sup> et le 40<sup>ième</sup> jour (post LH). Puis le taux de progestérone diminue lentement et atteint, au dernier tiers de la gestation, un plateau de 4 à 16 ng/ml pendant 1 à 2 semaines. Enfin la concentration chute brutalement dans les 24 à 36 heures avant le part et atteint des valeurs inférieures à 2ng/ml 12 à 24 heures avant la parturition. (37) Cet effondrement est indispensable au déclenchement du part car il permet l'augmentation du nombre de récepteurs à l'ocytocine dans le muscle utérin.

- le taux d'œstradiol, devenu très faible au moment du pic de LH, remonte après le 25<sup>ième</sup> ou 30<sup>ième</sup> jour de gestation contribuant à la phase de croissance et de différenciation des acini mammaires (mammogénèse) et, plus tard à la préparation du part.

- La Relaxine, produite par le placenta de la chienne, est détectable 19 à 28 jours après le pic de LH. Sa sécrétion présente un pic à 4-6ng/ml entre le 40<sup>ième</sup> et le 50<sup>ième</sup> jour de gestation puis diminue avant terme. Elle devient indétectable 1 à 6 semaines après la parturition. (60)(33)

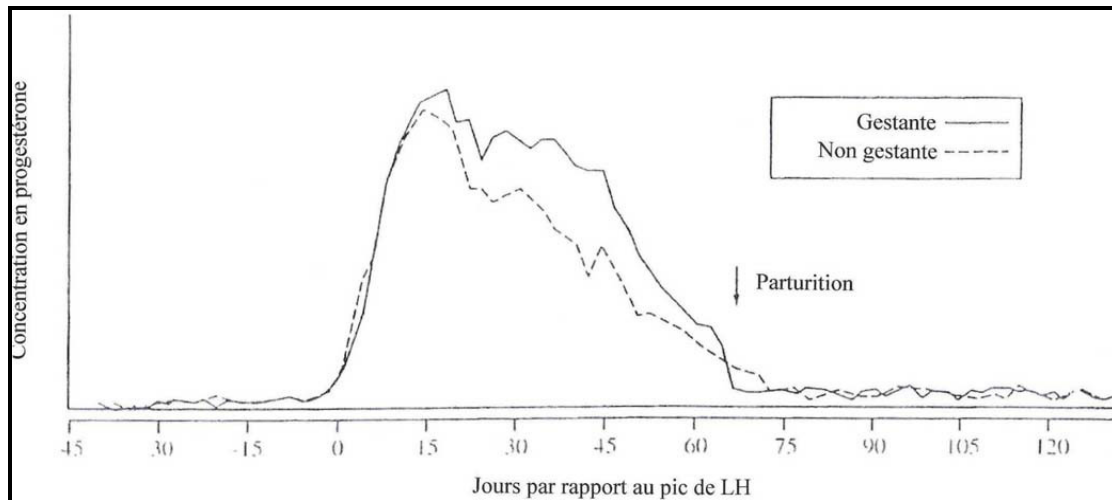
- Le taux de prolactine augmente dès le deuxième tiers de la gestation et devient significativement élevé entre le 30<sup>ième</sup> et le 35<sup>ième</sup> jour après le pic de LH. La prolactinémie présente un pic lors de la parturition et reste élevée pendant la lactation jusqu'au sevrage des chiots. Les valeurs de prolactinémie montent à environ 40 ng/ml lors de la dernière semaine de gestation et atteignent approximativement 100ng/ml 1 à 2 jours avant le part puis le taux dépasse 100ng/ml 1 à 2 jours après la parturition. La prolactinémie s'élève en réponse à la succion exercée par les chiots. (60)

• Lors de non gestation :

- la progestéronémie ne présente pas de remontée après son pic, elle diminue progressivement à partir du deuxième tiers du metœstrus jusqu'à J50-J80 après le pic de LH. (60) (Voir figure 4)

- La prolactinémie reste basse pendant la deuxième moitié du metœstrus,  $\leq 2$ ng/ml, sauf lors de pseudogestation. En effet, certaines chiennes présentent lors de cette phase des modifications cliniques similaires à celles observées chez une chienne gestante, cela peut aller jusqu'à l'apparition d'une lactation de pseudogestation deux mois après les chaleurs.

**Figure 4 : représentation schématique de la courbe de progestérone chez une chienne gestante et non gestante d'après Baron (3)**

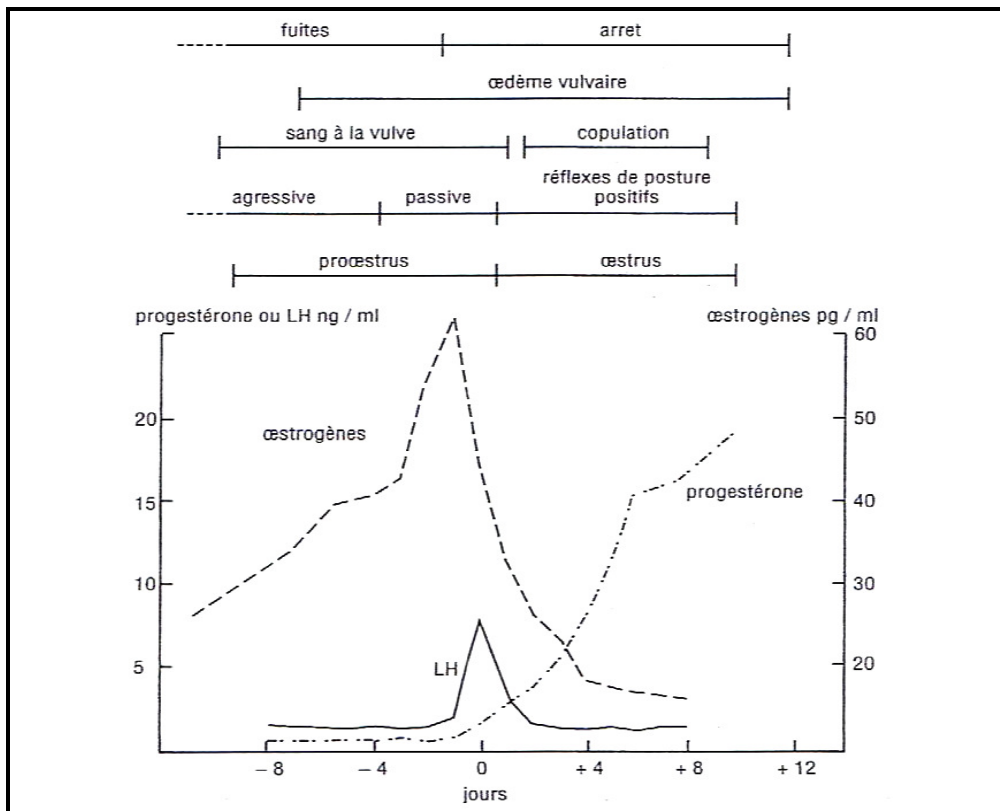


### **Le cycle hormonale de la chienne se traduit par :**

- Un pic pré-ovulatoire de LH, 48h avant l'ovulation
- Une lutéinisation pré-ovulatoire des follicules avec production de progestérone avant l'ovulation
- Une croissance en plateau de la progestérone, suite à l'ovulation. Chez la chienne l'augmentation de la progestéronémie traduit l'ovulation et non la gestation.

### 1.4.3. Récapitulatif des événements biologiques se produisant pendant les chaleurs (Figure 5)

**Figure 5: Variations hormonales durant le pro-œstrus et l'œstrus chez la chienne Beagle et durée moyenne des différents paramètres cliniques (8)**



#### 1.4.3.1. La phase folliculaire

Pendant la phase d'imprégnation œstrogénique, l'appareil génital est préparé à la saillie et à la gestation. Comme nous l'avons vu précédemment, les œstrogènes agissent à différents niveaux :

- Ils sont responsables de la synthèse de phéromones sexuelles qui attirent les mâles.
- L'utérus est congestionné et oedématisé. Les pertes séro-hémorragiques vulvaires proviennent de la diapédèse des érythrocytes de l'endomètre vers la lumière utérine. La paroi utérine s'hyperplasia et les glandes utérines se développent. Les œstrogènes favorisent également la motricité utérine et l'ouverture du col.
- Le vagin et la vulve présentent aussi une congestion, un œdème et une hyperplasie. La stratification de l'épithélium s'accompagne d'une kératinisation des couches cellulaires les plus superficielles. Ceci contribue à la protection mécanique de la muqueuse vaginale lors de l'accouplement.
- Les follicules mûrissent et font saillis à la surface de l'ovaire. Leur croissance est asynchrone, leur taille diffère au moment de l'ovulation. Seuls les follicules arrivés à terme s'ouvriront lors de l'ovulation.

#### 1.4.3.2.L'ovulation et la maturation ovocytaire

Selon une étude de Marseloo *et al.* (50), l'ovulation complète semble se dérouler en moins de 24 heures voire en 12 heures chez certaines chiennes. Lors de cette étude aucune différence concernant le moment de l'ovulation n'a été observée entre l'ovaire droit et l'ovaire gauche.

Les ovocytes sont expulsés sous forme d'ovocytes primaires bloqués en prophase de la première division méiotique, ils sont donc immatures. Ils doivent compléter leur méiose dans l'oviducte. Cette phase de maturation dure de 48 à 72 heures. (37) Les ovocytes ne restent viables que 2 à 3 jours. Ainsi la période fertile débute 4 à 5 jours après le pic de LH et s'achève 6 à 8 jours après le pic de LH au moment où les ovocytes dégènèrent. (13)

Reynaud *et al.* ont réalisé une étude dont le but était de dater depuis l'ovulation, le plus précisément possible, la maturation ovocytaire, la fécondation et les premières divisions embryonnaires chez la chienne. Cette étude a été faite sur 50 chiennes de différentes races âgées de 8 mois à 9 ans. L'ovulation a été mise en évidence par échographie. Les chiennes furent inséminées artificiellement tous les jours de un jour avant l'ovulation à l'ovariectomie. Cette dernière fut réalisée et les ovocytes prélevés 15 à 136 heures après l'ovulation afin de pouvoir visualiser tous les stades de développement de l'ovocyte et de l'embryon. Les auteurs ont pu récolter 287 ovocytes/embryons. (35) (57)

Il résulte de cette étude que :

- Le stade de vésicule germinative, stade auquel est expulsé l'ovocyte lors de l'ovulation, est présent jusqu'à 44 heures après l'ovulation voire plus longtemps dans certains cas. Aucune pénétration de spermatozoïdes ne fût observée à ce stade.
- Les premiers ovocytes au stade métaphase 1 furent observés entre 44 et 48 heures et, les premiers stades de métaphase 2 apparaissent 54 heures après l'ovulation.
- La présence de spermatozoïdes et d'ovocytes au stade MII dans l'oviducte entre 54 et 83 heures après l'ovulation n'a résulté en une fécondation que dans 10% des cas (une chienne sur dix) suggérant le besoin d'un temps de présence minimum dans l'oviducte avant la fécondation.
- La fécondation a lieu dans la partie distale de l'oviducte à partir de 90 heures, avec des ovocytes au stade métaphase 2. La pénétration d'ovocytes immatures par les spermatozoïdes reste exceptionnelle (3 ovocytes au stade métaphase 1, 72 heures après ovulation).

#### 1.4.3.3.La phase lutéale

Il s'agit de la phase de synthèse de progestérone par le corps jaune. Ce dernier est une glande endocrine transitoire dont la vie peut être décomposée en 3 ou 4 phases chez la chienne. (Voir Encadré 1)

## Encadré 1: La vie du corps jaunes chez la chienne d'après Verstegen et Onclin (64)

### ➤ *Phase d'installation autonome :*

S'étend de J-2 avant le pic de LH, lors des premières lutéinisations, à J20-25 après le pic de LH. Le corps est relativement autonome et ne dépend que partiellement des diverses lutéotropines.

### ➤ *Phase d'hormono-dépendance :*

Le corps jaune y est dépendant des facteurs lutéotropes et lutéolytiques.

### ➤ *Phase de réduction d'activité ou initiale de dégénérescence :*

S'étend d'environ J50 après le pic de LH à la parturition ou à la fin du dioestrus non gestant. Les sécrétions de progestérones sont réduites et l'activité fonctionnelle du corps jaunes décline. Cette phase se termine lorsque les taux plasmatiques de progestérone sont de nouveaux en dessous du seuil de maintien de la gestation soit 1-2 ng/ml.

### ➤ *Phase de régression et dégénérescence lutéale :*

S'étend de la fin du dioestrus à environ 140-150 jours après le pic de LH. Elle se caractérise par une dégénérescence cellulaire et un arrêt progressif de la sécrétion de progestérone.

Les variations endocrinologiques qui se produisent lors de cette phase lutéale ont des répercussions biologiques diverses : (9)

- Le *comportement* d'œstrus débute autour du moment de la décharge ovulatoire de LH, pendant que le taux d'œstrogènes diminue et celui de progestérone augmente. Selon Concannon, la baisse du ratio œstrogènes/progestérone semble être un élément déclenchant du comportement œstral chez la chienne. (26)

- Le *tractus génital* subit des modifications :

- *L'endomètre* : l'œdème et la congestion diminuent suite à la chute du taux d'œstrogènes et, la montée de la progestéronémie provoque une dentellisation de la muqueuse utérine préparant l'utérus à la nidation. La progestérone inhibe également la motricité utérine et maintient le col fermé.

- *La muqueuse vaginale* devient plus plissée, moins oedématisée et blanchâtre au moment de la décharge ovulante puis, au moment de la réduction brutale de la kératinisation au début du metœstrus elle se modifie et est constituée de parties épaisses séparées de parties plus fines vascularisées.

## 2. Le transport des spermatozoïdes dans le tractus génital de la chienne

Au cours d'une saillie naturelle, les spermatozoïdes sont déposés dans le vagin crânial et doivent ensuite passer le col de l'utérus. Le col utérin de la chienne contient très peu de mucus (25) et s'ouvre environ 4 jours avant l'ovulation et se referme 5 jours après (l'ouverture et la fermeture cervicale sont corrélées au ratio œstradiol/progestérone plasmatiques), de ce fait, le col ne semble

pas constituer une barrière au passage des spermatozoïdes pendant la période des chaleurs de la chienne. (D'après Silva *et al.* (1995)) (29)

Après le passage du col, les spermatozoïdes sont rapidement distribués dans le tractus génital, principalement grâce à un processus dynamique combinant contractions vaginales et utérines. La fréquence des contractions spontanées de l'utérus est en effet plus importante au moment de l'ovulation et les 5 jours suivant. (25) Une saillie pendant cette période augmente encore plus les contractions. En effet, des spermatozoïdes furent retrouvés au bout des cornes utérines 25-50 secondes après la saillie (Evans 1933). Rijsselaere *et al.* (58) supposent que ces contractions sont plus actives lors d'une saillie naturelle que lors d'une insémination artificielle.

Après avoir passé 24 heures dans la lumière utérine, les spermatozoïdes s'attachent à l'épithélium utérin principalement dans les cryptes et les glandes. (25) Ils s'accumulent surtout au niveau de la jonction tubulo-utérine. Cette dernière agit comme une barrière en empêchant l'ascension des spermatozoïdes réduisant ainsi le risque de polyspermie. Les facteurs défavorisant le passage des gamètes sont : une lumière étroite, la présence de sécrétions visqueuses et la présence de récepteurs spécifiques d'espèce auxquels se lient les spermatozoïdes. Seuls des gamètes mâles avec une bonne motilité sont capable de passer cette barrière. (25)

La période du cycle de la chienne jouerait un rôle dans la distribution des spermatozoïdes au sein du tractus génital femelle. En effet, Rijsselaere *et al.* (58) ont trouvé un nombre plus important de gamètes mâles lié à l'épithélium utérin chez des chiennes ayant été inséminées autour de l'ovulation que chez des chiennes ayant été inséminées plus précocement ou plus tardivement au cours de leurs chaleurs.

Après un certain temps les spermatozoïdes se détachent de l'épithélium utérin. Certains auteurs suggèrent que le signal du détachement serait l'augmentation de la progestéronémie. (29)

Après s'être détaché, les spermatozoïdes passent dans l'oviducte. D'après l'étude de Reynaud *et al.* (56), les spermatozoïdes atteignant l'oviducte ne fécondent pas les ovocytes immédiatement même si ceux-ci sont déjà matures. Dans 90% des cas, la fécondation n'a lieu que 90 heures après l'ovulation alors que les ovocytes sont pour la plupart déjà mature à partir de 54 heures post-ovulation. Les auteurs de cette étude suggèrent que les gamètes ont besoin d'un temps minimum de présence dans l'oviducte avant la fécondation.

Les spermatozoïdes peuvent survivent assez longuement dans le tractus génital de la chienne, une saillie effectuée jusqu'à 9 jours avant le pic de LH peut résulter en une gestation. (England et Pacey 1998) (29)

### **3.La gestation**

#### **3.1.La durée de gestation**

##### **3.1.1.Définir la durée de gestation**

La gestation débute avec la fusion des gamètes. Mais cet instant étant discret, cela nous amène à choisir un autre évènement du cycle sexuel pour définir le jour 0 de la gestation. Suivant l'évènement choisi, la durée de la gravidité varie considérablement. Le J0 peut être le pic pré-ovulatoire de LH, l'ovulation, le metœstrus cytologique ou le jour de la saillie.

### 3.1.1.1. Du pic de LH à la mise bas

Cette durée est l'une des plus fiables et des plus précises puisqu'elle varie très peu selon les auteurs, entre 64 et 66 jours (étude effectuée sur des Beagles). (8)(16)(60) Cette faible variation s'explique par:

- La variabilité importante du délai entre le pic de LH et la première acceptation de la saillie (de 3 jours avant à 10 jours après le pic de LH soit de J-5 à J+8 de l'ovulation (13)),
- La maturation tardive de l'ovocyte,
- La viabilité prolongée des spermatozoïdes (jusqu'à 8 jours dans le tractus génital de la chienne (d'après Concannon) (13)) et des ovocytes (2 à 3 jours en moyenne mais dans certains cas cela peut atteindre 5 à 6 jours soit 10 à 11 jours post pic LH (13)). (8)

Il se peut que des gestations tout à fait normales sortent de l'intervalle des 64 à 66 jours, ceci ne doit pas être considéré comme inhabituel car on peut se tromper d'une journée sur la date de survenue du pic de LH.

Certains auteurs prennent comme référence (J0) la montée initiale de la progestéronémie (jour où le taux de progestérone est égal à 2 ng/ml), celle-ci ne peut être différenciée du pic de LH. Ainsi Kutzler *et al.* indiquent une précision de 67% pour une durée de gestation de 65 +/- 1 jours, 90% pour 65 +/- 2 jours et 100% pour 65 +/- 3 jours (étude menée sur 63 chiennes de 19 races différentes). (43) Quant à Eilts *et al.*, ils trouvent une durée de gestation moyenne de 63,8 +/- 2,2 jours (764 chiennes de différentes races). (24)

Néanmoins, on peut dire que la durée de gestation moyenne à partir du pic de LH est de 65 jours, ce qui est confirmé par une étude de Concannon *et al.* (16) en 1983 sur des chiennes Beagle dans laquelle la durée de gestation moyenne est de 65,1 +/- 0,1 jours. Premièrement, ceci nous permet de prévoir à quel moment on peut effectuer les différents examens complémentaires relatifs à la gestation et deuxièmement, cela permet de prévoir une date précise autour de laquelle le part aura lieu. Cette dernière information est importante pour l'éleveur et pour le praticien surtout lors de mise bas à risque.

### 3.1.1.2. De l'ovulation à la mise bas

Il s'agit de la *durée réelle* de gestation. Elle est de 63 +/- 1 jours selon Fontbonne (30) et Romagnoli (60). Selon une étude de Tsutsui *et al.* (62), elle est de 64 jours.

La détermination de la date d'ovulation se fait soit par estimation à partir de la détection du pic de LH qui se produit 2 jours avant soit par l'augmentation pré-ovulatoire de progestérone (20) soit par la valeur du taux de progestérone qui se situe autour de 6 ng/ml. Or selon Kutzler, la détermination de la date de mise bas à partir d'une concentration en progestérone donnée ne peut être précise puisque après J1 post LH, la progestéronémie varie en fonction du format des chiennes. D'après ce même auteur le seul repère fiable est donc le pic de LH. (44)

### 3.1.1.3. Du metœstrus cytologique à la mise bas

La mise en évidence du premier jour du metœstrus à l'aide de frottis vaginaux successifs peut être prise en compte pour déterminer la date de mise bas. Généralement le metœstrus débute 8 jours après l'ovulation et la mise bas est alors prévue 57 +/- 1 jours plus tard. (48)(60) Cette méthode peut être utilisée lorsque l'on ne peut pas avoir recours aux dosages hormonaux ou lorsque l'accouplement a déjà eu lieu. Cependant cette prédiction n'est pas vraiment précise car le passage de l'œstrus au diœstrus cytologique peut apparaître entre 6 et 11 jours après le pic de LH. (48)



Une étude effectuée par Kutzler *et al.* montre que 80 % des chiennes suivies ont bien une durée de gestation moyenne de 57 jours, mais elle montre également que l'intervalle va de 51 à 60 jours pour l'ensemble des chiennes. (43) Une autre étude d'Eilts *et al.* indique une durée de gestation de 56 +/- 2,8 jours avec un intervalle allant de 51 à 68 jours. (24) On peut donc en déduire que le premier jour du metœstrus cytologique n'est pas un point de repère assez précis.

#### 3.1.1.4. De la saillie à la mise bas

La *durée apparente* de gestation se définit à partir du jour de la saillie. Dans l'espèce canine, la durée de vie des gamètes est particulièrement longue, et il peut y avoir un décalage considérable dans le temps entre le coït et la fusion des gamètes.

Notions de période de fécondabilité et de période fertile: (26)

##### • Période de fécondabilité

Il s'agit de la période pendant laquelle des ovocytes viables, et suffisamment matures pour être fécondés par des spermatozoïdes, sont présents dans les voies reproductrices. De la fécondation né une cellule zygote, résultat de la fusion du pronucléus mâle et du pronucléus femelle.

Cette période s'étale du 4<sup>ième</sup> au 7<sup>ième</sup> jour après le pic de LH (soit de 2 à 5 jours après l'ovulation). Elle peut s'étendre jusqu'à 8, 9 voire 10 jours après le pic de LH mais il y a alors une baisse de la fertilité. En effet, cette dernière diminue très rapidement à partir du 7<sup>ième</sup> jour car les ovocytes dégénèrent et le col de l'utérus se ferme.

Des saillies naturelles à J8, J9 ou J10 résultant en une gestation restent rares et donnent des petites portées. Alors que des IA intra-utérines à J8, J9 ou J10 donnent de meilleurs taux de gestation (60%, 60% et 20% respectivement).

La période optimale pour qu'une chienne devienne gestante est la période de fécondabilité soit entre le 4<sup>ième</sup> et 7<sup>ième</sup> jour après le pic de LH.

##### • Période fertile

C'est la période pendant laquelle une saillie ou une insémination peut résulter en une gestation. Cela inclus donc la période de fécondabilité et les quelques jours la précédant, car les spermatozoïdes du chien restent fertiles pendant plusieurs jours dans les voies génitales de la chienne.

Cette période peut débuter 5 à 6 jours avant l'ovulation et il peut y avoir fécondation 6 à 7 jours après le dépôt de la semence. (16) La période fertile s'étend donc de 3 jours avant à 7 jours après le pic de LH voire plus si l'on a recours à un étalon avec une semence exceptionnelle ou à une lice dont les ovocytes survivent 1 à 2 jours de plus que la normale. Mais en générale, les spermatozoïdes ne survivent pas plus de 1 à 2 jours dans les voies génitales de la chienne donc les saillies se produisant avant le pic de LH donnent des taux de gestation bas.

Selon les auteurs et le point de repère pris comme J0 (première ou dernière insémination lors d'inséminations multiples ou, insémination unique) la durée apparente de gestation diffère légèrement mais on peut tout de même en déduire qu'elle est très variable chez la chienne car les intervalles obtenus lors des différentes études sont grands.

Ainsi :

- Selon Chaffaux *et al.*, elle s'étend de 56 à 68 jours avec une moyenne de 64 jours et n'excède pas 71-72 jours. (8)
- Selon Concannon (12), elle varie de 56 jours (après une saillie tardive) à 69 jours (après une saillie précoce) lors de saillie unique. Lors de multiples saillies, cet intervalle peut aller de 50 à 70 jours selon que l'on prenne en compte le premier ou le dernier des accouplements. (13) Dans d'autres publications (15) (16), cet auteur annonce même un intervalle de 57 à 72 jours voire plus lorsque l'on prend comme point de départ la première de multiples saillie, avec une moyenne de 65,3 +/- 0,2 jours (étude concernant 290 gestations).
- Selon Romagnoli (60), cette durée s'étend de 57 à 72 jours après une saillie unique.
- Selon une étude réalisée par Arbeiter *et al.* (1) sur 106 chiennes, la durée de gestation à partir de la première saillie est de 61,4 jours en moyenne avec des extrêmes allant de 58 à 63 jours.
- Selon une étude d'Okkens *et al.* en 1993, sur 77 chiennes, la gestation dure en moyenne 62,1 +/- 0,2 jours avec une variation de 11 jours. 73% des chiennes de cette étude ont une durée de gestation apparente comprise entre 60 et 68 jours. (53) En 2001, d'après une étude portant sur 113 chiennes de 6 races différentes Okkens *et al.* obtiennent une durée de gestation apparente de 61,4 +/- 1,5 jours avec un intervalle allant de 58 à 65 jours. (54)
- Selon une autre étude effectuée par Linde-Forsberg (46) sur l'insémination artificielle dans l'espèce canine (données récoltées chez plus de 80 vétérinaires et représentant 2500 IA effectuées chez plus de 200 races), la durée de gestation mesurée à partir de la dernière insémination est de 60-61 jours. Par contre l'auteur ne précise pas comment sont définies les dates des inséminations, il est juste dit que le suivi des chiennes subissant une insémination en semence congelée est effectué par mesure de la progestéronémie et que pour la plupart des autres le suivi est effectué par réalisation d'un frottis vaginal. L'auteur conclue que la durée de gestation obtenue à partir de la dernière IA montre bien que les inséminations furent faites pendant la période de fécondabilité.

On remarque que lors de saillie précoce la durée apparente de gestation est plus longue que lors de saillie tardive. Par contre, si l'on prend comme origine le pic de LH, la durée de gestation des chiennes, qu'elles aient été inséminé précocement ou tardivement, est un peu près la même. Ceci s'explique par le fait que la période optimale de fécondabilité est restreinte à environ 3 jours, du 4<sup>ième</sup> au 7<sup>ième</sup> jour après le pic de LH, donc si l'on prend comme repère le pic de LH ou l'ovulation, cette durée de gestation qui pouvait différer de 2 semaines dans certains cas varie très peu.

Il existe cependant des cas où une saillie tardive (jusqu' 10 jours après le pic de LH) résulte en une gestation dont la vraie durée (fécondation-parturition) est plus courte que la normale. Ce phénomène n'est pas tout à fait élucidé, mais il semble y avoir déjà deux explications. Premièrement, il semblerait que des ovocytes fécondés 2 jours après maturation se divisent beaucoup plus rapidement que des ovocytes pénétrés (mais fécondés une fois l'ovocyte mature) par des spermatozoïdes avant la maturation. Deuxièmement, l'implantation est régulée pour une part par les changements de concentrations sériques en œstrogènes et en progestérone, ce qui n'est pas en relation avec le moment de la saillie, la fécondation et les premières divisions embryonnaires. (10)

Un intervalle pouvant atteindre jusqu'à 15 jours sur une durée de gestation de seulement 9 semaines représente un écart vraiment très important, donc la prédiction de la date de parturition à partir de la date de la saillie est une méthode qui ne peut pas être suffisamment précise.

### 3.1.2. Facteurs influençant la durée de gestation

#### • L'intervalle ovulation-insémination :

Selon une étude de Tsutsui *et al.* sur la relation entre l'accouplement ou l'ovulation et la durée de gestation, il existe une corrélation négative entre le nombre de jours séparant la saillie de l'ovulation et la durée de gestation apparente. L'étude porte sur 36 chiennes Beagle âgées de 2 à 10 ans séparées en 5 groupes de 5, 7, 8, 7 et 9 femelles. Celles-ci ont été inséminées une seule fois de 1 à 5 jours après l'ovulation respectivement suivant les groupes. Le premier jour où la progestéronémie plasmatique excède 2 ng/ml est considéré comme celui de l'ovulation. La durée de gestation est calculée du jour de l'ovulation à la mise bas. La durée de gestation apparente obtenue pour les 5 groupes est de : 63,4 +/- 0,6, 61,6 +/- 0,7, 60,8 +/- 0,7, 59,7 +/- 0,6 et 59,1 +/- 0,3 jours ; ce qui montre bien que plus la saillie est tardive plus la durée de gestation apparente est courte. Alors que la durée de gestation réelle varie de 61 à 66 jours avec une moyenne de 63,9 +/- 0,2 jours et ne diffère pas selon les groupes. (62) Ceci dépend sans doute du moment où les ovocytes sont fécondés.

#### • Race :

D'après l'étude d'Arbeiter *et al.* en 1991 (1), il n'y a pas de différence entre les races.

Selon une étude de Linde-forsberg *et al.*, en 1993, sur l'insémination artificielle chez le chien (527 IA) il existe des variations interraciales de 3 à 6 jours : le Berger Allemand aurait une durée de gestation plus courte que les autres races. (46) Par contre, une autre étude de ce même auteur effectuée en 1998 indique qu'il n'y a pas d'influence de la race sur la durée de gestation. (47)

Okkens *et al.* réalisent deux études sur l'influence de la race sur la durée de la gestation :

- La première, en 1993, porte sur 77 chiennes de races différentes, dont 5 races comptant au moins 5 animaux, et dont la durée de gestation est mesurée de la saillie à la mise bas. Les chiennes sont inséminées une seule fois au début de l'ovulation, dès que la progestéronémie dépasse 5-6 ng/ml. Les auteurs concluent que le Berger Allemand (9 chiennes) a une gestation plus courte que les autres races, 60,1 +/- 0,5 jours. (53)

- La deuxième, en 2001, porte sur 113 chiennes provenant de 6 races différentes. Le protocole de mise à la reproduction est le même que précédemment. Cette étude montre que le West Highland White Terrier a une durée de gestation significativement plus longue (62,8 +/- 1,2 jours) que celles du Berger Allemand (60,4 +/- 1,7 jours), du Labrador Retriever (60,9 +/- 1,5 jours) et du Doberman (61,4 +/- 1,0 jours). (54)

En 2004, Eilts, Davidson *et al.*, effectuèrent une étude sur 308 chiennes provenant de 4 races différentes. Ils étudièrent l'influence de l'âge, la parité, la taille de la portée et la race sur la durée de la gestation. Cette dernière fût mesurée depuis le pic de LH déduit du premier jour du diœstrus cytologique ou du premier jour d'augmentation brutale de la progestéronémie. Cette étude a mis en évidence une durée de gestation plus courte chez le Labrador Retriever (62,9 +/- 1,3 jours) que chez le Berger Allemand (63,6 +/- 2,1 jours), le Golden Retriever (64,7 +/- 1,5 jours) et le Hound (66,0 +/- 2,8 jours). (24)

• L'âge de la chienne :

Selon l'étude d'Eilts *et al.*, l'âge de la chienne n'a pas d'influence sur la durée de gestation. (24)

• Poids de la chienne avant la gestation :

D'après une étude de Kutzler *et al.* sur 63 chiennes appartenant à 19 races différentes et portant sur la prédiction de la date de parturition à partir de la montée initiale de la progestéronémie indiquant le pic de LH, le poids de la chienne n'affecte pas la durée de gestation. (44)

• Taille de la portée :

D'après Linde-Forsberg *et al.* en 1998 (47), Kutzler *et al.* en 2002 (44) et Tsutsui *et al.* en 2006 (62), la taille de la portée n'affecte pas la durée de gestation.

D'autres études montrent le contraire :

- Celle d'Hekerman, Okkens *et al.* en 1993, montre que la taille de la portée est corrélée négativement avec la durée de gestation apparente pour les chiennes ayant mis bas jusqu'à 7 chiots. A partir de 8 chiots il n'y a plus de corrélation entre la taille de la portée et durée de gestation. (40)

- En 2001, Okkens *et al.* confirment qu'il y a une corrélation négative entre la taille de la portée et la durée de gestation. Mais cette fois-ci, cela concerne les chiennes ayant jusqu'à 13 chiots. (54)

- L'étude d'Eilts *et al.* en 2004 montre que les chiennes ayant des portées de 4 chiots ou moins ont une durée de gestation significativement plus longue. (24)

• Parité :

Selon Tsutsui *et al.* (62), Eilts *et al.* (24) et Okkens *et al.* (53), la parité n'a pas d'effet sur la durée de la gestation.

• Le mode d'insémination : intra-vaginale et intra-utérine

Selon une étude réalisée en 1998 par Linde-Forsberg *et al.* sur 327 inséminations artificielles effectuées chez 276 chiennes de 76 races différentes, la durée de gestation apparente moyenne à compter de la première insémination est plus longue lors d'insémination intra-vaginale (62,7 +/- 2,7 jours) que lors d'insémination intra-utérine (61,2 +/- 2,1 jours). (47)

### 3.2. Déroulement de la gestation

#### 3.2.1. La période embryonnaire

##### 3.2.1.1. Les premiers stades de la vie embryonnaires (Voir Figure 6)

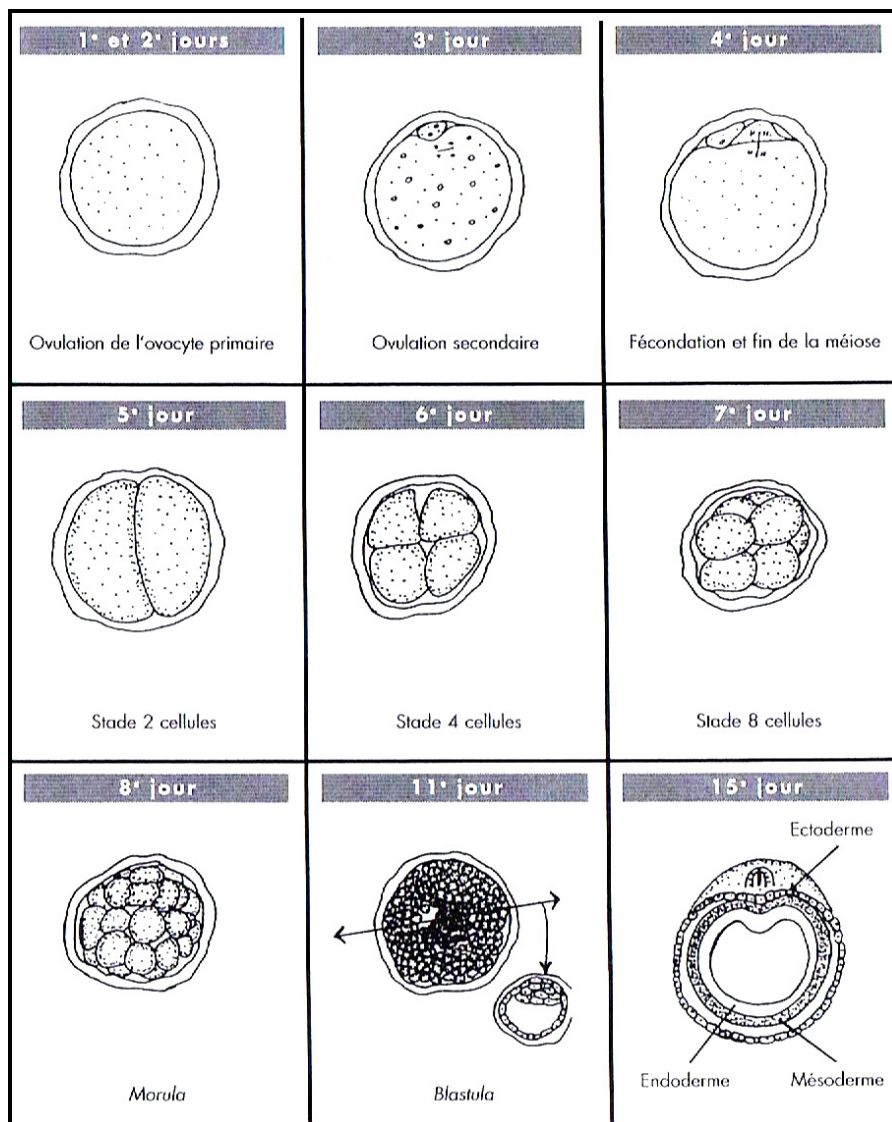
• Fécondation :

Selon l'étude de Reynaud *et al.* (56)(57) :

- La fécondation a lieu dans la partie distale de l'oviducte à partir de 90 heures, avec des ovocytes au stade métaphase 2. La pénétration d'ovocytes immatures par les spermatozoïdes reste exceptionnelle (3 ovocytes au stade métaphase 1, 72 heures après ovulation).

La fécondation aboutit à la formation d'un embryon à 2 cellules vers 112 heures post ovulation. Des embryons au stade 4 et 8 cellules étaient également visibles au même moment.

**Figure 6: Chronologie des premières étapes du développement embryonnaire (18)**



• Nidation : (6) (33) (60)

La nidation est tardive chez la chienne. Les embryons restent libres dans l’oviducte entre 168 et 240 heures (soit 7 à 10 jours) après l’ovulation puis descendent dans l’utérus au stade de morula (8 à 16 cellules) ou de blastocyste (32 cellules). (57) Pendant 1 à 2 jours les embryons descendent et remontent activement la corne utérine ipsilatérale puis, les 2 jours suivant ils flottent d’une corne utérine à l’autre jusqu’à l’implantation. Selon les auteurs, la date d’implantation n’est pas tout à fait la même :

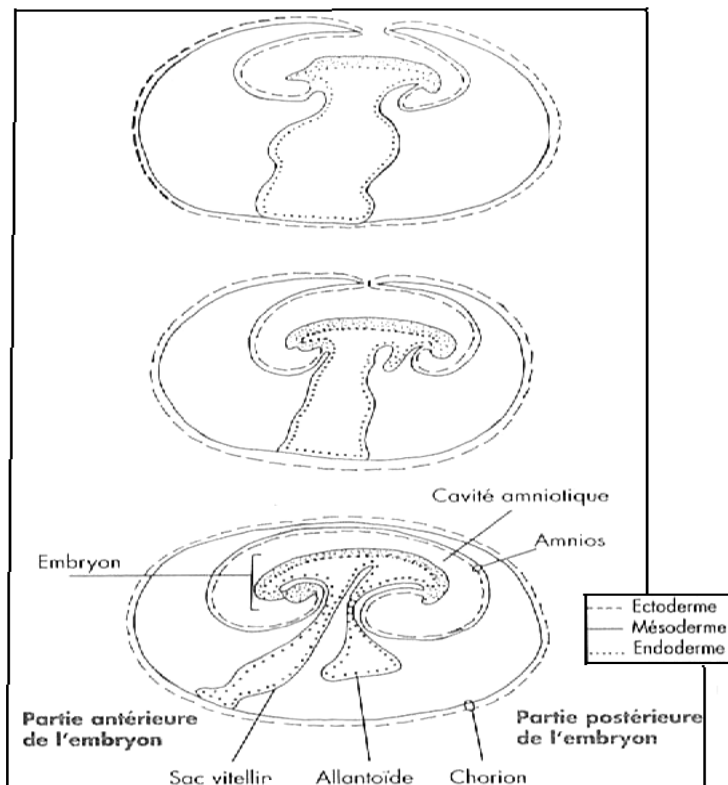
- Selon Romagnoli (60), l’implantation débute 13 à 15 jours après l’ovulation.
- Selon Concannon (12), elle débute autour du 18<sup>ième</sup> jour après le pic de LH par une congestion utérine (pré-implantation), puis autour du 21<sup>ième</sup> jour le trophoblaste s’attache à l’endomètre, enfin elle s’achève autour du 22<sup>ième</sup> jour.

Les embryons peuvent s’implanter dans la corne opposée au lieu de l’ovulation, leur répartition est équidistante dans l’utérus avec une distribution identique dans les deux cornes. (18)

3.2.1.2. Les annexes embryonnaires (9) (17) (18) (61)

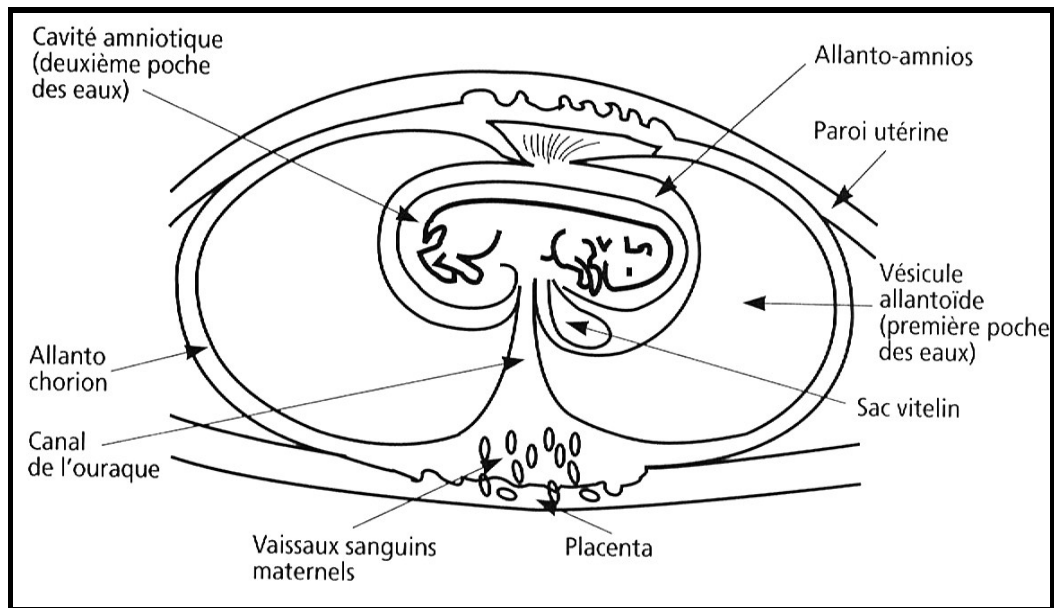
De l’implantation au 33<sup>ième</sup> jour, les annexes se mettent en place et l’organogénèse s’effectue. (61)(Voir figure 7)

**Figure 7: Le développement des annexes embryonnaires (18)**



Il y a 4 annexes embryonnaires : (Voir figure 8)

**Figure 8: le fœtus et ses annexes** (d'après LENNOZ (45))



• Le sac vitellin (ou lécithocoele)

Il est appendu à l'intestin et occupe toute la lumière de l'ampoule jusqu'à J23 puis régresse au profit de l'allantoïde. (61) Cette dernière refoule le sac vitellin au centre de l'œuf où il sera complètement isolé du chorion lisse sauf en deux points, à chaque pôle de l'œuf. Il prend alors la forme d'un cylindre allongé suivant le grand axe de l'ampoule, plaqué contre le fœtus et son amnios, et entouré par l'allantoïde. Progressivement son contenu se vide et son diamètre diminue, mais il persiste pendant toute la gestation. Ses rôles sont limités.

• L'amnios et la cavité amniotique

Le développement de l'amnios se termine 23 jours après l'ovulation. (61) La cavité amniotique contient un liquide stérile, renouvelé en permanence, dans lequel baigne complètement l'embryon. Le liquide amniotique a plusieurs rôles :

- un rôle *mécanique* : Il amortit les chocs subits par l'embryon et lui permet des mouvements libres.
- un rôle de *nutrition* : il contient des nutriments (protides, glucides, lipides et électrolytes), il est avalé par l'embryon.
- Un rôle d'*émonctoire* vers la fin de la gestation : l'embryon y excrète des déchets qui passent ensuite dans la circulation sanguine maternelle.

• L'allantoïde

Cette annexe se développe depuis la face ventrale de l'embryon, elle s'accroît très rapidement et s'intercale entre le sac vitellin et le chorion. A J28, l'allantoïde est devenue l'annexe fœtale la plus externe, c'est une grande cavité remplie de fluide. (61)

- Le chorion

Il s'agit de l'enveloppe la plus externe. Elle recouvre toutes les formations précédentes. A partir de J25, l'œuf est franchement ovalaire, la forme annulaire du placenta apparaît et permet de distinguer deux parties dans l'enveloppe externe : (61)

➤ Le *chorion villex* qui représente la ceinture placentaire : la vascularisation du chorion s'unit aux vaisseaux de l'allantoïde pour former le *placenta chorio-allantoïdien*, lieu d'échanges fœtaux-maternels.

➤ Le *chorion lisse* prolonge le placenta à chaque extrémité de l'ampoule, c'est une paroi fine dont l'extension se fait très rapidement pendant la période embryonnaire.

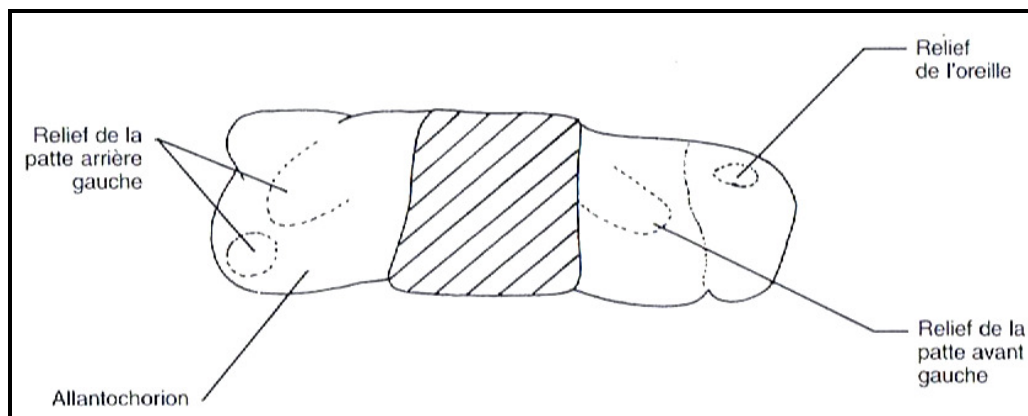
### 3.2.1.3. Le placenta

- Anatomie :

Le placenta s'organise progressivement à partir de l'implantation. Il est formé par des structures embryonnaires et maternelles. Les structures placentaires complètes sont en place au 23ème jour de gestation. (17)

Chez les carnivores, le placenta est de type *zonaire* (Voir figure 9), il forme une large ceinture autour du fœtus et de ses annexes. Aux marges de cette zone, on trouve la zone des « hématomes marginaux » aux niveaux desquels est synthétisé un pigment vert, *l'utéroverdine*, produit de dégradation de l'hémoglobine. Il serait impliqué dans la nutrition du fœtus en fournissant une source de fer.

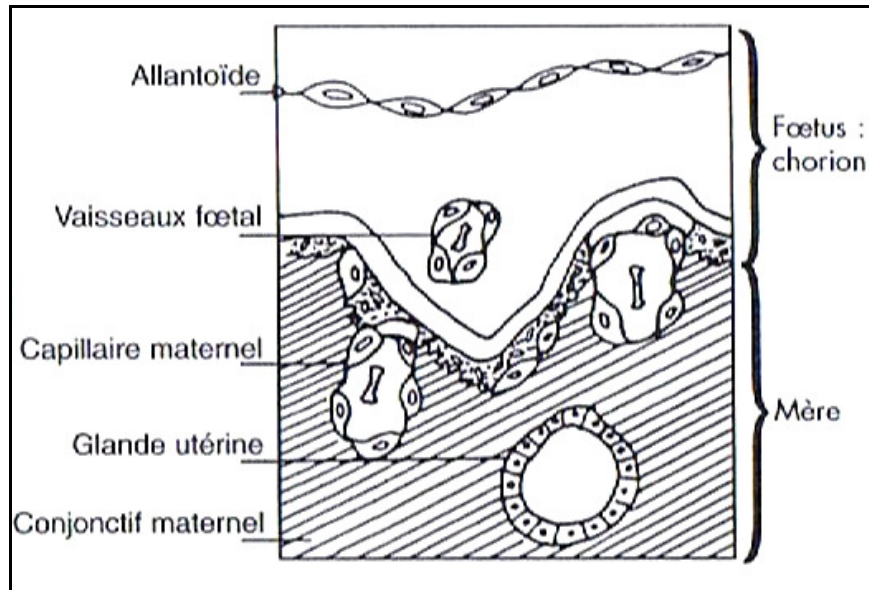
**Figure 9: Placenta zonaire (18)**



Le type de placentation est *endothélio-chorial*. (Voir figure 10) Ceci signifie que les vaisseaux utérins maternels se trouvent directement au contact du chorion fœtal. Ce type de placentation ne permet le transfert que de 5 à 10% des immunoglobulines produites par la mère, c'est pourquoi la plus grande partie de l'immunité passive est apportée par le colostrum. (60)



**Figure 10: Placentation endothélio-choriale (18)**



• Rôles :

Les rôles sont principalement de deux types :

➤ *Zone d'échange avec la mère :*

- De la mère au fœtus : apport d'oxygène, d'eau, d'électrolytes, de protides, de lipides et de glucides.
- Du fœtus à la mère : élimination de dioxyde de carbone, d'eau, de déchets métaboliques et d'hormones.

➤ *Fonction endocrine :* synthèses de substances nécessaires au maintien de la gestation.

### 3.2.2. La période foetale (Voir Tableau 2)

**Tableau 2: Développement embryonnaire du chiot: caractères reconnaissables à l'échographie (61) (17)**

Âge en jour depuis l'ovulation	Caractères reconnaissables à l'échographie
J22-J24	Sphère de 3mm de diamètre plaquée contre le placenta, qui évolue très rapidement: s'allonge et s'éloigne du placenta. Apparition des bourgeons des membres Le cœur est fonctionnel et ses battements observables (cavités cardiaques non visibles)
J28	Le cou se dessine → individualisation de la tête, l'embryon prend la forme d'un 8
J29	Le corps s'allonge, les premiers centres d'ossification sont actifs sur les os de la face et du crâne
J30	Les membres antérieurs sont formés
J35	Les membres postérieurs sont formés → 4 membres entourent le tronc. Différenciation des doigts et des organes génitaux Les deux hémisphères cérébraux se forment. L'ensemble des os de la face s'ossifie (os maxillaires, mandibulaires et nasaux) → le museau est formé. Le fœtus effectue ses premiers mouvements (ondulations). Début d'ossification des côtes.
J35-J37	Les arcades zygomatiques s'ossifient → les orbites sont formés, la tête prend la forme d'un crâne canin
J38	Différenciation de la région costale et de la région abdominale. L'estomac et la vessie sont observables.
J40	La maquette cartilagineuse du squelette s'ossifie progressivement, les centres d'ossification sont pleinement actifs sur quasiment tous les os. Les vertèbres et les côtes s'individualisent. Soudure des paupières Intestin rentré dans l'abdomen Apparition des griffes
J42	La limite entre les poumons et le foie est franche. Le foie est différenciable de la masse intestinale.
J44	La vésicule biliaire devient visible.
J45-J50	L'ossification du squelette s'accroît. Pigmentation et apparition des poils.

La transition embryon-fœtus se fait vers le 35<sup>ème</sup> jour, moment où l'organogenèse est achevée et où les caractéristiques de l'espèce sont reconnaissables.

Après 6 semaines de gestation, la croissance est rapide, les ¾ du poids à la naissance sont acquis au cours du deuxième mois de gestation.

### **3.3. Modifications physiologiques de la chienne gestante**

Un certain nombre de modifications physiologiques surviennent chez la chienne gestante, il ne faut pas les confondre avec un état pathologique: (23)

#### • Modifications hématologiques :

➤ Une anémie normocytaire et normochrome survient progressivement 7 à 9 semaines après les chaleurs et est plus marquée chez les chiennes gestantes. Elle devient maximale près du terme et dure encore 8 à 12 semaines après la mise bas. Elle se traduit par une baisse de l'hémoglobine qui peut aller jusqu'à 20-40% et par une baisse de l'hématocrite qui peut aller jusqu'à 29-35%. Cette anémie de gestation est en partie due à l'hémodilution provoquée par l'augmentation du volume plasmatique.

➤ Une leucocytose modérée est présente (jusqu'à 17000 globules blancs/mm<sup>3</sup>).

#### • Modifications biochimiques :

➤ Augmentation du cholestérol sanguin 3 à 8 semaines après l'œstrus que la chienne soit gestante ou non.

➤ Augmentation des protéines totales (PT) 3 à 8 semaines après l'œstrus que la chienne soit gestante ou non.

➤ Diminution de la calcémie 50 jours après l'ovulation. Cette hypocalcémie ne doit pas être compensée par des suppléments calciques car cela provoque une mise au repos des mécanismes compensateurs de la calcémie avec un risque élevé pour la chienne de présenter une éclampsie (hypocalcémie + convulsions) à la mise bas, moment où la lactation débute.

#### • Modifications cardio-vasculaires :

➤ Augmentation de la volémie

➤ Augmentation du débit cardiaque de 40% pour compenser la volémie et la pression de perfusion placentaire.

➤ Augmentation de la fréquence respiratoire pour couvrir les besoins métaboliques du fœtus, la consommation d'oxygène augmente de 20%.

#### • Modifications hormonales :

➤ Augmentation de la résistance à l'insuline en metœstrus, encore plus marqué quand la chienne est gestante. Celle-ci résulte des hauts taux circulants de progestérone durant cette période et peut favoriser l'apparition d'un état pré-diabétique.

#### • Modifications comportementales :

➤ La chienne peut devenir « collante » ou distante.

➤ Une diminution de la prise alimentaire peut être observée vers trois semaines de gestation ; puis à partir de la 5<sup>ème</sup> semaine les besoins énergétiques sont multipliés par 1,2 à 1,7, en fonction de la taille de la portée, il faut alors augmenter progressivement les apports journaliers de 15 à 60%.

➤ Une semaine avant la mise bas, la chienne « gratte le sol » avec ses antérieurs, ceci est en rapport avec la reprise de l'activité contractile de l'utérus.

• Modifications physiques :

➤ Une augmentation du poids corporel de 20 à 55% (en moyenne 35%) s'observe surtout vers le deuxième mois.

**POINTS IMPORTANTS**

- Nidation tardive
- Placenta endothélio-chorial
- Durée de la gestation: 63 jours après l'ovulation
- Pas de relais de sécrétion de progestérone placentaire chez la chienne gestante
- Nombreuses modifications physiologiques chez la chienne gestante.

**Deuxième partie :**  
**Suivi de la reproduction chez la chienne**



## 1. Détermination de la date d'ovulation

Il est difficile de prédéterminer un jour précis pour l'ovulation sans faire d'examen clinique et de dosages hormonaux. En effet, la durée du pro-œstrus est variable selon les femelles et même si la chienne moyenne ovule à J12 après le début du pro-œstrus, cela est loin d'être le cas de beaucoup d'autres. Certaines peuvent ovuler à J5 et d'autres à J30. Donc l'accouplement à J12 ou J14 qui est fréquemment pratiqué en élevage ne donne souvent pas de résultats. (26)

La détermination de la date d'ovulation est donc importante et permet ainsi d'optimiser la reproduction d'une chienne afin de dépasser le taux de fertilité naturelle. (2)

### 1.1. Indications

Il existe de nombreuses indications pour le suivi des chaleurs :

➤ Certaines chiennes présentent une infertilité apparente due à un mauvais suivi ou à une ovulation se produisant trop précocement ou trop tardivement dans le cycle œstral. Cela peut résulter en une saillie ou une insémination réalisée au mauvais moment.

➤ D'autres lices peuvent présenter des cycles anormaux comme par exemple des chaleurs disjointes ou silencieuses. La plupart de ces chiennes ont la capacité d'ovuler normalement mais il est difficile de détecter le moment de l'ovulation sans avoir recours à des dosages hormonaux.

➤ Certaines races sont peu fertiles, pour celles-ci le suivi des chaleurs est indispensable afin d'améliorer les résultats.

➤ L'insémination artificielle est une indication pour le suivi des chaleurs surtout si une semence congelée ou réfrigérée est employée. La longévité d'un sperme congelé ou réfrigéré est moindre que celle d'un sperme frais, il est donc important que l'insémination ait lieu pendant la période fertile.

➤ L'utilisation d'étalons ou de lices peu fertiles ou désintéressés nécessite aussi une bonne détermination de la date d'ovulation.

➤ La date de parturition peut être prédite en connaissant la date du pic de LH. (16)

➤ Un bon suivi et donc une connaissance du moment optimal pour l'accouplement est utile pour les éleveurs qui organisent des saillies ou des inséminations à l'étranger ou dans des élevages très éloignés.

➤ Connaître la date d'ovulation est également important dans le suivi de la gestation. Cela permet de prévoir à quel moment effectuer le diagnostic de gestation et réaliser le suivi du développement embryonnaire. (22)

➤ Enfin, les techniques de reproduction assistée progressent de plus en plus, ainsi la synchronisation des chaleurs et le transfert embryonnaires requièrent une connaissance précise de la date d'ovulation, de l'âge gestationnel et de la date de parturition. (28) (43)

## **1.2. Modifications comportementales**

Le début de l'œstrus comportemental peut être rapide et évident mais aussi lent, intermittent et incertain pendant quelques jours

La posture d'acceptation du mâle avec déviation latérale de la queue, appelée réflexe d'*Amantéa*, est un critère généralement pris en compte pour définir le début de l'œstrus. (38) Or, ce signe n'est pas observé de façon constante et n'est pas forcément corrélé au pic de LH. (37) En effet, la transition pro-œstrus/œstrus comportemental peut survenir avant, pendant ou quelques jours après le pic pré-ovulatoire de LH. En moyenne cette transition se fait au pic de LH ou 1 jour après, mais l'intervalle peut aller de 3 jours avant à 7 jours après. (26) De plus, certaines chiennes dominantes refusent l'accouplement même en période de chaleurs, d'autres acceptent le mâle à n'importe quel moment de leur cycle, d'autres encore peuvent être réceptives à certains mâles et pas à d'autres.

L'acceptation du mâle n'est donc pas un critère fiable pour déterminer la date d'ovulation.

## **1.3. Signes cliniques**

### 1.3.1. L'aspect des écoulements vulvaires

L'observation d'écoulements vulvaires et du niveau de turgescence de la vulve peut être une aide pour savoir à quelle étape du cycle se trouve la chienne.

Le pro-œstrus est généralement marqué par l'apparition d'écoulements vulvaires abondants et hémorragiques et d'une vulve œdématisée durant 7 à 13 jours. Cela est dû à l'augmentation de la concentration en œstrogènes. Au moment du pic de LH, les œstrogènes diminuent progressivement et la progestéronémie augmente de façon concomitante, les écoulements deviennent séro-hémorragiques et discrets, et la vulve s'assouplit, la chienne est alors en œstrus pendant 3 à 8 jours. La transition pro-œstrus/œstrus est donc marquée par le changement d'aspect des écoulements vulvaires. L'ovulation survient 2 à 3 jours plus tard.

Ces critères sont inconstants d'une chienne à une autre. Certaines ont des chaleurs sans écoulements, d'autres ont des écoulements jusqu'en début de métœstrus, ce qui reflète bien la grande variabilité de durées du pro-œstrus et de l'œstrus. Il est donc impossible d'en déduire de façon exacte la date d'ovulation.

### 1.3.2. Crénulation vaginale (vaginoscopie)

La vaginoscopie est une endoscopie vaginale. Cet examen permet d'observer l'évolution de la surface de la muqueuse vaginale pendant le cycle œstral. On utilise pour cet examen soit un endoscope rigide avec fibre optique, soit un endoscope flexible, soit un proctoscope pédiatrique humain rigide.

L'endoscopie vaginale est plutôt bien tolérée par la chienne. Cette dernière est debout et il n'est pas nécessaire de la tranquilliser. C'est un examen rapide, qui peut ne durer que quelques minutes mais il nécessite néanmoins un opérateur expérimenté. (37)

Ce qui est observé, ce sont : les contours et les profils des replis de la muqueuse, la couleur, la présence ou non de fluide et l'évolution entre pro-œstrus et œstrus.



En début de pro-œstrus, la muqueuse est rose à blanc rosée, elle présente des replis larges et œdémateux entre lesquels se trouve un fluide séro-hémorragique d'origine utérine. Sous l'effet des œstrogènes, la muqueuse s'épaissit et la sous muqueuse devient œdémateuse.

Plus on avance dans le pro-œstrus plus la muqueuse blanchit, s'épaissit, cachant ainsi les capillaires sanguins encore visibles en début de pro-œstrus.

En fin de pro-œstrus et début d'œstrus, au moment du pic de LH, les replis rétrécissent et la muqueuse est très pâle, cela est dû à une interruption de l'effet des œstrogènes.

Trois à quatre jours après le pic de LH, les replis deviennent anguleux et blancs, c'est ce qu'on appelle la *crénulation vaginale*. (26) Celle-ci est maximale lors de la « période féconde », 4 à 7 jours après le pic de LH. (37) Mais, il existe des variations d'une chienne à une autre.

En fin d'œstrus la muqueuse vaginale s'affine et s'aplanit. En début de metœstrus, à J9 après le pic de LH, sa surface présente un aspect irrégulier avec des endroits encore épais et blancs, et d'autres fins et vascularisés.

La vaginoscopie est un examen intéressant car il est non-invasif, rapide et nous permet de détecter la période œstrale. Seulement il nécessite un matériel coûteux et qui ne permet pas de déterminer avec exactitude le jour de l'ovulation. Cependant, il nous procure des informations utiles qui, combinées à d'autres résultats nous permettent de définir une période optimale pour l'accouplement ou l'insémination artificielle.

#### **1.4.Examens complémentaires**

##### 1.4.1. Cytologie vaginale

C'est une méthode simple de détermination du stade du cycle œstral chez la chienne. Elle est basée sur le fait que l'épithélium vaginal subit des transformations sous l'effet des variations hormonales. Les œstrogènes induisent une prolifération de l'épithélium vaginal, ce qui permet probablement de protéger la muqueuse pendant l'accouplement. (37) Ces modifications de la muqueuse vaginale peuvent être mises en évidence à l'aide d'un frottis vaginal et d'une coloration permettant de différencier les types cellulaires.

##### 1.4.1.1. Interprétation du frottis

Chaque période du cycle œstral présente un motif de distribution des cellules qui lui est propre. Ainsi, il devient utile de reconnaître les différents types cellulaires présents sur le frottis afin d'en déduire le stade du cycle auquel se trouve la chienne.

La lecture se fait d'abord à faible grossissement afin d'apprécier la richesse en cellules, la présence ou non de mucus et de leucocytes, la dispersion des cellules (isolées, dispersées ou en amas) et l'affinité tinctoriale du prélèvement. Le fort grossissement permet ensuite d'apprécier la morphologie des cellules et d'identifier les différents types cellulaires. (Voir Encadré 2)

## Encadré 2 : Les différents types cellulaires observables sur un frottis vaginal (51)

### Des cellules parabasales :

Petites, rondes, légèrement ovales, avec de larges vacuoles cytoplasmiques et un cytoplasme de faible volume. Ces cellules prennent bien la coloration.

### Des cellules intermédiaires :

Légèrement plus grandes que les cellules parabasales à deux fois leur taille. Elles sont lisses, ovales à rondes à bords irréguliers, le rapport nucléo-cytoplasmique est plus petit que celui des cellules parabasales.

### Des cellules superficielles :

Ce sont des cellules mortes. Elles sont les plus grandes sur le frottis. Elles ont des bords plats ou pliés et des contours anguleux. Elles ont un noyau pycnotique ou sont anucléées.

### Des squames anucléées :

Ce sont des cellules anucléées, irrégulières, plus petites que les cellules superficielles. Ce sont les cellules qui sont totalement kératinisées.

### Des cellules du métœstrus :

Ce sont de grandes cellules intermédiaires qui peuvent contenir un ou plusieurs neutrophiles dans leur cytoplasme. Elles sont typiques du diœstrus chez la chienne.

### Des cellules vacuolaires :

Ce sont des cellules parabasales et intermédiaires contenant de grandes vacuoles cytoplasmiques. Elles sont associées au diœstrus et à l'anoœstrus.

### Des neutrophiles :

Leur présence peut être normale ou anormale selon la phase du cycle.

### Des érythrocytes :

Leur présence peut être normale chez la chienne.

## 1.4.1.2. Evolution de la cytologie vaginale au cours des différentes phases du cycle sexuel (12) (51) (52) (60)

### • Anœstrus :

L'épithélium vaginal est composé de quelques couches de cellules parabasales, il est cuboïdal. Le frottis présente une faible cellularité et est basophile. Les cellules sont petites, rondes, avec un grand noyau bien visible. On retrouve principalement des cellules parabasales et intermédiaires. Il n'y a pas d'érythrocytes et rarement de leucocytes.

### • Pro-œstrus :

La montée du taux d'œstrogènes provoque un épaississement de la muqueuse vaginale, l'épithélium vaginale devient pluristratifié, kératinisé et squameux. La kératinisation progressive des cellules épithéliales vaginales provoque un décroît du nombre de cellules nucléées observables sur le frottis.

Au début du pro-œstrus, quand le taux d'œstrogènes est encore bas, de nombreuses cellules épithéliales vaginales immatures de types parabasales et intermédiaires sont présentes. Les cellules parabasales disparaissent au profit des cellules intermédiaires. Ces cellules sont basophiles, plus grandes et polygonales, et possèdent un noyau proportionnellement plus petit. Du fait de la kératinisation, le frottis commence à prendre une légère teinte acidophile. A ce stade de nombreux érythrocytes sont visibles et, la présence de mucus et de débris cellulaires donnent un aspect « sale » au frottis.

En milieu de pro-œstrus, le nombre de cellules intermédiaires non kératinisées diminue alors que celui des cellules superficielles kératinisées présentant un noyau pycnotique augmente, et de ce fait l'indice éosinophilique également, ce dernier atteint les 50%.

En fin de pro-œstrus, au moment du pic d'œstrogènes, les cellules superficielles à noyau pycnotique ou anucléées sont majoritaires, elles ont un aspect anguleux et corné. Le fond du frottis devient clair, quelques hématies sont encore visible. L'indice éosinophilique continue d'augmenter, il est supérieur à 70%.

- Œstrus :

La kératinisation est maximale, l'indice éosinophilique est supérieur à 80%. Ce dernier est à son maximum 3 jours après le pic d'œstrogènes, ce qui correspond à la période d'ovulation dans 70% des cas chez la chienne. Les cellules superficielles acidophiles sont donc très nombreuses et souvent regroupées en amas, ce que est caractéristique d'un frottis vaginal en période d'œstrus. Cet aspect en amas persiste quatre à cinq jours puis les cellules se dispersent. Le frottis présente un fond très clair et « propre », il y a pas ou très peu d'hématies.

- Metœstrus :

Le taux d'œstrogènes est bas et la progestéronémie continue d'augmenter. L'épithélium vaginal est en grande partie desquamé, des cellules plus profondes sont alors mises à jour. Au premier jour du diœstrus, 7 à 10 jours après le pic de LH, on passe brutalement d'un frottis totalement kératinisé à un frottis présentant 40 à 60 % de cellules immatures (parabasales et intermédiaires). Ce changement se produit en 24 à 36 heures.

Les types cellulaires observés sur le frottis sont de petites et grandes cellules intermédiaires, des cellules parabasales et des polynucléaires. Ces derniers sont souvent en grand nombre les 10 premiers jours du metœstrus du fait de la desquamation de l'épithélium puis leur nombre diminue.

#### 1.4.1.3. Intérêts et limites

Un frottis isolé ne nous procurera que peu de renseignements, il est donc important d'en faire plusieurs car c'est l'évolution de la cytologie vaginale qui va nous permettre de définir la période fertile. Cette dernière peut être prédite grâce à l'indice éosinophile (IE), ainsi une saillie ne se fera que si l'IE est supérieur à 80%. Cependant, il existe une grande variabilité dans le pourcentage de cellules superficielles observées au moment de l'ovulation ainsi que dans la durée de maintien d'un IE élevé. En effet, on peut avoir un IE proche de 100% et être entre 9 et 2 jours avant l'ovulation. (26) On ne peut donc pas utiliser la cytologie vaginale pour déterminer avec précision le moment de l'ovulation. En revanche, la cytologie permet de suivre le pro-œstrus et d'attendre un IE de 80%, soit le pic d'œstrogènes, avant de commencer les dosages hormonaux ou de prévoir des déplacements pour d'éventuelles saillies ou IA. (12)

#### 1.4.2. Mesure de la résistivité vaginale

Chez la renarde, cette technique permet de détecter l'ovulation, on utilise pour cela une électrode reliée à un ohmmètre. La résistivité des sécrétions vaginales est proportionnelle à la kératinisation de l'épithélium vaginal. Elle atteint donc une valeur maximale en période d'œstrus.

Chez la chienne, la résistivité augmente pendant le pro-œstrus et le début de l'œstrus puis diminue du milieu à la fin de l'œstrus. D'après plusieurs références (26) (37) (38), cette méthode ne permet ni de détecter le pic de LH ni l'ovulation.

#### 1.4.3. L'échographie ovarienne

##### 1.4.3.1. Présentation

L'échographie ovarienne permet de suivre la croissance folliculaire et de détecter l'ovulation. Il s'agit de l'une des dernières techniques de détermination de l'ovulation chez la chienne. Elle nécessite un matériel échographique performant que l'on trouve maintenant dans beaucoup de cliniques vétérinaires.

##### 1.4.3.2. Technique

Les sondes échographiques recommandées sont de haute fréquence, linéaires ou linéaires courbes, entre 8 et 10 MHz, car elles permettent de détecter des modifications plus discrètes de la structure ovarienne.

La chienne doit être debout ou couchée en décubitus dorsolatéral droit ou gauche afin d'examiner respectivement l'ovaire droit puis le gauche. Il n'est pas nécessaire de tondre au préalable l'abdomen de la chienne, une bonne couche de gel échographique suffit.

Les ovaires se situent à l'arrière et latéralement aux reins, en avant du 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> processus lombaire. Tout comme le rein droit par rapport au gauche, l'ovaire droit est plus crânial que l'ovaire controlatéral. On commence en général l'examen par l'ovaire gauche car il est plus facile à trouver.

##### 1.4.3.3. Observations

Les ovaires sont difficilement visualisable car ils sont petits et entourés d'une bourse ovarique plus ou moins chargée en tissu adipeux selon l'âge de la chienne. De plus, leur localisation est assez superficielle.

- Anœstrus :

Les ovaires sont petits et peu visibles. Ils ont une échogénicité homogène similaire à celle du cortex rénal. Cependant en fin d'anoestrus, à 30 jours ou plus du début du pro-œstrus, les ovaires hypoéchogènes tendent à s'accroître et de petites cavités folliculaires d'un à deux millimètres de diamètre peuvent être détectées. (27)

- Pro-œstrus :

En début de pro-œstrus les ovaires ont un aspect similaire à celui observé en anœstrus. Puis ils deviennent plus visibles et hétérogènes. Ils contiennent de nombreux petits follicules sphériques

anéchoïques entourés d'une paroi fine de moins d'un millimètre d'épaisseur. La taille de ces follicules augmente pendant le pro-œstrus, elle passe d'environ deux à trois millimètres de diamètre en début et milieu de pro-œstrus à un peu près cinq millimètres de diamètre en fin de pro-œstrus. (26)

En période pré-ovulatoire, les follicules atteignent une taille d'environ six à neuf millimètres (49), leur paroi est plus épaisse, environ un millimètre. Ces follicules étant volumineux et nombreux, ils tendent à s'aplatir.

En fin de pro-œstrus, les ovaires sont bien visualisables car leur taille a augmenté du fait de la croissance des follicules.

• Œstrus :

L'ovulation se traduit par:

- Une diminution du nombre de follicules anéchoïques ou leur disparition. Selon une étude effectuée à l'ENVA par Marseloo *et al.* (50), 45,9% des chiennes (22/48) ont présentée une ovulation incomplète et 37,5% (18/48) une disparition complète des cavités folliculaires.

- Un remplacement des structures anéchoïques par d'autres hypoéchoïques plus petites à contours flous. Selon la même étude que précédemment, ce phénomène s'est produit chez 58,3% des chiennes.

- L'apparition de liquide entre l'ovaire et la bourse ovarique. Ce liquide serait du liquide intra-folliculaire accumulé lors de l'ovulation. Ce phénomène est observable dans les heures qui suivent l'ovulation et concerne 39,6% des chiennes de l'étude évoquées précédemment.

Le changement d'échogénicité observé au sein des ovaires au moment de l'ovulation est dû soit à un collapsus folliculaire, soit à une accumulation de sang dans les cavités folliculaires, soit à une prolifération précoce du tissu lutéal dans ces mêmes cavités. Cette apparente échogénicité ne dure que 24 à 48h, car les corps jaunes deviennent rapidement cavitaires. Ces cavités se remplissent d'un fluide qui leur donne un aspect hypoéchoïque. A ce stade, ces jeunes corps jaunes peuvent être confondus avec des follicules pré-ovulatoires. Bien que la paroi du corps jaune soit plus épaisse il est très difficile voire impossible pour un manipulateur inexpérimenté de faire la différence si d'autres échographies n'ont pas été réalisées antérieurement. (26)

#### 1.4.3.4. Intérêts et limites

L'échographie ovarienne constitue une méthode précise de détection de l'ovulation. Les études menées au CERCA (50) ont démontré qu'elle permettait d'améliorer de plus de 10% le moment précis de l'ovulation par rapport au seul dosage de la progestérone. Ainsi sur 48 chiennes de 36 races différentes, le jour de l'ovulation a été déterminé de façon nette chez 44 d'entre elles soit 91,7%.

C'est une méthode non invasive, mais qui requiert une certaine expérience car les ovaires sont difficiles à visualiser. De plus chez certaines chiennes l'obtention d'images de bonne qualité est rendue difficile soit du fait de leur format (races géantes), soit du fait de leur physionomie (obésité), soit du fait de leur épaisseur de peau (ex. Chow Chow et Sharpei).

Un examen échographique isolé ne suffit pas. Pour être efficace cette méthode nécessite d'échographier la chienne quotidiennement ce qui peut engendrer un certain coût, c'est pourquoi elle n'est utilisée que quand on veut connaître avec précision la date d'ovulation notamment lors d'insémination artificielle avec de la semence congelée ou réfrigérée ou lorsqu'une chienne présente des troubles de la fertilité.

#### 1.4.4. Les dosages Hormonaux

##### 1.4.4.1. Dosage de l'œstradiol

Les œstrogènes sont sécrétés de façon accrue lors du pro-œstrus, notamment le 17- $\beta$ -œstradiol. Mais la montée de son taux se fait en « dents de scie », ce qui rend difficile l'appréciation de la maturation folliculaire grâce à un dosage isolé. Des dosages quotidiens sont donc nécessaires, ceux-ci se font en général par une méthode radio-immunologique disponible dans de nombreux laboratoires.

L'œstradiol augmente depuis un niveau de base (10 à 20 pg/ml) jusqu'à 50 à 100 pg/ml durant le pro-œstrus. (38) Le maximum est atteint 1 à 2 jours avant le pic de LH selon Guérin (38), mais d'après l'étude de De Gier *et al.* (20) le pic d'œstradiol peut coïncider avec celui de LH (3 chiennes) ou peut apparaître 4 à 16 heures avant comme 4 heures après (1 chienne). Puis le taux chute rapidement pour atteindre des valeurs indétectables 80 heures après la décharge ovulante. (20)

Cette méthode suppose de détecter avec précision le pic d'œstrogène et d'en déduire ainsi le pic de LH puis la date de l'ovulation. Or l'importance du pic d'œstrogènes peut varier d'une chienne à l'autre, et la réalisation de dosages quotidiens est laborieuse et pratiquement infaisable en pratique. De plus, le frottis vaginal, plus simple à réaliser et souvent plus facile à interpréter pour un praticien, offre une image assez fidèle de la maturation folliculaire. (33) Ce dosage n'est donc pas utilisé en pratique.

##### 1.4.4.2. Dosage de LH

Puisque le pic de LH induit la rupture des follicules pré-ovulatoire, 48h plus tard, le dosage de cette hormone semble être l'examen complémentaire de choix pour détecter l'ovulation.

Contrairement à d'autres espèces, le pic de LH est long puisqu'il dure en moyenne 3,3 jours selon Fontbonne *et al.* (33) et 36 +/- 5 heures d'après l'étude de De Gier *et al.* (20). Le niveau de base de cette hormone est de l'ordre de 1,4 +/- 0,1 ng/ml, le pic qui est net varie de 7,5 à 45 ng/ml. (38) Dans l'étude de De Gier *et al.* (20), la concentration plasmatique moyenne de LH est de 18,7 +/- 5,8 ng/ml.

Le dosage est réalisable par l'emploi de méthodes radio-immunologiques ou immunoenzymatiques (Reprokit®, Sanofi). En pratique, seul le dosage EIA est utilisable. La LH plasmatique est mise en évidence par un système d'anticorps et un couplage à la peroxydase. L'intensité colorée obtenue est proportionnelle à la concentration de l'hormone. Le jour du pic de LH, on obtient une forte coloration, facilement détectée à l'œil nu. En dehors du pic, la coloration est insignifiante. En pratique, il faut effectuer des prélèvements sanguins quotidiens (voire deux ou trois prélèvements par jour), comparer les intensités colorées obtenues avec des prélèvements successifs et s'assurer de la fin du pic par un retour au niveau de base (absence de coloration). Le moment du pic de LH correspond au jour du prélèvement donnant la plus forte coloration. (38)

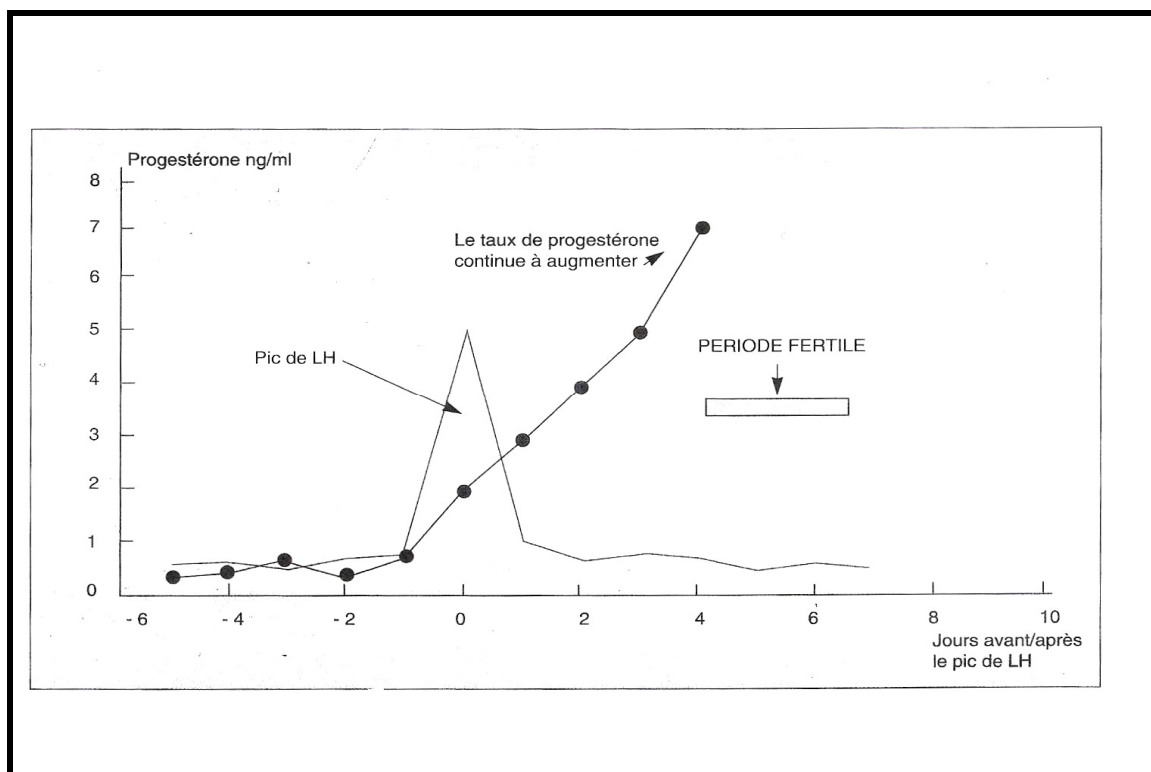
C'est une méthode fiable et précise, seulement les kits de dosages sont indisponibles dans de nombreux pays, nécessitant de recourir à des dosages radio-immunologiques longs et coûteux. Il existe un kit ELISA disponible (Status-LH, Synbiotics Corps, San Diego, CA) qui donne de bons résultats mais celui-ci nécessite également des dosages quotidiens ce qui est peu réalisable en pratique. (37)

Il existe également depuis peu chez Synbiotics Europe, le WITNESS® LH qui est un test semi-quantitatif de réalisation simple fondé sur la technique d'Immuno-Migration Rapide (R.I.M.). Ce dernier doit être utilisé conjointement avec un dosage de la progestérone plasmatique afin d'identifier l'augmentation de LH pré-ovulatoire, et ainsi la période d'ovulation. (Mises à jour du Dictionnaire des médicaments vétérinaires 2007)

#### 1.4.4.3. Dosage de la progestérone plasmatique

L'une des grandes caractéristiques du cycle de la chienne est la lutéinisation des follicules pré-ovulatoires. En effet, le taux de progestérone plasmatique commence à s'élever rapidement, depuis des valeurs basales, deux jours avant l'ovulation, au moment du pic de LH. (Voir Figure 11) Cette augmentation rapide est distincte et détectable par une série de dosages du taux de progestérone plasmatique. Ceci permet d'anticiper l'ovulation sur un à deux jours. Si on continue ces mesures, l'ovulation peut être confirmée et la période de fécondation détectée.

**Figure 11 : Correspondance entre le pic de LH et le début de l'augmentation du taux de Progestérone (3)**



#### 1.4.4.3.1. Evolution de la progestéronémie au cours du cycle

Selon différents auteurs on observe la progression suivante :

➤ Jusqu'au milieu du pro-œstrus, P4 basale se situe entre <0,2 ng/ml et 0,3-0,6 ng/ml selon Concannon (11), entre 0 et 1 ng/ml selon Goodman (37).

➤ En fin de pro-œstrus :

Pendant les 140 à 40 heures précédant le pic de LH, la progestéronémie plasmatique moyenne est de 2,2 +/- 1,0 ng/ml selon une étude effectuée par De Gier *et al.* (20)

Pendant les premières 12-24 heures du pic de LH, P4 passe rapidement de 0,3-0,6 ng/ml à 0,9-3,0 ng/ml selon Concannon (11).

La valeur de P4 indiquant la décharge pré-ovulatoire de LH est supérieure à 1 ng/ml selon Arbeiter *et al.* (1), comprise entre 2,0 et 3,0 ng/ml selon Romagnoli (60) et est égale à 2,02 +/- 0,18 ng/ml selon Kutzler *et al.* (44)

➤ Entre le pic de LH (J0) et l'ovulation (J2), P4 est variable mais augmente entre 2 et 5 ng/ml. (11)

➤ Au moment de l'ovulation :

Selon Arbeiter *et al.* et Fontbonne *et al.*, l'expulsion des ovocytes s'est produite lorsque le taux circulant de progestérone dépasse 5 à 10 ng/ml. (1)(33)

Cette valeur se situe entre 4,0 et 10,0 ng/ml selon Romagnoli (60), entre 1,0 et 8,0 ng/ml selon Goodman (37).

Récemment, MARSELOO *et al.* ont montré sur 35 chiennes de races différentes que le taux de progestérone plasmatique au moment de l'ovulation est à peu près constant : 6,25 +/- 1,55 ng/ml. (50)

➤ Deux jours après l'ovulation (J4), P4 se situe entre 3 et 8 ng/ml selon Concannon (11), entre 10 et 25 ng/ml selon Romagnoli (60).

➤ A J6, P4 se situe entre 6 et 12 ng/ml selon Concannon (11), alors que selon Goodman (37) la valeur de la progestéronémie en fin de période fertile varie entre 4,0 et 20,0 ng/ml.

➤ De 15 à 30 jours après la libération de LH, P4 est comprise entre 15 et 90 ng/ml. (8)

➤ Durant le dernier tiers de la gestation, la progestéronémie est comprise entre 4 et 16 ng/ml. (8)



#### 1.4.4.3.2. Réalisation pratique

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

Plusieurs méthodes ont été mises au point pour mesurer le taux de progestérone plasmatique:

- Des *kits quantitatifs* utilisant un test ELISA peuvent être utilisés chez la chienne. Deux exemples sont le kit OVUCHECK ND et le kit DROPPER PROGESTERONE TEST PROCEDURE ND. Ces kits permettent des mesures au-delà des valeurs témoins, avec une fiabilité excellente, mais nécessitent un appareil de lecture optique (spectrophotomètre) pour lequel il faut comparer les valeurs avec celles d'un laboratoire de référence, afin de bien interpréter les résultats. Bien qu'assez simples d'utilisation, le temps requis pour la procédure (une heure minimum) et l'équipement nécessaire rendent cette technique peu abordable pour les vétérinaires praticiens réalisant peu de suivis de chaleurs. (41)

- Des kits de *tests ELISA semi-quantitatifs* ont été développés (kit PREMATE ND, Vétoquinol et, kit OVULATION TEST ND, BVT), produisant un changement de couleur lors du passage d'une progestéronémie basse à une progestéronémie élevée. L'échantillon à doser est comparé à deux standards :

- un témoin A, rose foncé, correspondant au début de l'augmentation du taux de progestérone (environ 3 ng/mL, moment du pic de LH).
- un témoin B, rose pâle, correspondant à la valeur supérieure du moment de l'ovulation (10 ng/mL).

Lorsque l'échantillon est :

- plus foncé ou aussi foncé que A ( $P4 < 3$  ng/ml) : phase pré-ovulatoire
- plus clair que A et plus foncé que B ( $P4$  entre 3 et 10 ng/ml) : l'œstrus a probablement commencé
- plus clair que le témoin B ( $P4 > 10$ ng/ml): phase post-ovulatoire

L'utilisation de tels kits par les vétérinaires praticiens a entraîné une augmentation significative des taux de gestation des chiennes suivies en cliniques vétérinaires. Un autre avantage de ces kits semi-quantitatifs par rapport aux kits quantitatifs ELISA est leur coût bien plus abordable. Ces tests sont donc très utiles en pratique courante et représentent une bonne alternative entre les autres méthodes. (41)

- La progestérone peut être dosée par deux autres types de tests :

- Des *tests radio-immunologiques* (RIA) : On considère que l'ovulation se situe à une valeur d'environ 5 ng/ml, alors que par la méthode immuno-enzymatique cette valeur est de 10 ng/ml. (38)
- Des *tests par électrochimiluminescence* (CLIA) offrent également une grande précision et les valeurs obtenues peuvent être corrélées à celles obtenues par RIA. La CLIA présente comme avantage de pouvoir faire des dosages en continu permettant un turnover rapide alors que les isotopes utilisés lors de RIA ne le permettent pas. (44)

#### 1.4.4.3.3. Intérêts et limites

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

La valeur de la progestéronémie est un bon critère pour déterminer la date de l'ovulation. L'étude effectuée par *Marseloo et al.* (50) montre qu'il y a une bonne corrélation entre la valeur de la progestéronémie et les observations faites sur les ovaires. Cependant il est nécessaire d'effectuer des mesures en série car une seule valeur ne peut pas nous permettre de faire la relation avec une phase du cycle en particulier. Selon *England et Concannon* (26), si la montée initiale de la progestéronémie indiquant le pic de LH est progressive les prélèvements peuvent être effectués tous les 2 ou 3 jours, néanmoins ils ajoutent que plus les prélèvements sont espacés moins l'estimation des périodes du pic de LH, d'ovulation et de fécondabilité sera précise. Dans le cas d'inséminations artificielles par exemple, *England et Concannon* conseillent donc des prélèvements quotidiens afin de pouvoir détecter le pic de LH et l'ovulation. Ainsi les IA peuvent être planifiées 4 à 6 jours après l'obtention d'une progestéronémie supérieure à 2,0 ng/ml, concentration obtenue lors du pic de LH ou juste après. (26)

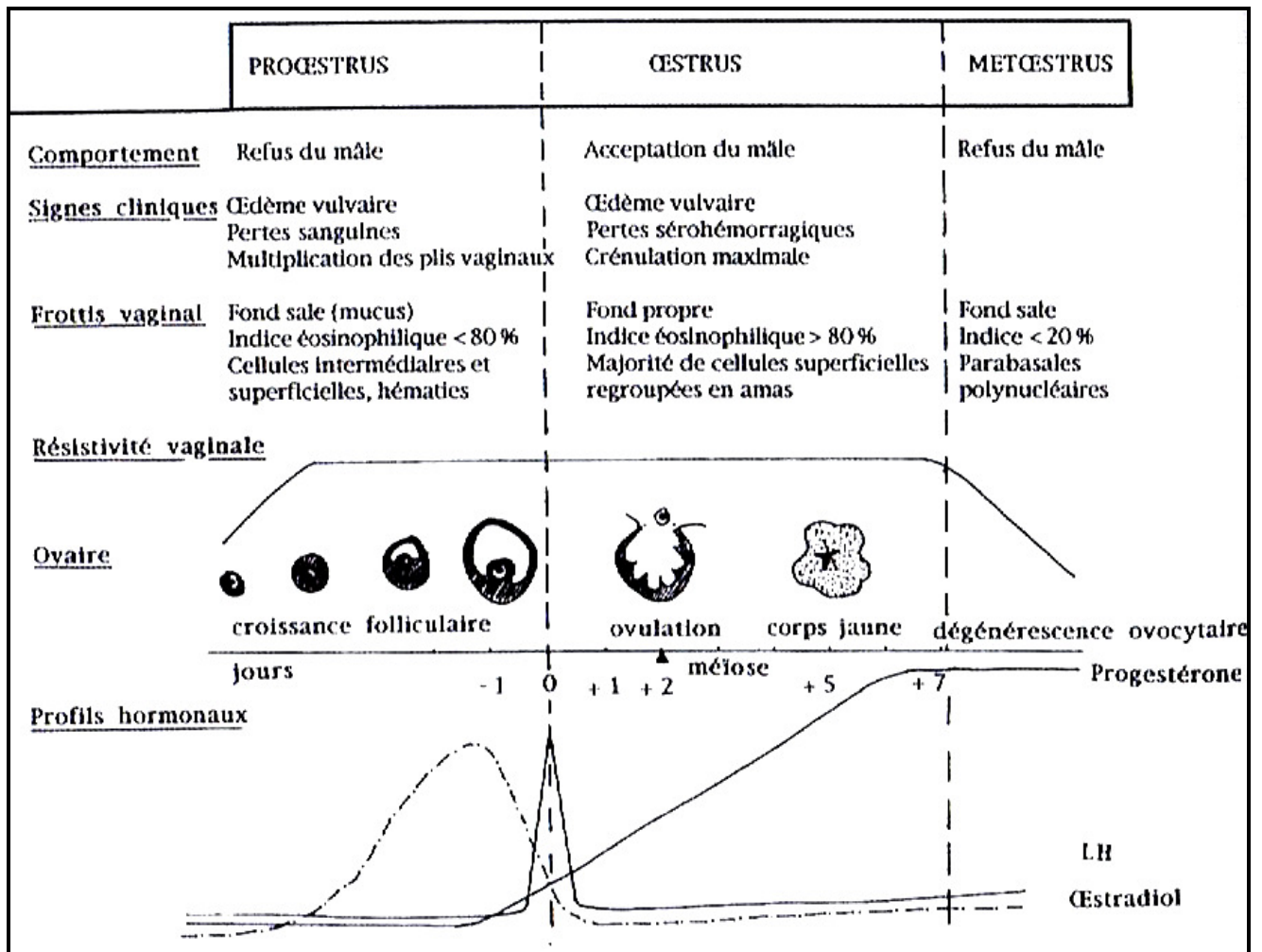
Selon une étude sur les relations temporelles entre les différentes hormones intervenant au cours du cycle sexuelle de la chienne effectuée par *De Gier et al.*(20) sur 6 Beagles, 3 chiennes ont présenté une montée de la progestéronémie 12 à 4 heures avant le pic de LH et 2 chiennes ont présenté une augmentation concomitante à celui-ci. On peut donc en déduire que la montée brutale du taux de progestérone est un bon indicateur du pic de LH et nous permet donc d'anticiper la date d'ovulation. Cependant, dans cette même étude, la progestéronémie d'une chienne n'a commencé à s'élever que 20 heures après la décharge ovulante de LH, ce qui montre qu'il existe des variations entre les chiennes et que le moyen le plus précis de déterminer le pic de LH reste le dosage de cette hormone. (37)

## 2. Implications pour la saillie ou l'insémination artificielle

Il existe peu de critères permettant de déterminer la date d'ovulation avec une précision satisfaisante. Les critères comportementaux et cliniques sont indicatifs. Les frottis vaginaux permettent d'effectuer le début du suivi, mais seuls les dosages hormonaux sont réellement informatifs. La seule technique permettant de visualiser l'ovulation est l'échographie ovarienne mais elle demande une certaine expérience.

Ainsi il est intéressant d'utiliser plusieurs outils diagnostics afin de pouvoir comparer leurs résultats et de pouvoir déterminer au mieux la période optimale de fertilité. (Voir figure 12)

**Figure 12 : Les différents évènements se produisant durant les chaleurs de la chienne d'après Guérin (38)**



L'intérêt de la détermination précise de la date d'ovulation est de choisir la date de la mise à la reproduction afin d'optimiser la fertilité et la prolificité des lices. La précision nécessaire dépend du type de reproduction choisi.

Voici deux exemples de protocoles de suivi des chaleurs chez la chienne : (Voir Encadré 3 et Figure 13)

**Encadré 3 : Protocole de suivi des chaleurs proposé par Goodman (37)**

***Examen clinique dans les 5 premiers jours des chaleurs***

Suivi de l'état général et examen de l'appareil reproducteur  
Recueil des commémoratifs relatifs à la reproduction  
Détermination du degré de précision de la date d'ovulation souhaité par les propriétaires  
Mise en évidence de la phase du cycle à l'aide d'un frottis vaginal +/- une vaginoscopie  
Dosage de la progestérone afin de connaître le niveau de base

***Examen de la chienne tous les 2 à 4 jours jusqu'à l'approche du pic de LH (>70% de kératinisation)***

Détermination de la phase du cycle (frottis +/- vaginoscopie)

***Démarrage des dosages hormonaux (dès que la kératinisation >70%)***

Dosage de progestérone quotidien si reproduction entre une lice et un étalon en bonne santé  
Dosage de LH quotidien et dosage de la progestérone tous les 3 jours si une grande précision de la date d'ovulation est requise  
Frottis vaginaux et /ou vaginoscopie réguliers

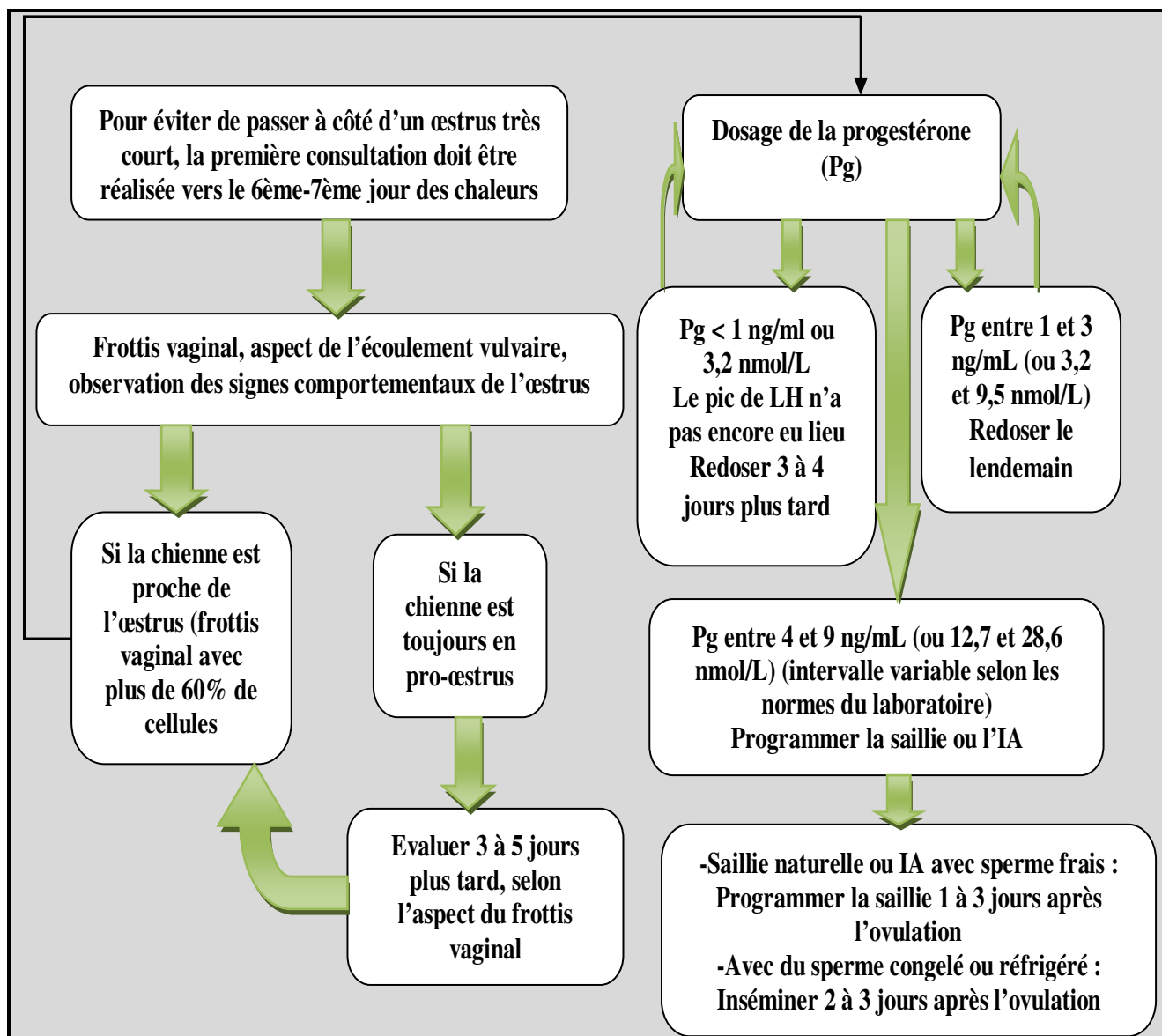
***Identification du pic de LH et planification de la reproduction (P4>2ng/ml)***

***Dosage de la progestérone 2 à 4 jours après le pic de LH***

Permet de s'assurer de la montée de P4 et donc que la chienne est bien dans un cycle ovulatoire.

***Réalisation de frottis vaginaux jusqu'au premier jour du diœstrus si possible***

**Figure 13 : Protocole de suivi des chaleurs proposé par Fontbonne et Malandain (34)**



### **2.1. Implications pour la saillie**

La durée de vie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles étant longue, une imprécision quant à la date d'ovulation peut être compensée lors des saillies naturelles multiples. Mais de nos jours les propriétaires de lices recherchent des étalons dans toute la France ou à l'étranger, il devient donc nécessaire de minimiser les frais et de limiter la durée du séjour. De plus, dans certaines races comme le Berger Allemand, une seule saillie est parfois accordée. Il est donc important de faire coïncider au mieux la date de la saillie et la période de fertilité maximale. Les ovocytes n'étant fécondables que 2 ou 3 jours après l'ovulation, c'est à ce moment là qu'il faut faire procéder à la première saillie.

Néanmoins, les propriétaires ne veulent pas tous connaître la date de l'ovulation de manière très précise, et ne souhaitent pas forcément faire subir trop d'exams complémentaires à leur chienne. Ainsi selon les examens choisis par le vétérinaire, la date de mise à la reproduction peut différer. Par exemple, selon England et Concannon : (26)

➤ Si la conduite de la reproduction relevait uniquement de la réceptivité de la chienne, la saillie devrait avoir lieu le plus tôt possible, car on peut avoir à faire à un début d'œstrus tardif par rapport à l'ovulation. Ces saillies doivent être faites une fois par jour pendant 3 jours consécutifs afin de couvrir également l'éventualité d'un début d'œstrus précoce par rapport à l'ovulation.

➤ Si le praticien a recours à la vaginoscopie alors la saillie ou l'insémination artificielle devrait se faire 4 jours après le début de la crénulation vaginale, au moment où celle-ci est maximale.

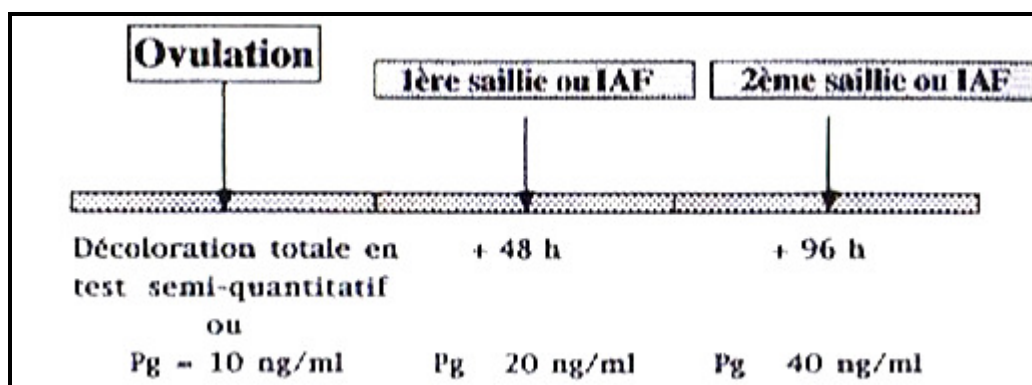
## **2.2. Implications pour l'insémination artificielle (2)(31)(38)(39)(46)**

### 2.2.1. Date d'ovulation et mode d'insémination

#### 2.2.1.1. Insémination en semence fraîche (IAF)

Dans le cas de l'insémination en semence fraîche, la durée de vie des spermatozoïdes n'est pas affectée. La première insémination est effectuée dès que les ovocytes sont fécondables (2 jours après l'ovulation) et on la renouvelle 2 jours plus tard. (Voir figure 14)

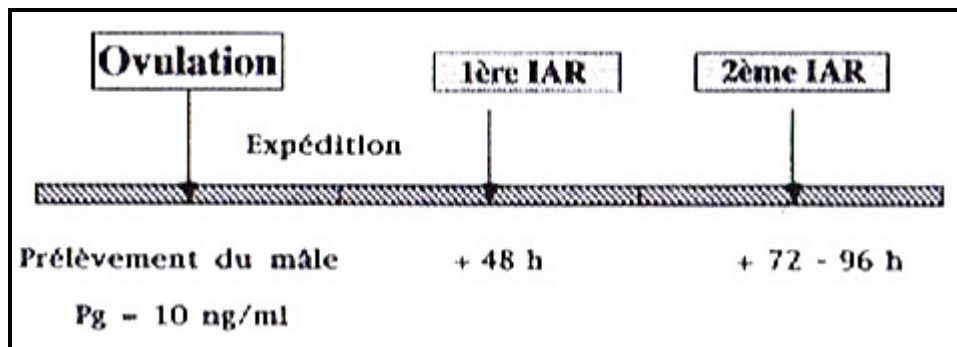
**Figure 14 : Schéma de reproduction en saillie ou IAF d'après Guérin (38)**



#### 2.2.1.2. Insémination en semence réfrigérée (IAR)

Pour ce mode de reproduction la connaissance précise de la date d'ovulation est nécessaire. Le délai d'acheminement de la semence doit impérativement être inférieur à 48 heures. La semence diluée a une durée de survie raccourcie dans les voies génitales de la femelle. Il faut donc avoir une estimation précise de la date de l'insémination et donc de la date d'ovulation. Le prélèvement de semence est effectué dès que la progestéronémie est de 10 ng/ml et l'IA est faite dès réception de l'échantillon. (2) (Voir figure 15) Cette technique peut donner des résultats voisins de ceux de l'IAF si elle est utilisée dans de bonnes conditions.

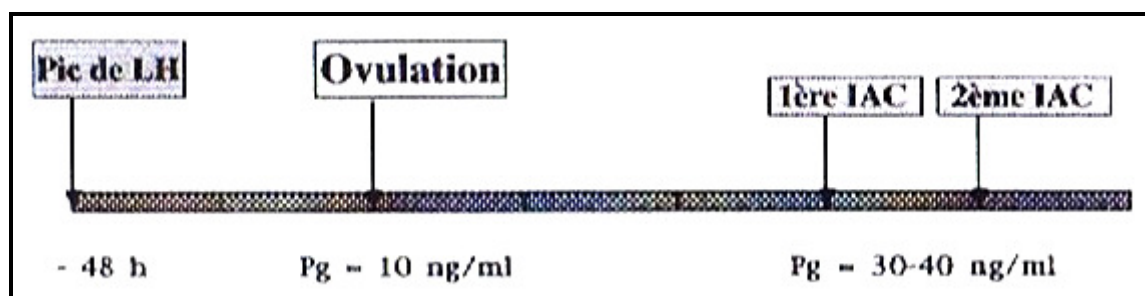
**Figure 15 : Schéma de reproduction en IAR d'après Guérin (38)**



### 2.2.1.3. Insémination en semence congelée (IAC)

La précision doit être la plus grande pour ce mode d'insémination car la survie des spermatozoïdes est très diminuée (environ 12-24 heures). L'insémination doit se faire quand les ovocytes sont déjà matures soit 3 jours après l'ovulation (voir figure 16), c'est-à-dire 5 à 7 jours après le pic de LH lorsque la progestéronémie atteint 30-40 ng/ml. Il est donc conseillé de faire un suivi de la progestéronémie quand on réalise une IA avec de la semence congelée. (46)

**Figure 16 : Schéma de reproduction en IAC d'après Guérin (38)**



## 2.2.2. Comparaison des résultats des différents modes et techniques d'insémination

### 2.2.2.1. Comparaison IAF / IAR / IAC

Lorsqu'un suivi de chaleurs est réalisé, les résultats obtenus lors d'une IAF sont similaires à ceux obtenus lors d'une saillie : 70 à 90 % pour le taux de fertilité. De plus, le fait de coupler un suivi de chaleurs et un spermogramme permet d'améliorer la fertilité des mises à la reproduction et augmente les chances de gestation. (2)

Selon une étude de Badinand et Petit (2), les résultats obtenus lors d'IAR sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus avec de la semence fraîche. Cela s'explique par le fait que d'une part le sperme conserve toutes ses qualités lors de la réfrigération et que d'autre part, les expéditions ne concernent que des semences contrôlées donc de bonne qualité.

Lors d'IAC, le taux de fertilité obtenu est de 50 à 70 %, ce qui est inférieur à celui obtenu en IAF. La chute de fertilité s'explique par une durée du pouvoir fécondant des spermatozoïdes limitée à 24 heures contre 5 ou 6 jours pour la semence fraîche. (2) La différence de résultats entre semence congelée et semence fraîche se manifeste également au niveau de la prolificité. Il y aurait une baisse de 23 à 30 % de la prolificité lors d'IAC. (2) C'est ce que retrouve également Linde-Forsberg

(46) dans son étude : la taille des portées est plus petite quand on a recours à l'IAC qu'elle soit intra-vaginale ou intra-utérine. Il en résulte une baisse de la fécondité (fertilité et prolificité) chez les chiennes inséminées avec de la semence congelée, c'est pour cette raison que les indications de ce mode de reproduction sont limitées. (2)

#### 2.2.2.2. Comparaison inséminations intra-vaginale et intra-utérine

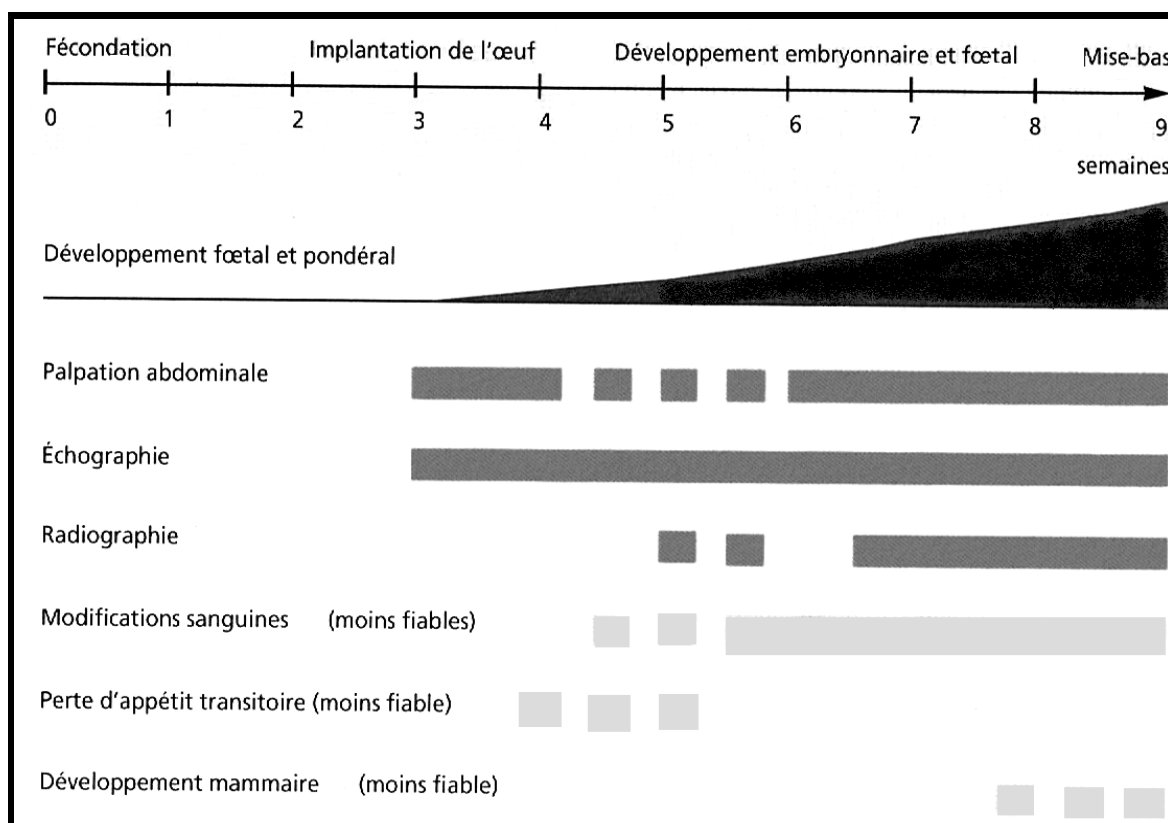
D'après une étude de Linde-Forsberg (46) sur 2500 IA effectuées chez le chien, le taux de mise bas est plus élevé et la taille des portées plus importantes lors d'inséminations intra-utérine, quelque soit l'état de la semence. En effet, le taux de mise bas obtenu lors d'insémination intra-utérine est plus élevé de 36% avec de la semence fraîche et de 50% avec de la semence réfrigérée par rapport aux taux de mise bas obtenus lors d'insémination intra-vaginale. Et la taille des portée est de + 0,3, + 0,6 et + 0,7 chiot/portée respectivement avec de la semence congelée, fraîche et réfrigérée lors d'insémination intra-utérine.

Cette étude rapporte que la technique utilisée lors d'IAC est plutôt l'insémination intra-utérine et, lors d'IAF et d'IAR plutôt l'insémination intra-vaginale.

### 3. Diagnostic et suivi de la gestation

Il n'y a pas de signes cliniques précoces de gestation. Aucun diagnostic clinique n'est possible avant 19 à 21 jours après la fécondation. Certains examens permettent un diagnostic précis de la gestation, d'autres servent seulement d'indices. (Voir figure 17) Il existe trois méthodes de diagnostic assez **précoces** : *la palpation, l'échographie* et *le dosage de la relaxine*, et une méthode plus **tardive**: *la radiographie*.

Figure 17 : Diagnostic de gestation chez la chienne (55)





### **3.1. Anamnèse**

- *Modifications comportementales :*

La chienne peut devenir « collante » ou distante.

Une semaine avant la mise bas, la chienne « gratte le sol » avec ses antérieurs, ceci est en rapport avec la reprise de l'activité contractile de l'utérus.

- *Modifications d'appétit :*

Une anorexie ou une hyporexie transitoire de quelques jours peut être constatée vers le 28<sup>ième</sup> jour. (15) Ce signe peut être favorable mais n'est pas présent chez toutes les chiennes. (30)

Une augmentation moyenne de 40% de la prise alimentaire peut être observée après 5 semaines. (13)(30)

- *Prise de poids :*

La prise de poids varie de 20 à 55% (13) avec une moyenne de 35% (30).

### **3.2. Examen clinique**

- *Inspection :* (30)

- *Élargissement de l'abdomen:* 4<sup>ème</sup> semaine

Il s'accompagne d'une ptose abdominale lors du deuxième mois, en cas de portée nombreuse.

- *Développement mammaire:* dès 25 à 30 jours

Les mamelles sont dures, turgescents et congestionnées. Le cordon mammaire est bien visible. Mais ce critère n'est pas fiable. (30)

- *Apparition de la lactation :* de 40 jours à la mise bas

Ce critère n'est pas fiable non plus car il est trop variable.

- *Écoulements vulvaires séreux et/ou blanchâtres* peu abondants peuvent apparaître, pendant 1 ou 2 jours, vers 25-30 jours : ils sont rares mais lorsqu'ils existent, sont quasi pathognomoniques d'une gestation.

- *Palpation :*

- *De 21 à 35 jours :*

La palpation permet un diagnostic plutôt fiable avec moins de 10% d'erreur possible. (30) Elle est à réaliser avec la plus grande souplesse possible car elle peut être à l'origine de résorption fœtale si elle est effectuée trop fréquemment et sans douceur. Les embryons forment une série d'ampoules ovales d'environ 1cm de diamètre dans l'utérus gravide, les plus caudales pouvant être palpées à travers la paroi abdominale vers le 22<sup>ème</sup> jour environ. La palpation peut permettre un diagnostic de gestation plus précoce que l'échographie mais avec moins de certitude. (13) Entre le 30<sup>ième</sup> et le 34<sup>ième</sup> jour, des ampoules de 2,5 sur 3,5 cm permettent un diagnostic plus fiable. (13)

- *Après 35 jours :*

La palpation ne permet plus de mettre en évidence les ampoules fœtales car elles augmentent de taille, puis confluent, et ne sont plus individualisables.

- *A partir de 45 jours :*

La palpation des reliefs osseux permet à nouveau de mettre en évidence les fœtus.

- Limites :

Des difficultés sont rencontrées à la palpation, chez les chiennes grasses, tendues, ou à abdomen musclé, des myorelaxants peuvent alors être utilisés. Lors de gestation où un seul fœtus existe, situé très crânialement, il est difficile de détecter celui-ci à la palpation.

- Auscultation :

En fin de gestation, les fœtus ont une fréquence cardiaque de 220 à 240 battements par minute. Avant, il est difficile de les détecter. L'auscultation est surtout intéressante au moment de la mise bas, lors d'un post-terme par exemple, afin de déterminer si les fœtus sont encore vivants. Elle s'effectue en posant la capsule du stéthoscope sur l'ombilic.

### **3.3.Examens complémentaires**

#### 3.3.1. Les analyses sanguines

##### 3.3.1.1. Paramètres Hématologiques

La chienne présente une anémie normocytaire normochromique physiologique principalement en raison de l'augmentation du volume plasmatique. Cela facilite la circulation sanguine dans les vaisseaux placentaux.

L'hématocrite commence à chuter à partir du 25<sup>ième</sup> jour après le pic de LH, il est inférieur à 40% en fin de gestation et peut atteindre une valeur de 31% au terme. L'hématocrite redevient normal dans un intervalle de 1,5 à 3 mois après la mise bas. (13)

Une thrombocytopénie peut être associée à cette anémie physiologique.

##### 3.3.1.2. Paramètres biochimiques

- L'albumine

La chienne peut présenter une hypoalbuminémie.

- Protéines totales

Leur concentration peut également être diminuée, ce qui provoque une baisse de la pression oncotique.

- Le calcium total

Ce paramètre peut être diminué.

- Les protéines de l'inflammation

De nombreuses protéines de l'inflammation tels que la protéine C-réactive, l'haptoglobine, l'acide glycoprotéique, la céruloplasmine et le fibrinogène ont un taux qui augmente dès le début de la placentation. Cela est dû à la réaction inflammatoire qui survient au niveau de l'endomètre lorsque celui-ci est érodé par le trophoblaste. (60)

➤ *Le fibrinogène* est produit par le foie, son taux normal varie entre 100 et 150 mg/dl. Chez la chienne gestante, le taux monte à des valeurs se situant entre 250 et 300 mg/dl autour du 25-28<sup>ième</sup> jour après l'ovulation. Une valeur de 300 mg/dl au 28<sup>ième</sup> jour est considérée comme apportant 100% de précision dans un diagnostic de gestation. (60)

➤ *L'haptoglobine et la céruloplasmine* sont liées respectivement au fer et à l'hémoglobine. Le taux normal en haptoglobine est de 35-50 mg/dl, chez la femelle gestante il est de 75-100 mg/dl vers le 18-20<sup>ième</sup> jour après l'ovulation. (60)

Chez une femelle en bonne santé, l'augmentation des concentrations des facteurs de l'inflammation est un indicateur indirect de l'implantation et peut être utilisé en pratique dans le diagnostic de gestation. Bien sûr, il est nécessaire de faire un bilan sanguin avant la mise à la reproduction pour connaître les valeurs de départ.

### 3.3.2. Les dosages hormonaux

- Relaxine :

Le dosage de la relaxine à l'aide des kits de dosage Reprocheck © ELISA (dosage quantitatif) ou Witness Relaxin © (immuno-migration qualitative) (Synbiotics), est une méthode fiable et précise. Le test ELISA peut être positif à partir de 20-23 jours et le test WITNESS à partir de 26-30 jours. (15) En effet, le placenta débute la sécrétion de l'hormone entre le 24<sup>ième</sup> et le 28<sup>ième</sup> jour suivant la décharge ovulante, jusqu'au part. Son taux atteint un maximum de 4 à 6 ng/ml, 2 à 3 semaines avant la mise bas, et reste élevé jusqu'au part. (60) La concentration de cette hormone peut varier suivant les races, ainsi une chienne Labrador aura un taux plus élevé que celui d'une chienne Beagle. L'intensité du signal est également dépendante de la taille de la portée. Plus cette dernière est importante plus le signal sera élevé. Selon Concannon, (13) le test est plus fiable et donne moins de faux négatifs après le 30<sup>ième</sup> jour. Selon Fontbonne (30), la fiabilité est optimale après 25 jours. Si le résultat du test est négatif il faut le refaire une semaine plus tard.

- Prolactine :

Le taux de cette hormone augmente à partir du 25<sup>ième</sup> jour après le pic de LH selon Romagnoli (60) et à partir du 30<sup>ième</sup> jour selon Concannon et Verstegen (15), jusqu'à la lactation. Chez la femelle non gestante son taux est faible (< 2ng/ml) lors de la deuxième moitié du diœstrus alors que chez la chienne gestante sa concentration augmente lors de la dernière semaine de gestation à une valeur d'environ 40 ng/ml puis à environ 100 ng/ml 1 à 2 jours avant la mise bas. Le pic de prolactine est supérieur à 100 ng/ml et il a lieu 1 à 2 jours après la parturition. La prolactine induit le développement mammaire et à la lactogénèse lors des 30 derniers jours de

gestation alors que la progestérone inhibe la lactation. La chute de la progestéronémie au moment de la mise bas, et la montée de la prolactinémie, provoque la synthèse et la sécrétion de lait. (15)

- Progestérone :

Comme nous l'avons vu précédemment, le dosage de la progestérone est utilisé dans la détermination de la date d'ovulation. Il ne peut être utilisé pour diagnostiquer une gestation car la progestéronémie d'une chienne gestante est similaire à celle d'une non gestante. Cependant, lors du suivi de la gestation, cette hormone peut être dosée afin de vérifier qu'il n'y a pas d'insuffisance lutéale. En effet, si la progestéronémie est inférieure à 4-5ng/ml avant le 55<sup>ième</sup> jour cela peut provoquer l'avortement puisque la progestérone est la seule hormone nécessaire au maintien de la gestation. (13)

- Œstrogènes :

Leur concentration est très variable et leur dosage ne procure aucune information utile. (13)

### 3.3.3. L'imagerie médicale

#### 3.3.3.1. La radiographie

Dès 30 jours, il est possible d'observer une augmentation du diamètre utérin, l'utérus repousse les anses digestives vers l'avant. Mais cela n'est pas significatif et peut être observé lors de pyométre.

#### 3.3.3.2. L'échographie

Théoriquement, le diagnostic de gestation est possible dès 15 à 19 jours. (30) En pratique, il se fait dès le 20<sup>ième</sup> jour, mais il faut souvent attendre le 25<sup>ième</sup> jour pour avoir une certitude de 100%. C'est à ce moment que la détection des battements cardiaques des embryons est possible. Le diagnostic de gestation dépendrait en fait des races, et serait plus tardif chez les grands chiens : le diagnostic de gestation de certitude par échographie est à 35 jours chez les races de type Terre Neuve. (61)

L'échographie est le diagnostic de gestation le plus précoce et le plus fiable (32). Cet examen permet également de :

- Dater la gestation :

La datation de la gestation est très peu utilisée en pratique. Il existe des tables de références pour quelques races comme le Labrador ou le Beagle.

- Déterminer le sexe des fœtus :

Le sexage des fœtus est possible en fin de gestation mais ce n'est pas applicable en pratique.

- S'assurer du bon déroulement du développement embryonnaire :

Le rythme cardiaque des fœtus est un bon indicateur de souffrance fœtale, il doit être supérieur à 220 bpm (battements par minutes), avec une moyenne de 230 bpm. La fréquence cardiaque des fœtus peut être mesurée à partir du 28<sup>ième</sup> jour de gestation. (13)

- Dénombrer les ampoules :

Le dénombrement est possible entre J25 et J30 mais c'est aussi le stade des résorptions embryonnaires, il est donc préférable de le faire entre le 30<sup>ième</sup> et le 40<sup>ième</sup> jour. Après 40 jours, les ampoules fœtales sont convergentes, il devient alors difficiles de les compter. La prévision de la taille de la portée est plutôt fiable lorsqu'elle ne dépasse pas 4 chiots. Sinon il est préférable d'annoncer au propriétaire que la chienne attend 5 chiots ou plus, ou 4 chiots au maximum. (61)

- Détecter des malformations : Ceci n'est pas encore fait en pratique.

### **3.4. Evolution des paramètres cliniques et événements observables lors de la gestation**

Il existe différentes manières d'établir la chronologie des événements d'une gestation. Le jour servant de point de départ peut varier. Voici selon Concannon (10), une liste de J0 dont la fiabilité est décroissante :

- Pic de LH déterminé par le dosage de la LH plasmatique
- Pic de LH déterminé par la mesure de P4 par RIA ou ELISA
- Ovulation déterminée par échographie ovarienne
- Pic de LH ou ovulation déterminés par un kit ELISA de mesure de P4
- Pic de LH déterminé par le dosage de LH urinaire ou plasmatique à l'aide d'un kit LH
- Pic de LH et/ou ovulation déduit par la mise en évidence de la fin de l'œstrus cytologique
- Ovulation déterminé par vaginoscopie
- Ovulation déduit à partir du moment où la vulve s'assouplit

Si l'on utilise le deuxième repère alors on peut en déduire la chronologie suivante : (Tableau 3)

**Tableau 3 : Déroulement des différents évènements d'une gestation chez la chienne (10)**

<b>Jours LH</b>	<b>Evènements et évolution des paramètres cliniques</b>	<b>Jours ovulation</b>
<b>0</b>	Décharge ovulante de LH	<b>-2</b>
<b>2</b>	Ovulation 38 à 58 heures après le pic de LH	<b>0</b>
<b>5</b>	Maturation ovocytaire dans l'oviducte distal. Si saillie : Fécondation	<b>3</b>
<b>6</b>	Si saillie : embryon à 1 – 2 cellules Sinon : Ovocytes matures toujours fécondables	<b>4</b>
<b>7</b>	Si saillie : embryon à 2 cellules Sinon : Début de dégénérescence ovocytaire	<b>5</b>
<b>8</b>	Si saillie : embryon à 4 cellules Sinon : saillie tardive donnant de petites portées	<b>6</b>
<b>9</b>	Si saillie : embryon à 4 – 8 cellules Sinon : saillie rarement fécondante	<b>7</b>
<b>10</b>	Embryon à 8 – 16 cellules dans oviducte	<b>8</b>
<b>11</b>	Embryon à 16 – 32 cellules (Morula)	<b>9</b>
<b>12</b>	Entrée de la Morula entourée de sa zone pellucide dans la corne utérine	<b>10</b>
<b>16</b>	Croissance des embryons et amincissement de la zone pellucide	<b>14</b>
<b>17</b>	Arrêt de la migration	<b>15</b>
<b>18</b>	Vésicules > 1 mm de diamètre détectables à l'échographie	<b>16</b>
<b>20</b>	La zone pellucide a disparue.	<b>18</b>
<b>22</b>	Dilatation utérine visible à l'échographie. L'embryon est attaché à l'endomètre, l'invasion par le trophoblaste débute.	<b>20</b>
<b>23</b>	Embryon bien visible à l'échographie	<b>21</b>
<b>24</b>	Cornes utérines d'environ 1 cm de diamètre palpables	<b>22</b>
<b>25</b>	Battements cardiaques bien détectables à l'échographie	<b>23</b>
<b>28</b>	Placenta zonaire visible à l'échographie. Relaxine bien détectable.	<b>26</b>
<b>30</b>	Cornes utérines de 3 cm de diamètre bien palpables.	<b>28</b>
<b>34</b>	Mise en évidence d'une anémie maternelle	<b>32</b>
<b>36</b>	Bourgeons des membres visibles à l'échographie	<b>34</b>
<b>42</b>	L'embryon commence à être plus long que le placenta	<b>40</b>
<b>46</b>	Première détection radiographique : crânes et colonnes vertébrales	<b>44</b>
<b>58</b>	Bassin, membres et, possiblement les dents, détectables à la radiographie	<b>56</b>
<b>60</b>	Dents visibles à la radiographie Progestéronémie > 3 ng/ml	<b>58</b>
<b>62</b>	Déclin de la Progestéronémie La chienne commence à faire son nid	<b>60</b>
<b>63</b>	Parturition précoce / gestation courte (intervalle normal)	<b>61</b>
<b>64</b>	Parturition précoce / gestation normale P4 < 2 ng/ml 12 – 24 heures avant la mise bas	<b>62</b>
<b>65</b>	Date moyenne de parturition.	<b>63</b>
<b>66</b>	Mise bas tardive (intervalle normal)	<b>64</b>

#### 4. Détermination de la date de parturition

La prévision de la date de parturition présente un grand intérêt lors de mise bas dystocique ou lorsque la chienne a reçu une supplémentation en progestérone pour prévenir un avortement par insuffisance lutéale.

Deux cas de figures se présentent pour déterminer cette date :

- la date d'ovulation est connue : dans ce cas on en déduit une date de mise bas.
- la date de l'ovulation est inconnue : il faut déterminer une date de mise bas approximative à partir d'examen complémentaires ou de signes cliniques présentés ci-dessous :

##### • Echographie :

De nombreuses études sur l'échographie embryonnaire ont permis d'obtenir des points de repère du développement embryonnaire et fœtal. Ainsi, lorsqu'on réalise une échographie de l'embryon, on peut rapporter son stade de développement à un nombre de jours de gestation bien précis (voir tableau 4) et donc en déduire une date de mise bas. Par exemple, les battements cardiaques sont détectables à partir de J23 ; la longueur du fœtus commence à être plus longue que la longueur de la ceinture placentaire à partir de J40-42 ; les bourgeons des membres apparaissent vers J33-35 ; les yeux, les reins et le foie entre J39 et J47 ; et les intestins vers J57-63. (10) La détection des dents implique une mise bas dans les 4 jours. (48)

Une étude de Kutzler sur la détermination de la date de parturition à partir de mesures effectuées sur des embryons et réalisée sur 83 chiennes gestantes appartenant à 32 races différentes, montre que les mesures échographiques effectuées sur l'embryon permettent de déterminer une date de parturition avec 87 % de précision. (43)

Au début de la gestation (> 25 jours avant la parturition), la mesure des structures extra-fœtales est une méthode précise de détermination de l'âge gestationnel et de prédiction de la date de mise bas. L'un des paramètres habituellement mesurés est le *diamètre interne de la cavité chorionique* (ICC : inner chorionic cavity). Ce paramètre n'est pas affecté par la taille de la portée ou le sex-ratio. D'autres paramètres moins précis sont : le *diamètre externe de l'utérus au niveau du site d'implantation* (OUD : outer uterine diameter), l'*épaisseur du placenta* (PT : placental thickness) et la *longueur du placenta zonaire* (PL : placenta length). (48)

En fin de gestation (<25 jours avant la parturition), les structures devenant plus évidentes et donc mesurables, d'autres paramètres sont mesurés :

- La *distance entre le point le plus rostral du crâne et le bord caudal du périnée* (CRL : crown rump length) : c'est une mesure fiable et hautement corrélée à l'âge gestationnel. Par contre, ce paramètre ne peut être mesuré au-delà de 45 jours de gestation car les fœtus se fléchissent et convergent. (48)

- Le *diamètre du cœur fœtal* (HDT : heart diameter) : la fiabilité de ce paramètre est fortement affectée par les phases du cycle cardiaque. (48)

- Le *diamètre bipariétal* (BP : biparietal diameter) : c'est la distance entre les os pariétaux du crâne. Il s'agit du paramètre le plus approprié pour prédire la date de parturition en fin de gestation. La précision de la prédiction n'est pas affectée par la taille de la portée et ni le sex-ratio. (48)(61)

Selon Luvoni et Beccaglia la précision de la date de mise bas à plus ou moins 1 jour est de 75% et 63% respectivement chez les chiens de petites et de moyennes tailles alors que Tainturier *et al.* (61) déclarent que cette méthode est uniquement utilisée chez les grands chiens.

➤ Le *diamètre moyen de l'abdomen* : pris au niveau de l'estomac. Cette méthode est uniquement utilisée chez les grands chiens. (61)

En ce qui concerne les deux derniers paramètres, il faut se rapporter à une table établie par England, Allen et Porter (61). Pour que le résultat soit fiable, il est important de tenir compte du format de la chienne et des variations de taille entre les fœtus.

D'après l'étude de Kutzler citée précédemment, les mesures du diamètre bipariétal et du diamètre de l'abdomen seraient à réaliser sur au moins 2 fœtus avant le 39<sup>ième</sup> jour de gestation pour que l'estimation de la date de parturition soit précise, avec une précision maximale au 30<sup>ième</sup> jour. (43)

Toujours d'après cette même étude, la taille de la portée n'affecte pas la précision de l'estimation alors que le poids de la mère avant la gestation oui. La croissance du fœtus est linéaire de J17 à J30 puis exponentielle. Ainsi ce n'est pas la durée de la gestation qui est affectée par le poids de la mère mais la croissance des fœtus en fin de gestation. Après J30 un fœtus d'une chienne de petit format (< 9 kg) croît plus lentement et un fœtus d'une chienne de format géant (> 40 kg) croît plus rapidement que celui d'une chienne de moyenne ou grande taille. Donc en tenant compte du format de la chienne dans la détermination de la date de parturition, Kutzler et al. obtiennent avec l'échographie une précision de 75% pour une estimation de 65 +/- 1 jours, 87% pour 65 +/- 2 jours et 100% pour 65 +/- 3 jours. (43) Ce qui est similaire aux résultats que ce même auteur a obtenu dans une autre étude dans laquelle il déterminait la durée de gestation à compter de l'augmentation initiale de la concentration de progestérone indiquant le pic de LH. (44)

En s'appuyant sur les deux études de Kutzler, Kim *et al.* suggèrent donc de coupler le suivi de la progestéronémie pendant les chaleurs et l'échographie embryonnaire afin de déterminer de manière très précise une date de parturition. Pour cela ils conseillent de suivre certaines recommandations. (Voir Encadré 6) (43)(44)



## **Encadré 6 : Protocole de détermination de la date de parturition d'après Kim *et al.* (43)**

### ***Dosage quantitatif de la progestéronémie par RIA ou CLIA***

Commencer le dosage de la progestérone en début de pro-œstrus avec des mesures quotidiennes en fin de pro-œstrus jusqu'au pic de LH.

Mesurer quotidiennement la progestéronémie jusqu'à ce que le taux atteigne une valeur supérieure ou égale à 5 ng/ml.

### ***Insémination entre J3 et J6 avec de la semence fraîche***

#### ***Entre J28 et J30***

Le diamètre bipariétal et le diamètre abdominal de 2 fœtus sont mesurés afin d'en déduire un âge gestationnel.

La date de mise bas est estimée à 65 +/- 2 ou +/- 3 jours.

#### ***Pendant la dernière semaine de gestation***

Un suivi de température doit être effectué ainsi qu'un examen de la vulve et des mamelles.

Noter si la chienne présente un changement de température.

#### ***Dès que la date de mise bas approche***

Une échographie est indiquée afin de vérifier qu'il n'y a aucun problème.

### **• Radiographie :**

La radiographie permet de déterminer la date du terme par la chronologie de minéralisation des différents os des fœtus (voir tableau 3) Cette méthode reste cependant peu précise.

Cet examen n'est conservé que pour dénombrer les fœtus lorsque leur squelette commence à s'ossifier à partir du 36<sup>ième</sup> jour de gestation, en pratique 45 jours. Pour compter les fœtus, il faut compter les têtes fœtales. (61)

La radiographie permet également d'estimer les risques de dystocie en fonction des diamètres foeto-maternels.

### **• Prise de température :** (8) (61) (48) (36)

La lutéolyse ante-partum peut-être suivie par une baisse de la température rectale. L'hypothermie suit parallèlement la chute de la progestéronémie avec un délai de 12 heures. (8) Ainsi on observe une chute de 0,5 à 1°C, 24 à 28 heures avant la mise bas. (61) La température rectale est souvent inférieure à 37,2°C, 14 heures avant le part. (48) Il s'agit du signe de *Liebenberger*. (61)

Cette hypothermie est transitoire, la température corporelle de la chienne redevient normale pendant la mise bas et est ensuite légèrement supérieure à la normale (38,5°C) pendant les quelques jours qui suivent le part. Ce phénomène serait dû à l'arrêt brutal de l'effet thermogène de la progestérone provoquant ainsi un défaut passager des mécanismes de la régulation thermique.

Bien que retrouvé chez 80% des chiennes, ce signe n'est cependant pas un très bon critère prédictif de la mise bas : la chute est parfois fugace, la température oscille entre la valeur de chute et la valeur normale chez certaines chiennes, et ne remonte pas avant le part chez d'autres. Les variations individuelles sont importantes, et dépendent également de la race (chutant à 35°C chez race miniature, à 36°C chez les races moyennes, à 37°C chez les races géantes). (36)

• Dosage de la progestérone :

En fin de gestation, vers J50-60 post LH, la progestéronémie se situe entre 3 et 15 ng/ml. Elle passe ensuite de 4-5 ng/ml à une valeur proche de ou inférieure à 2 ng/ml 24 heures avant la mise bas. (10) Le taux de progestérone atteint 1,19 +/- 0,36 ng/ml et 0,55 +/- 0,07 ng/ml respectivement 24 à 16 heures et 12 à 8 heures avant la mise bas. Au moment de la parturition, la progestéronémie devient basale et est inférieure à 0,5 ng/ml. (48) Cette chute du taux de progestérone répond à l'augmentation du taux de prostaglandines (effet lutéolytique) induit par la maturation de l'axe hypophyso-surrénaliens des fœtus et l'élévation des concentrations de glucocorticoïdes fœtaux. (15)

• Changement de comportement : (36) (8)

Les chiennes présentent un comportement de nidification quelques jours avant le part. Elles peuvent s'isoler ou au contraire rechercher la présence des maîtres. Dans les 12 à 36 heures précédant la naissance, jusqu'à une semaine, l'utérus commence à se contracter. A ce stade les contractions sont imperceptibles, mais génèrent un changement d'attitude chez chienne : elle est agitée, inquiète, haletante, s'énerve, mâchonne, gratte le sol furieusement avec les antérieurs, se déplace en tout sens exagérément. En général la parturiente refuse également de s'alimenter dans les heures précédant la mise bas.

Un stress trop important peut provoquer chez la chienne une interruption des contractions d'origine psychique.

• Signes physiques : (36) (8)

Relâchement de la vulve : Au cours de la dernière semaine, on observe une relaxation cervicale, du vestibule vaginal ainsi que de la vulve suite aux concentrations croissantes de relaxine. Le relâchement de la vulve est en général assez net 48 à 72 heures avant le début du travail, moins net et plus tardif (24 heures) chez les primipares. Les ligaments du bassin et de la symphyse pubienne se distendent pour permettre aux chiots de passer, entraînant un aspect basculé de l'arrière train (la chienne semble « cassée »).

Ouverture du col : En raison de la longueur du vagin chez la chienne (12 à 15 cm chez des chiennes de taille moyenne) le toucher rectal ne permet pas d'apprécier l'ouverture du col. En revanche, la vaginoscopie apporte des informations immédiates et précises sur l'état du cervix au moment du part : une semaine avant la mise bas, on observe un œdème de la muqueuse vaginale et du cervix et de petits amas de mucus dans le vagin, qui se liquéfient avant la parturition. A l'approche du part, le réseau vasculaire se densifie au sein de la muqueuse en zone paracervicale, le cervix vaginal s'efface partiellement, le pli dorso-médian disparaît presque totalement, mais peut parfois persister. En début de part, on peut voir la dilatation du cervix par un sac amniotique.

Perte du bouchon muqueux : La fonte du bouchon muqueux sous la forme d'un liquide filant à la vulve, peut être remarquée par les propriétaires, et signe l'ouverture du col, traduisant le début imminent du travail. C'est le signe le plus tardif, il a lieu au cours des dernières 24 heures dans l'espèce canine. Mais cette perte du bouchon peut passer inaperçue car promptement nettoyé par la chienne.

Écoulement verdâtre : L'apparition d'un écoulement verdâtre correspond à l'utéroverdine libérée lors du décollement placentaire au moment où le travail commence. Il débute juste avant le premier chiot et dure pendant toute la mise bas.

La turgescence des mamelles et l'apparition du lait : Ses signes sont parfois observés une à deux semaines avant la mise bas parfois quelques heures avant celle-ci.

Les différents paramètres annonçant l'imminence du part ne sont en aucun cas fiables à 100% s'ils sont pris de manière individuelle, dans le doute le clinicien doit s'appuyer sur la confrontation de plusieurs éléments (voir tableau 4).

**Tableau 4 : Informations utilisables pour connaître le moment de la mise bas (36)**

<b>Signes variables</b>	<b>Signes fiables</b>
Montée de lait	Fonte du bouchon muqueux : 24 heures avant le début du travail, difficile à observer alternative : vaginoscopie
Dilatation et relâchement vulvaire	Baisse de la progestérone : Pg < 2 ng/ml 24 à 36 heures avant le part
Dilatation du col	Pertes vulvaires d'utéroverdine : expulsion dans les 2 heures
Chute de température	Contractions utérines : Intenses 48 heures avant le part, imperceptibles mais entraînant des modifications comportementales chez la parturiente



**Troisième partie :**  
**Etude expérimentale**



## 1. Le CERCA

### 1.1. Présentation

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

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

Le dosage de la progestérone sur prélèvement sanguin ne nécessite pas obligatoirement le déplacement du propriétaire au CERCA, qui reçoit chaque jour de nombreux prélèvements sanguins par colis postal.

Le CERCA assure une optimisation de la reproduction en contrôlant le sperme récolté lors d'insémination artificielle, en effectuant un suivi régulier de l'ovulation et en proposant un diagnostic échographique de la gestation. Un suivi des mâles y est également proposé ainsi qu'un dépistage de maladies sexuellement transmissibles telles que la Brucellose canine ou l'Herpès Virose Canine.

Pour chaque nouveau client ou nouvel animal, le CERCA ouvre un dossier où sont consignées les observations des frottis vaginaux, les résultats du dosage de la progestérone et le mode de fécondation (accouplement naturel ou insémination artificielle).

Un questionnaire concernant les résultats de la fécondation (mise bas, nombre de chiots nés vivants ou morts, malformations...) est en principe envoyé aux propriétaires des lices (*Cf. annexes 1*) ; les informations recueillies sont consignées dans le dossier (*Cf. annexes 2 et 3*).

Ce dossier personnel permet d'avoir un suivi de la chienne au cours de sa carrière reproductrice. Les dossiers sont informatisés depuis 2006.

### 1.2. Protocole des suivis de chaleurs et inséminations artificielles

#### 1.2.1. Protocole des suivis de chaleurs

Le personnel du CERCA applique en théorie le protocole suivant (*Cf. annexe 4*)(4)(21) : en considérant le premier jour des écoulements vulvaires comme le premier jour des chaleurs, on réalise un frottis vaginal vers le 5ème ou 6ème jour des chaleurs. En fonction de l'aspect du frottis évoquant un pro-oestrus ou un oestrus, on procède soit à un nouveau frottis 2 à 5 jours plus tard, soit à un dosage de la progestéronémie. Cependant, celui-ci a tendance à se généraliser et est effectué quasi systématiquement, sans tenir compte du frottis vaginal. Ce dosage fut réalisé jusqu'en 2000 par le test ELISA de mesure quantitative OVUCHECK®. En septembre 2000, le CERCA a acquis un nouvel automate de dosage de la progestéronémie (ELECSYS 1010, Roche diagnostics). Les mesures étant différentes entre les deux méthodes, le CERCA a effectué une période de transition en gardant les deux mesures entre septembre 2000 et janvier 2001 (4). C'est pour cette raison que notre étude débute en 2001.

## 1.2.2. Protocole des inséminations artificielles

Le CERCA pratique l'insémination par voie intra-vaginale ou par voie intra-utérine. Cette dernière voie est utilisée aussi souvent que possible et systématiquement lors d'insémination en semence congelée ou réfrigérée.

Les vétérinaires du CERCA utilisent soit de la semence congelée gardée sur place, soit de la semence fraîche lorsque le mâle est présent, soit de la semence réfrigérée envoyée par le vétérinaire ayant prélevé le mâle.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Nombres de dossiers étudiés

Pour cette étude, près de 2500 dossiers ont été étudiés. Mais, seulement 162 se sont révélés exploitables, c'est-à-dire qu'ils comportaient les informations demandées ci-après.

### 2.2. Saisie et traitement des données (*Cf. annexe 5*)

Tous les renseignements obtenus sur les chiennes à partir des dossiers du CERCA ont été reportés sur une base de données sur le logiciel ACCESS (programme informatique Windows®) sous la forme d'un questionnaire :

- Identité de la chienne :
  - Nom du propriétaire
  - Nom de la chienne en entier pour éviter les erreurs dans les calculs. Toute chienne provenant d'un élevage possède un nom composé de son nom commun et de son nom d'élevage. Un grand nombre de chiennes possédant le même nom, les affixes (noms d'élevages) ou surnoms des animaux lorsqu'ils existent permettent de différencier les chiennes.
  - Race : la saisie se fait par race et non par groupe cynophile car nous cherchons à déterminer si la race a une influence sur la durée de gestation.
  - Date de naissance lorsqu'elle est connue du propriétaire. Dans le cas contraire, un âge approximatif est donné à la chienne avec le propriétaire et une date de naissance à l'année près est notée dans la saisie, mais cela est peu fréquent.
  - Age aux premières chaleurs
  - Parité
  - Régularité des chaleurs : la durée entre deux périodes de chaleurs successives est-elle toujours la même (7 mois en moyenne).
  - Durée de l'interœstrus
  - Date des dernières chaleurs
  - Date de début des chaleurs si elle est connue du propriétaire
  - Date d'ovulation : date à laquelle le taux de progestéronémie atteint 6 ng/ml.
  - Détermination de l'ovulation par échographie : oui ou non
  - Diagnostic de gestation par dosage de la relaxine ou par échographie : oui ou non
  - Nombre d'ampoules embryonnaires vues à l'échographie s'il y a lieu
  - Date de mise bas



- Saillie naturelle (s'il y a lieu) :
  - Nombre de saillies
  - Date des saillies
  - Progestéronémie le jour de la saillie
  - Aspect du frottis vaginal
  
- Inséminations artificielles (s'il y a lieu) :
  - Aspect du frottis vaginal (s'il y a lieu) à chaque insémination
  - Progestéronémie le jour des inséminations
  - Nombre d'inséminations
  - Date d'insémination
  - Mode d'insémination (intra-vaginale, intra-utérine ou chirurgicale)
  - Etat de la semence (fraîche, réfrigérée ou congelée)
  
- Spermogramme à chaque IA :
  - Aspect macroscopique
  - Nombre total de spermatozoïdes
  - Concentration
  - Mobilité (pourcentage de spermatozoïdes fléchant)
  - Volume de semence pour pratiquer l'insémination
  - Pourcentage de spermatozoïdes anormaux
  - Remarque éventuelle sur la qualité de la semence utilisée (souillée de sang, urine...).
  
- Age du mâle
  
- Résultats des mises bas :
  - Date de la mise bas
  - Mise bas naturelle ou assistée
  - Nombre total de chiots nés
  - Nombre de chiots mâles nés vivants
  - Nombre de chiots femelles nés vivants
  - Nombre de chiots mâles mort-nés
  - Nombre de chiots femelles mort-nés
  - Nombre de chiots vivants dont on ne connaît pas le sexe
  - Nombre de chiots morts dont on ne connaît pas le sexe

Les résultats ont été obtenus grâce à une fiche d'information renvoyée par les propriétaires. Les informations ont ensuite été traités et analysés à l'aide de tableaux dans le logiciel EXCEL ; ces tableaux ont permis de trier les animaux selon certains critères pour chaque paramètre étudié, et d'éliminer les valeurs nulles (c'est pourquoi le nombre d'animaux n'est pas le même pour chaque paramètre étudié, certaines informations n'étant pas fournies par les propriétaires).

### 2.3.Critères de choix des dossiers inclus dans l'étude

Les chiennes incluses dans l'étude ont toutes été reçues en consultation entre janvier 2001(date à laquelle la technique de dosage de la progestéronémie a été changée) et décembre 2006. Ne sont prises en compte pour l'analyse des résultats que les chiennes amenées en consultation à cette période. En outre, seuls ont été pris en compte des dossiers pour lesquels la chienne a été reçue en consultation au CERCA en vue d'une saillie naturelle ou d'une insémination artificielle et dont la date de l'ovulation (date à laquelle le taux de progestéronémie est de 6 ng/mL) et de mise bas sont connues. Les chiennes ayant subi une césarienne programmée ne sont pas incluses (18

dossiers) dans l'étude sauf si la césarienne est réalisée suite à une complication survenue lors de la mise bas et donc qu'un début de mise bas naturelle s'est produit. Ne sont également pas pris en compte les dossiers des chiennes pour lesquelles le dosage de la progestérone à été effectué par un laboratoire extérieur. L'envoi de sang par courrier rapide pour procéder à son dosage par le laboratoire est très fréquent et certains dossiers sont suffisamment complets pour qu'un suivi à distance puisse être effectué. C'est pourquoi ces dossiers ont été inclus dans l'étude.

#### 2.4. Analyses statistiques (voir Annexe 6)

Pour l'influence de la race et du format de la chienne, de la régularité des chaleurs, du mode d'insémination et du type de semence nous avons utilisé le test du Chi deux.

Le test de corrélation linéaire de Pearson est utilisé pour étudier la relation entre l'âge des chiennes, leur parité, la taille et le sex-ratio de leurs portées et la durée de gestation réelle.

Toutes les données sont représentées sous forme de moyenne +/- l'écart-type. Le degré de précision statistique est de  $p = 0,05$ .

### 3. Résultats

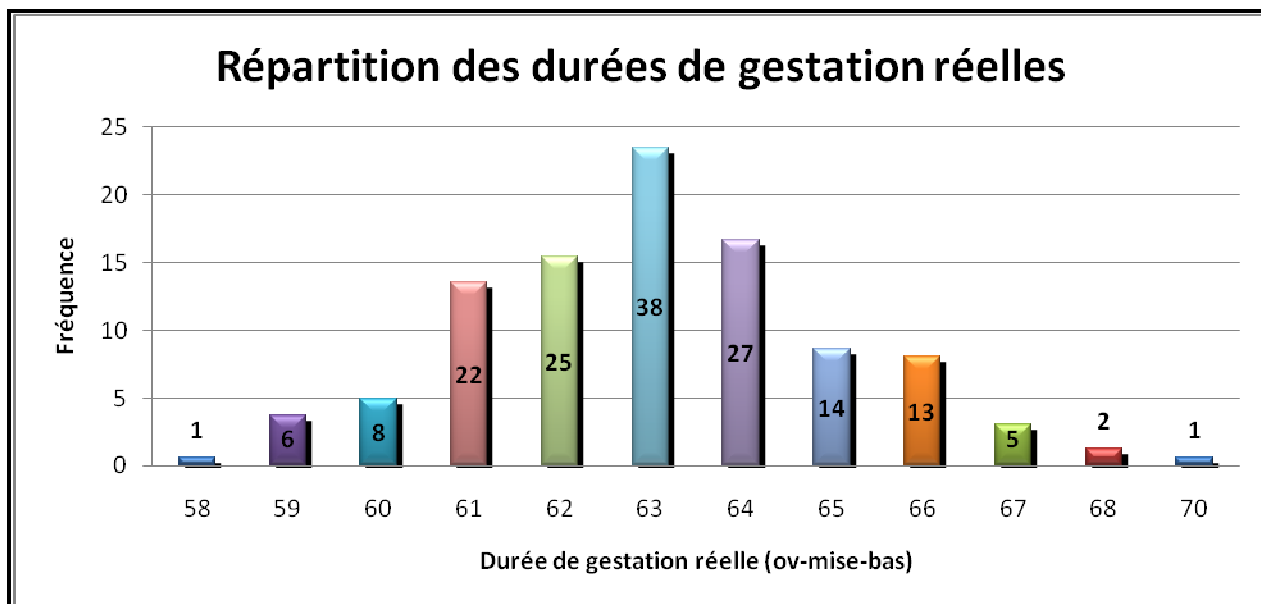
#### 3.1. Résultats globaux

##### 3.1.1. Répartition des durées de gestation

Cette étude inclus 162 suivis de chaleurs dont 151 chiennes différentes. En effet, une même chienne peut se retrouver plusieurs fois incluse dans l'étude si elle a été suivie et a mis bas plus d'une fois entre 2001 et 2006.

La durée de gestation étudiée dans cette étude est l'intervalle entre l'ovulation et la mise bas.

**Figure 18 : Répartition des durées de gestation (ovulation-mise bas)**



(Ordonnées : Pourcentage de chiennes. Abscisses : Durée de gestation à partir de l'ovulation en jours. Les valeurs indiquées sur les barres de l'histogramme sont le nombre de chiennes)

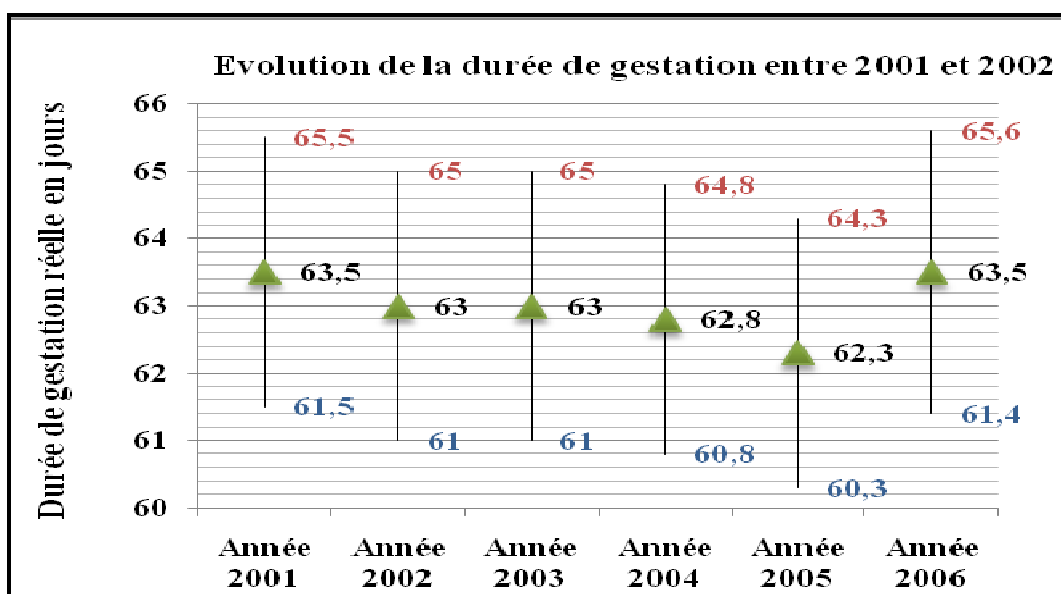
La durée réelle de gestation est en moyenne de 63,1 jours. Comme la répartition des résultats a une allure gaussienne (voir Figure 18) nous pouvons calculer l'écart-type. Ce dernier est de 2,1 jours, ainsi l'intervalle de confiance dans lequel se trouve 95% de l'échantillon est de 63,1 +/- 4,2 jours. Dans cette étude la durée de gestation varie de 58 jours à 70 jours, mais les valeurs extrêmes ne concernent que des cas isolés.

- 77,8% des chiennes (126 chiennes sur 162) de cette étude ont une durée de gestation réelle comprise entre 61 et 65 jours.
- 55,6% (90 chiennes sur 162) des lices ont une durée de gestation réelle de 63 +/-1 jours.
- 13% des chiennes (21 chiennes sur 162) ont mis bas 65 jours après l'ovulation, il s'agit surtout de chiennes de format géant (5 Rottweilers, 1 Mastiff et 1 Matin de Naples) et de grand format (2 Golden Retrievers, 2 Bergers allemand, 2 Barzoïs, 1 Chien loup de Sarloos). Il y a 3 chiennes de moyen format (1 Sharpei, 1 Epagneul français, 1 Setter irlandais) et 4 chiennes de petit format (1 Jack Russel terrier, 1 West Highland white terrier, 1 Berger des Pyrénées, 1 Teckel).
- 9,3% des chiennes (15 sur 162) ont mis bas moins de 61 jours après l'ovulation. Ce sont pour la plupart des lices de petites races : 10 Cavaliers King Charles, 1 Cairn Terrier, 1 Caniche, 1 Pinscher moyen.

### 3.1.2. Evolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006(voir Annexe 6)

Cette étude doit nous permettre de se rendre compte s'il a eu une évolution dans la détermination du moment de l'ovulation entre 2001 et 2006, puisque l'automate employé pour la mesure de la progestéronémie au cours de cette période était le même.

**Figure 19 : Evolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006**



(Ordonnées : durée de gestation réelle (ovulation-mise-bas) en jours, abscisses : années, en noir la durée de gestation moyenne obtenue pour chaque année, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

Selon les années le nombre cas répertoriés est différent mais la durée de gestation moyenne varie peu : (voir figure 19)

- En 2001 : 10 gestations avec une durée moyenne de 63,5 +/- 2,0 jours
- En 2002 : 49 gestations avec une durée moyenne de 63,0 +/- 2,0 jours
- En 2003 : 35 gestations avec une durée moyenne de 63,0 +/- 2,0 jours
- En 2004 : 10 gestations avec une durée moyenne de 62,8 +/- 2,0 jours
- En 2005 : 18 gestations avec une durée moyenne de 62,3 +/- 2,0 jours
- En 2006 : 40 gestations avec une durée moyenne de 63,5 +/- 2,1 jours

Après avoir effectué le test du Khi deux, nous pouvons dire que la différence entre les durées de gestation (ovulation-mise-bas) moyennes obtenues entre 2001 et 2006 n'est pas significative. Cela montre que la méthode de détermination du moment de l'ovulation est restée la même pendant cette période et donc que la répétabilité de la méthodologie suivie au CERCA est bonne.

### 3.2. Etude de la durée de gestation en fonction de la race et du format des chiennes

#### 3.2.1. En fonction de la race (voir Annexe 6)

Cette étude inclus 160 gestations (les races de deux chiennes ne sont pas connues) de 53 races différentes. Les races les plus représentées étant le Cavalier King Charles (n = 25), le Berger Allemand (n = 18), le Rottweiler (n = 11) et le Golden Retriever (n = 11). D'autres races sont représentées par un effectif plus restreint, c'est le cas du Bouvier Bernois (n = 7), du Berger de Brie (n = 6), du Schnauzer géant (n = 5), du Léonberg (n = 5), du Bouledogue Français (n = 5), du Labrador (n = 4) et du Sharpeï (n = 4). Les échantillons des autres races ne comprennent souvent qu'un seul individu ou tout au plus 3, ce qui ne permet pas de les analyser. (Voir Figure 20)

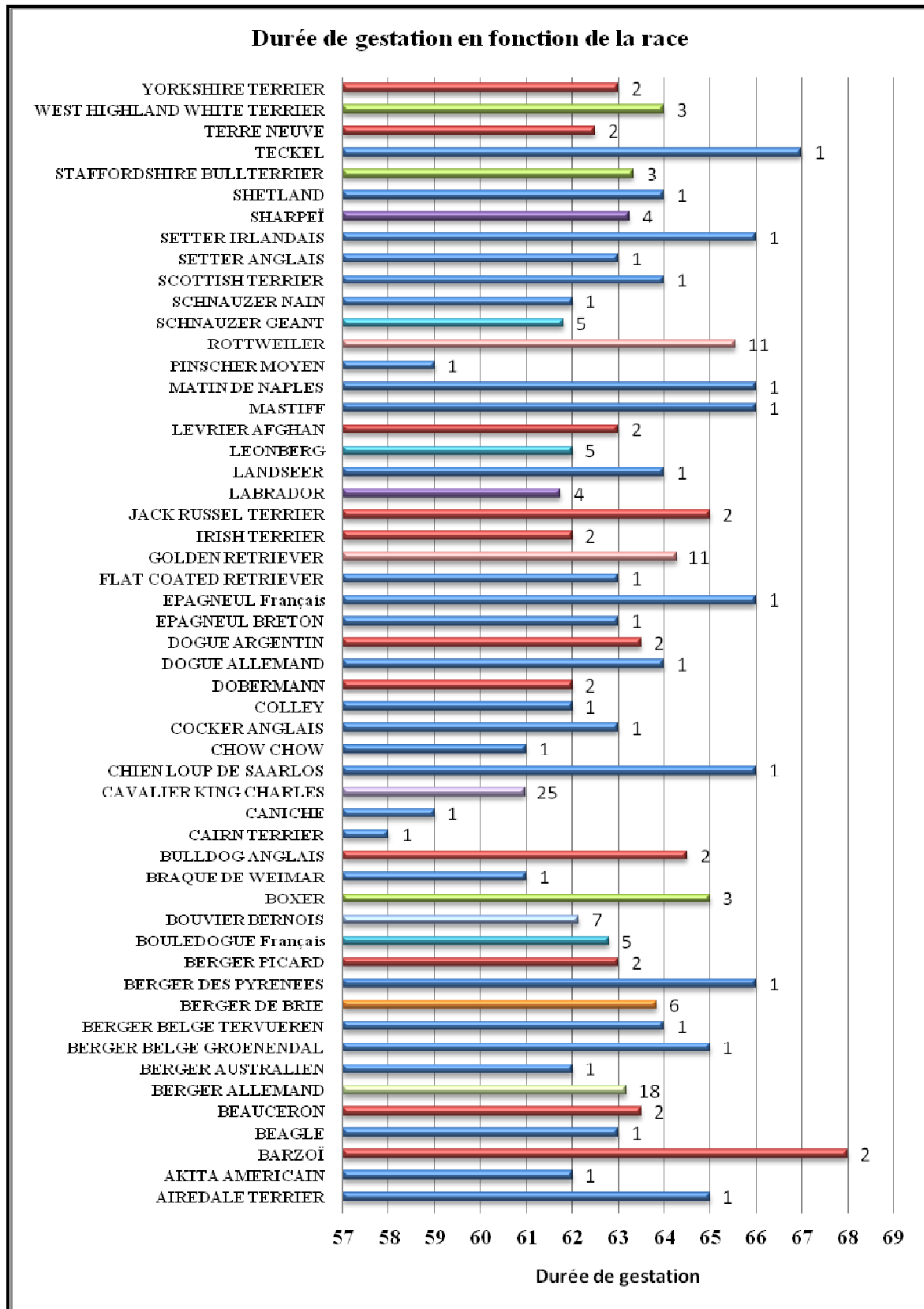
La chienne ayant la durée de gestation la plus courte, 58 jours, est une Cairn Terrier. Celle qui a la durée de gravidité la plus longue, 70 jours, est une Barzoï. Mais les effectifs de ces races étant de 1 et 2 respectivement, nous ne pouvons rien conclure au niveau racial.

Pour les races les plus représentées, les durées de gestation (+/- l'écart-type) sont les suivantes :

- Cavalier King Charles : 61,0 +/- 1,5 jours avec un intervalle allant de 59 à 65 jours
- Berger Allemand : 63,2 +/- 1,8 jours avec un intervalle allant de 60 à 68 jours
- Golden Retriever : 64,3 +/- 1,3 jours avec un intervalle allant de 63 à 67 jours
- Rottweiler : 65,6 +/- 1,6 jours avec un intervalle allant de 63 à 68 jours

Afin d'éviter la confusion avec l'effet format, nous n'allons comparer que les races Berger Allemand, Golden Retriever et Rottweiler entre elles. Après avoir calculé le chi deux, on peut dire que le Berger allemand a une durée de gestation significativement plus courte que celle du Rottweiler. Par contre, les résultats obtenus pour le Golden Retriever ne sont pas significativement différents de ceux du Berger Allemand et du Rottweiler.

Figure 20 : Etude de la durée de gestation en fonction de la race

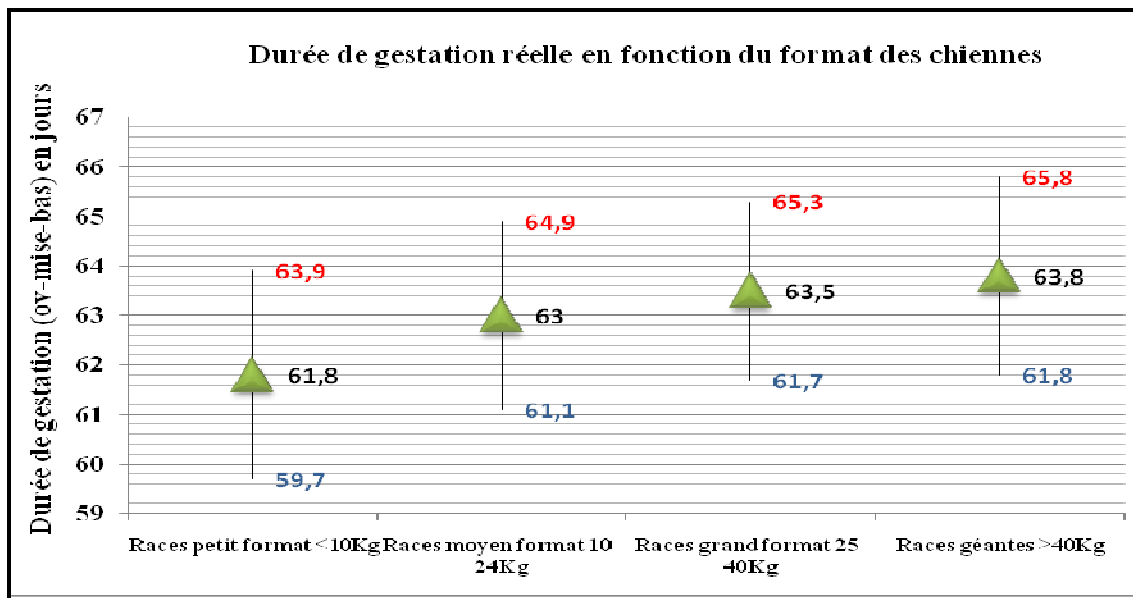


(Les valeurs à droite représentent le nombre de chiennes par race)

### 3.2.2. En fonction du format (voir Annexe 6)

Comme les effectifs des races sont faibles dans l'ensemble, nous avons classé toutes les races selon leur format afin d'obtenir des échantillons plus importants. (Voir figure 21)

**Figure 21 : Etude de la durée de gestation en fonction du format de la chienne**



(Ordonnées : durée de gestation réelle (ovulation-mise-bas) en jours, abscisses : le format des chiennes, en noir la durée de gestation moyenne obtenue pour chaque format, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

Ainsi les chiennes ont été réparties selon 4 formats : géant (>40 kg), grand (de 25 à 40 kg), moyen (de 10 à 24 kg), petit (<10kg). Nous obtenons respectivement : 31, 61, 31 et 37 chiennes dans chaque catégorie.

Les durées de gestation (+/- un écart-type) obtenues pour chaque catégorie sont les suivantes :

- Races géantes : 63,8 +/- 2,0 jours (le minimum est de 62 jours (n = 5 Léonberg) et le maximum de 66 jours (n= 1 Mastiff et 1 Matin de Naples)).
- Grandes races : 63,5 +/- 1,8 jours (le minimum est de 61 jours (n = 1 Braque de Weimar) et le maximum de 68 jours (n = 2 Barzoï)).
- Races moyennes : 63,0 +/- 1,9 jours (le minimum est de 59 jours (n = 1 Caniche et 1 Pinscher moyen) et le maximum de 66 jours (n = 1 Berger des Pyrénées, 1 Epagneul français et 1 Setter irlandais)).
- Petites races : 61,8 +/- 2,1 jours (le minimum est de 58 jours (n = 1 Cairn terrier) et le maximum de 67 jours (n = 1 Teckel)).

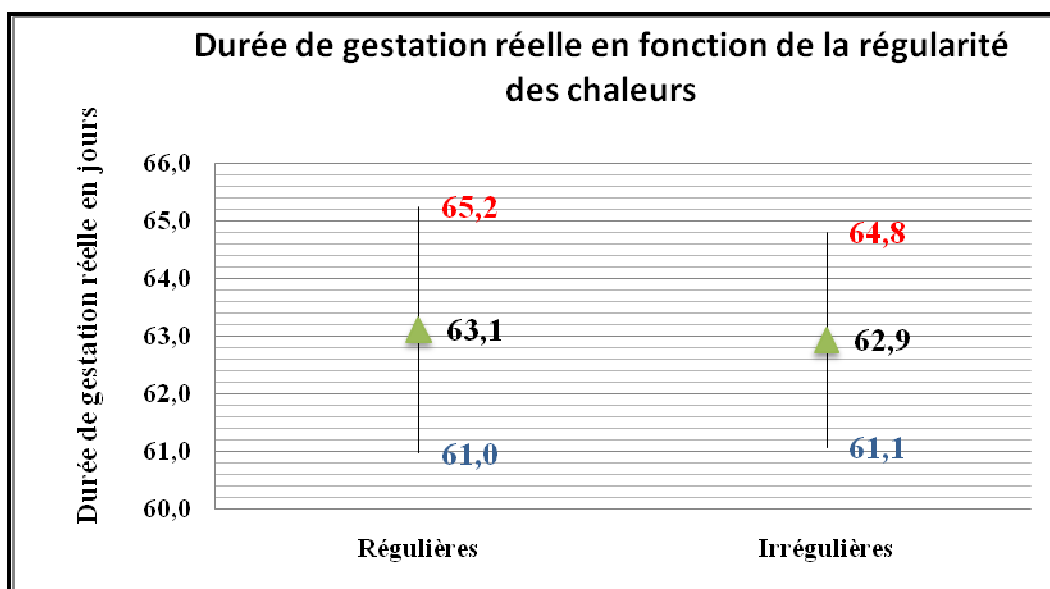
On remarque que les races moyennes, grandes et géantes ont une durée de gestation assez proche, alors que les petites races ont une durée de gestation plus courte. Si on compare deux par deux les résultats obtenus (voir annexe 6), la différence est significative entre petit et grand format, grand et géant format, géant et moyen format. Par contre, d'après les données obtenues, la différence entre la durée de gestation petites races/moyennes races, grandes races/moyennes races et petites races/races géantes n'est pas significative.

Ainsi, on peut dire que les chiennes de race géante ont une durée de gestation plus longue que les chiennes de grand et moyen format, et que les chiennes de grand format ont une durée de gestation plus longue que les chiennes de petit format.

### 3.3. Etude de la durée de gestation en fonction de la régularité des chaleurs

Cette étude inclut les 162 chiennes, 117 d'entre elles ont des chaleurs régulières et 45 des chaleurs irrégulières. Les lices ayant une cyclicité régulière ont une durée de gestation moyenne de 63,1 +/- 2,1 jours. Les autres chiennes ont une durée de gravidité moyenne de 62,9 +/- 1,9 jours. (voir Figure 22) Ces résultats sont très proches, ce qui montre que la régularité des chaleurs n'a aucun effet sur la durée de gestation.

**Figure 22 : Etude de la durée de gestation en fonction de la régularité des chaleurs**

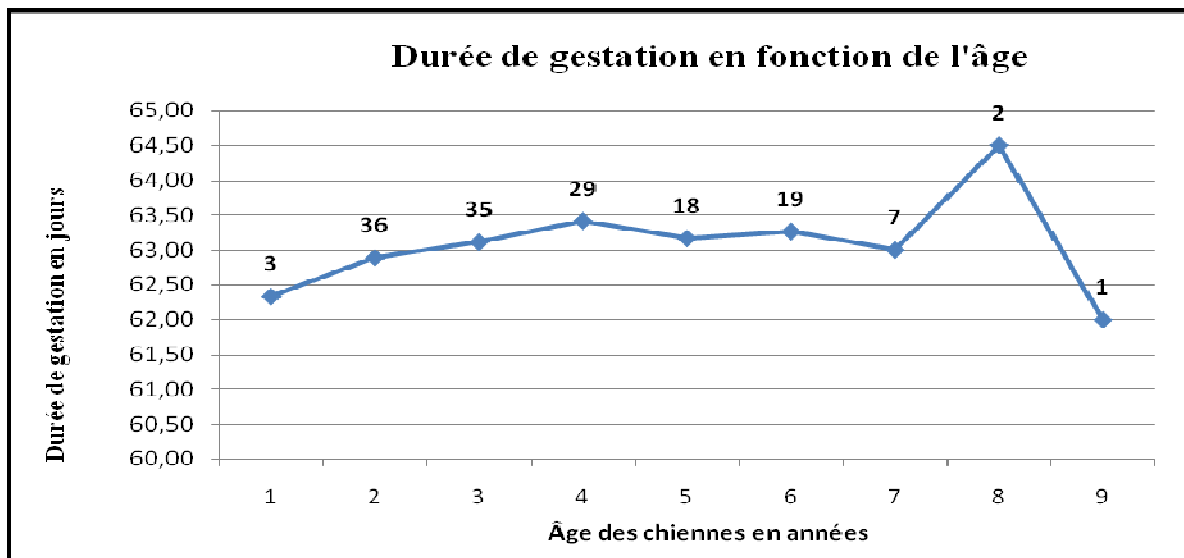


(Ordonnées : durée de gestation réelle (ovulation-mise-bas) en jours, abscisses : La régularité des chaleurs, en noir la durée de gestation moyenne obtenue, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

### 3.4. Etude de la durée de gestation en fonction de l'âge des chiennes (Figure 23)

Cette étude concerne 150 chiennes âgées de 1 à 9 ans. La plupart des chiennes ont un âge compris entre 1 et 7 ans, c'est d'ailleurs dans cet intervalle qu'il semble qu'il y ait un allongement de la durée de gestation. Mais lorsque l'on calcule le coefficient de corrélation pour les valeurs comprises dans ce même intervalle, celui-ci est de - 0,21. Cela veut donc dire qu'il existe une très faible corrélation entre la durée de gestation et l'âge des chiennes. (voir Annexe 6)

**Figure 23 : Etude de la durée de gestation en fonction de l'âge des chiennes**



*(Les valeurs sur la courbe représentent le nombre de chiennes)*

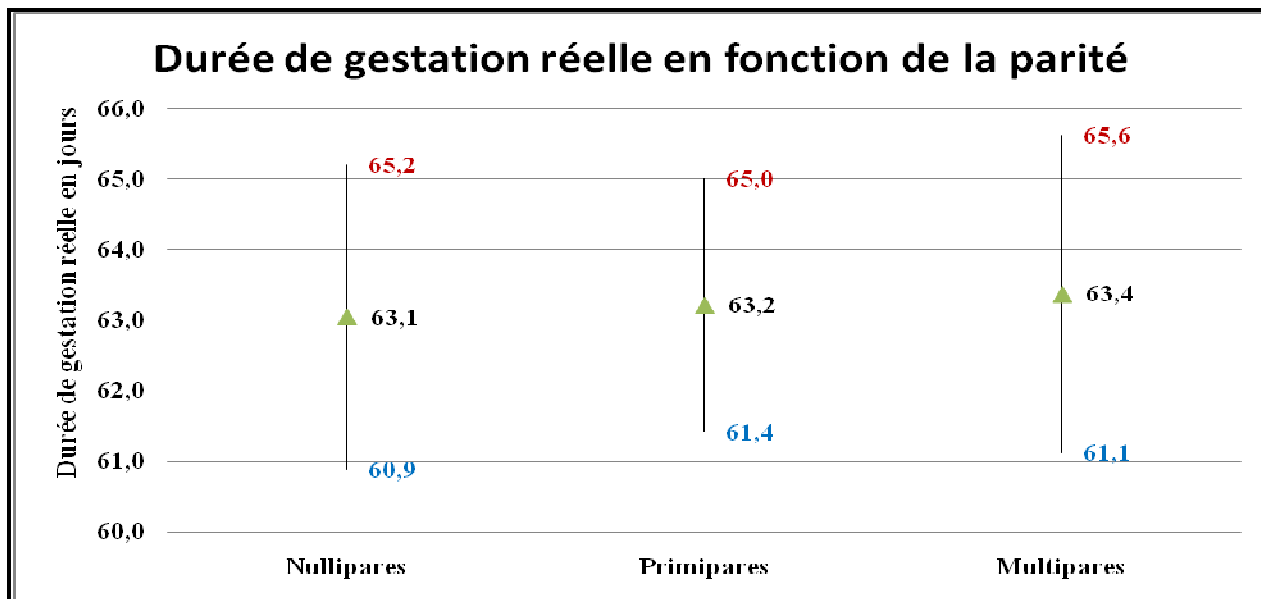
### 3.5. Etude de la durée de gestation en fonction de la parité (voir Annexe 6)

Cette étude comprend 128 chiennes dont 59 nullipares, 37 primipares et 32 multipares. La durée de gestation moyenne est de 63,2 +/- 2,1 jours. La plupart des lices ont eu entre 0 et 3 portées. Les durées de gestation respectives pour ces 3 groupes sont : 63,1 +/- 2,2 jours, 63,2 +/- 1,8 jours, 63,4 +/- 2,3 jours (voir tableau ci-après et Figure 24). Les résultats sont donc assez proches et le calcul du Khi deux montre qu'on ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation réelle des différents groupes (voir annexe 6).

Parité	Durée de gestation	Nb de chiennes	Ecart-type
<b>Nullipares</b>	63,1	59,0	2,2
<b>Primipares</b>	63,2	37,0	1,8
<b>Multipares</b>	63,4	32,0	2,3



Figure 24 : Etude de la durée de gestation en fonction de la parité



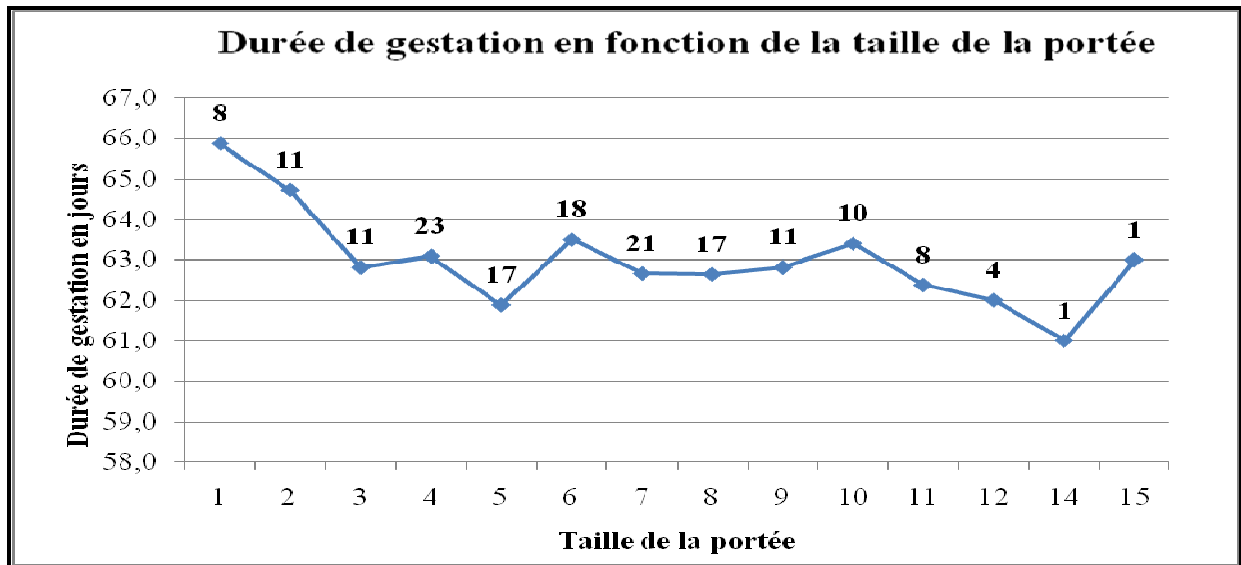
(Ordonnées : durée de gestation réelle (ovulation-mise-bas) en jours, abscisses : La parité des chaleurs, en noir la durée de gestation moyenne obtenue, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

### 3.6. Etude de la durée de gestation en fonction de la taille de la portée (voir Annexe 6)

La taille de la portée a pu être connue chez 161 des 162 gestations. Les portées vont de 1 à 15 chiots. Il existe une corrélation fortement négative ( $r = -0,95$ ) entre la durée de gestation et la taille de la portée lorsque cette dernière comporte 1 à 5 chiots. En effet la durée de gestation passe de 65,9 +/- 1,4 jours pour une portée de 1 chiot à 61,9 +/- 2,1 jours pour une portée de 5 chiots (voir Figure 25). Si l'on considère l'ensemble de la courbe, la corrélation est dans l'ensemble modérément négative entre la durée de gestation réelle et la taille de la portée ( $r = -0,74$ ).

Par contre, pour l'étude de ce paramètre il faut envisager la possibilité qu'il y ait un effet race et format. Nos résultats montrent que cet effet n'a pas ou peu d'influence dans notre étude puisque les chiennes de petites races qui ont généralement de petites portées ont également une gestation plus courte (voir 3.2.2.), or ici une petite portée implique une durée de gestation plus longue.

**Figure 25 : Etude de la durée de gestation en fonction de la taille de la portée**



(Abscisses : nombre de chiots. Ordonnées : Durée de gestation en jours. Les valeurs sur la courbe représentent le nombre de chiennes)

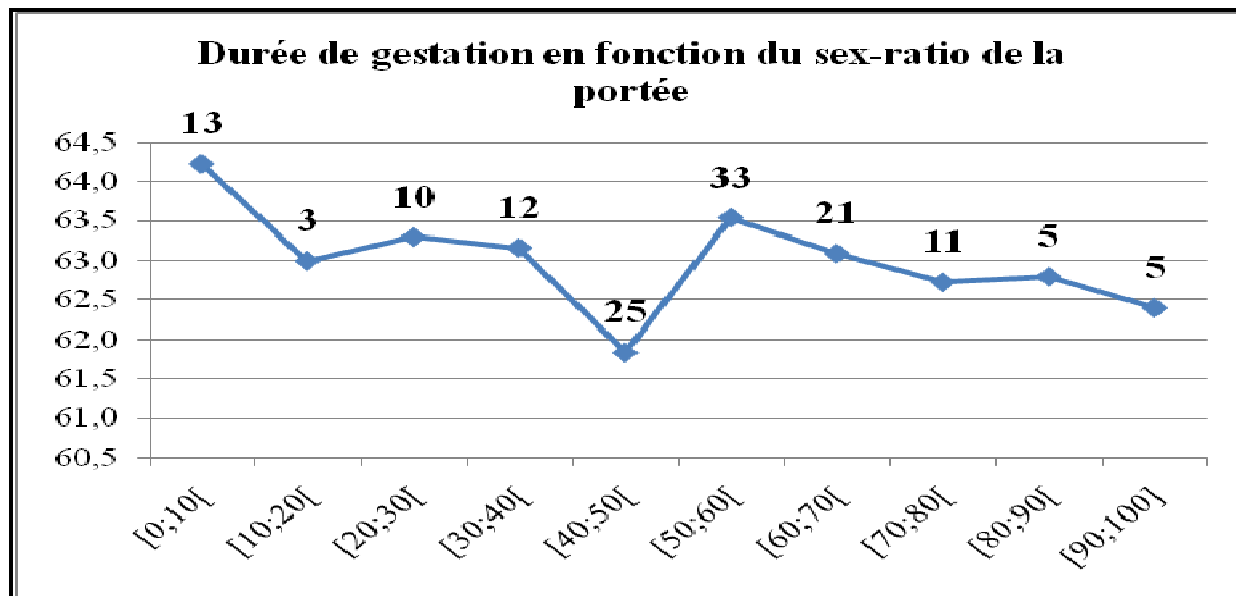
**3.7. Etude de la durée de gestation en fonction du sex-ratio de la portée (Figure 26)**

Nous avons cherché à savoir si le sex-ratio d'une portée (nombre de mâles sur nombre total de chiots) avait une influence sur la durée de gestation. Le sexe des chiots de 138 portées a pu être connu. Ainsi pour cet échantillon la durée de gestation moyenne est de 63,0 +/- 2,1 jours.

Les chiennes dont les portées ne sont composées que de femelles (n = 12 chiennes) ont une durée de gestation moyenne de 64,3 +/- 2,6 jours, alors que les chiennes n'ayant mis bas que des mâles (n = 4 chiennes) ont une durée de gestation de 62,8 +/- 2,1 jours. Les chiennes ayant mis bas autant de mâles que de femelles (sex-ratio égal à 50%) (n = 27 chiennes) ont une durée de gestation de 63,7 +/- 2,6 jours.

Il existe une corrélation négative entre le sex-ratio et la durée de gestation. Le coefficient de corrélation est égal à - 0,55 (voir Annexe 6).

Figure 26 : Etude de la durée de gestation en fonction du sex-ratio de la portée



(Abscisses : Intervalles de sex ratio des portées. Ordonnées : Durée de gestation en jours. Les valeurs sur la courbe représentent le nombre de chiennes)

### 3.8. Durée de gestation et insémination artificielle (voir Annexe 6)

#### 3.8.1. Etude de la durée de gestation en fonction du mode de reproduction

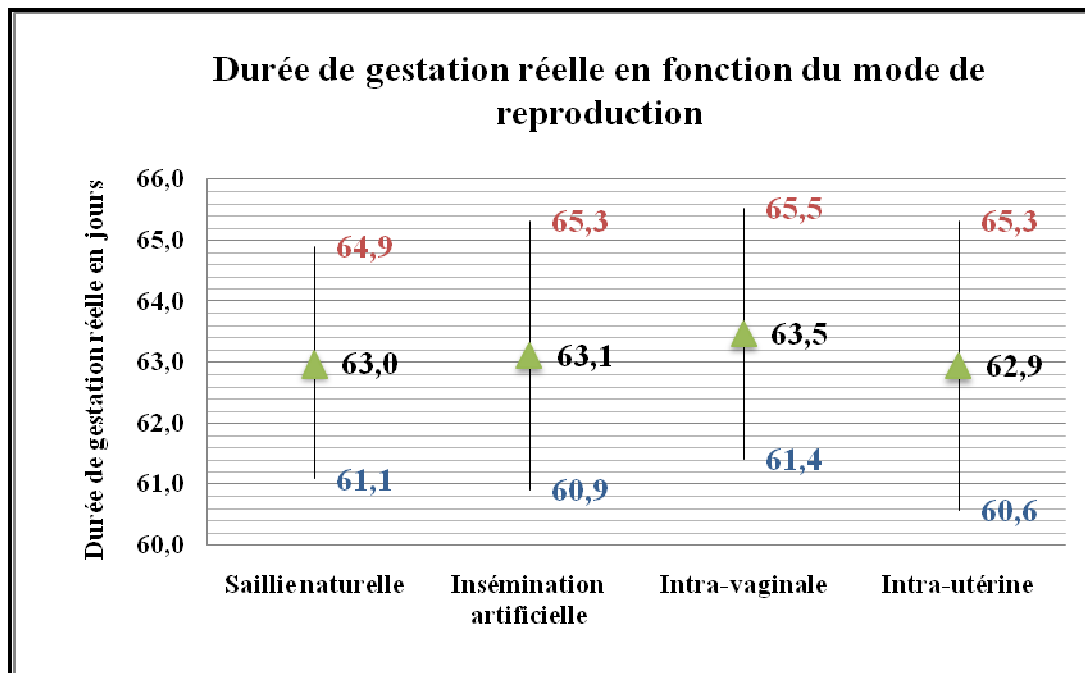
Il était intéressant de savoir si le mode reproduction avait un impact sur la durée de gestation. Ainsi sur 162 chiennes, 77 ont été saillies naturellement et 85 ont été inséminée artificiellement dont 38 par voie intra-utérine et 47 par voie intra-vaginale (tout type de semence confondu) (voir Figure 27).

Nous avons obtenus les durées de gestation suivantes :

- Chiennes ayant été saillie : 63,0 +/- 1,9 jours
- Chiennes ayant été inséminée : 63,1 +/- 2,2 jours
- Chiennes sur lesquelles ont été effectué une IA intra-utérine : 62,9 +/- 2,4 jours
- Chiennes sur lesquelles ont été effectué une IA intra-vaginale : 63,5 +/- 2,1 jours

Il n'y a pas de différence significative entre ces résultats. Le mode d'insémination n'a donc pas d'influence sur la durée de gestation.

**Figure 27 : Etude de la durée de gestation en fonction du mode de reproduction**

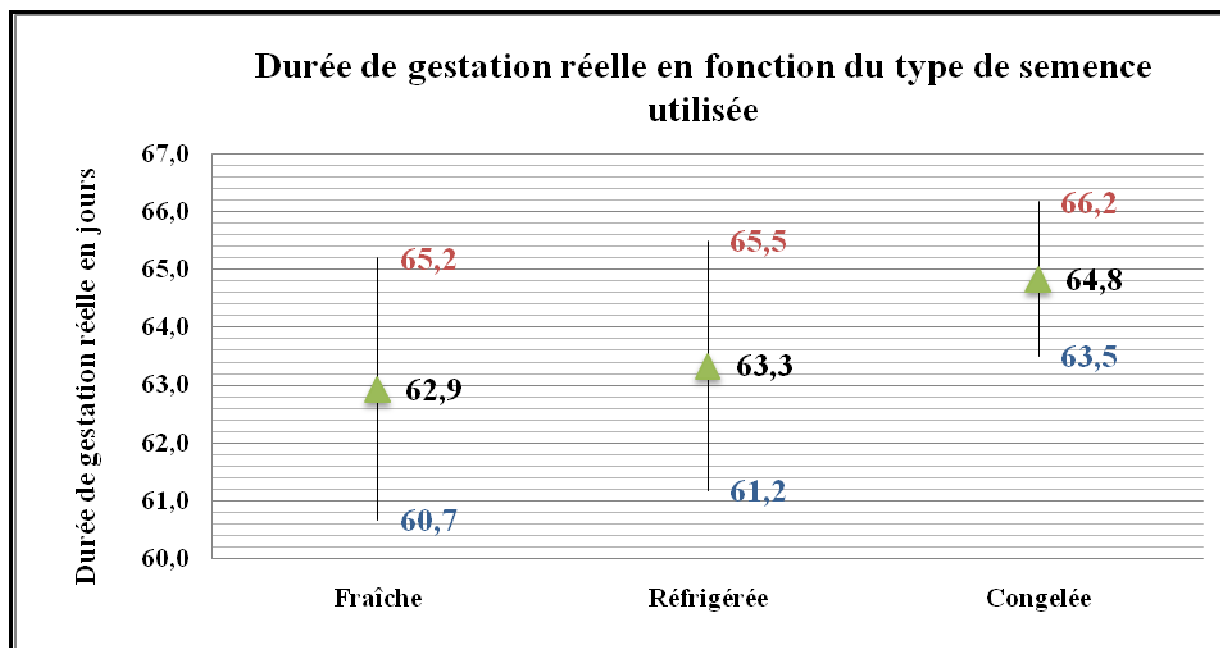


(Ordonnées : durée de gestation réelle (ovulation-mise-bas) en jours, abscisses : Le mode de reproduction, en noir la durée de gestation moyenne obtenue, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

### 3.8.2. Etude de la durée de gestation en fonction du type de semence utilisée

Cette étude compte 77 chiennes inséminées artificiellement dont 65, 6 et 6 respectivement avec de la semence fraîche, réfrigérée et congelée. Les durées de gestation pour ces 3 catégories sont de 62,9 +/- 2,3 jours en semence fraîche, 63,3 +/- 2,2 jours en semence réfrigérée et 64,8 +/- 1,3 jours en semence congelée. La différence de taille des échantillons ne permet pas de comparer les résultats obtenus (voir Figure 28).

Figure 28 : Etude de la durée de gestation en fonction du type de semence utilisée



(Abscisses : Type de semence inséminée. Ordonnées : Durée de gestation (ovulation – mise bas) en jours. Les valeurs indiquées sont : en noir la durée de gestation moyenne obtenue, en rouge cette durée plus l'écart-type, en bleu cette durée moins l'écart-type)

### 3.9. Durée de gestation en fonction de la méthode de détermination de l'ovulation

Les méthodes utilisées pour déterminer l'ovulation sont le dosage de la progestérone plasmatique, lorsque celle-ci atteint 6 ng/ml on considère alors que la chienne a ovulé, et l'échographie ovarienne.

Malheureusement, les données récoltées ne nous permettent pas d'étudier ce critère car l'échographie ovarienne n'a été pratiquée que sur 16 chiennes dans notre échantillon.

## 4. Discussion

### 4.1. Protocole

Selon les paramètres étudiés, nous obtenons des échantillons de tailles différentes mais suffisamment importantes pour pouvoir être analysés.

La taille de l'échantillon semble restreint (162 chiennes tout au plus selon les paramètres étudiés) et n'est sûrement pas représentatif de la population canine.

Quelques difficultés ont été rencontrées lors de l'analyse des dossiers. En effet, une quantité importante de dossiers étaient incomplets ou même inexploitable. Soit la date d'ovulation n'était pas connue soit la feuille de renseignement sur la mise bas n'avait pas été renvoyée par le propriétaire. L'absence de renseignements sur la mise bas fût la difficulté majeure car si tous les propriétaires avaient pris le temps de renvoyer la fiche informative, nous aurions eu un échantillon beaucoup plus important. Il manquait la date de mise bas pour 179 gestations, ce qui nous aurait donc fait un échantillon de 341 chiennes. L'envoi d'un formulaire par courrier électronique permettrait peut être à l'avenir de recevoir plus de réponses.

De plus, des éléments étant manquants ; l'échantillon a été différent pour chaque élément étudié au sein des dossiers cliniques. En effet quelquefois des dossiers ont dû être éliminés par manque d'information, alors qu'ils ont été conservés pour l'analyse d'autres paramètres. Par exemple, il manquait des données sur les inséminations artificielles : le mode d'insémination (intra-utérine ou intra-vaginale), le type de semence utilisée (fraîche, congelée ou réfrigérée). Sur les 85 dossiers de chiennes inséminées, le mode d'insémination et le type de semence n'étaient pas rapportés respectivement pour 13 et 8 cas. Ce tri nécessaire des dossiers n'obéit donc pas à la règle du tirage au sort utilisé dans un protocole d'épidémiologie descriptive.

Par contre, concernant le suivi de la progestéronémie, les chiennes incluses dans cette étude ont consulté au CERCA entre 2001 et 2006. Durant cette période, la même technique de dosage par électro chimiluminescence ainsi que le même automate ont été employés. De plus, l'étude sur l'évolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006 montre que la détermination du moment de l'ovulation ne semble pas avoir changé pendant cette période.

#### 4.2. Les résultats

- Résultats globaux

La durée réelle de gestation est en moyenne de 63,1 +/- 2,1 jours. Dans son étude, Tsutsui *et al.* (62) ont trouvé une moyenne de 63,9 +/- 0,2 jours mais ils ont considéré que la date d'ovulation correspondait au jour où la progestéronémie, mesurée par une méthode immuno-enzymatique, dépassait 2ng/ml. Or dans notre étude nous considérons que l'ovulation se produit le jour où la progestéronémie, mesurée par électro chimiluminescence, atteint 6 ng/ml. La différence de méthode de mesure de la progestéronémie, et donc de valeur de référence prise pour le jour de l'ovulation, explique sans doute l'écart trouvé entre notre étude et celle de Tsutsui *et al.*

Comme l'ovulation se produit en moyenne 2 jours après le pic de LH, nos résultats sont également similaires aux 64 à 66 jours (moyenne de 65 jours) obtenus dans les études où la durée de gestation fût mesurée à partir de la décharge pré-ovulatoire de LH. (16)

On peut donc dire qu'une valeur de progestéronémie de 6 ng/ml est un bon témoin de l'ovulation, ce qui est confirmé dans l'étude de Marseloo *et al.* (50) ainsi que dans celle de Baron (3). Cette conclusion n'est cependant pas en accord avec les affirmations de Kutzler *et al.* (44) disant que la durée de gestation ne peut pas être exacte si elle est mesurée à partir d'une valeur donnée de progestéronémie. Il existe d'après l'étude de Kutzler *et al.* des variations du taux de progestérone en fonction du format des chiennes à partir d'un jour après la décharge ovulante de LH. (44)

- Influence de la race et du format de la chienne sur la durée de gestation réelle

- **Influence de la race :**

Notre étude montre que le Berger Allemand (63,2 +/- 1,8 jours) a une durée de gestation plus courte que celle du Rottweiler (65,6 +/- 1,6 jours). Ces résultats sont en désaccord avec ceux d'Arbeiter *et al.* (1) et de Linde-Forsberg *et al.* (47) qui ont trouvé que la race n'avait pas d'influence sur la durée de gestation.

Okkens *et al.* (53) et Linde-Forsberg *et al.* dans une autre études (46) ont trouvé que le Berger Allemand avait la durée de gestation la plus courte or ces auteurs ont calculé la durée de gestation à partir de la date de la saillie pour le premier et de la date de l'insémination artificielle pour le deuxième, ce qui n'est pas le repère le plus fiable. De plus, l'échantillon de Okkens *et al.* ne comptait que 9 chiennes Berger Allemand ce qui est peu. Certes notre étude ne compte que 18

chiennes, ce qui ne peut être représentatif de la population de Berger Allemand, mais notre échantillon est plus important ce qui augmente la précision de nos résultats.

- ***Influence du format de la chienne :***

D'après nos résultats, nous pouvons dire que les chiennes de race géante (63,8 +/- 2,0 jours) ont une durée de gestation significativement plus longue que les chiennes de grand (63,5 +/- 1,8 jours) et moyen format (63,0 +/- 1,9 jours), et que les chiennes de grand format ont une durée de gestation significativement plus longue que les chiennes de petit format (61,8 +/- 2,1 jours). Cela est en désaccord avec l'étude de Kutzler *et al.* (44) dans laquelle les auteurs concluent que le poids de la chienne avant la gestation, ce qui est comparable ici au format, n'affecte pas la durée de la gestation. Or ces résultats confirment ceux que nous avons obtenus ci-dessus, disant que la durée de gestation du Cavalier King Charles (petit format) est plus courte que celle du Berger Allemand (grand format), elle-même plus courte que celle du Rottweiler (format géant) (voir annexe 6).

- ***Influence de la régularité des chaleurs***

Cette étude montre que les chiennes ayant des chaleurs irrégulières et celles ayant des chaleurs régulières n'ont pas une durée de gestation significativement différente, respectivement 62,9 +/- 1,9 jours et 63,1 +/- 2,1 jours. La régularité d'apparition des chaleurs n'a donc aucun effet sur la durée de la gestation chez la chienne.

- ***Influence de l'âge des chiennes***

En accord avec Eilts *et al.* (24), cette étude montre que l'âge de la chienne n'a pas d'influence sur la durée de gestation.

Notre étude inclut des lices dont l'âge varie de 1 à 9 ans avec une majorité entre 2 et 7 ans (144 sur 150 soit 96%). Après 6-7 ans la reproduction n'est pas conseillée pour éviter tout problème lors de la mise bas (inertie utérine par exemple). Comme nous n'avons que 3 chiennes âgées de plus de 7 ans nous pouvons seulement dire que jusqu'à 7 ans l'âge n'a pas d'influence sur la durée de gestation. De plus, peu d'études ont été publiées sur ce sujet.

- ***Influence de la parité***

Comme l'ont montré Tsutsui *et al.* (62), Eilts *et al.* (24) et Okkens *et al.* (53), la parité n'a pas d'effet sur la durée de gestation. Notre étude est en accord avec leurs affirmations.

- ***Influence de la taille de la portée***

Comme Okkens *et al.* (53)(54) et Eilts *et al.* (24), nous trouvons qu'il existe une corrélation négative entre la taille de la portée et la durée de la gestation. Cette corrélation est fortement négative pour des portées dont l'effectif est compris entre 1 et 5 chiots et modérément négative pour des portées allant jusqu'à 14 chiots.

Dans une première étude portant sur 77 chiennes, Okkens *et al.* ont trouvé une corrélation pour des portées contenant jusqu'à 7 chiots (53) puis pour des portées contenant jusqu'à 13 chiots dans une étude plus récente portant sur 113 chiennes (54). Alors que Eilts *et al.* (24), dont l'étude portait sur 764 chiennes, ont trouvé que la durée de gestation est corrélée négativement avec une taille de portée allant de 1 à 4 chiots, ce qui est plus proche de notre résultat. Cet auteur précise également que cette observation se fait également à l'intérieur d'une même race, donc le facteur racial n'influencerait pas ces résultats. Notre étude ne peut confirmer ce fait.

La parturition est déclenchée par une chute de la progestéronémie qui répond à l'augmentation du taux de prostaglandines, induite par l'élévation des concentrations de glucocorticoïdes fœtaux (conséquence de la maturation de l'axe hypophyso-surrénalien). (15) Or lorsqu'une portée ne contient qu'un seul chiot («chiot unique»), les taux de glucocorticoïdes fœtaux peuvent mettre plus de temps voire ne pas être assez élevés pour stimuler le déclenchement du part. Ceci peut expliquer pourquoi la durée de gestation est plus longue chez les chiennes qui ne portent qu'un seul chiot (9 portées dans notre étude).

- Influence du sex-ratio de la portée

Il semble d'après notre étude qu'il existe une corrélation négative entre le sex-ratio de la portée et la durée de gestation, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par Linde-Forsberg *et al.* (47). Ainsi plus une portée compte de chiots mâles plus la durée de gestation est courte, une portée comptant 90 à 100 % de mâles naît au bout de 62,4 +/- 1,9 jours alors qu'une portée comptant 0 à 9 % de mâles naît au bout de 64,2 +/- 2,5 jours. Mais cela ne prouve pas que le taux de mâle dans une portée ait vraiment une influence sur la longueur de la gravidité car ces résultats peuvent être influencés par la taille de la portée. Ainsi dans cette étude, les portées ne comportant pas ou très peu de mâles sont de petite taille (en moyenne 2,8 chiots), les portées comptant pour moitié ou que des mâles sont plus grandes (respectivement 6,2 et 4,8 chiots en moyenne).

- Influence du mode de reproduction

Dans la présente étude, la durée de gestation obtenue pour les chiennes saillies naturellement (63,0 +/- 1,9 jours) est pratiquement identique à celle obtenue chez les lices inséminées artificiellement (63,1 +/- 2,2 jours). Par contre, comme dans l'étude de Linde-Forsberg *et al.* (47) nous observons que les chiennes inséminées par voie intra-vaginale ont une durée de gestation plus longue (63,5 +/- 2,1 jours) que celles inséminées par voie intra-utérine (62,9 +/- 2,4 jours). Une explication proposée par les auteurs de l'étude citée est que les spermatozoïdes cryo-préservés sont considérés comme étant dans un état ressemblant à celui de la capacitation et sont donc capable de féconder plus rapidement les ovules que les spermatozoïdes provenant de semence fraîche. Or la semence congelée est utilisée lors d'insémination intra-utérine tandis que lors d'insémination intra-vaginale c'est principalement de la semence fraîche qui est utilisée. Or nous avons trop peu de cas d'insémination artificielle en semence congelée dans notre étude, la plupart des IA intra-utérines ont été faites avec de la semence fraîche. Une autre explication serait que lors d'insémination artificielle intra-utérine, le lieu de dépôt de la semence est plus près du lieu de fécondation.

- Influence du type de semence utilisée

Nous ne pouvons rien conclure sur l'incidence du type de semence inséminée sur la durée de la gestation car la disparité entre la taille des échantillons est trop grande. Les chiennes inséminées avec de la semence réfrigérée ou congelée ne sont pas assez nombreuses.



# CONCLUSION

Dans notre étude sur la durée de gestation réelle chez la chienne et les facteurs l'influençant, à travers l'analyse de 162 suivis de chaleurs de chiennes amenées en consultation au CERCA, nous avons tenté de déterminer d'une part la durée de gestation réelle (intervalle ovulation-mise bas) chez la chienne et d'autre part quels étaient les facteurs pouvant l'influencer.

Avec une moyenne de 63,1 jours de gestation réelle cette étude est en accord avec celle de Baron (3) montrant que le passage de la progestéronémie à 6 ng/ml est bien le témoin de l'ovulation et donc le moment à partir duquel il faut prévoir l'insémination.

Les facteurs influençant la durée de la gestation sont la race, le format de la chienne et la taille de la portée. Ces facteurs sont cependant interdépendants et les méthodes de calculs statistiques que nous avons utilisées ne permettent pas d'affirmer que chacun d'eux, indépendamment des autres, a un effet significatif. D'autres facteurs tels que le sex-ratio de la portée, la voie d'insémination (intra-vaginale ou intra-utérine) et le type de semence utilisée nécessitent un échantillonnage plus important et homogène pour pouvoir être considérés comme possédant une influence. La régularité des chaleurs, l'âge de la chienne, la parité et le mode de reproduction (IA ou saillie) n'ont aucune influence sur la durée de la gravidité chez la chienne dans notre étude.

A l'avenir, il serait intéressant de créer une base de données afin de répertorier un nombre toujours plus important de cas et de réaliser des études plus vastes dont la valeur statistique serait de plus en plus élevée, permettant ainsi de confirmer ou d'infirmer nos résultats. De plus, le dosage de l'hormone LH, hormone la plus fiable actuellement car directement liée à l'ovulation, mais aussi l'échographie ovarienne, pourraient permettre de définir avec encore plus de précision le moment de l'ovulation et donc la durée de gestation réelle chez la chienne.



# Annexe 1: Questionnaire envoyé aux propriétaires

Madame, Monsieur,

Nous avons pratiqué, au CERCA, sur votre chienne :

- Une insémination artificielle
- Un suivi en vue de la saillie
- Un frottis et un dosage de progestérone

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

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

La chienne a été saillie ( ) inséminée ( )  
si oui = date(s) =

La chienne a mis bas : oui ( ) non ( )  
si oui = date :

Mise-bas normale ( ) Durée approximative de la mise-bas =  
anormale ( ) Quelle intervention a été nécessaire ? =

Nombre de chiots nés : Totaux =                      Vivants =              Morts =

Répartition des sexes nés = Vivants :                      Femelle =              Mâle =  
Mort-nés :                      Femelle =              Mâle =

Nombre de chiots vivants à ce jour =  
(date:                      )

Commentaires complémentaires =



## Annexe 2 : Ancien dossier du CERCA

CERCA

Date :

Indication : LA: congelée ( )  
 réfrigérée ( )  
 frais ( )  
 SUTVI ( )

IDENTITE DU PROPRIETAIRE :

NOM : \_\_\_\_\_ RACE : \_\_\_\_\_  
 ADRESSE : \_\_\_\_\_ NOM : \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ DATE DE NAISSANCE : \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ N° TATOUAGE : \_\_\_\_\_  
 N° TELEPHONE : \_\_\_\_\_ N° LOF : \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

MOTIFS DE LA VISITE :

- REFUS DU MÂLE :
- MALFORMATION ANATOMIQUE :
- AUTRES :

ANAMNESE :

- ETAT D'ENTRETIEN : MAIGRE ( ) BON ( ) GRAS ( )
- AGE AUX 1ÈRES CHALEURS
- RYTHME DES CHALEURS :
- DURÉE DES CHALEURS :
- DATE DES DERNIÈRES CHALEURS :
- DATE DU DÉBUT DES CHALEURS ACTUELLES :

SAILLIES	FECONDANTES	SAILLIES NON FECONDANTES
Dates	Résultats	Dates



# Annexe 3: Nouveau dossier du CERCA

## CERCA- ENVA : SUIVI de CHALEURS

Date 1<sup>ère</sup> visite :

Dr Alain FONTBONNE

Dr Xavier LEVY

Autre:

N° CERCA

Emmanuel FONTAINE

Dr Catherine GILSON

NOM :

- Intervalles inter-oestrus :

- Durée des chaleurs ant. :

- Gestations antérieurs :

Premier jour des chaleurs (date) :

Saillie ou IA (Frais, réfrigéré, congelé) :

Lieu de réalisation :

Test Sérologie Herpès N° tube :

Résultats :

Test Sérologie brucellose N° tube :

Résultats :

Bactériologie vaginale Résultats :

Antibiothérapie prescrite :

Durée du traitement :

Date d'ovulation :

Date présumée de mise-bas :

Date effective de mise-bas :

Type de mise-bas :

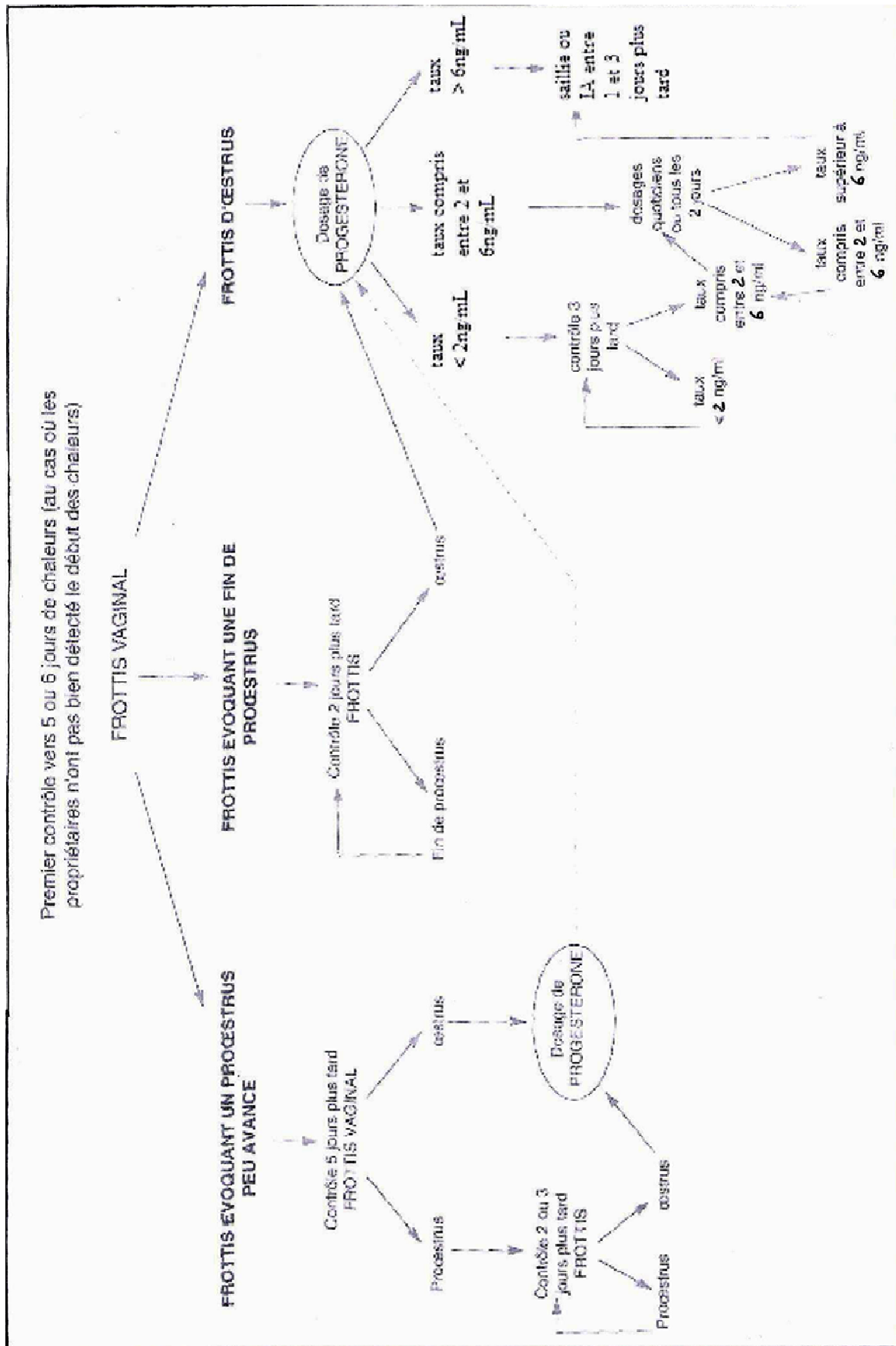
Nombre de chiots :

Date	...../...../..... ième J	...../...../..... ième J	...../...../..... ième J	...../...../..... ième J	...../...../..... ième J
Vulve					
Couleur					
N° de frottis	<input type="checkbox"/> HS <input type="checkbox"/> 555	<input type="checkbox"/> HS <input type="checkbox"/> 555	<input type="checkbox"/> HS <input type="checkbox"/> 555	<input type="checkbox"/> HS <input type="checkbox"/> 555	<input type="checkbox"/> HS <input type="checkbox"/> 555
Hématies					
PMN					
% acido.					
% baso.					
% parab.					
Autres					
Fond					
Amas					
P4 N°tube					
Conclusions					
Echo. Autres					





## Annexe 4: Protocole de suivi des chaleurs (4)





# Annexe 5 : Formulaire Access

N°	1
Numéro de dossier	A02-0417
Nom du propriétaire	TOMPOUSKY
Nom de la chienne	PLUM
Race	MASTIFF
Date de naissance	27/10/1999
Age aux premières chaleurs (mois)	10
Durée des chaleurs (jours)	21
Régularité des chaleurs	<input checked="" type="checkbox"/>
Parité	
Durée de l'interestrus (mois)	7
Date des dernières chaleurs	01/05/2001
Date de début des chaleurs actuelles	25/12/2001
Date d'ovulation	07/01/2002
Echographie ovarienne	<input checked="" type="checkbox"/>
Résultat de l'échographie	PROBABLE OVULAT
Progesteronémie (ng/mL) 1	13,50
Aspect du frottis 1	CESTRUS
Progesteronémie (ng/mL) 2	23,15
Aspect du frottis 2	CESTRUS
Progesteronémie (ng/mL) 3	

Insemination artificielle <input checked="" type="checkbox"/>	
Nombre d'IA	4
Date IA 1	09/01/2002
Mode d'insemination 1	Intra-vaginale
Etat de la semence 1	fraiche
Volume de semence 1	
Reflux 1	
Date IA 3	11/03/2002
Mode d'insemination 3	Intra-vaginale
Etat de la semence 3	fraiche
Volume de semence 3	8
Reflux 3	aucun
Date IA 2	10/01/2002
Mode d'insemination 2	Intra-vaginale
Etat de la semence 2	fraiche
Volume de semence 2	7
Reflux 2	
Date IA 4	12/01/2002
Mode d'insemination 4	Intra-vaginale
Etat de la semence 4	fraiche
Volume de semence 4	
Reflux 4	

Diagnostic de gestation <input type="checkbox"/>	
Nombre d'ampoules	
Rx: nb de squellettes	
Sérologie Herpes Positif	
Vaccination anti-herpès prépartum	<input type="checkbox"/>
Sérologie Brucellose	Indéterminé
Etat de santé de la chienne pendant la gestation	

Spermiogramme <input checked="" type="checkbox"/>	
Aspect macroscopique 1	
Nombre total de spz (millions) 1	
Concentration (nb de spz/mL) 1	
Mobilité (%) 1	
Taux d'anormaux (%) 1	
Qualité semence 1	
Concentration semence 1	Très concentrée
Aspect macroscopique 3	
Nombre total de spz (millions) 3	
Concentration (nb de spz/mL) 3	
Mobilité (%) 3	
Taux d'anormaux (%) 3	
Qualité semence 3	Bonne
Concentration semence 3	Concentrée
Aspect macroscopique 2	
Nombre total de spz (millions) 2	
Concentration (nb de spz/mL) 2	
Mobilité (%) 2	
Taux d'anormaux (%) 2	
Qualité semence 2	Bonne
Concentration semence 2	Concentrée
Aspect macroscopique 4	
Nombre total de spz (millions) 4	0,00E+00
Concentration (nb de spz/mL) 4	
Mobilité (%) 4	0,00%
Taux d'anormaux (%) 4	0,00%
Qualité semence 4	
Concentration semence 4	1

Date de mise bas	14/03/2002
Durée de la mise bas (heures)	
Mise bas	
Taille de la portée	5
Nombres de mâles	2
Nombre de femelles	3
Sexe ratio	
Nombre de morts-nés	2
Nombre d'anormaux	
Durée de gestation	



## Annexe 6 : Résultats statistiques

### 1. Evolution de la durée de gestation entre 2001 et 2006

Année	moy-ET	moy+ET	Durée de gestation moyenne	Ecart-type	nb
2001	61,46	65,54	63,5	2,04	10
2002	61,00	65,00	63,0	2,00	49
2003	60,97	65,03	63,0	2,03	35
2004	60,78	64,82	62,8	2,02	10
2005	60,26	64,34	62,3	2,04	18
2006	61,44	65,56	63,5	2,06	40

### 2. Etude de la durée de gestation en fonction de la race

	Durée de gestation				total
	59-61	62-63	64-65	66-68	
Cavalier King Charles	17	7	1	0	25
Berger Allemand	3	9	4	2	18
Golden Retriever	0	3	6	2	11
Rottweiler	0	1	5	5	11

#### • Comparaison Cavalier King Charles et Berger Allemand

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Cavalier King Charles et le Berger Allemand

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Cavalier King Charles et celle du Berger Allemand

obtenues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
CKC	17	7	1	0	25
BA	3	9	4	2	18
total	20	16	5	2	43

attendues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
CKC	11,63	9,30	2,91	1,16	25,00
BA	8,37	6,70	2,09	0,84	18,00

#### CHI2

CKC	2,48	0,57	1,25	1,16	5,47
BA	3,45	0,79	1,74	1,61	7,59

$X^2$  obs = 13,1

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2$  théorique à 95% = 7,81

$X^2$  obs >  $X^2$  théorique

**Il existe une différence significative entre la durée de gestation du Cavalier King Charles et du Berger Allemand.**

- **Comparaison Cavalier King Charles et Golden Retriever**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Cavalier King Charles et le Golden Retriever

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Cavalier King Charles et celle du Golden Retriever

obtenues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>CKC</b>	17	7	1	0	25
<b>Golden</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>6</b>	<b>2</b>	11
<b>total</b>	17	10	7	2	36

Attendues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>CKC</b>	11,81	6,94	4,86	1,39	25,00
<b>Golden</b>	5,19	3,06	2,14	0,61	11,00

**CHI2**

<b>CKC</b>	2,29	0,00	3,07	1,39	6,74
<b>Golden</b>	5,19	0,00	6,97	3,16	15,32

$X^2$  obs = 22,1

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2$  théorique à 95% = 7,81

$X^2$  obs >  $X^2$  théorique

**Il existe une différence significative entre la durée de gestation du Cavalier King Charles et du Golden Retriever.**

- **Comparaison Cavalier King Charles et Rottweiler**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Cavalier King Charles et le Rottweiler

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Cavalier King Charles et celle du Rottweiler

obtenues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>CKC</b>	<b>17</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	25
<b>Rott</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	11
<b>Total</b>	17	8	6	5	36

Attendues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>CKC</b>	11,81	5,56	4,17	3,47	25,00
<b>Rott</b>	5,19	2,44	1,83	1,53	11,00

**CHI2**

<b>CKC</b>	2,29	0,38	2,41	3,47	8,54
<b>Rott</b>	5,19	0,85	5,47	7,89	19,41

$$X^2 \text{ obs} = 27,9$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 3$$

$$X^2 \text{ théorique à 95\%} = 7,81$$

$$X^2 \text{ obs} > X^2 \text{ théorique}$$

Il existe une différence significative entre la durée de gestation du Cavalier King Charles et du Rottweiler.

- **Comparaison Berger Allemand et Golden Retriever**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Berger Allemand et le Golden Retriever

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Berger Allemand et celle du Golden Retriever

obtenues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>BA</b>	3	9	4	2	18
<b>Golden</b>	0	3	6	2	11
<b>Total</b>	3	12	10	4	29

Attendues	59-61	62-63	64-65	66-68	total
<b>BA</b>	1,86	7,45	6,21	2,48	18,00
<b>Golden</b>	1,14	4,55	3,79	1,52	11,00

**CHI2**

<b>BA</b>	0,70	0,32	0,78	0,09	1,90
<b>Golden</b>	1,14	0,53	1,28	0,15	3,10

$$X^2 \text{ obs} = 5$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 3$$

$$X^2 \text{ théorique à 95\%} = 7,81$$

$$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation du Berger Allemand et du Rottweiler.

- **Comparaison Berger Allemand et Rottweiler**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Berger Allemand et le Rottweiler

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Berger Allemand et celle du Rottweiler

Obtenues	59-61	62-63	64-65	66-68	Total
BA	3	9	4	2	18
Rott	0	1	5	5	11
Total	3	10	9	7	29

Attendues	59-61	62-63	64-65	66-68	Total
BA	1,86	6,21	5,59	4,34	18,00
Rott	1,14	3,79	3,41	2,66	11,00

## HI2

BA	0,70	1,26	0,45	1,27	3,67
Rott	1,14	2,06	0,74	2,07	6,00

$$X^2 \text{ obs} = 9,67$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 3$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 7,81$$

$$X^2 \text{ obs} > X^2 \text{ théorique}$$

Il existe une différence significative entre la durée de gestation du Berger Allemand et du Rottweiler.

- Comparaison Golden Retriever et Rottweiler

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre le Golden Retriever et le Rottweiler

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle du Golden Retriever et celle du Rottweiler

Obtenues	62-63	64-65	66-68	Total
Golden	3	6	2	11
Rott	1	5	5	11
Total	4	11	7	22

Attendues	62-63	64-65	66-68	Total
Golden	2	5,5	3,5	11
Rott	2	5,5	3,5	11

## CHI2

Golden	0,50	0,05	0,64	1,19
Rott	0,50	0,05	0,64	1,19

$$X^2 \text{ obs} = 2,38$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 2$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 5,99$$

$$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation du Golden Retriever et du Rottweiler.



### 3. Etude de la durée de gestation en fonction du format

	57-63	64-70	total
<b>Race maxi</b>	42	8	50
<b>Races géantes</b>	16	15	31
<b>Races moyennes</b>	25	6	31
<b>Races mini</b>	29	19	48
<b>Total</b>	112	48	160

- **Comparaison grande et petite race :**

**H0 :** Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre grandes races et petites races.

**H1 :** Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre grandes races et petites races

Obtenues	57-63	64-70	total
<b>Maxi</b>	42	8	50
<b>Mini</b>	29	19	48
<b>Total</b>	71	27	98

Attendues	57-63	64-70	total
<b>Maxi</b>	36,22	13,78	50,00
<b>Mini</b>	34,78	13,22	48,00

#### CHI2

<b>Maxi</b>	0,92	2,42	3,34
<b>Mini</b>	0,96	2,52	3,48

$$X^2 \text{ obs} = 6,82$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 1$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 3,84$$

$$X^2 \text{ obs} > X^2 \text{ théorique}$$

**Il existe une différence significative entre la durée de gestation des petites et des grandes races**

- **Comparaison petites et géantes races**

**H0 :** Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre géantes races et petites races.

**H1 :** Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre géantes races et petites races

Obtenues	57-63	64-70	total
<b>Géantes</b>	16	15	31
<b>mini</b>	29	19	48
<b>Total</b>	45	34	79

Attendues	57-63	64-70	total
Géantes	17,66	13,34	31
Mini	27,34	20,66	48

#### CHI2

Géantes	0,16	0,21	0,36
Mini	0,10	0,13	0,23

$$X^2 \text{ obs} = 0,60$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 1$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 3,84$$

$$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des petites et des géantes races.

- Comparaison petites et moyennes races

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre moyennes races et petites races

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre moyennes races et petites races

Obtenues	57-63	64-70	total
Medium	25	6	31
Mini	29	19	48
Total	54	25	79

Attendues	57-63	64-70	total
Medium	21,19	9,81	31,00
Mini	32,81	15,19	48,00

#### CHI2

Médium	0,69	1,48	2,16
Mini	0,44	0,96	1,40

$$X^2 \text{ obs} = 3,56$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 1$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 3,84$$

$$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des petites et des moyennes races.

- Comparaison grandes et moyennes races

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre moyennes races et grandes races

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre moyennes races et grandes races

Obtenues	57-63	64-70	total
Maxi	42	8	50
Médium	25	6	31
Total	67	14	81

Attendues	57-63	64-70	total
Maxi	41,36	8,64	50
Médium	25,64	5,36	31

#### CHI2

Maxi	0,01	0,05
Médium	0,02	0,08

$$X^2 \text{ obs} = 0,15$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 1$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 3,84$$

$$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des grandes et des moyennes races.

- **Comparaison grandes et géantes races**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre géantes races et grandes races

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre géantes races et grandes races

Obtenues	57-63	64-66	total
Maxi	42	8	50
Géantes	16	15	31
Total	58	23	81

Attendues	57-63	64-66	total
Maxi	35,80	14,20	50
Géantes	22,20	8,80	31

#### CHI2

Maxi	1,07	2,71
Géantes	1,73	4,36

$$X^2 \text{ obs} = 9,87$$

$$\text{Degré de liberté (DLL)} = 1$$

$$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 3,84$$

$$X^2 \text{ obs} > X^2 \text{ théorique}$$

Il existe une différence significative entre la durée de gestation des géantes et des grandes races.

- **Comparaison géantes et moyennes races**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre géantes races et moyennes races

**H1** : Il existe une différence significative entre la durée de gestation réelle entre géantes races et moyennes races

Obtenues	57-63	64-70	total
Médium	25	6	31
Géantes	16	15	31
<b>Total</b>	41	21	62

Attendues	57-63	64-70	total
Médium	20,5	10,5	31
Géantes	20,5	10,5	31

### CHI2

Médium	0,99	1,93
Géantes	0,99	1,93

$X^2$  obs = 5,83

Degré de liberté (DLL) = 1

$X^2$  théorique à 95% = 3,84

$X^2$  obs >  $X^2$  théorique

Il existe une différence significative entre la durée de gestation des géantes et des moyennes races.

#### 4. Etude de la durée de gestation en fonction de la régularité des chaleurs

Régularité des chaleurs	Durée de gestation	Nb de chiennes	ecart-type
REGULIER	63,1	117,0	2,1
IRREGULIER	62,9	45,0	1,9

#### 5. Etude de la durée de gestation en fonction de l'âge des chiennes

Age	Durée de gestation	Ecart-type	Nb de chiennes	MIN	MAX
1	64,3	3,5	3	61	68,0
2	63,4	1,9	36	60	67,0
3	62,2	2,4	35	59	70,0
4	63,4	1,8	29	61	68,0
5	63,4	1,9	18	60	67,0
6	62,5	1,7	19	60	65,0
7	63,9	1,3	7	62	66,0
8	63,0	1,4	2	62	64,0
9	65,0	#DIV/0!	1	65	65,0

Coefficient de corrélation entre 1 et 7 ans = - 0,21

## 6. Etude de la durée de gestation en fonction de la parité

	59-63	64-70	Total
<b>Nullipares</b>	39	20	59
<b>Primipares</b>	22	15	37
<b>Multipares</b>	17	15	32
<b>Total</b>	78	50	128

- **Comparaison Nullipares et Primipares**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes nullipares et primipares

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes nullipares et primipares

Résultats obtenus	59-63	64-70	Total
<b>Nullipares</b>	39	20	59
<b>Primipares</b>	22	15	37
<b>Total</b>	61	35	96

Résultats attendus	59-63	64-70	Total
<b>Nullipares</b>	37,49	21,51	59,00
<b>Primipares</b>	23,51	13,49	37,00

**Chi 2**

<b>Nullipares</b>	0,06	0,11	0,17
<b>Primipares</b>	0,10	0,17	0,27

$X^2$  obs = 0,43

Degré de liberté (DLL) = 1

$X^2$  théorique à 95% = 3,84

$X^2$  obs <  $X^2$  théorique

**On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des nullipares et des primipares.**

- **Comparaison Nullipares et Multipares**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes nullipares et multipares

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes nullipares et multipares

Résultats obtenus	59-63	64-70	Total
<b>Nullipares</b>	39	20	59
<b>Multipares</b>	17	15	32
<b>Total</b>	56	35	91

Résultats attendus	59-63	64-70	Total
Nullipares	36,31	22,69	59,00
Multipares	19,69	12,31	32,00

**Chi 2**

Nullipares	0,20	0,32	0,52
Multipares	0,37	0,59	0,96

$X^2$  obs = 1,48

Degré de liberté (DLL) = 1

$X^2$  théorique à 95% = 3,84

$X^2$  obs <  $X^2$  théorique

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des nullipares et des multipares.

- **Comparaison Primipares et Multipares**

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes primipares et multipares

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes primipares et multipares

Résultats obtenus	59-63	64-70	Total
Primipares	22	15	37
Multipares	17	15	32
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>30</b>	<b>69</b>

Résultats attendus	59-63	64-70	Total
Primipares	20,91	16,09	37,00
Multipares	18,09	13,91	32,00

**Chi 2**

Primipares	0,06	0,07	0,13
Multipares	0,07	0,08	0,15

$X^2$  obs = 0,28

Degré de liberté (DLL) = 1

$X^2$  théorique à 95% = 3,84

$X^2$  obs <  $X^2$  théorique

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des primipares et des multipares.

## 7. Etude de la durée de gestation en fonction de la taille de la portée

Taille de la portée	Durée de gestation	Nb de chiennes	Ecart-type
1	65,9	8,0	1,4
2	64,7	11,0	3,2
3	62,8	11,0	2,6
4	63,1	23,0	2,0
5	61,9	17,0	2,1
6	63,5	18,0	2,1
7	62,7	21,0	1,1
8	62,6	17,0	1,7
9	62,8	11,0	1,7
10	63,4	10,0	1,6
11	62,4	8,0	1,1
12	62,0	4,0	1,2
14	61,0	1,0	#DIV/0!
15	63,0	1,0	#DIV/0!

Coefficient de corrélation entre 1 et 14 chiots = - 0,74

## 8. Etude de la durée de gestation en fonction du sex-ratio de la portée

Intervalle sexe-ratio	Durée de gestation	Nb de chiennes	Fréquence	Ecart-type
[0;10[	64,2	13	9,42	2,5
[10;20[	63,0	3	2,17	1,0
[20;30[	63,3	10	7,25	1,8
[30;40[	63,2	12	8,7	1,9
[40;50[	61,8	25	18,12	1,8
[50;60[	63,5	33	23,91	2,4
[60;70[	63,1	21	15,22	1,9
[70;80[	62,7	11	7,97	2,0
[80;90[	62,8	5	3,62	1,5
[90;100]	62,4	5	3,62	1,9

Coefficient de corrélation = - 0,55

## 9. Durée de gestation et insémination artificielle

- Etude de la durée de gestation en fonction du mode de reproduction

Mode de reproduction	Durée de gestation	min	max	Nb de chiennes	Ecart-type
Saillie naturelle	63,0	58,0	67,0	77,0	1,9
Insémination artificielle	63,1	59,0	70,0	85,0	2,2
Intra-vaginale	63,5	60,0	68,0	34,0	2,1
Intra-utérine	62,9	59,0	70,0	38,0	2,4

Comparaison saillie et insemination artificielle :

**H0 :** Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes saillies et des chiennes inséminées artificiellement

**H1 :** Il existe une différence significative entre des chiennes saillies et des chiennes inséminées artificiellement

	58-60	61-63	64-66	67-70	Total
<b>saillie</b>	8	40	27	2	77
<b>IA</b>	7	45	27	6	85
<b>Total</b>	15	85	54	8	162

<b>saillie</b>	7,13	40,40	25,67	3,80	77
<b>IA</b>	7,87	44,60	28,33	4,20	85
<b>Total</b>	15	85	54	8	162

**CHI 2**

<b>saillie</b>	0,106253006	0,00398476	0,069264	0,854417188	1,033919022
<b>IA</b>	0,096252723	0,00360972	0,062745	0,774001452	0,936608997

$X^2$  obs = 1,97

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2$  théorique à 95% = 7,81

$X^2$  obs <  $X^2$  théorique

**On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des chiennes ayant été saillies et celle des chiennes ayant été inséminées.**

Comparaison insémination artificielle intra-utérine et insémination artificielle intra-vaginale

**H0 :** Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes inséminées par voie intra-utérine et des chiennes inséminées par voie intra-vaginale

**H1 :** Il existe une différence significative entre des chiennes inséminées par voie intra-utérine et des chiennes inséminées par voie intra-vaginale

durée	59-61	62-64	65-66	67-70	total
<b>intra-utérine</b>	11	19	6	2	38
<b>intravaginale</b>	7	18	6	3	34
<b>total</b>	18	37	12	5	72

<b>intrautérine</b>	9,50	19,53	6,33	2,64	38
<b>intravaginale</b>	8,50	17,47	5,67	2,36	34

<b>chi2 IU</b>	0,24	0,01	0,02	0,15	0,42
<b>chi2 IV</b>	0,26	0,02	0,02	0,17	0,47



$X^2 \text{ obs} = 0,90$

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 7,81$

$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$

On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des chiennes ayant été inséminées par voie intra-utérine et celle des chiennes ayant été inséminées par voie intra-vaginale.

- Etude de la durée de gestation en fonction du type de semence utilisée

Type de semence	Durée de gestation moyenne	Nb de chienne	Ecart-type
Fraîche	62,9	65,0	2,3
Réfrigérée	63,3	6,0	2,2
Congelée	64,8	6,0	1,3

Durée	59-61	62-64	65-67	68-70	Total
fraiche	20	32	11	2	65
refrigérée	1	4	1	0	6
congelée	0	3	3	0	6
Total	21	39	15	2	77

#### Comparaison semence fraîche et semence réfrigérée

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes inséminées avec de la semence fraîche et des chiennes inséminées avec de la semence réfrigérée

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes inséminées avec de la semence fraîche et des chiennes inséminées avec de la semence réfrigérée

Obtenues	59-61	62-64	65-67	68-70	Total
Fraiche	20	32	11	2	65
Réfrigérée	1	4	1	0	6
total	21	36	12	2	71

Attendue	59-61	62-64	65-67	68-70	Total
fraiche	19,23	32,96	10,99	1,83	65,00
refrigérée	1,77	3,04	1,01	0,17	6,00

#### CHI2

fraiche	0,03	0,03	0,00	0,02	0,07
refrigérée	0,34	0,30	0,00	0,17	0,81

$X^2 \text{ obs} = 0,88$

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 7,81$

$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$

**On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des chiennes ayant été inséminées avec de la semence fraîche et celle des chiennes ayant été inséminées avec de la semence réfrigérée.**

Comparaison semence fraîche et semence congelée

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes inséminées avec de la semence fraîche et des chiennes inséminées avec de la semence congelée

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes inséminées avec de la semence fraîche et des chiennes inséminées avec de la semence congelée

Obtenues	59-61	62-64	65-67	68-70	Total
Fraîche	20	32	11	2	65
Congelée	0	3	3	0	6
total	20	35	14	2	71

Attendue	59-61	62-64	65-67	68-70	Total
fraîche	18,31	32,04	12,82	1,83	65,00
Congelée	1,69	2,96	1,18	0,17	6,00

**CHI2**

fraîche	0,16	0,00	0,26	0,02	0,43
Congelée	1,69	0,00	2,79	0,17	4,65

$X^2 \text{ obs} = 5,08$

Degré de liberté (DLL) = 3

$X^2 \text{ théorique à } 95\% = 7,81$

$X^2 \text{ obs} < X^2 \text{ théorique}$

**On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des chiennes ayant été inséminées avec de la semence fraîche et celle des chiennes ayant été inséminées avec de la semence congelée.**

Comparaison semence réfrigérée et semence congelée

**H0** : Il n'y a pas de différence de durée de gestation réelle entre des chiennes inséminées avec de la semence réfrigérée et des chiennes inséminées avec de la semence congelée

**H1** : Il existe une différence significative entre des chiennes inséminées avec de la semence réfrigérée et des chiennes inséminées avec de la semence congelée

Obtenues	59-61	62-64	65-70	Total
Réfrigérée	1	4	1	6
Congelée	0	3	3	6
total	1	7	4	12

Attendue	59-61	62-64	65-70	Total
Réfrigérée	0,5	3,5	2	6
Congelée	0,5	3,5	2	6

**CHI2**

<b>Réfrigérée</b>	0,50	0,07	0,50	1,07
<b>Congelée</b>	0,50	0,07	0,50	1,07

**$X^2$  obs = 2,14**

**Degré de liberté (DLL) = 2**

**$X^2$  théorique à 95% = 5,99**

**$X^2$  obs <  $X^2$  théorique**

**On ne peut pas conclure à une différence significative entre la durée de gestation des chiennes ayant été inséminées avec de la semence réfrigérée et celle des chiennes ayant été inséminées avec de la semence congelée.**



# BIBLIOGRAPHIE

- (1) ARBEITER K., DOBRETSBERGER M., MÜLLER E. *et al.* Ein direkter Nachweis der Ovulation und Fertilisation beim Hund durch Progesteronverlaufsuntersuchungen. *J. Vet. Med. A*, 1991, **38**, pp. 696-701.
- (2) BADINAND F., PETIT C. Quels résultats attendre de la reproduction assistée chez la chienne ? *Recueil de médecine vétérinaire*, mars-avril 1998, 174, n°7/8, spécial reproduction canine vol.2, pp. 153-161
- (3) BARON F. *Etude de la période pré-ovulatoire chez la chienne Berger Allemand*. Thèse Méd. Vét., Alfort 2006,90p
- (4) BARTOLO A. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1999 à 2002*. Thèse Méd. Vét., Alfort 2004, n°59.
- (5) BLENDIGER K. Physiology and pathology of the estrous cycle of the bitch. *Proceedings of the SCIVAC Congress, Rimini, Italy, 2007*, [<http://www.ivis.org>].
- (6) BOUE F., CHAFFAUX S. Les étapes de la fécondation, in vivo et in vitro : exemple des canidés. *Recueil de médecine vétérinaire*, mars-avril 1998, 174, n°3/4, spécial reproduction canine vol.1, pp. 27-31
- (7) CATHENOZ L. et MARSAN C. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1990 à 1993*. Thèse Méd. Vét., Alfort 1996, n°38.
- (8) CHAFFAUX S., BOSSE Ph. *Biologie de la reproduction du chat et du chien*. Encyclopédie Vétérinaire, Reproduction – 0100, pp. 1-16
- (9) CHOQUART V. *Suivi échographique et datation de la gestation chez la chienne à partir du pic de LH*. Thèse Méd. Vét., Nantes 2002, n°18
- (10) CONCANNON P.W. Canine Pregnancy: Predicting Parturition and Timing Events of Gestation. Mai 2000. *In Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>].
- (11) CONCANNON P.W. Estrus induction in dogs: Approaches, Protocols and applications. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2005*, [<http://www.ivis.org>].
- (12) CONCANNON P.W. Physiology and clinical parameters of pregnancy in dogs. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2002*, [<http://www.ivis.org>].
- (13) CONCANNON P.W. Understanding and monitoring canine pregnancy. WSAVA 2005, [<http://www.ivis.org>].
- (14) CONCANNON P.W., VERSTEGEN J. Some unique aspects of canine and feline female reproduction important in veterinary practice. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2005*, [<http://www.ivis.org>].

- (15) CONCANNON P.W., VERSTEGEN J. Pregnancy management in dogs and cats. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2004*, [<http://www.ivis.org>].
- (16) CONCANNON P.W., WHALEY S., LEIN D. *et al.* Canine gestation length: Variation related to time of mating and fertile life of sperm. *Am. J. Vet. Res.*, 1983, **44** (10), 1819-1821.
- (17) CORRE J., ROZENBAUM M. *Elaboration d'un document pédagogique de reproduction canine*. Thèse Méd. Vét., Alfort 2004.
- (18) CREPEL S. Le développement embryonnaire du chien : de la fécondation à la naissance. *PMCA*, 1998, **33**, Supp. P. Soignant 1, pp. 25-30
- (19) DAVIDSON A. Infertilité chez la chienne : notions actuelles. *WALTHAM Focus*, 2006, vol. 16, n°2, pp. 13-21. [<http://www.ivis.org>].
- (20) DE GIER J., KOOISTRA H.S., DJAJADININGRAT-LAANEN S.C. *et al.* Temporal relations between plasma concentrations of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, estradiol-17 $\beta$ , progesterone, prolactin, and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone during the follicular, ovulatory, and early luteal phase in the bitch. *Theriogenology*, 2006, **65**, pp. 1346-1359.
- (21) DOUCET F., VANNIMENUS C. *Contribution à l'étude de la reproduction chez la chienne : analyse des dossiers des chiennes suivies au centre d'étude en reproduction canine assistée de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort de 1994 à 1998*. Thèse Méd. Vét., Alfort 2001, n°38.
- (22) DURRANT B.S., RAVIDA N., SPADY T. *et al.* New technologies for the study of carnivore reproduction. *Theriogenology*, 2006, **66**, pp. 1729-1736.
- (23) DUMON C, FONTBONNE A, Reproduction du chien et du chat. Coll. Les indispensables de l'animal de compagnie, *PMCAC*, 1992, p. 287.
- (24) EILTS B.E., DAVIDSON A.P., HOSGOOD G. *et al.* Factors affecting gestation duration in the bitch. *Theriogenology*, 2005, **64**, pp. 242-251.
- (25) ENGLAND G., BURGESS C.M., FREEMAN S.L. *et al.* Relationship between the fertile period and sperm transport in the bitch. *Theriogenology*, 2006, **66**, pp. 1410-1418.
- (26) ENGLAND G. CONCANNON P.W. Determination of the optimal breeding time in the bitch: basic considerations. Juin 2002. *In Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>].
- (27) ENGLAND G., YEAGER A., CONCANNON P.W. Ultrasound imaging of the reproductive tract of the bitch. Juillet 2003. *In Recent Advances in Small Animal Reproduction*, [<http://www.ivis.org>].
- (28) FARSTAD W. Assisted reproductive technology in canid species. *Theriogenology*, 2000, **53**, pp. 175-186.
- (29) FONTBONNE A., *Ovulation, maturation ovocytaire et fécondation in vivo chez la chienne*, Thèse Méd., Agro Paris Tech 2008.
- (30) FONTBONNE A. Diaporama de cours : D1 gestation. ENVA, 2003, 142p.

- (31) FONTBONNE A. Insémination artificielle dans l'espèce canine. *Encyclopédie Vétérinaire, Pathologie de la reproduction* – 0900, pp 1-7
- (32) FONTBONNE A. La reproduction, c'est « tendance ». *Pratique Vét Anim Comp.*, mars 2005, N° 14, Bulletin du Groupe d'Étude en Reproduction, Élevage et Sélection des Carnivores domestiques (GERES) n°1, pp. 15-16.
- (33) FONTBONNE A., BUFF S., GARNIER F. Données récentes en physiologie et endocrinologie sexuelles dans l'espèce canine. *Point Vét.*, 2000, **31** (209), 395-401.
- (34) FONTBONNE A., MALANDAIN E. Echographie ovarienne et suivi de l'œstrus chez la chienne et la chatte. *WALTHAM Focus*, 2006, **16**, n°2, pp. 22-29. [<http://www.ivis.org>].
- (35) FONTBONNE A., REYNAUD K., MARSELOO N. *et al.* In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. In: *Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 144-146.
- (36) FREVILLE A., *Conduite à tenir en obstétrique canine et féline*. Thèse Méd. Vét., Alfort 2005.
- (37) GOODMAN M. Ovulation timing: concepts and controverses. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, mars 2001, **31**, n°2, clinical theriogenology, pp. 219-235.
- (38) GUERIN C. Détermination du moment de l'ovulation chez la chienne, implication pour la saillie ou l'insémination artificielle. *Rec. Méd. Vét.*, 1998, **174** (7-8), 117-123.
- (39) GUERIN C., PETIT C., BADINAND F. Fécondité chez la chienne après saillie ou insémination artificielle : étude sur 202 chiennes. *Point vét.*, 1996, **28**, 51-56.
- (40) HEKERMAN T.W.M., OKKENS A.C., DE VOGEL J.W.A. *et al.* Influence of litter size and breed on variation in length of gestation in the dog. *Vet. Quart.*, 1993, **15**, 160-161.
- (41) HEWITT D., ENGLAND G. Assessment of optimal mating time in the bitch. *InPractice*, Janvier 2000, pp. 24-33.
- (42) HOFFMANN B., Hormonal control of pregnancy and parturition in the dog, *Proceedings of the world congress WSAVA, 2004*, [<http://www.ivis.org>].
- (43) KIM Y.H., TRAVIS A.J., MEYERS-WALLEN V. N. Parturition prediction and timing of canine pregnancy. *Theriogenology*, 2007, **68**, 1177-1182
- (44) KUTZLER M.A., MOHAMMED H.O., LAMB S.V. *et al.* Accuracy of canine parturition date prediction from the initial rise in preovulatory progesterone concentration. *Theriogenology*, 2003, **60**, 1187-1196.
- (45) LENNOZ M. Physiologie de la reproduction. *Point Vet.*, 1978, **7**, 11-17
- (46) LINDE-FORSBERG C. What can be learned from 2500 AIs in the dog? *Proceedings of the world congress WSAVA, 2002*, [<http://www.ivis.org>].

- (47) 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**, 11-23.
- (48) LUVONI G.C., BECCAGLIA M. The prediction of parturition date in canine pregnancy. *Reprod Dom Anim*, 2006, **41**, 27-32
- (49) MALANDAIN E., FONTBONNE A. Frottis vaginaux chez la chienne. *WALTHAM Focus*, 2006, **16**, n°2, pp. 39-40. [<http://www.ivis.org>].
- (50) MARSELOO N., FONTBONNE A., BASSU G. *et al.* Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. *In: Proceedings of the 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, 4-6 août 2004, 75-77.
- (51) MARTI J.A. Vaginal cytology in the bitch and queen. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2002*. [<http://www.ivis.org>].
- (52) NEVEUX M., Les frottis vaginaux chez la chienne. *Point vét.*, 1999, **30**, 37-44.
- (53) OKKENS A.C., HEKERMAN T.W.M., DE VOGEL J.W.A. *et al.* Influence of litters size and breed on variation in length of gestation in the dog. *Vet. Quat.*, 1993, **15**, 160-161.
- (54) OKKENS A.C., TEUNISSEN J.M., VAN OSCH W. *et al.* Influence of litter size and breed on the duration of gestation in dogs. *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 2001, **57**, 193-197.
- (55) PIERSON P., GRANDJEAN D., SERGHERAERT R. *et al.* Guide pratique de l'élevage canin. Ed. Fontaine, 1996, 157-190
- (56) REYNAUD K., FONTBONNE A., MARSELOO N. *et al.* Maturation ovocytaire, fécondation et développement embryonnaire chez la chienne. *Bull. Ac. Vét. Fr.*, 2005, **158** (2), 167-172.
- (57) REYNAUD K., FONTBONNE A., MARSELOO N. *et al.* In vivo meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. *Reproduction*, 2005, **130**, 193-201 [<http://www.reproduction-online.org>].
- (58) RIJSSELAERE T. *et al.*, Sperm distribution in the genital tract of the bitch following artificial insemination in relation to the time of ovulation. *Reproduction*, 2004, **128**, 801-811 [<http://www.reproduction-online.org>]
- (59) ROMAGNOLI S. Control of reproduction in dogs and cats: use and misuse of hormones. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2006*, [<http://www.ivis.org>].
- (60) ROMAGNOLI S. Recent advances in canine female reproduction. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2006*, [<http://www.ivis.org>].
- (61) TAINTURIER D., CHOQUART V., FIENI F. *et al.* Le suivi de la gestation chez la chienne : imagerie médicale, déterminisme du moment de la mise bas. *Recueil de médecine vétérinaire*, mars-avril 1998, **174**, n°3/4, spécial reproduction canine, 77-85



(62) TSUTSUI T., HORI T., KIRIHARA N. *et al.* Relation between mating or ovulation and the duration of gestation in dogs. *Theriogenology*, 2006, **66**, 1706-1708.

(63) VERSTEGEN J., ONCLIN K. Estrus control in the bitch. *Proceedings of the world congress WSAVA, 2002*, [<http://www.ivis.org>].

(64) VERSTEGEN J., ONCLIN K. Régulation lutéale chez la chienne. *Recueil de médecine vétérinaire*, mars-avril 1998, **174**, n°3/4, spécial reproduction canine vol.1, 17-23.



