

Croissance folliculaire et ovulation chez la chatte

Follicular growth and ovulation in the queen

Par Élise MALANDAIN^{(1),(2)*}, Delphine RAULT⁽³⁾, Émeline FROMENT⁽¹⁾, Stéphanie BAUDON⁽¹⁾,
Dominique BEGON⁽³⁾ et Sylvie CHASTANT-MAILLARD^{(1)**}
(mémoire présenté le 2 mars 2006)

RÉSUMÉ

La chatte est une femelle à polyœstrus saisonnier et à ovulation provoquée. Compte tenu de la faible taille des follicules, le suivi clinique de la croissance folliculaire terminale est difficile dans cette espèce. Les ovaires ont été observés au cours de 9 cycles anovulatoires et 12 cycles ovulatoires grâce à un échographe de très haute résolution. Les follicules apparaissent sous forme de zones circulaires anéchogènes bien délimitées. Les chaleurs durent en moyenne 7,4 jours. Le premier jour d'apparition des manifestations comportementales de l'œstrus, $4,8 \pm 0,2$ follicules (entre 2 et 7 par chatte) sont présents avec un diamètre moyen de $2,3 \pm 0,01$ mm. La croissance des follicules se poursuit ensuite à raison de $0,2 \pm 0,04$ mm par jour. Au moins un follicule de la cohorte atteint un diamètre supérieur à 3 mm. La croissance folliculaire maximale est atteinte $3,8 \pm 0,3$ jours en moyenne après le début des chaleurs ; le diamètre du plus gros follicule est de $3,5 \pm 0,04$ mm. En l'absence d'ovulation, le diamètre folliculaire diminue d'en moyenne $0,1 \pm 0,01$ mm par jour jusqu'à la fin des chaleurs. Le premier jour d'arrêt des manifestations comportementales, le diamètre du plus gros follicule de chaque cohorte est de $2,7 \pm 0,05$ mm. Lorsqu'elle est induite par stimulation vaginale, l'ovulation débute 23 à 28 heures après la première stimulation et s'étale sur environ 10 heures. Elle se traduit par la disparition des images anéchogènes. Cette étude montre que le stade de croissance folliculaire ne peut être relié ni aux caractéristiques du frottis vaginal ni à la durée écoulée depuis le début des manifestations comportementales. L'échographie semble être la technique la plus fiable pour déterminer le stade de croissance folliculaire et donc décider du moment optimal d'induction de l'ovulation en vue de l'insémination.

Mots-clés : chatte, chaleurs, follicule, échographie, ovulation.

SUMMARY

The queen is a seasonally polyœstrus, induced ovulator. Due to the limited follicular size, clinical follow-up of terminal follicular growth is difficult in this species. In this study, ovarian ultrasonography has been performed during 9 anovulatory cycles and 12 ovulatory cycles. Follicles appeared as well-defined anechoic circular zones. Mean estrus duration was 7.4 days. On the first day of behavioural estral modifications, 4.8 ± 0.2 follicles (2-7 per female) of 2.3 ± 0.01 mm mean diameter were present on the ovaries. Follicular growth continues at a rate of 0.2 ± 0.04 mm per day. At least one follicle of the cohort reaches a diameter greater than 3.0 mm. Maximal follicular growth was reached 3.8 ± 0.3 days after the onset of estrus and the diameter of the largest follicle was 3.5 ± 0.04 mm. In the absence of ovulation, follicular diameter decreased from 0.1 ± 0.01 mm per day until the end of estrus. The first day after the end of behavioural estrus, the diameter of the largest follicle of each cohort was 2.7 ± 0.05 mm. When ovulation was mechanically induced, it began 23 to 28 hours after vaginal stimulations and lasted 10 hours. It was visualized by anechoic images disparition. No correlation has been observed between follicular development and either vaginal smear characteristics, or time spent from the onset of estrus. Ultrasonography revealed to be the more reliable technique to examine the follicular development and its main interest is the determination of the optimal time for ovulation induction before artificial insemination.

Key words: queen, œstrus, follicle, ultrasonography, ovulation.

(1) UMR 1198 INRA/ENVA/CNRS Biologie du Développement et Reproduction,

(2) Unité de Médecine de l'Élevage et du Sport (UMES),

(3) Imagerie médicale,

École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 Avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort CEDEX, France.

* adresse actuelle : Royal Canin, Communication Scientifique, 650 av. de la Petite Camargue, 30470 Aimargues, France

** schastant@vet-alfort.fr

• INTRODUCTION

La physiologie de la folliculogénèse et de l'ovulation présente plusieurs particularités chez la chatte (*Felis catus domesticus*). La chatte est une espèce à polyœstrus saisonnier et à ovulation provoquée (SHILLE, LUNDSTROM, et STABENFELDT, 1979 ; GOODROWE *et al.*, 1989 ; FELDMAN et NELSON, 1996). La cyclicité apparaît en période de jours croissants (en février sous nos latitudes) et s'interrompt en automne (vers octobre). L'œstrus (chaleurs) se traduit par des modifications évidentes du comportement : la femelle vocalise, se frotte la nuque et la tête sur les objets, se couche train postérieur surélevé, en piétinant des postérieurs (TSUTSUI et STABENFELDT, 1993). L'œstrus dure en moyenne 5 à 6 jours (mais parfois jusqu'à 20 jours) et intervient toutes les 2 à 3 semaines (voire plusieurs mois selon les races), de façon non répétable pour un même animal (PAAPE *et al.*, 1975). Le cycle de la chatte apparaît donc comme une succession de vagues de croissance folliculaire, chacune accompagnée d'un comportement d'œstrus, séparées par des périodes de quiescence (interœstrus).

En l'absence de stimulation vaginale, les chaleurs sont anovulatoires. L'ovulation n'est qu'exceptionnellement spontanée, survenant plutôt chez les chattes élevées en présence d'autres chats, mâles ou femelles (LAWLER *et al.*, 1993 ; GUDERMUTH *et al.*, 1997). Dans les situations physiologiques, l'ovulation est induite par le coït. Les stimulus mécaniques liés au coït sont particulièrement intenses chez la chatte du fait de la présence de papilles cornées à la surface du pénis du chat. Dans les quelques minutes qui suivent la copulation, la concentration circulante de LH augmente, pour atteindre un pic dans les 2 heures (BANKS et STABENFELDT, 1982 ; SHILLE *et al.*, 1983). L'ovulation, observée après exérèse des ovaires ou *in vivo* par laparotomie/laparoscopie, a lieu, selon les auteurs, entre 24 et 56 heures post-coïtum (WILDT *et al.*, 1981 ; SHILLE *et al.*, 1983) et des corps jaunes se forment. La mise en évidence de progestérogène dans le sang circulant à partir de 24-48 heures après l'ovulation est le témoin de l'ovulation (PAAPE *et al.*, 1975).

Néanmoins l'évolution des follicules (croissance, ovulation ou atresie) au cours de la phase de chaleurs est un phénomène mal décrit chez la chatte. Elle n'est qu'indirectement évaluée par des méthodes plus ou moins précises et plus ou moins invasives : observation des modifications comportementales, évaluation du degré de kératinisation des cellules vaginales observées sur des frottis vaginaux, dosage de l'œstradiol 17 β circulant, observation macroscopique des follicules par laparotomie/laparoscopie ou après exérèse chirurgicale des ovaires (SHILLE, LUNDSTROM, et STABENFELDT, 1979 ; BANKS et STABENFELDT, 1982 ; SHILLE *et al.*, 1983 ; SCHMIDT, CHAKRABORTY et WILDT, 1983 ; SCHMIDT, 1986 ; GOODROWE *et al.*, 1989 ; LEYVA, MADLEY et STABENFELDT, 1989). Pour les femelles de plus grande taille, comme chez la femme, la jument ou la vache, la croissance folliculaire est couramment suivie par échographie (KAHN, 1994). L'introduction récente en milieu vétérinaire d'échographes de très haute résolution a rendu possible la mise au point du suivi de la croissance

folliculaire au cours de l'œstrus dans une espèce de taille limitée comme la chienne (ENGLAND et YAEGER, 1993 ; MARSELOO *et al.*, 2004).

L'objectif de cette étude était donc d'établir la faisabilité d'un tel suivi folliculaire chez la chatte et le cas échéant, de décrire l'évolution de la population folliculaire au cours de phases œstrales anovulatoires et ovulatoires. Il s'agissait ensuite d'étudier la correspondance entre les résultats échographiques et les critères habituellement utilisés pour le suivi de l'œstrus chez la chatte, à savoir les frottis vaginaux et les modifications comportementales.

• MATÉRIELS ET MÉTHODES

Animaux

Huit chattes nullipares, en bonne santé, âgées de 10 à 18 mois, pesant entre 2,5 et 4 kg (une femelle de race Maine Coon et 7 de race Abyssin) ont été suivies. Deux mâles de race Abyssin ont été utilisés pour la détection de l'œstrus et pour l'insémination (14 mois, 4,5 kg). Les femelles étaient séro-négatives vis-à-vis des virus FeLV et FIV. Elles étaient vaccinées contre le typhus, les calicivirus et l'herpèsvirus félin.

Les animaux étaient élevés en chatterie expérimentale, sous un programme lumineux de 14 heures de lumière par jour. Ils étaient nourris *ad libitum* avec de la nourriture sèche (croquettes Vet Cat sensitive, Royal Canin, Aimargues, France) et l'eau était fournie à volonté.

Les chattes étaient placées par paire dans des cages mesurant 150 x 200 x 100 cm (l x L x h) et bénéficiaient en groupe d'une période d'exercice de 6 heures par jour. Les deux mâles étaient hébergés ensemble dans la même cage (120 x 80 x 80 cm) ; leur période de deux heures d'exercice quotidien était distincte de celle de l'exercice des femelles.

L'étude a eu lieu pendant la période de reproduction dans l'hémisphère Nord, entre février et août.

Détection de l'œstrus

Les chattes sont placées chaque matin devant la cage des deux mâles pendant leur période d'exercice. Les modifications comportementales sont recherchées : frottement de la tête et du cou sur des supports ou sur le sol, roulement en décubitus dorsal, lordose et déviation de la queue, vocalisations et appel du mâle (FELDMAN et NELSON, 1996). Dès que certaines de ces modifications sont observées, un frottis vaginal et une échographie ovarienne sont pratiqués quotidiennement pendant toute la durée de l'œstrus, jusqu'à 1 à 2 jours après la disparition des signes comportementaux.

Induction de l'ovulation

L'ovulation est provoquée par stimulation du vagin à l'aide d'un écouvillon urétral. Les stimulations sont répétées 5 fois à 30 minutes d'intervalle. Le temps est décompté par rapport à la première stimulation vaginale. Le contrôle de l'ovulation est réalisé par échographie et par dosage du taux de progestérogène circulante. Une progestéronémie supérieure à 1 ng/ml, 3

à 4 jours après l'induction, témoigne de la réalité de l'ovulation (WILDT *et al.*, 1981 ; BANKS et STABENFELDT, 1982 ; SHILLE *et al.*, 1983).

Échographie ovarienne

L'échographie des ovaires est pratiquée par voie transabdominale, la femelle placée en décubitus dorsal sans tranquillisation ni anesthésie. L'appareil utilisé est un échographe ATL 3500 HDI équipé d'une sonde linéaire de 12 MHz (Philips Medical Systems, Eindhoven, Pays-Bas ; résolution : 0,19 mm). Tous les follicules antraux détectables sur l'ovaire droit et gauche sont comptés et leur diamètre mesuré. Le diamètre de la cavité anéchogène est mesuré sur l'image montrant le follicule dans sa forme circulaire et en son plus grand diamètre. Chaque mesure est répétée 2 à 3 fois sous différents angles du faisceau d'ondes ultrasonores. La position respective des différents follicules est notée de façon à permettre le suivi de la croissance au cours de la période d'observation. Les images sont enregistrées sur support numérique. Les mesures sont exprimées sous forme moyenne \pm SEM (erreur standard). Dans les résultats, la surface interne des follicules assimilés à des sphères est calculée (πd^2 , d étant le diamètre mesuré à l'échographie). Ce calcul permet de rendre compte de l'importance de la surface de tissus folliculaires (thèque et granulosa) capables de synthétiser des œstrogènes, responsables du comportement d'œstrus.

Cytologie vaginale

Un écouvillon urétral (CML, Nemours, France), préalablement humidifié avec une solution de NaCl 0,9%, est introduit délicatement dans le vagin et doucement roulé sur lui-même. Après dépôt sur une lame, le frottis est coloré par la coloration de HARRIS-SHORR. L'aspect de la surface de la lame, hors cellules, appelé fond du frottis, est noté par observation au grossissement $\times 100$. Au grossissement $\times 400$, 100 cellules épithéliales sont observées et classées en cellules basales, parabasales, intermédiaires, superficielles et superficielles anucléées (SCHUTTE, 1967 ; MILLS, VALLI et LUMSEN, 1979). L'index éosinophile du frottis est calculé comme le pourcentage de cellules partiellement ou totalement acidophiles.

Dosage de progestérone

Les prélèvements sanguins sont réalisés 5 jours après la fin des manifestations comportementales de l'œstrus en l'absence de stimulation vaginale, ou 3 à 4 jours après la détection échographique de l'ovulation induite ; ils permettent de confirmer le caractère anovulatoire ou ovulatoire des phases étudiées. Un millilitre de sang est prélevé par ponction à la veine céphalique sur héparinate de lithium. Le plasma est séparé par centrifugation et immédiatement utilisé pour le dosage de la progestérone. Le taux de progestérone est mesuré par une technique ELISA automatisée (Enzymun-Test progesterone, Roche Diagnostics, Meylan, France).

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées grâce à des analyses de la variance et par des test t de STUDENT. Le seuil de significativité a été placé à $p=0,05$. Les données prises en compte pour la taille folliculaire sont les mesures telles que fournies par l'échographe. Compte tenu de la résolution de l'appareil (0,19 mm), les données seront présentées avec une précision de l'ordre du dixième de millimètres.

• RÉSULTATS

Phases œstrales anovulatoires

Suivi de la croissance folliculaire par échographie

Huit phases œstrales anovulatoires ont été suivies quotidiennement par échographie transabdominale. Les follicules ovariens apparaissaient comme des structures sphériques anéchogènes bien délimitées, d'un diamètre compris entre 1 et 4 mm (figure 1). Au cours d'une période œstrale, entre 3 et 7 follicules évolutifs ont été détectés, soit en moyenne $5,0 \pm 0,2$ par chatte. Ils étaient visibles du premier au dernier jour des chaleurs. D'autres follicules (de 0 et 2 par chatte) sont apparus au cours de la période de suivi, mais ils n'ont pas dépassé 2 mm de diamètre et ne sont restés visibles que pendant 3 et 6 jours (en moyenne pendant $4,0 \pm 0,2$ jours par période d'œstrus). Seuls les follicules évolutifs ont été pris en compte dans les calculs, soit 41 follicules (figure 2).

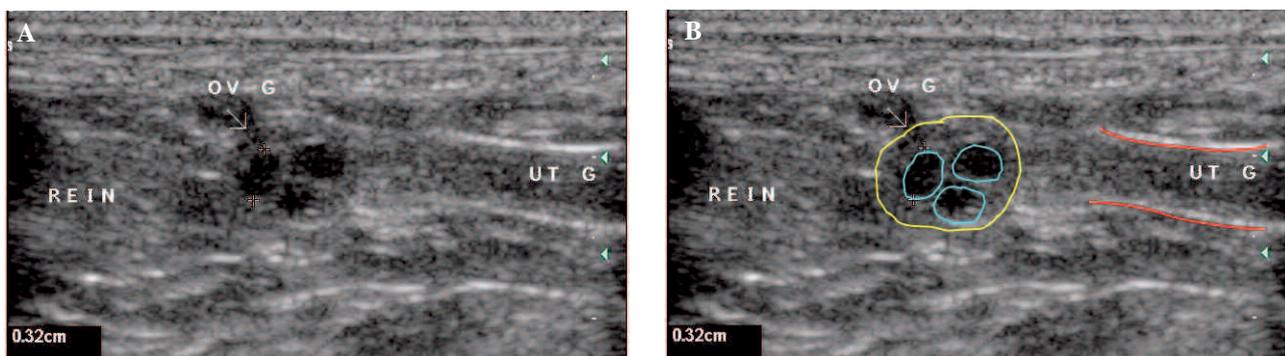


Figure 1 : Image échographique d'un ovaire de chatte 5 jours après le début des chaleurs. Trois follicules sont visibles sous forme de structures circulaires anéchogènes, à contours bien délimités. Le follicule situé le plus à gauche mesure 3,2 mm de diamètre. A. Image réelle. B. Les contours de l'ovaire ont été surlignés en jaune, ceux des trois follicules en bleu et les limites de l'utérus en rouge.

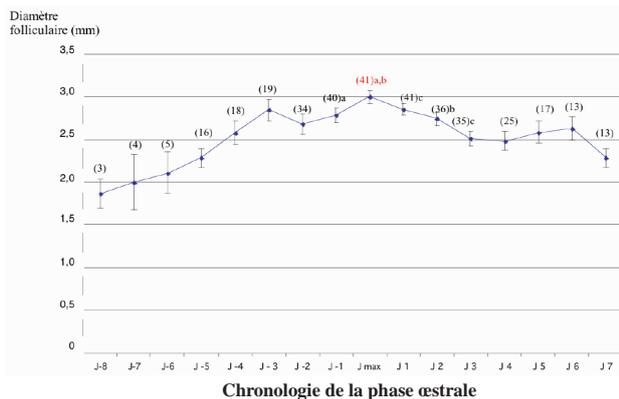


Figure 2 : Évolution du diamètre folliculaire moyen (moyenne ± SEM) au cours de la phase œstrale non ovulatoire. Jmax correspond au jour auquel la croissance folliculaire maximale a été observée pour chaque chatte. Le chiffre situé au-dessus de chaque point indique le nombre de follicules mesurés. Les points marqués de la même lettre diffèrent significativement.

Le premier jour de l'apparition des manifestations comportementales de l'œstrus, $4,8 \pm 0,2$ follicules (entre 2 et 7 par chatte) étaient présents. Le diamètre moyen des follicules était de $2,3 \pm 0,01$ mm. À cette date, les follicules les plus gros de chaque cohorte avaient un diamètre moyen de $2,6 \pm 0,08$ mm, compris entre 2,2 et 3,1 mm.

La croissance des follicules s'est poursuivie ensuite à raison de $0,2 \pm 0,04$ mm par jour. Au moins un follicule de chaque cohorte atteint un diamètre supérieur à 3 mm. Le diamètre maximal du plus gros follicule de chaque cohorte, compris entre 2,9 et 4,1 mm, était en moyenne de $3,6 \pm 0,06$ mm. Si on considère tous les follicules de la même cohorte, leur diamètre maximal moyen était de $3,1 \pm 0,01$ mm.

En l'absence d'ovulation, il était nécessaire de définir pour chaque chatte le jour au cours duquel la croissance de la cohorte folliculaire avait atteint son maximum (Jmax). Nous avons défini Jmax comme le jour où la somme des surfaces folliculaires, pour chaque chatte, était maximale. Il correspondait approximativement à celui où un des follicules de la cohorte atteignait le diamètre le plus élevé de toute la période de chaleurs. Pour 5 chattes, il s'agissait du même jour ; pour 3 chattes, ce diamètre maximal de la phase d'œstrus était atteint la veille de Jmax. La croissance folliculaire maximale était atteinte 1 à 8 jours après le début des chaleurs, soit en moyenne $3,8 \pm 0,3$ jours. À ce stade, $5,1 \pm 0,2$ follicules étaient présents (entre 3 et 7). Leur diamètre moyen était de $3,0 \pm 0,01$ mm et celui du plus gros follicule de la cohorte est de $3,5 \pm 0,4$, compris entre 3,1 et 3,9 mm. L'analyse statistique montre que la croissance folliculaire se maintient en plateau entre J-1 et J1, la taille des follicules restant stable pendant ces 3 jours.

Les vagues de croissance folliculaire évoluent chez la même chatte de façon assez synchrone : 46 % des follicules atteignaient leur diamètre maximal à Jmax (19 sur 41) et 80 %, entre J-1 et J+1 (33 sur 41). Pour les follicules plus désynchronisés, le diamètre maximal s'observait entre J-4 et J+3 (n=8).

Après Jmax, en l'absence de stimulus inducteur d'ovulation, les cohortes folliculaires régressaient. Le diamètre fol-

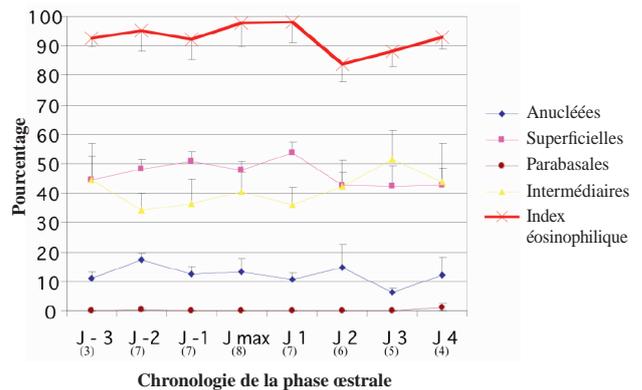


Figure 3 : Évolution du frottis vaginal au cours de la phase œstrale anovulatoire. Jmax correspond au jour auquel la croissance folliculaire maximale a été observée pour chaque chatte. Les chiffres indiqués sous la chronologie de la phase œstrale correspondent au nombre de frottis analysés.

liculaire diminuait d'en moyenne $0,1 \pm 0,01$ mm par jour jusqu'à la fin des chaleurs.

Le premier jour d'arrêt des manifestations comportementales, on observait encore $4,9 \pm 0,1$ follicules d'un diamètre moyen de $2,3 \pm 0,01$ mm, variant entre 1,5 et 3,2 mm. Les plus gros follicules de chaque cohorte présentaient un diamètre moyen de $2,7 \pm 0,05$ mm. Les modifications comportementales disparaissaient $3,2 \pm 0,2$ jours après Jmax (entre 1 et 7 jours), et $7,4 \pm 0,3$ jours après le début de l'œstrus (entre 5 et 12 jours). La surface folliculaire totale le premier jour de la disparition des comportements d'œstrus n'était pas significativement différente de celle calculée lors du premier jour de l'œstrus.

Les taux de progestérone sanguins étaient restés inférieurs à 1 ng/ml au long de ces phases œstrales, indiquant l'absence d'ovulation.

Au cours de la période d'œstrus, aucune différence significative n'a été détectée entre les deux ovaires d'une même chatte. Ni le nombre de follicules, ni la surface folliculaire totale, ni le diamètre moyen des follicules n'étaient significativement différents entre l'ovaire droit et l'ovaire gauche et ce, tout au long de la période d'œstrus.

Correspondance avec le frottis vaginal

Le fond du frottis était systématiquement clair, ce qui est caractéristique de la période d'œstrus. L'index éosinophilique fut toujours supérieur à 85 % tout au long de la période d'œstrus. Il augmenta significativement entre J-1 et Jmax puis diminua entre Jmax et J3 (figure 3). La part de chaque type cellulaire n'a pas montré de variation significative au cours de l'avancée de la phase œstrale. Seules des variations qualitatives des frottis ont été observées en fonction de la croissance folliculaire (figure 4) : des amas cellulaires furent observés dans 5 phases œstrales sur 8 autour de Jmax, entre J-1 et J1. De plus, chez 6 chattes sur 8, des cellules polynucléaires sont apparues au cours de la phase de dégénérescence folliculaire (entre J2 et la fin des chaleurs).

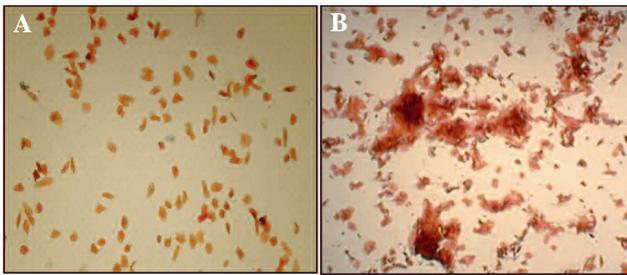


Figure 4 : A. Frottis vaginal en début d'œstrus : les cellules sont dispersées. B. Frottis vaginal à Jmax : des amas cellulaires sont présents (grossissement x 100).

Ovulation

Sur 12 cycles ultérieurs des mêmes femelles, l'ovulation a été induite par stimulation vaginale. Compte tenu des mesures réalisées au cours des cycles anovulatoires, la première stimulation a été effectuée dès qu'un follicule d'un diamètre supérieur ou égal à 3 mm était détecté à l'échographie.

L'ovulation a été obtenue dans 9 cycles sur 12. Avant l'ovulation, les follicules apparaissaient comme des surfaces circulaires anéchogènes bien délimitées (figure 5). L'ovulation se traduisait par une disparition de ces images, parfois précédée par une diminution du diamètre folliculaire. Les ovulations ont été observées entre 23 et 28 heures après la première stimulation. Chez une chatte donnée, tous les follicules n'ont pas ovulé de façon synchrone. Les images échographiques anéchogènes disparaissaient progressivement et les ovulations se sont étalées sur environ 10 heures. Une réponse post-coïtale typique (léchage de la vulve et roulement sur le sol) a été obtenue dans 10 cas sur 12 (9 cycles ovulatoires et un non ovulatoire). Quarante huit heures après la première stimulation, c'est-à-dire environ 24 heures après l'ovulation, les follicules ont été remplacés par des structures hypoéchogènes circulaires correspondant aux jeunes corps jaunes en développement, de 3,5 à 4,5 mm de diamètre (figure 5).

• DISCUSSION

La biologie de la reproduction des femelles carnivores est beaucoup plus mal connue que celles des femelles d'espèces d'élevage plus classiques telles la vache, la brebis, la truie ou que celles des espèces de laboratoire (souris, rate). Les études chez la chatte se heurtent en particulier aux difficultés d'élevage de cette espèce en conditions expérimentales et aux difficultés de contention de ces femelles. Néanmoins, une meilleure compréhension de la folliculogenèse de la chatte pourrait servir de base pour la mise au point des biotechnologies de la reproduction, dans l'espèce féline elle-même (élevage et intérêt biomédical) mais aussi dans les 36 espèces de Félinés considérées comme en danger (<http://www.cites.org> ; GOODROWE *et al.*, 1989).

Échographie

Notre étude montre que l'échographie ovarienne par voie transabdominale est une technique fiable pour suivre la croissance folliculaire chez la chatte, non invasive, d'une totale innocuité. Comme chez les femelles des grandes

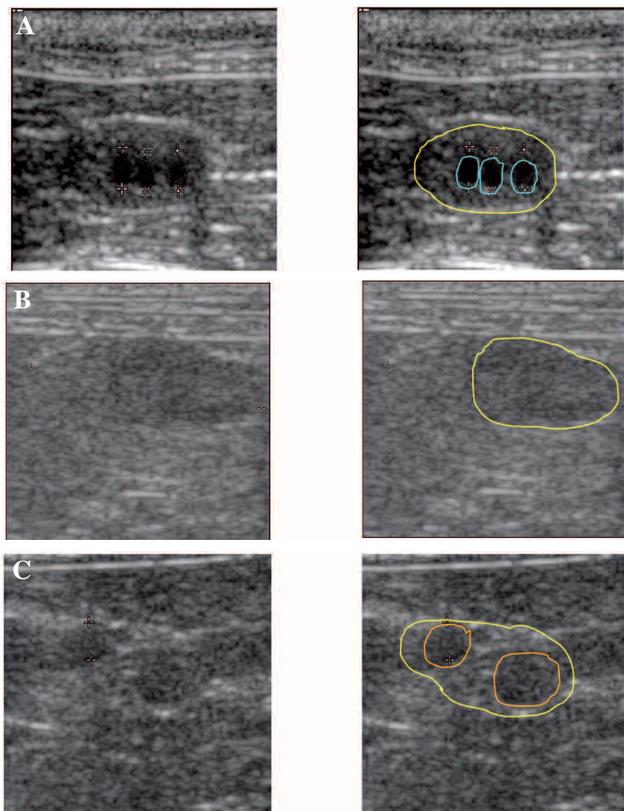


Figure 5 : Images échographiques de l'ovulation (à droite les images réelles, à gauche, les images surlignées indiquant les structures visibles : l'ovaire en jaune ; les follicules en bleu ; les corps jaunes en orange). A. Stade préovulatoire. B. Immédiatement après l'ovulation. C. Trois jours après l'ovulation, les corps jaunes deviennent visibles.

espèces et comme chez la chienne, elle permet de dénombrer les follicules en croissance, d'en mesurer le diamètre et de diagnostiquer l'ovulation. Des mesures histologiques menées sur des ovaires échographiés immédiatement avant l'exérèse chirurgicale ont permis de vérifier l'exactitude des mesures échographiques (données non présentées).

L'échographie nécessite néanmoins un appareil de haute résolution, un opérateur expérimenté et un animal coopératif. Pour être utilisé en routine, cet examen doit pouvoir être réalisé sans anesthésie ni tranquillisation. Ceci nécessite une excellente habitude des animaux. Préalablement à cette étude, un travail important de socialisation des femelles a été mené d'une part pour faciliter les examens échographiques, mais aussi pour permettre une expression maximale des comportements spécifiques de l'œstrus en présence d'un expérimentateur. D'autre part, le stress de la contention et certains anesthésiques couramment utilisés (kétamine, pentobarbital, halothane) perturbent la survenue du pic de LH, retardent ou suppriment l'ovulation chez la chatte (JOHNSON et GAY, 1981 ; HOWARD *et al.*, 1992). Un suivi de la croissance folliculaire nécessite donc une bonne habitude de la chatte aux conditions expérimentales pour ne pas perturber le développement folliculaire lui-même.

Croissance folliculaire

À notre connaissance, aucune publication en langue anglaise ne rapporte chez la chatte l'utilisation de l'échogra-

phie pour l'examen des ovaires dans les conditions physiologiques. Seule l'équipe d'A.R. GÜNZEL-APEL a décrit la croissance folliculaire par échographie chez la chatte dans un article en langue allemande (GÜNZEL-APEL *et al.*, 1998). Les chattes y sont maintenues debout. La résolution n'est pas précisée. Cette étude observe comme la nôtre la croissance de 5 follicules en moyenne par chatte et un diamètre folliculaire maximal de 3,3 mm. Mais la correspondance entre croissance folliculaire et comportement d'œstrus n'a pas été étudiée.

Sur le plan physiologique, notre étude décrit la cinétique de la croissance et de la dégénérescence des follicules pendant l'œstrus. Sur les 5 à 7 jours de comportement de chaleurs (PAAPE *et al.*, 1975 ; WILDT *et al.*, 1981 ; SCHMIDT, CHAKRABORTY et WILDT, 1983 ; ce travail), cinq follicules évoluent en moyenne par chatte, ce qui en accord avec d'autres travaux (WILDT *et al.*, 1981 ; GÜNZEL-APEL *et al.*, 1998). L'activité des deux ovaires est similaire, à la différence de ce qui est observé dans plusieurs autres espèces. Chez la vache (TOWNSON *et al.*, 2002), la brebis (CASIDA, WOODY et POPE, 1966) et la chienne (REYNAUD *et al.*, 2005), 60% des ovulations ont lieu sur l'ovaire droit. Tous les follicules présents au début des chaleurs poursuivent leur croissance jusqu'à Jmax. Le développement folliculaire est assez synchrone entre les différents follicules d'une même cohorte. Le diamètre maximal atteint par des follicules chez la chatte est de l'ordre de 3 à 4 mm, chiffres similaires à ceux mesurés par la laparoscopie/tomie (WILDT *et al.*, 1981 ; GOODROWE *et al.*, 1989).

Dans cette étude, nous avons examiné la vague folliculaire anovulatoire pendant l'œstrus. En l'absence d'ovulation, la chatte va entrer dans une période d'interœstrus et revenir en chaleurs environ 2 à 3 semaines après. Si l'ovulation a lieu sans être suivie de gestation, les corps jaunes persistent pendant environ 40-50 jours (PAAPE *et al.*, 1975 ; SHILLE, LUNDSTROM et STABENFELDT, 1979 ; WILDT *et al.*, 1981) (pseudogestation). Il serait intéressant d'examiner les ovaires pendant la phase interœstrale et pendant la pseudogestation, afin de rechercher l'existence de vagues folliculaires chez la chatte, comme chez la vache ou la jument (EVANS, 2003). Les dosages d'œstradiol 17 β et les laparoscopies effectuées pendant l'interœstrus et pendant la phase de pseudogestation montrent la présence de follicules antraux, en particulier en fin de phase lutéale (WILDT *et al.*, 1981).

Relation entre croissance folliculaire et comportement

Le diamètre des follicules au moment où les modifications comportementales apparaissent, est déjà élevé (en moyenne 2,3 mm). Le comportement d'œstrus se déclenche à des stades de croissance très différents selon les femelles. Si l'on prend en compte la surface des follicules comme reflet de leur capacité à sécréter des œstrogènes, on constate que l'œstrus est déclenché pour des surfaces variant d'un facteur 1 à 4. De la même façon, le délai entre le début des manifestations œstrales et le jour de croissance folliculaire maximale est très variable, entre 1 à 8 jours après le début des cha-

leurs (3,8 jours en moyenne). Il serait d'ailleurs intéressant d'évaluer la répétabilité du délai entre le début de l'œstrus et Jmax au cours des cycles successifs d'une même chatte. Ce travail prouve donc l'absence de corrélation entre la durée écoulée depuis le début des chaleurs et le stade de croissance folliculaire. Ceci pourrait suggérer l'existence d'un seuil individuel, d'une sensibilité intrinsèque de chaque individu aux œstrogènes et/ou une variabilité de la synthèse d'œstrogènes pour un même diamètre folliculaire selon les animaux.

Le frottis vaginal ne permet pas non plus d'évaluer le stade de la croissance folliculaire au cours de l'œstrus. Contrairement à la chienne (HEWITT et ENGLAND, 2000), aucune évolution du frottis vaginal ne permet de distinguer le début de l'œstrus, l'ovulation et la fin de l'œstrus (SCHMIDT, 1986). Les modifications du frottis interviennent largement avant et après l'œstrus, en fonction du taux d'œstrogènes circulants (SHILLE, LUNDSTROM et STABENFELDT, 1979). Dans notre étude, les proportions cellulaires des frottis sont stables pendant toute la période d'œstrus et correspondent aux données de la littérature (40 à 60 % de cellules superficielles, 20 % de cellules anucléées, quasi inexistence des cellules parabasales ; HERRON, 1977 ; MILLS, VALLI et LUMSEN, 1979 ; SHILLE, LUNDSTROM et STABENFELDT, 1979). Seules les modifications qualitatives, telles que la présence d'amas cellulaires autour de Jmax et la présence de cellules polynucléaires après l'œstrus, peuvent orienter le clinicien. Le frottis permet uniquement de diagnostiquer l'œstrus grâce à l'index éosinophile élevé (SCHMIDT, 1986 ; BANKS, 1986).

Ovulation

L'ovulation peut être obtenue chez la chatte par stimulation vaginale ou par injection d'hCG ou de GnRH (JOHNSTON, ROOT-KUSTRITZ et OLSON, 2001). Nous avons retenu l'induction par stimulation vaginale car l'administration d'hCG perturbe le transport des ovocytes dans l'oviducte (GRAHAM, SWANSON et BROWN, 2000), et peut induire une réaction d'immunisation responsable d'une diminution de la fertilité lors d'administrations répétées (DRION *et al.*, 2001). Cinq stimulations successives ont été pratiquées, les coïts répétés augmentant l'intensité du pic de LH et selon certains auteurs, le taux d'ovulation (CONCANNON, HODGSON et LEIN, 1980 ; GLOVER, WATSON et BONNEY, 1985). L'ovulation a été obtenue dans 9 cycles sur 12 (75 %), ce qui est comparable ou supérieur aux données de la littérature (WILDT *et al.*, 1981 ; SHILLE *et al.*, 1983 ; SCHMIDT, CHAKRABORTY et WILDT, 1983 ; SCHMIDT, 1986).

L'échographie ovarienne s'est révélée un bon moyen pour suivre le processus d'ovulation. Comme décrit par GÜNZEL-APEL *et al.* (1998), l'ovulation se traduit par la disparition de l'image anéchogène des follicules de plus de 3 mm de diamètre. Dans certains cas, l'ovulation est précédée par une diminution du diamètre folliculaire, non décrite dans d'autres travaux. Tous les follicules ne disparaissent pas de façon synchrone. Les ovulations s'étalent sur une période d'une dizaine d'heures, dispersion inférieure à celle obser-

vée chez la chienne. Dans cette espèce, les ovulations s'étalent sur 24 à 36 h (BOYD *et al.*, 1993 ; MARSELOO *et al.*, 2004). Chez la chatte, la période d'ovulation ne serait que de 3 à 5 heures pour SHILLE *et al.* (1983). Elle débute vers 24 heures après l'induction, en accord avec les observations par laparotomie de SHILLE *et al.* (1983). Pour WILDT *et al.* (1981), l'ovulation a lieu seulement 56 heures après l'accouplement. Le diagnostic de l'ovulation ayant été réalisé dans cette étude par laparoscopie répétée, il est possible que le stress engendré par cette méthode invasive soit responsable d'un tel allongement du délai avant ovulation. À l'inverse, l'étude échographique de GÜNZEL-APEL *et al.* (1998) observe les ovulations en moins de 24 heures.

Peu d'études ont été menées quant au jour optimal d'accouplement, probablement parce qu'en pratique, la chatte est placée sur le territoire du mâle pendant toute la durée des chaleurs. Certains considèrent qu'un coït dans les deux premiers jours des chaleurs n'entraîne pas de pic de LH, du fait d'une imprégnation œstrogénique insuffisante de l'axe hypothalamo-hypophysaire (BANKS et STABENFELDT, 1982 ; GLOVER, WATSON et BONNEY, 1985). De même, l'induction de l'ovulation le premier jour de l'œstrus permet de récolter significativement moins d'ovocytes qu'au deuxième et troisième. De plus, 83 % de ces ovocytes sont dégénérés contre 35 et 19 % pour les deux jours suivants (DONOGHUE *et al.*, 1993). L'absence de corrélation entre la durée écoulée depuis le début de l'œstrus et l'état réel de développement folliculaire démontrée dans cette étude rend nécessaire un suivi échographique avant l'induction de l'ovulation. Les stimulations vaginales ont été appliquées dès qu'un follicule avait dépassé le diamètre de 3 mm, au nadir de la croissance folliculaire. Le choix du moment de l'induction doit répondre à plusieurs exigences pour optimiser le taux d'ovulation et la fertilité ultérieure (qualité de l'ovocyte). L'imprégnation œstrogénique doit être suffisante pour permettre un pic de LH susceptible d'induire l'ovulation ; le follicule doit être suffisamment développé pour répondre au pic de LH et libérer un ovocyte apte à la fécondation et au développement embryonnaire. Le stade d'apparition des récepteurs à LH au

cours de la folliculogénèse est en cours d'investigation chez la chatte (SAINT-DIZIER *et al.*, 2006). Chez le dromadaire, autre espèce à ovulation provoquée, les meilleurs taux d'ovulation sont obtenus pour des diamètres folliculaires inférieurs au diamètre maximal atteint au cours des vagues anovulatoires (respectivement 1-1,9 cm et 2-4,1 cm ; SKIDMORE, BILLAH et ALLEN, 1996).

Pour évaluer la fertilité des ovulations induites, une insémination artificielle en semence fraîche a été réalisée lors des 9 cycles ovulatoires. L'insémination artificielle reste dans l'espèce féline une technique exceptionnellement mise en œuvre, réservée à des cliniques académiques ou des laboratoires (ZAMBELLI et CUNTO, 2005). Les spermatozoïdes ont été recueillis par électroéjaculation sous anesthésie générale (HERRON, BARTON et APPLGATE, 1986). De 4 à 30 millions de spermatozoïdes ($8,6 \pm 7,3$ millions en moyenne) ont été déposés dans la partie antérieure du vagin sans anesthésie générale de la femelle, 25 à 28 heures après la première stimulation, soit environ au moment de l'ovulation. Quatre gestations ont été obtenues, suivies de mise-bas (2 à 4 chatons par portée, pour une moyenne de 2,5 chatons). Le taux de gestation et la prolificité obtenus sont du même ordre ou supérieurs à ceux de la littérature (SOJKA, JENNINGS et HAMNER, 1970 ; TANAKA *et al.*, 2000). L'induction de l'ovulation, dès qu'un follicule de la cohorte atteint 3 mm de diamètre, semble donc permettre d'atteindre de bons taux d'ovulation et une bonne fertilité.

• CONCLUSION

La vague folliculaire œstrale de la chatte se développe avec une cinétique très variable selon les femelles. Le frotis vaginal ne montrant au cours de l'œstrus que des modifications qualitatives non systématiques, il ne permet aucune appréciation du stade de développement folliculaire. À l'inverse, l'échographie ovarienne transabdominale apparaît comme un moyen fiable de suivi de la croissance folliculaire chez la chatte. Elle nécessite cependant une excellente compétence de l'opérateur et un matériel de très haute résolution.

REMERCIEMENTS

Tous nos remerciements vont à la société Royal Canin (Aimargues, France) pour le financement accordé au Dr vét Élise Malandain et pour la fourniture de l'alimentation des animaux.

BIBLIOGRAPHIE

- BANKS DR (1986) Physiology and endocrinology of the feline estrous cycle. In: MORROW DA editor. *Current therapy in theriogenology*. 2d ed. Philadelphia : WB Saunders, 1143 pages, pp795-800.
- BANKS DH, STABENFELDT G (1982) Luteinizing hormone release in the cat in response to coitus on consecutive days of estrus. *Biol. Reprod.*, **26**, 603-611.
- BOYD JS, RENTON JP, HARVEY MJA, NICKSON DA, ECKERSALL PD, FERGUSON JM (1993) Problems associated with ultrasonography of the canine ovary around the time of ovulation. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **47**, 101-105.
- CASIDA LE, WOODY CO, POPE AL (1966) Inequality in function of the right and left ovaries and uterine horns of the ewe. *J. Anim. Sci.*, **25**, 1169-1171.
- CONCANNON P, HODGSON B, LEIN D (1980) Reflex LH release in estrous cats following single and multiple copulations. *Biol. Reprod.*, **23**, 111-117.
- DONOGHUE AM, JOHNSTON LA, GOODROWE KL, O'BRIEN SJ, WILDT DE (1993) Influence of day of oestrus on egg viability and comparative efficiency of *in vitro* fertilization in domestic cats in natural or gonadotrophin-induced oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, **98**, 85-90.
- DRION PV, FURTOSS V, BARIL G, MANFREDI E, BOUVIER F, POUGNARD JL, BERNELAS D, CAUGNON P, MCNAMARA EM, REMY B, SULON J, BECKERS JF, BODIN L, LEBCEUF B (2001)

Four years of induction/synchronization of estrus in dairy goats: effect on the evolution of eCG binding rate in relation with the parameters of reproduction. *Reprod. Nutr. Dev.*, **41**, 401-412.

• ENGLAND GCW, YAEGER AE (1993) Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during estrus, ovulation and early pregnancy. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **47**, 107-117.

• EVANS ACO (2003) Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod. Dom. Anim.*, **38**, 240-246.

• FELDMAN EC, NELSON RW (1996) *Canine and feline endocrinology and reproduction*. 2d ed. Philadelphia : WB Saunders, 785 p, pp 525-548.

• GLOVER TE, WATSON PF, BONNEY RC (1985) Observations on variability in LH release and fertility during oestrus in the domestic cat (*Felis catus*). *J. Reprod. Fert.*, **75**, 145-152.

• GOODROWE KL, HOWARD JG, SCHMIDT PM, WILDT DE (1989) Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and *in vitro* fertilization. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **39**, 73-90.

• GRAHAM LH, SWANSON WF, BROWN JL (2000) Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. *Theriogenology*, **54**, 1117-1131.

• GUDERMUTH DF, NEWTON L, DAELS P, CONCANNON P (1997) Incidence of spontaneous ovulation in young, group-housed cats based on serum and faecal concentrations of progesterone. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **51**, 177-184.

• GÜNZEL-APEL AR, KAWAUCHI R, NAUTRUP CP, HEDRICH HJ (1998) Sonographische Darstellung der physiologischen Ovarfunktion im anovulatorischen und pseudograviden Zyklus der Katze. *Tierarztl. Prax K. H.*, **26**, 275-283.

• HERRON MA (1977) Feline vaginal cytologic examination. *Feline Practice*, **7**, 36-39.

• HERRON MA, BARTON CL, APPLGATE B (1986) A modified technique for semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Theriogenology*, **26**, 357-364.

• HEWITT DA, ENGLAND GCW (2000) Assessment of optimal mating time in the bitch. *In Practice*, **1**, 24-33.

• HOWARD JG, BARONE MA, DONOGHUE AM, WILDT DE (1992) The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J. Reprod. Fertil.*, **96**, 175-186.

• JOHNSON LM, GAY VL (1981) Luteinizing hormone in the cat. I. Tonic secretion. *Endocrinology*, **109**, 240-246.

• JOHNSTON SD, ROOT-KUSTRITZ MV, OLSON PNS (2001) *Canine and feline theriogenology*. 1st ed. Philadelphia : WB Saunders, 592 pages, pp447-452.

• KAHN W (1994) *Atlas de diagnostics échographiques. Examen gynécologique et reproduction*. Paris : Editions Maloine, 255 pages.

• LAWLER DF, JOHNSTON SD, HEGSTAD RL, KELTNER DG, OWENS SF (1993) Ovulation without cervical stimulation in domestic cats. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **47**, 57-61.

• LEYVA H, MADLEY T, STABENFELDT GH (1989) Effect of melatonin on photoperiod responses, ovarian secretion of oestrogen, and coital responses in the domestic cat. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **39**, 135-142.

• MARSELOO N, FONTBONNE A, BASSU G, RIVIERE S, LEBLANC B, RAULT D, BIOUSSE V, CHASTANT-MAILLARD S (2004) Comparison of ovarian ultrasonography with hormonal parameters for the determination of the time of ovulation in bitches. *In: Proc. 5th International Symposium on Canine and Feline Reproduction*. Sao Paulo, Août 2004. p75-77.

• MILLS JN, VALLI VE, LUMSEN JH (1979) Cyclical changes of vaginal cytology in the cat. *Can. Vet. J.*, **20**, 95-101.

• PAAPE SR, SHILLE VM, SETO H, STABENFELDT GH (1975) Luteal activity in the pseudopregnant cat. *Biol. Reprod.*, **13**, 470-474.

• REYNAUD K, FONTBONNE A, MARSELOO N, THOUMIRE S, CHEBROUT M, VIARIS de LESEGNO C, CHASTANT-MAILLARD S (2005) *In vivo* meiotic resumption, fertilization and early embryonic development in the bitch. *Reproduction*, **130**, 193-201.

• SAINT-DIZIER M, MALANDAIN E, RÉMY B, REYNAUD K, CHASTANT-MAILLARD S (2006) Localization and quantification of Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH) receptors in the queen ovary. *In: Proc 5th biannual congress, European Veterinary Society for Small Animal Reproduction*, 7-9th April 2006, Budapest, Hungary, 113-122.

• SCHMIDT PM (1986) Feline breeding management. *Vet. Clin. North Am.*, **16**, 435-451.

• SCHMIDT PM, CHAKRABORTY PK, WILDT DE (1983) Ovarian activity, circulating hormones and sexual behavior in the cat. II. Relationships during pregnancy, parturition, lactation and the postpartum estrus. *Biol. Reprod.*, **28**, 657-671.

• SCHUTTE AP (1967) Canine vaginal cytology. I Technique and cytological morphology. *J. Small Anim. Pract.*, **8**, 301-306.

• SHILLE VM, LUNDSTROM KE, STABENFELDT GH (1979) Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 beta concentrations in plasma: relation to estrous behavior and cornification of exfoliated vaginal epithelium. *Biol. Reprod.*, **21**, 953-963.

• SHILLE VM, MUNRO C, FARMER SW, PAPKOFF H, STABENFELDT GH (1983) Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. *J. Reprod. Fertil.*, **69**, 29-39.

• SKIDMORE JA, BILLAH M, ALLEN WR (1996) The ovarian follicular wave pattern and induction of ovulation in the mated and non-mated one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *J. Reprod. Fertil.*, **106**, 185-192.

• SOJKA NJ, JENNINGS LL, HAMNER CE (1970) Artificial insemination in the cat (*Felis catus L.*). *Lab. Anim. Care*, **20**, 198-204.

• TANAKA A, TAKAGI Y, NAKAGAWA K, FUJIMOTO Y, HORI T, TSUTSUI T (2000) Artificial intravaginal insemination using fresh semen in cats. *J. Vet. Med. Sci.*, **62**, 1163-1167.

• TOWNSON DH, TSANG PCW, BUTLER WR, FRAJBLAT M, GRIEL LC, JOHNSON CJ, MILVAE RA, NIKSIC GM, PATE JL (2002) Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. *J. Anim. Sci.*, **80**, 1053-1058.

• TSUTSUI T, STABENFELDT GH (1993) Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*, **47**, 29-35.

• WILDT DE, CHAN SY, SEAGER SW, CHAKRABORTY PK (1981) Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biol. Reprod.*, **25**, 15-28.

• ZAMBELLI D, CUNTO M (2005) Transcervical artificial insemination in the cat. *Theriogenology*, **64**, 698-705.