

L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LES FÉLIDÉS

ARTIFICIAL INSEMINATION IN FELIDS

Par Alain FONTBONNE ⁽¹⁾, Xavier LEVY ⁽²⁾, Emmanuel FONTAINE ⁽²⁾ et Jean-Yves ROUTIER ⁽³⁾
(communication présentée le 25 janvier 2007)

RÉSUMÉ

L'insémination artificielle chez le chat domestique et les félinidés sauvages répond à plusieurs indications. Chez le chat, elle peut notamment permettre d'aider la reproduction lorsque l'accouplement ne se produit pas ou difficilement et de favoriser les échanges géographiques de semence et donc un brassage et une meilleure sélection génétiques. Chez les félinidés sauvages, elle joue un rôle complémentaire au sein des programmes de conservation. Son utilisation est cependant complexe. L'œstrus et l'ovulation sont le plus souvent induits par l'emploi de gonadotropines qui possèdent cependant des effets indésirables, notamment un risque d'hyperstimulation ovarienne. La semence des mâles est généralement récoltée par électro-éjaculation. Elle peut être congelée. Néanmoins, un problème spécifique aux félinidés tient à la tératospermie, c'est-à-dire la production de nombreux spermatozoïdes porteurs d'anomalies morphologiques. L'insémination artificielle donne de meilleurs résultats lorsque la semence est déposée par voie intra-utérine. Pendant longtemps, la laparoscopie a été la technique de référence, mais récemment, des techniques de cathétérisme du col utérin par voie vaginale ont été mises au point, aussi bien chez le chat que chez certains félinidés sauvages. Les résultats de l'insémination artificielle chez les félinidés restent moyens (souvent moins de 50 % de gestations obtenues).

Mots-clés : chat, chatte, félinidés, insémination artificielle.

SUMMARY

Artificial insemination in the domestic cat and in wild felids has several indications. In the cat, it may replace natural reproduction when matings are unsuccessful or difficult, and it may help to perform geographical exchanges of semen and therefore enhance genetic improvement. In wild felids, it plays a complementary role inside conservation programs. However, its use is complex. First, oestrus and ovulation have to be induced. This is most often obtained using gonadotrophins, which unfortunately may induce undesirable effects, like ovarian hyperstimulation. In males, the semen is generally collected by electro-ejaculation. It may be frozen. However, teratospermia, which is the production of numerous spermatozoa showing morphological abnormalities, is a specific problem affecting felids. Intrauterine inseminations give better results. For a long period, laparoscopy was recommended in felids to perform intrauterine inseminations. Recently, new techniques consisting of catheterizing the cervix through a vaginal access have been developed in the cat as in some wild felids species. Altogether, the rate of success of artificial insemination in felids remains moderate.

Key words: cat, queen, felids, artificial insemination.

(1) Docteur Vétérinaire, DEA, Diplômé du Collège Européen de Reproduction Animale (ECAR), Maître de Conférences en Reproduction Animale à l'ENV Alfort, Président de l'EVSSAR (European Veterinary Society for Small Animal Reproduction), Vice Président de l'Association CRESAM (Conservation et Reproduction des Espèces Sauvages Africaines Menacées).

(2) Docteurs Vétérinaires, Résidents en Reproduction Animale à l'ENV Alfort.

(3) Docteur Vétérinaire, Président du CRESAM.

INTRODUCTION

Les félidés forment une famille animale très dispersée géographiquement (il existe des félins sur tous les continents sauf l'Antarctique), dont les membres sont aussi de format très disparate: le chat à pattes noires (*Felis nigripes*) pèse 1,5 kg et le tigre de l'Amour (*Panthera tigris altaica*) atteint parfois 300 kg! Malgré ces apparentes différences, les félins montrent une similarité très forte sur le plan des mécanismes qui régissent leur reproduction.

Parmi les 37 espèces de félidés recensées, 36 sont, à des degrés divers, menacées d'extinction. L'influence néfaste de l'homme (chasse, développement de l'agriculture, détérioration de l'habitat...) et l'émergence de maladies, souvent transmises par le bétail (tuberculose...), expliquent notamment cette situation critique. À ce titre, l'insémination artificielle (IA) est un outil complémentaire qui, trop longtemps négligé, peut jouer un rôle important dans les programmes de conservation des petits et grands félins.

La physiologie de la reproduction du chat domestique est désormais assez bien connue. Chez les félidés sauvages, les données concernant la reproduction manquent, particulièrement dans certaines espèces moins connues du grand public et donc moins étudiées. Le chat domestique a d'ailleurs servi de modèle pour le développement de nouvelles techniques de reproduction assistée chez les félidés sauvages et notamment, de l'insémination artificielle.

LA PHYSIOLOGIE ET LE CONTRÔLE DE LA REPRODUCTION CHEZ LES FÉLIDÉS

Les profils hormonaux

La connaissance de l'endocrinologie sexuelle est essentielle pour développer des techniques de reproduction assistée.

Chez le chatte domestique chez laquelle les profils hormonaux ont été établis grâce à des prises de sang répétées, la durée des cycles est très variable selon les races. L'œstrus dure de 3 à 7 jours, avec des signes comportementaux plus marqués au 3^e jour, au cours duquel il est conseillé, en élevage, de réaliser l'accouplement avec un maximum de chances de réussite.

Chez les félidés sauvages, les cycles hormonaux, identifiés grâce aux dosages des hormones stéroïdes dans les fèces (trois-quart des cas) ou dans l'urine, ont été étudiés chez seulement 18 des 36 espèces de félins sauvages (Brown 2006). Ils montrent de grandes variations suivant les espèces: globalement, les femelles sont cyclées toutes les 2 à 4 semaines, la durée des chaleurs variant de 3 à 10 jours.

La saisonnalité

Le chat domestique est une espèce à reproduction saisonnière: les chattes présentent sous nos climats un œstrus hivernal. Toutefois, lorsqu'un éclaircissement suffisamment important, «suf-

isant pour lire un journal sans effort» (soit 323 lux au niveau du sol), est maintenu pendant 14 heures par jour, elles présentent des cycles en continu toute l'année (Leyva *et al.* 1989). On sait désormais que la mélatonine joue un rôle déterminant dans cette appréciation de la photopériode, l'administration de mélatonine dans cette espèce pouvant supprimer temporairement la cyclicité.

Chez les félidés sauvages, certaines espèces ont une activité sexuelle clairement saisonnière (tigre, panthère des neiges, chat de Pallas...), alors que d'autres semblent être cyclées toute l'année (lions, léopard, puma, guépard, ocelot...), même s'il existe des pics de naissances à certaines périodes (Racine 2006).

Existence de périodes non saisonnières d'œstrus

Des espèces comme le guépard, l'ocelot et diverses espèces de chats sauvages présentent une inactivité folliculaire à certaines périodes, parfois très longues, indépendantes de celle de l'œstrus saisonnier.

Les conditions de captivité peuvent amplifier ce phénomène: la mesure des concentrations de stéroïdes dans les fèces a permis de montrer que 25 % des femelles guépards, en captivité dans les parcs zoologiques américains, n'ont aucune activité ovarienne au cours de l'année (Brown 2006).

Les interactions sociales jouent un rôle important dans le développement de cet œstrus. Les guépards femelles, qui vivent souvent isolées à l'état sauvage, manifestent souvent un œstrus, lorsqu'on les héberge à plusieurs en captivité. Si on les sépare, l'activité ovarienne normale réapparaît fréquemment. À l'inverse, chez l'ocelot, c'est au contraire l'hébergement solitaire qui semble inhiber l'activité ovarienne (Pelican *et al.* 2006).

Déclenchement de l'ovulation

La chatte domestique a longtemps été considérée comme une espèce à ovulation provoquée, déclenchée par l'accouplement. Il faut plusieurs coïts répétés pendant une courte période, pour induire un pic de LH d'intensité suffisante pour déclencher l'ovulation (Baudon 2003). Mais récemment, l'existence d'ovulations spontanées a été démontrée chez des chattes en groupe (Baudon 2003).

Chez les félidés sauvages, des espèces (lion, léopard, et plusieurs chats sauvages notamment) semblent également capables de présenter des ovulations spontanées dans certaines conditions encore mal connues. Elles ne se produisent pas ou sont exceptionnelles chez d'autres espèces (tigre, guépard, puma, ocelot...).

Fertilité

Bien que les femelles des félidés soient cyclées jusqu'à un âge avancé, leur fertilité est très réduite au-delà d'un certain âge, surtout si elles sont primipares. Ainsi, les chances de réussite de l'IA sont très réduites après l'âge de 7 ans chez le guépard, alors que les femelles vivent jusqu'à 12 à 15 ans en captivité (Pelican *et al.* 2006). Ce phénomène ne serait pas lié à un défaut de la réponse aux traitements hormonaux destinés à déclencher

les chaleurs et l'ovulation, mais plutôt à la moins bonne qualité des ovocytes et à des altérations du milieu utérin perturbant l'implantation et la gestation.

Chez les mâles, indépendamment de l'âge, on observe fréquemment une tératozoospermie (taux élevé d'anomalies des spermatozoïdes), laissant penser que la fertilité des félidés mâles n'est pas non plus très bonne (Pukazhenti *et al.* 2006).

LES INDICATIONS DE L'INSÉMINATION ARTIFICIELLE CHEZ LES FÉLIDÉS

Chez le chat domestique

Chez les éleveurs de chats, l'IA, encore peu utilisée dans cette espèce, peut permettre :

- d'aider à la reproduction lorsque l'accouplement ne se produit pas ou se réalise avec difficulté (faible libido chez les chats Persans, par exemple) ;
- de lutter contre les maladies sexuellement transmissibles ;
- de permettre des échanges géographiques de semence et donc un brassage et une meilleure sélection génétiques ;
- de permettre la reproduction de mâles castrés - ce qui est fréquent chez le chat pour minimiser le marquage urinaire - ou décédés.

Sur le plan de la recherche, des sous-populations de chats porteurs de maladies génétiques sont élevées pour être utilisées comme modèles de maladies génétiques humaines. Ces petites populations se reproduisent souvent mal du fait d'une consanguinité accrue et des maladies qu'elles développent. L'insémination artificielle peut aider à maintenir des naissances chez ces lignées de chats.

Chez les autres félidés

Les 36 espèces de félidés sauvages sont toutes, à des degrés divers, menacées d'extinction. L'IA est une des armes pouvant être utilisées dans les programmes de conservation. Ses indications peuvent être notamment :

- de permettre l'obtention de naissances et donc le maintien dans la nature de petites populations très décimées ou dispersées géographiquement ;
- de favoriser le brassage génétique en inséminant les femelles avec la semence de mâles éloignés génétiquement et/ou géographiquement ;
- d'obtenir des naissances lorsque les conditions environnementales ne le permettent pas pour des raisons inconnues. Moins de 20 % des mâles guépards et moins de 30 % des femelles se reproduisent dans les parcs zoologiques d'Amérique du Nord, ce qui limite la variabilité génétique de cette espèce en captivité ;
- d'éviter de déplacer les femelles ou de mettre en contact des individus qui ne se connaissent pas, ce qui induit notamment des stress multiples ou des risques d'agressions. On préfère ainsi le transport de la semence des mâles, ce que l'IA peut permettre. Cette solution est également souvent moins coûteuse.

INDUCTION DES CHALEURS ET DE L'OVULATION

Utilisation de gonadotropines

Les protocoles de déclenchement des chaleurs et de l'ovulation chez les félins font le plus souvent appel à des gonadotropines chorioniques : eCG (equine chorionic gonadotropin, anciennement PMSG), puis hCG (human chorionic gonadotropin).

La sensibilité des ovaires des félins aux gonadotropines est importante et une seule injection d'eCG est le plus souvent suffisante pour déclencher des chaleurs. Ceci est en partie lié à la grande persistance de l'effet de cette hormone dans l'organisme pendant 120 heures chez le chat domestique (Swanson *et al.* 1996). L'eCG agit en augmentant le nombre de récepteurs de LH dans l'ovaire. Notons que les doses utilisées ne sont pas proportionnelles au poids des femelles traitées (l'ocelot de 10 kg nécessite une dose d'eCG deux fois plus élevée qu'un guépard de 35 ou 40 kg).

Chez le chat domestique, un des protocoles les plus courants recommande une injection intramusculaire de 100 UI d'eCG, suivie 80 heures plus tard d'une injection de 75 UI d'hCG (Pelican *et al.* 2006).

En ce qui concerne les félidés sauvages, Pelican *et al.* (2006) ont récemment rédigé une synthèse des principaux protocoles rapportés dans la littérature. La plupart du temps, la chronologie des événements est assez standardisée entre espèces : l'hCG est le plus souvent administrée 80 à 84 heures après l'eCG. Les doses administrées varient, suivant les espèces, entre 100 UI (panthère longibande) et 1000 UI (tigre) pour l'eCG, et entre 75 UI (chat léopard) et 750 UI (tigre) pour l'hCG. L'ovulation se produit, suivant les espèces, entre 37 et 42 heures après l'administration d'hCG.

Plusieurs études récentes indiquent que les traitements d'induction par les gonadotropines peuvent générer une hyperstimulation ovarienne : l'augmentation anormale du taux plasmatique d'œstrogènes, nettement plus élevé que lors des cycles naturels, peut alors diminuer la qualité des ovocytes ovulés et perturber le développement embryonnaire précoce, l'implantation et le maintien de la gestation. Ce phénomène serait en partie lié au développement différé de follicules ovariens accessoires, qui est observé 5 à 7 jours après la première ovulation. Il s'explique par le fait que l'eCG a une action prolongée dans le temps et peut induire une seconde vague de maturation folliculaire ; quant à l'hCG, bien qu'ayant un effet inducteur de l'ovulation prédominant chez les félins, elle peut aussi induire la folliculogénèse qui, chez les félins, semble avoir un déterminisme très particulier. Saint-Dizier *et al.* (2007) ont très récemment montré qu'au cours de la folliculogénèse chez la chatte, les récepteurs de LH s'expriment très tôt dans les cellules de la granulosa des follicules, dès que ceux-ci atteignent un diamètre de 800 μm , beaucoup plus précocement que ce qu'on observe dans la plupart des autres espèces. De ce fait, il n'est pas étonnant que cette hormone ait une action inductrice sur le développement folliculaire ovarien dans cette espèce.

Lors de cycles induits par les gonadotropines, on peut également observer la sécrétion prématurée ou excessive de progestérone ou au contraire, des insuffisances lutéales au cours de la gestation qui suit. Les avortements précoces qui peuvent s'en suivre expliquent peut-être en partie le relatif faible taux de réussite de l'IA chez les félins.

L'ajustement des doses de gonadotropines utilisées est extrêmement important pour la réussite d'une IA chez les félins. Chez 19 femelles guépards inséminées, Howard *et al.* (1997) n'ont obtenu des naissances que lorsque les femelles recevaient 200 UI d'eCG, et les traitements par des doses de 100 UI ou de 400 UI ont été sans effet. Or, dans le premier cas, de grands corps jaunes sont observés, pouvant expliquer le maintien de la gestation, alors que dans le second, les corps jaunes, plus petits et plus nombreux, concourent vraisemblablement à une sécrétion insuffisante pour assurer la gestation. La qualité des corps jaunes dépendrait ainsi en grande partie de la dose injectée mais la signification et l'origine de ces deux types de corps jaunes restent encore obscures.

Le guépard semble toutefois être l'espèce chez laquelle on risque le moins d'induire une hyperstimulation ovarienne par les gonadotropines, ce qui pourrait être lié à l'existence des périodes d'inactivité ovarienne relativement fréquentes dans cette espèce, qui durent entre 2 et 5 mois. En effet, cette hyperstimulation ovarienne a moins de probabilité de se produire si le traitement est appliqué en dehors des périodes d'activité folliculaire. C'est pourquoi, chez les grands félins, plusieurs protocoles récents visent à induire un repos ovarien par des progestogènes ou par des implants délivrant en continu des agonistes de la GnRH, avant le traitement inducteur des chaleurs par les gonadotropines (Pelican *et al.* 2006).

L'efficacité des gonadotropines est inconstante et souvent diminuée chez les espèces de félinidés qui présentent parfois des ovulations spontanées. Il est aussi fréquent, dans la plupart des ces espèces, que plusieurs follicules, ayant pourtant atteint le stade pré-ovulatoire, n'ovulent pas lors de chaleurs induites et restent à ce stade non-ovulé au moment de l'IA (Howard *et al.* 1997; Pelican *et al.* 2006).

Enfin, les administrations répétées de gonadotropines sont immuno-sensibilisantes et leur efficacité est diminuée si les injections sont trop rapprochées. Aussi conseillons-nous de ne pas les utiliser chez une même femelle à moins de 6 mois d'intervalle.

Utilisation de pFSH/pLH

Afin de minimiser l'hyperstimulation ovarienne secondaire et la formation d'anticorps, certains auteurs ont utilisé avec succès des protocoles d'induction de chaleurs par la FSH ou la LH porcines purifiées (chat domestique, caracal, tigre, guépard, lion, jaguar, puma...). L'efficacité de ces hormones porcines n'est pas surprenante car, récemment, une forte homologie structurale de ces hormones porcines avec la FSH et la LH du tigre a été mise en évidence. Ces protocoles nécessitent des injections répétées, souvent quotidiennes, et sont peu applicables sans

déclencher des stress importants chez les espèces sauvages, sauf dans certaines conditions bien particulières de captivité. Le développement d'implants ou de suspensions huileuses à libération prolongée pourrait aider à pallier cette difficulté.

Il n'est pas impossible non plus que les progrès de la génétique moléculaire (les FSH et LH du tigre ont déjà été séquencées) permettent de synthétiser prochainement des gonadotrophines homologues, possédant une efficacité accrue chez les félins (Pelican *et al.* 2006).

Utilisation d'agonistes de GnRH

La mise sur le marché d'implants libérant en continu dans l'organisme des agonistes de GnRH (leuprolide, desloréline, nafaréline...), possédant dans un premier temps un effet activateur de la folliculogénèse, a permis d'induire des chaleurs suivies d'ovulation (Pelican *et al.* 2006). Dans une étude préliminaire, l'association Conservation et Reproduction des Espèces Sauvages Africaines Menacées (CRESAM) a induit des chaleurs chez deux femelles guépards et une lionne avec des implants sous-cutanés de desloréline (données personnelles non publiées). Les résultats sont toutefois encore trop fragmentaires pour pouvoir tirer des conclusions sur l'efficacité de tels protocoles.

Stimulation mécanique

Lors de chaleurs déclenchées naturellement, Baudon (2003) rapporte le déclenchement réussi de l'ovulation chez 8 chattes sur 12 à l'aide d'une stimulation mécanique du vagin. Le procédé consistait à introduire dans le vagin un écouvillon de type coton-tige et à en frotter la muqueuse. Les stimulations étaient répétées cinq fois à 30 minutes d'intervalle. Une telle méthode est inutilisable chez les félins sauvages.

Influence de l'anesthésie sur l'ovulation

La plupart des espèces de félins sauvages nécessitent une contention chimique pour permettre l'administration d'hormones ainsi que la réalisation des IA. Des études ont suggéré que l'anesthésie pourrait éventuellement interférer avec le transport de la semence et perturber l'ovulation, surtout lorsque cette anesthésie se produisait en phase pré-ovulatoire (Howard *et al.* 1992). Elles ont conduit plusieurs auteurs à conseiller la réalisation d'IA post-ovulatoires, chez le chat domestique aussi bien que chez les félins sauvages. Par exemple, chez le guépard, Howard *et al.* (1997) recommandent de ne pas débiter les inséminations et donc, de ne pas anesthésier les femelles dans les 42 heures qui suivent l'injection d'hCG, pour être certain que l'ovulation a déjà eu lieu lors de l'intervention sous anesthésie; ils ont ainsi obtenu des gestations après des inséminations réalisées sous anesthésie entre 43,5 et 48,0 heures après l'injection d'hCG. La même observation a été faite chez le puma (Barone *et al.* 1994) et chez le tigre (Donoghue *et al.* 1996).

Cette théorie est toutefois remise en cause chez le chat domestique par les études d'une équipe japonaise (Tsutsui *et al.* 2000): dix chattes sur 18 (56 %) ont été gestantes à la suite d'IA

pratiquées sous anesthésie générale avant l'ovulation, alors que seulement cinq sur 24 (21 %) l'ont été suite à des IA effectuées après l'ovulation.

Choix du moment du déclenchement de l'ovulation

Chez la chatte domestique, Malandain *et al.* (2006) ont montré que le suivi de la croissance folliculaire par échographie ovarienne était la technique la plus fiable pour décider du moment optimal d'induction de l'ovulation en vue d'une IA. Elle permet d'optimiser la réussite de l'intervention, par rapport à des protocoles standardisés, proposant l'injection d'hCG à un délai fixe après celle d'eCG, ou à un jour fixe lors de l'oestrus naturel. Chez les félins sauvages, on pourrait n'induire l'ovulation, grâce à cette méthode de suivi, que lorsque les follicules ovariens ont atteint une taille pré-ovulatoire. L'association CRESAM a développé une technique d'échographie ovarienne chez le guépard, utilisant une sonde transrectale (données non publiées). Néanmoins, les études en sont encore à leur début et la nécessité d'anesthésies répétées ne facilite pas son utilisation.

Réussite de l'induction de l'ovulation

Le dosage de la progestérone plasmatique permet de juger indirectement de la survenue de l'ovulation par la mise en route d'une activité lutéale. Toutefois, chez les félins, le taux sanguin de progestérone reste basal entre 40 et 50 heures après l'injection d'hCG et ne montre une augmentation significative que cinq jours après l'ovulation. Chez les félins sauvages, cette activité lutéale est plus facilement repérée en dosant les métabolites de la progestérone dans les fèces.

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DE LA SEMENCE

Prélèvement du sperme chez le chat domestique

La semence peut être récoltée à l'aide d'un vagin artificiel (*figure 1*) ou par électro-éjaculation. Le sperme épидидymaire peut également être obtenu par ponction de l'épididyme ou par sa dissection chirurgicale *post-mortem*.

Les chats peuvent être entraînés en 2 à 3 semaines à la méthode de récolte manuelle par un vagin artificiel. Celui-ci est fabriqué à l'aide d'un tube Eppendorf relié à une poire pour pipette Pasteur coupée à son extrémité la plus large. Il est nécessaire de placer le mâle en contact avec une femelle en chaleurs, afin qu'il s'excite en la chevauchant. Le pénis est dévié et placé dans le vagin artificiel pour l'éjaculation.

L'électroéjaculation (*figure 2*) est la technique de récolte la plus utilisée car elle ne nécessite pas d'apprentissage préalable et elle peut s'employer chez des chats agressifs. Une sonde rectale spécifique est introduite dans le rectum sur environ six centimètres. Il s'agit d'une électrode d'un centimètre de diamètre, portant trois à cinq électrodes longitudinales à son extrémité proximale. L'électroéjaculateur est constitué d'un générateur ajustable qui permet le contrôle précis du stimulus électrique appliqué à l'animal. Chez le chat, on applique le plus souvent des stimulations toutes les trois secondes, de deux à six volts d'amplitude. Trois à quatre séries de 30 stimulations sont ainsi répétées, séparées par un repos de cinq minutes.

Baudon (2003) recommande, afin de minimiser les pertes de semence, d'introduire au préalable sur quatre à cinq centimètres une sonde urétrale féline reliée à une seringue à insuline dont le piston a été retiré. La semence monte dans le corps de la seringue par capillarité au cours du prélèvement. Le *tableau 1* indique, à titre d'exemple, les caractéristiques moyennes de la semence des chats utilisés.

Très récemment, Zambelli et Cunto (2005) ont décrit une technique de récolte par sondage urétral simple : une sonde urétrale fine (diamètre 3 Fr) est introduite sur neuf centimètres, après



Figure 1 : Méthode de construction d'un vagin artificiel utilisable chez le chat pour recueillir la semence (cliché ENVA).



Figure 2 : Sonde d'électroéjaculation utilisée chez le chat : les trois électrodes longitudinales sont placées en face ventrale du rectum. (cliché ENVA).

	Volume de sperme en mL	Mobilité	Pourcentage d'anomalies	Intégrité des acrosomes	Concentration en millions de spermatozoïdes par mL	Nombre de spermatozoïdes inséminés en millions
Moyenne	0,292	75 %	29 %	95 %	31,667	8,633
Écart type	0,079	9,369 %	7,468 %	4,116 %	25,159	7,281
Maximum	0,4	90 %	39 %	98 %	100	30
Minimum	0,1	15 %	15 %	85 %	12	4

Tableau 1 : Caractéristiques moyennes de 12 éjaculats prélevés par électro-éjaculation (d'après Baudon 2003).

anesthésie par la médétomidine administrée par voie intramusculaire à la dose de 130 à 140 µg/kg. Cette molécule, $\alpha 2$ agoniste, permet, à forte dose, l'élimination de spermatozoïdes dans l'urètre sans éjaculation complète.

Le nombre de spermatozoïdes récoltés n'est pas ou peu affecté par le type de technique. Néanmoins, l'électroéjaculation tend à augmenter le volume des sécrétions prostatiques et donc, le volume des éjaculats recueillis.

Prélèvement du sperme chez les félins sauvages

On utilise en général l'électro-éjaculation nécessitant l'emploi de sondes spécifiques adaptées au format de l'espèce, le générateur restant le même.

À titre d'exemple, le protocole de stimulation utilisé avec succès chez le guépard et le lion par l'association CRESAM consiste en trois séries de 30 stimulations selon le protocole suivant :

- 1^{ère} série : 30 stimulations (10 stimulus de 4 volts, 10 de 5 volts, 10 de 6 volts),
- 2^e série : 30 stimulations (10 stimulus de 5 volts, 10 de 6 volts, 10 de 7 volts),
- 3^e série : 20 stimulations (10 stimulus de 6 volts, 10 de 7 volts).

Conservation de la semence

La conservation de la semence éjaculée, par réfrigération à température ambiante ou à +4 °C, ainsi que par congélation, a été réalisée chez le chat domestique et plusieurs espèces de félinés sauvages (Luvoni *et al.* 2003; Zambelli *et al.* 2006). La congélation de sperme épидидymaire a été tentée avec succès, notamment chez le lion (Racine 2006). La conservation de la semence de chats et des différents félins est cependant assez difficile du fait de la mauvaise qualité (tératospermie), fréquente, du sperme des félins.

La tératospermie chez les félinés

La tératozoospermie (ou tératospermie), c'est-à-dire la production de nombreux spermatozoïdes porteurs d'anomalies morphologiques, est observée chez au moins 28 espèces de félinés sur les 37 existantes (Pukazhenti *et al.* 2006). La technique de récolte de la semence, l'abstinence prolongée ou au contraire la répétition des prélèvements de sperme ne jouent aucun rôle sur ce phénomène.

L'anomalie la plus fréquemment rencontrée chez les félins est l'existence d'une pièce intermédiaire coudée. Les anomalies de la tête, de l'acrosome ou des flagelles et la persistance de gouttelettes cytoplasmiques (corps résiduels) sont également fréquentes.

Les spermatozoïdes porteurs d'anomalies morphologiques peuvent subir une absence ou un retard de capacitation, une difficulté à franchir la zone pellucide et à développer une réaction acrosomique. La congélation d'un éjaculat tératospermique est également plus aléatoire. Récemment, il a été démontré une baisse de fertilité liée à l'intégrité de la chromatine. Au bilan,

plus le sperme est porteur d'anomalies spermatiques, moins l'animal est fertile.

L'origine de ce phénomène pourrait être liée à la diminution de la diversité génétique chez certaines espèces (guépard par exemple). Ainsi, les mâles vivant dans des sous-populations félines très isolées sont très tératospermiques (cas du lion asiatique, de la panthère de floride chez laquelle près de 90 % des spermatozoïdes sont anormaux dans les éjaculats). Chez le chat domestique, la tératospermie augmente dans les lignées très consanguines, utilisées par exemple comme modèles de maladies génétiques humaines (Pukazhenti *et al.* 2006).

Dans les populations très isolées ou en captivité, cette tératospermie est parfois accompagnée d'oligozoospermie (faible nombre de spermatozoïdes par éjaculat) et d'asthénozoospermie (faible mobilité des spermatozoïdes éjaculés). En captivité, le stress et une alimentation inadaptée pourraient aggraver ces phénomènes. Ainsi, une supplémentation vitaminique peut parfois augmenter la quantité de spermatozoïdes éjaculés, mais pas leur qualité morphologique (Pukazhenti *et al.* 2006). L'influence d'une baisse du taux d'androgènes intratesticulaires est suspectée chez les félins tératospermiques, mais constitue un point encore mal élucidé et controversé.

Un mécanisme adaptatif semble s'être mis en place chez les félins : ceux-ci produisent plus de spermatozoïdes que la plupart des autres mammifères par gramme de tissu testiculaire, et les pertes en cellules germinales au cours de la spermatogenèse sont réduites. Par exemple, les chats domestiques normospermiques ont un taux d'apoptose cellulaire de 30 % après les deux premières divisions méiotiques. Chez ces mêmes chats, le rendement de la méiose est de 2,8 spermatides rondes pour un spermatocyte primaire. Chez les chats tératospermiques, le taux d'apoptose cellulaire n'est que de 15 % et le rendement de la méiose est de 3,5 spermatides rondes pour un spermatocyte primaire (Franca & Godinho, 2003). Ainsi, la quantité de spermatozoïdes semble être acquise au détriment de leur qualité, ce qui indique des mécanismes très particuliers et encore peu explicités de la spermatogenèse et de la spermiogenèse dans cette famille animale (Pukazhenti *et al.* 2006).

Pukazhenti *et al.* (2006) ont démontré expérimentalement que des chats domestiques très consanguins et très tératospermiques avaient significativement des testicules 35 % plus gros et des tubes séminifères 40 % plus volumineux par rapport à des chats normospermiques. Chez les chats tératospermiques, non seulement la spermatogenèse était accrue, mais la spermiation était également accentuée, avec davantage de spermatides longues obtenues par gramme de tissu testiculaire.

Selon certains auteurs, le mécanisme d'adaptation des éjaculats à cette tératospermie expliquerait que des accouplements répétés soient nécessaires chez les félins, afin que davantage de sperme soit déposé dans les voies génitales femelles.

Néanmoins, la part exacte de cette forte tératospermie dans le déclin de la fertilité des félins n'est pas encore très claire.

TECHNIQUES D'INSÉMINATION ARTIFICIELLE

Les premières inséminations artificielles ont été réalisées avec succès chez le chat domestique, il y a une trentaine d'années ; ce n'est pourtant que très récemment, à partir de 2000, que l'intérêt pour l'IA est réapparu. De ce fait, le nombre de publications est encore assez limité et l'IA féline n'est toujours pas une technique de routine en médecine vétérinaire et au sein des programmes de conservation de la faune sauvage.

Concernant les espèces sauvages, des IA ont déjà été suivies de naissances chez le guépard, le tigre, le puma, le léopard, l'ocelot, la panthère des neiges et plusieurs petits félins. Par contre, aucune IA n'a été conduite chez le lion, sans doute parce que cette espèce se reproduit assez facilement en captivité.

Dans la plupart des espèces (chat, guépard...), la dose de spermatozoïdes inséminés joue un rôle important dans le taux de réussite obtenu, que l'IA soit réalisée par voie intravaginale ou intra-utérine.

Notons que l'IA après réfrigération de la semence à +4 °C dans un dilueur protecteur, technique couramment utilisée chez le chien, qui permet de transporter la semence sur de grandes distances dans un récipient isotherme, est théoriquement possible chez les félins. Mais, à notre connaissance, aucune IA avec de la semence réfrigérée transportée n'a encore été répertoriée chez le chat ni chez les félinés sauvages.

IA intra-vaginale

Chez la chatte domestique, la semence peut être déposée dans le vagin antérieur (*figure 3*) à l'aide d'un cathéter de très fin diamètre, par exemple, une aiguille fine à extrémité mousse de 9 cm de long (Sojka *et al.* 1970) ou un cathéter de nylon de 9 cm de long pour 1,5 mm de diamètre (Tanaka *et al.* 2000). Baudon (2003) utilise une sonde urinaire de chat coupée à 4,5 cm, avec un mandrin plus court que la sonde, qui guide le passage dans le vagin postérieur.

Les chattes peuvent ou non être anesthésiées. Même anesthésiées, celles-ci sont souvent maintenues avec les membres postérieurs surélevés pendant 15 à 20 minutes, afin de limiter les reflux de semence (*figure 4*).

Après insémination de semence fraîchement récoltée, Sojka *et al.* (1970) ont obtenu des taux de gestation de 54 % (14/26) avec des doses de 50 à 100 x 10⁶ spermatozoïdes déposées au fond du vagin. Les chattes n'étaient pas anesthésiées. Sous anesthésie,

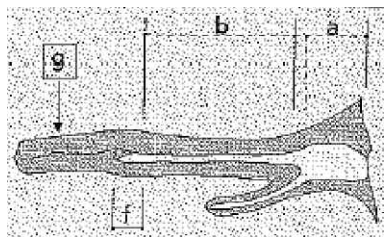


Figure 3 : Coupe longitudinale de la partie distale de l'appareil génital de la chatte (d'après Fontbonne 2006). a : vestibule (ou vagin postérieur) ; b : vagin sensu scripto (ou vagin antérieur) ; f : col utérin ; g : corps utérin.

utilisant des doses plus élevées (80 x 10⁶ spermatozoïdes), ce qui correspond environ à la dose collectée après deux éjaculations successives, Tanaka *et al.* (2000) ont obtenu 78 % de gestations (7/9). Selon ces auteurs, il faut utiliser de fortes doses lors d'IA intra-vaginale car les chats, dans la nature, effectuent plusieurs accouplements successifs avec la même chatte, ce qui augmente la dose de spermatozoïdes déposée au fond du vagin. Cependant, Baudon (2003) a obtenu 4 gestations chez 9 chattes inséminées par voie intra-vaginale, avec seulement 4 à 9 x 10⁶ spermatozoïdes.

En semence congelée, une seule publication mentionne une réussite de 11 % (6/56) après insémination artificielle intra-vaginale (Platz *et al.* 1978).

Chez les félinés sauvages, des naissances ont été obtenues par IA intra-vaginale en semence fraîche chez le léopard de Perse et le tigre, en déposant de très fortes doses de spermatozoïdes (500 x 10⁶) (Chagas *et al.* 2000). Néanmoins, sans doute en raison de la mauvaise qualité de la semence des félinés sauvages, le rendement des IA intra-vaginales est très mauvais : 23/23 échecs chez le guépard par exemple (Racine 2006).

IA intra-utérine

En raison des résultats assez faibles de l'IA intra-vaginale, la plupart des auteurs recommandent l'IA intra-utérine chez les félinés.

Chez le chat domestique

Dans cette espèce, l'IA intra-utérine a été réalisée pendant longtemps par laparotomie ou par laparoscopie.

Zambelli & Cunto (2005) ont décrit une technique très séduisante de cathétérisme du col utérin par voie vaginale, en utilisant un fin cathéter urinaire de chat en plastique de 3 Fr de diamètre avec une aiguille fine à bord mousse à son extrémité. Ce cathéter est repéré par palpation transrectale et guidé dans le conduit cervical en appuyant sur le col, afin de rendre l'axe du col utérin horizontal (*figure 5*). Grâce à cette technique, les auteurs ont réussi à cathétériser le col utérin chez 4 chattes sur 8.

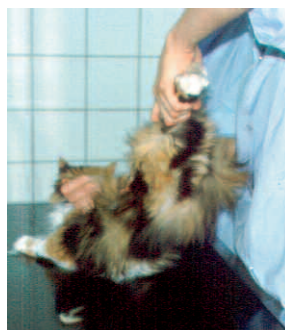


Figure 4 : Sur-élévation des membres postérieurs d'une chatte au cours d'une insémination intra-vaginale (cliché E. Malandain, ENVALfort)

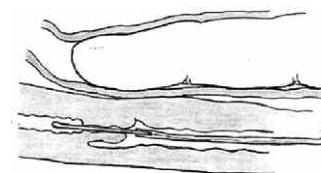


Figure 5 : Position du doigt dans le rectum lors de cathétérisme du col utérin chez la chatte (d'après Zambelli & Cunto, 2005, avec l'autorisation des auteurs).

D'autres techniques, apparemment moins efficaces, font appel à un cathéter urinaire pour chat, en plastique de 3,5 Fr de diamètre, guidé dans le vagin par une petite gouttière en polypropylène, obtenue à partir d'une sonde urinaire modifiée (Chatdarong *et al.* 2001) (figure 6).

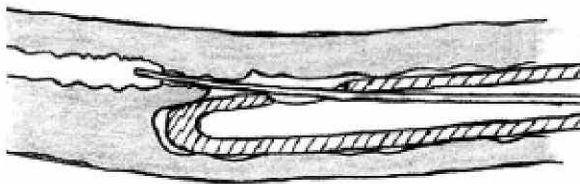


Figure 6 : Cathétérisme du col utérin chez la chatte par la technique décrite par Chatdarong *et al.* (d'après Zambelli & Cunto, 2005, avec l'autorisation des auteurs).

L'IA intra-utérine permet d'utiliser des doses de spermatozoïdes 5 à 10 fois moindres que lors d'IA intra-vaginale. Les taux de réussite sont très variables et s'échelonnent entre 13 et 80 % avec de la semence fraîche, en inséminant des doses de spermatozoïdes variant entre 2 et 20 x 10⁶ spermatozoïdes.

En semence congelée, Tsutsui *et al.* (2000) ont obtenu des gestations dans 57 % des cas (8/14) après dépôt de 50 x 10⁶ spermatozoïdes dans la corne utérine, du côté de l'ovaire montrant le plus de follicules. Tsutsui *et al.* (2003) ont même utilisé avec succès du sperme épидидymaire congelé. Toutefois chez le chat, Zambelli *et al.* (2006) notent qu'en insémination intra-utérine avec de la semence congelée, il faut en moyenne déposer un nombre de spermatozoïdes 5 fois plus élevé qu'avec de la semence fraîche, pour obtenir des résultats similaires.

Chez les félinés sauvages, l'insémination artificielle est le plus souvent réalisée par laparoscopie et la semence peut être déposée directement dans chaque corne utérine.

Selon Racine (2006), à ce jour, des naissances ont été obtenues par IA intra-utérine de semence fraîche sous laparoscopie chez 8 espèces de félinés sauvages : puma, ocelot, guépard, tigre, panthère longibande, chat léopard du Bengale, oncille et panthère des neiges. Une chatte domestique a été inséminée avec de la semence de chat léopard du Bengale, donnant naissance à des chatons hybrides. Suivant les espèces et les études, les taux de réussite varient entre 5 et 50 % seulement. Le nombre de spermatozoïdes inséminés semble jouer un rôle, mais le faible nombre d'études, la variabilité des espèces concernées et les variations du nombre de spermatozoïdes par éjaculat, rendent difficile, pour le moment, la confirmation de cette hypothèse. Des études complémentaires sont à conduire afin de mieux comprendre les raisons et d'améliorer les taux de réussite encore assez faibles de l'IA.

Le nombre d'IA de semence congelée est encore très réduit. Des naissances ont été observées chez l'ocelot (Swanson *et al.* 1996), chez le guépard (Howard *et al.* 1997) et chez le léopard (Luvoni *et al.* 2003).

Des essais d'IA intra-utérine suivis de gestations ont été réalisés chez des espèces comme le tigre et le guépard par les chercheurs de l'IZW - Institute for Zoo and Wildlife Research - à

Berlin (Thomas Hildebrandt et Frank Göritz, communication personnelle), en guidant la sonde d'insémination dans le vagin, par visualisation de celle-ci à l'aide d'une échographie transrectale. Néanmoins, la durée moyenne permettant de cathétériser le col utérin est, d'après ces chercheurs, d'environ 45 minutes à une heure, ce qui impose une anesthésie prolongée. De ce fait, cette technique n'est pas utilisable chez des animaux vivant à l'état sauvage.

Récemment, l'association CRESAM a adapté avec succès, chez plusieurs espèces de grands félins (tigre, lion, léopard, guépard), une technique de cathétérisme cervical sous endoscopie vaginale dérivée de la technique décrite chez le chien (Wilson, 2003) (figure 7). Le passage du col ne prend que quelques minutes. Deux femelles guépard ont été inséminées mais les résultats ont été négatifs (données personnelles).

IA intratubaire

Chez la chatte domestique, après insémination dans l'oviducte (dépôt bilatéral dans l'infundibulum de 4 x 10⁶ spermatozoïdes), Tsutsui *et al.* (2001) ont obtenu des gestations dans 43 % des cas (3/7). À notre connaissance, cette technique n'a jamais été tentée chez les félinés sauvages.

CONCLUSION

L'insémination artificielle chez le chat et les félinés sauvages est encore peu développée et peu utilisée, alors que ses indications et ses intérêts sont nombreux. L'apparition de nouvelles techniques d'IA transcervicales moins invasives, chez le chat domestique comme chez les félinés sauvages, devrait permettre de faciliter le recours à cette technique. Il reste à comprendre pourquoi les taux de réussite de l'IA féline sont encore assez faibles. Les protocoles d'induction des chaleurs et de l'ovulation avec des gonadotropines sont-ils inadaptés? Faut-il systématiquement induire un repos ovarien avant de les mettre en œuvre? Jusqu'à quel point la tératospermie joue-t-elle un rôle néfaste? En outre, de nombreuses données de physiologie de la reproduction sont encore imparfaitement connues; des études approfondies pourraient permettre d'améliorer le taux de gestations obtenu après IA, qui est encore assez faible, principalement chez les félinés sauvages.



Figure 7 : Cathétérisme du col utérin chez une tigresse par visualisation directe grâce à l'endoscopie vaginale. On voit la sonde (en noir et blanc) pénétrer dans l'orifice cervical (ostium utérin). (cliché association CRESAM)

BIBLIOGRAPHIE

- Barone, M.A., Wildt, D.E., Byers, A.P., Roelke, M.E., Glass, C.M., Howard, J.G. 1994. Gonadotrophin dose and timing of anaesthesia for laparoscopic artificial insemination in the puma. *J Reprod Fertil.* 101 (1): 103-108.
- Baudon, S. 2003. *Induction et suivi échographique de l'ovulation chez la chatte et insemination artificielle en semence fraîche : étude expérimentale sur 12 cas.* Thèse Méd. Vet. Alfort, 159 pages.
- Brown, J.L. 2006. Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology* 66 : 25-36.
- Chagas, E., Silva, J.N., Leitao, R.M., Lapao, N.E., Da Cunha, M.B., Da Cunha, T.P., Da Silva, J.P. 2000. Birth of Siam tiger cubs after transvaginal artificial insemination. *J Zoo Wild Med.* 31(4): 566-569.
- Chatdarong, K., Lohachit, C., Ponglowhapan, S., Linde-Forsberg, C. 2001. Transcervical catheterization and cervical patency during the oestrous cycle in domestic cats. *J Reprod Fertil Suppl.* 57: 353-356.
- Donoghue, A.M., Byers, A.P., Johnston, L.A., Armstrong, D.L., Wildt, D.E. 1996. Timing of ovulation after gonadotrophin induction and its importance to successful intra-uterine insemination in the tiger. *J Reprod Fertil.* 107: 53-58.
- Fontbonne, A. Etiologie et démarche diagnostique face à des pertes vulvaires chez la chatte. 2006. *Le nouveau praticien vétérinaire*, 30 (septembre-octobre) : 57-61.
- Franca, L.R. & Godinho, C.L. 2003. Testis morphometry, seminiferous epithelium cycle length and daily sperm production in domestic cats. *Biol Reprod.* 68: 1554-1561.
- Howard, J.G., Barone, M.A., Donoghue, A.M., Wildt, D.E. 1992. The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J Reprod Fertil.* 96: 175-186.
- Howard, J.G., Roth, T.L., Byers, A.P., Swanson, W.F., Wildt, D.E. 1997. Sensitivity to exogenous gonadotropins for ovulation induction and laparoscopic artificial insemination in the cheetah and clouded leopard. *Biol Reprod.* 56: 1059-1068.
- Howard, J.G., Roth, T.L., Swanson, J.L., Buff, J.L., Grisham, J., Marker-Kraus, L. 1997. Successful intercontinental genome resource banking and artificial insemination with cryopreserved sperm in cheetahs. *J Androl. Abstr* 123 : 55.
- Leyva, H., Madley, T., Stabenfeldt, G.H. 1989. Effect of light manipulation on ovarian activity and melatonin and prolactin secretion in the domestic cat. *J Reprod Fertil. Suppl.* 39, 125-133.
- Luvoni, G.C., Kalchschmidt, E., Leoni, S., Rugierro, C. 2003. Conservation of feline semen Part 1: cooling and freezing protocols. *J Feline Med Surg.* 5 : 203-208.
- Malandain, E., Rault, D., Froment, E., Baudon, S., Begon, D., Chastant-Maillard, S. 2006. Croissance folliculaire et ovulation chez la chatte. *Bull Acad Vét France* 15 : 113-120.
- Pelican, K.M., Wildt, D.E., Pukazhenth, B., Howard, J.G. 2006. Ovarian control for assisted reproduction in the domestic cat and wild felids. *Theriogenology* 66 : 37-48.
- Platz, C.C., Wildt, D.E., Seager, S.W. 1978. Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 52 : 279-282.
- Pukazhenth, B.S., Neubauer, K., Jewgenow, K., Howard, J.G., Wildt, D.E. 2006. The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and its wild relatives. *Theriogenology* 66 : 112-121.
- Racine, B. 2006. *La reproduction assistée chez les félidés sauvages: étude bibliographique.* Thèse Méd.Vét. Alfort, 107 pages.
- Saint-Dizier, M., Malandain, E., Thoumire, S., Remy, B., Chastant-Maillard, S. 2007. Expression of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone receptors during follicular growth in the domestic cat ovary. *Mol Reprod Dev.* Published online 11 janv 2007.
- Sojka, N.J., Jennings, L.L., Hamner, C.E. 1970. Artificial insemination in the cat. *Lab Anim Care* 20 : 198-204.
- Swanson, W.F., Howard, J.G., Roth, T.L., Brown, J.L., Alvarado, T., Burton, M., Starnes, D., Wildt, D.E. 1996. Responsiveness of ovaries to exogenous gonadotrophins and laparoscopic artificial insemination with frozen-thawed spermatozoa in ocelots. *J Reprod Fertil.* 106 (1): 87-94.
- 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.
- Tsutsui, T., Tanaka, Hori, T. 2001. Intratubal insemination with fresh semen in cats. *J Reprod Fertil. suppl.* 57 : 347-351.
- Tsutsui T., Wada M., Anzai M., Hori T. 2003. Artificial insemination with frozen epididymal sperm in cats. *J Vet Med Sci.* 65 : 397-399.
- Tsutsui, T. 2006. Artificial insemination in domestic cats. *Theriogenology* 66 : 122-125.
- Wilson, M.S. 2003. Endoscopic transcervical insemination in the bitch. In *Recent Advances in Small Animal Reproduction*, (ed. P.W. Concannon, G. England, J. Verstegen III and C. Linde-Forsberg), International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), Last updated : 12-Dec-2003 ; A1232.1203.
- Zambelli, D. & Cunto, M. 2005. Transcervical artificial insemination in the cat. *Theriogenology* 64 : 698-705.
- Zambelli, D. & Cunto, M. 2006. Semen collection in cats : techniques and analysis. *Theriogenology* 66 : 159-165.
- Zambelli, D., Merlo, B., Iacono, E., Prati, F., Belluzi, S. 2006. Fertilizing ability of electroejaculated cryopreserved semen in the domestic cat. *Reprod Dom Anim.* 41: 137-141.
- Zambelli D., Prati f., Merlo B., Cunto M. Collection of semen by urethral catheterization after pharmacologically induced spermatozoa releasing in the domestic cat. 2006. *Proceedings 5th biannual congress, European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR), Budapest, Hungary, 7-9 april, page 300.*

