



**HAL**  
open science

# Étude de la cinétique de la progestérone en post-ovulation chez la chienne, associée à l'échographie ovarienne

Alice Tellier

► **To cite this version:**

Alice Tellier. Étude de la cinétique de la progestérone en post-ovulation chez la chienne, associée à l'échographie ovarienne. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03792664

**HAL Id: dumas-03792664**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03792664>**

Submitted on 30 Sep 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ANNEE 2022 - Thèse n°32

# ETUDE DE LA CINÉTIQUE DE LA PROGESTÉRONNE EN POST-OVULATION CHEZ LA CHIENNE, ASSOCIÉE À L'ÉCHOGRAPHIE OVARIENNE

## THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement

devant

l'UFR de Médecine de l'Université de

Nantes le 19/09/2022

par

**Alice TELLIER**

Sous la direction de

**Djemil BENCHARIF**

Président du jury :

Monsieur Patrice LOPES, Professeur émérite à la faculté de Médecine de Nantes

Membres du jury :

Monsieur Djemil BENCHARIF, Maîtres de conférences à L'École Nationale  
Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation – Oniris

Madame Laetitia JALLARDON, Maîtres de conférences à L'École Nationale  
Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation - Oniris



ANNEE 2022 - Thèse n°32

# ETUDE DE LA CINÉTIQUE DE LA PROGESTÉRONNE EN POST-OVULATION CHEZ LA CHIENNE, ASSOCIÉE À L'ÉCHOGRAPHIE OVARIENNE

## THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE**

présentée et soutenue publiquement

devant

l'UFR de Médecine de l'Université de

Nantes le 19/09/2022

par

**Alice TELLIER**

Sous la direction de

**Djemil BENCHARIF**

Président du jury :

Monsieur Patrice LOPES, Professeur émérite à la faculté de Médecine de Nantes

Membres du jury :

Monsieur Djemil BENCHARIF, Maîtres de conférences à L'École Nationale  
Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation – Oniris

Madame Laetitia JALLARDON, Maîtres de conférences à L'École Nationale  
Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation - Oniris





<b>Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment</b>		
Responsable : <b>Emmanuel JAFFRES</b> – Adjointe : <b>Frédérique NGUYEN</b>		
Nutrition et Endocrinologie		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (CERC)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Lionel MARTIGNAT (Pr) Julie HERVE (MC HDR) Grégoire MIGNOT (MC) Adélie SALIN (CERC)	
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC)
Pathologie générale, microbiologie et immunologie	Hervé SEBBAG (MC)	
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC) Florence TEXIER (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (CERC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC)	Emmanuel JAFFRES (MC) Mathilde MOSSER (mc) Boris MISERY (CERC) Raouf TAREB (MC)
<b>Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique</b>		
Responsable : <b>Raphaël GUATTEO</b> – Adjoint : <b>Jean-Michel CAPPELIER</b>		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr) Lucile MARTIN (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (CERC) Ségolène CALVEZ (MC) Aurélien MADOUASSE (MC) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) François MEURENS (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC) Léa LOISEL (CERC) Kenny OBERLE (CERC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Christophe CHARTIER (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Michel FEDERIGHI (Pr) Bruno LE BIZEC (Pr) Marie-France PILET (Pr)	Eric DROMIGNY (MC HDR) Fanny RENOIS-MEURENS (MC HDR) Sofia STRUBBIA (CERC)

<b>Département DSC Sciences cliniques</b>		
Responsable : <b>Catherine IBISCH</b> – Adjoint : <b>Olivier GAUTHIER</b>		
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC) Margarida RIBEIRO DA SILVA NEUNLIST (CERC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (MC HDR)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Gwénola TOUZOT-JOURDE (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass)	
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (MC) Catherine IBISCH (MC) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (MC HDR) Lamia BRIAND (MC HDR)
<b>Département GPA Génie des procédés alimentaires</b>		
Responsable : <b>Sébastien CURET-PLOQUIN</b> – Adjointe : <b>Vanessa JURY</b>		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (MC HDR) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
<b>Département MSC Management, statistiques et communication</b>		
Responsable : <b>Samira ROUSSELIERE</b> – Adjointe : <b>Evelyne VIGNEAU</b>		
Mathématiques, statistiques, informatique	El Mostafa QANNARI (Pr) Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr)	Véronique CARIOU (MC HDR) Philippe COURCOUX (MC) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (MC) Samira ROUSSELIERE (MC)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GOYLER (Ens. Cont.) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel,  
PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole,  
HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel,  
Ens. Cont. : Enseignant Contractuel

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénoms de l'auteur : Alice Tellier
- Année de soutenance : 2022
- Titre de la thèse : Étude de la cinétique de la progestérone en post-ovulation chez la chienne, associée à l'échographie ovarienne
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes.
- École de soutenance : Oniris : École Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages : 88 p.



# TABLE DES MATIÈRES

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>6</b>
<b>FIGURES .....</b>	<b>11</b>
<b>TABLEAUX.....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>14</b>
I.    LE CYCLE SEXUEL DE LA CHIENNE : IMPORTANCE DE LA PROGESTÉRONNE ET VARIATIONS HORMONALES....	16
A. <i>La progestéronne, une hormone ovarienne.....</i>	16
1.    L'axe hypothalamo-hypophysaire.....	16
2.    Gamétogenèse et stéroïdogénèse ovarienne.....	17
a)    La gamétogenèse .....	17
b)    La folliculogénèse.....	18
(1)    La croissance folliculaire initiale indépendante du cycle sexuel .....	18
(2)    La croissance folliculaire sous contrôle hormonal dans le cycle sexuel .....	20
(3)    Pré-lutéinisation des follicules et début de la synthèse de progestéronne.....	20
c)    L'ovulation.....	21
(1)    L'ovulation est induite par un pic de LH.....	21
(2)    Maturation et survie des ovocytes dans l'oviducte.....	21
(3)    Nombre d'ovocytes .....	22
d)    Corps jaune et production de progestéronne.....	23
(1)    Formation des corps jaune et production de progestéronne.....	23
(2)    Maintien du corps jaune et lutéolyse .....	23
e)    Synthèse de la progestéronne dans les cellules folliculaires et lutéales.....	24
3.    Bilan des interactions hormonales au cours du cycle ovarien .....	28
B. <i>Les variations au cours du cycle sexuel de la chienne.....</i>	29
1.    Les phases du cycle sexuel : modifications comportementales et morphologiques sous contrôle hormonal	29
a)    Proestrus.....	29
b)    Œstrus.....	30
c)    Metoestrus.....	31
d)    Ancestrus.....	31
II.    LA PROGESTÉRONNE, UN OUTIL INTÉRESSANT PARMIS D'AUTRES, DANS LE CHOIX DE LA MISE À LA REPRODUCTION CHEZ LA CHIENNE .....	34
A. <i>Période de fécondation et de fertilité chez la chienne .....</i>	34
1.    La période de fécondation .....	34
2.    La période de fertilité .....	36
a)    Période de fertilité, saillie naturelle et insémination en sperme frais .....	36
b)    Sperme de mauvaise qualité, congelé ou réfrigéré.....	37
B. <i>Méthodes pour déterminer le moment de la mise à la reproduction.....</i>	37
1.    Changements comportementaux et morphologiques .....	37

2.	L'analyse cytologique vaginale.....	39
a)	Technique et coloration.....	39
	(1) Technique de prélèvement : le frottis vaginal.....	39
	(2) Colorations.....	40
b)	Interprétation.....	41
	(1) Les cellules de l'épithélium vaginale.....	41
	(2) Variations selon les phases du cycle sexuel.....	43
3.	Déterminer le pic de LH.....	45
4.	La progestérone.....	46
a)	Méthodes de dosage de la progestérone sanguine.....	46
	(1) Principe général du dosage immunologique par compétition.....	46
	(2) Dosage radio-immunologique.....	48
	(3) Dosage immuno-enzymatique.....	48
	(4) Dosage immuno-enzymatique quantitatif.....	49
	(5) Dosage immuno-enzymatique semi-quantitatif ou qualitatif.....	50
	(6) Dosage immuno-fluorescent : le mini Vidas®, un exemple d'automate à disposition des vétérinaires.....	51
b)	Interprétation.....	53
	(1) Déterminer le moment de l'ovulation et décider d'une mise à la reproduction.....	53
	(2) Existe-il une variation de la progestérone selon les chiennes ?.....	55
5.	L'échographie ovarienne.....	57
a)	Technique de l'échographie ovarienne et ses difficultés.....	57
b)	L'évolution des ovaires au cours du cycle sexuel, et utilisation.....	58
	(1) Les follicules avant l'ovulation.....	58
	(2) L'ovulation.....	59
6.	Autres techniques.....	62
a)	L'endoscopie vaginal.....	62
b)	Mesure de la résistance électrique du mucus vaginal.....	65
III.	PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	66
A.	<i>Objectif de l'étude</i> .....	66
B.	<i>Matériel et méthode</i> .....	67
1.	Animaux.....	67
2.	Protocole.....	67
3.	Étude statistique.....	69
a)	Mise en évidence de différences de vitesse de croissance.....	70
b)	Lien entre la croissance de la progestérone, le nombre de follicule et la fécondité.....	70
C.	<i>Résultats</i> .....	70
1.	Description des frottis vaginaux au cours de l'œstrus.....	70
2.	Description des échographies ovariennes au cours de l'œstrus.....	71
3.	Diagnostic de gestation et taille des portées.....	72
4.	Description des variations de la cinétique de la progestérone après l'ovulation.....	74
5.	Le lien entre la progestérone, le nombre de follicule, de fœtus et le pourcentage de fécondité.....	76
D.	<i>Discussion</i> .....	78

1. Variation de la croissance de la progestérone après l'ovulation et ses conséquences sur la gestion de la mise à la reproduction .....	78
2. Lien entre la progestérone, le nombre de corps jaune et la fertilité.....	79
3. Nombre de follicules ovulatoires et de corps jaune, et prédiction de la taille de la portée .....	80
4. Limites et perspectives de l'étude.....	80
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>82</b>
<b>BIBLIOGRAPHIES.....</b>	<b>83</b>



# FIGURES

FIGURE 1 : LES DIFFÉRENTES ÉTAPES DE LA GAMÉTOGÈSE CHEZ LA CHIENNE.....	18
FIGURE 2 : SCHÉMA DE LA CROISSANCE FOLLICULAIRE DANS L'OVAIRE .....	19
FIGURE 3 : STRUCTURE MOLÉCULAIRE DE LA PROGESTÉRONNE .....	25
FIGURE 4 : BILAN DE LA SYNTHÈSE DES HORMONES STÉROÏDIENNES CHEZ LES MAMMIFÈRES .....	26
FIGURE 5 : SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA SYNTHÈSE DES ŒSTROGÈNES PENDANT LA PHASE FOLLICULAIRE, PAR L'INTERACTION ENTRE LES CELLULES DE LA THÈQUE ET DE LA GRANULOSA .....	27
FIGURE 6 : SCHÉMA SIMPLIFIÉ DE LA SYNTHÈSE DE LA PROGESTÉRONNE PAR LES CELLULES LUTÉALES DE LA GRANULOSA DES CORPS JAUNES.....	27
FIGURE 7 : BILAN DES INTERACTIONS HORMONALES AU COURS DU CYCLE OVARIEN .....	28
FIGURE 8 : BILAN SCHÉMATIQUE DES VARIATIONS HORMONALE AU COURS DU CYCLE SEXUEL CHEZ LA CHIENNE.....	33
FIGURE 9 : PÉRIODE DE FÉCONDITÉ CHEZ LA CHIENNE APRÈS L'OVULATION ET LE PIC DE LH, EN FONCTION DE LA MATURATION ET SURVIE DES OVOCYTE ET DE L'OUVERTURE DU COL DE L'UTÉRUS.....	35
FIGURE 10 : RÉALISATION DU FROTTIS VAGINAL .....	40
FIGURE 11 : CELLULES PARABASALES DE L'ÉPITHÉLIUM VAGINAL DE CHIENNE AU MICROSCOPE OPTIQUE (COLORATION MAY-GRÜNWARD ET GIEMSA).....	41
FIGURE 12 : PETITE ET GRANDE CELLULE INTERMÉDIAIRE DE L'ÉPITHÉLIUM VAGINAL DE CHIENNE AU MICROSCOPE OPTIQUE (COLORATION MAY-GRÜNWARD ET GIEMSA).....	42
FIGURE 13 : CELLULES SUPERFICIELLES DE L'ÉPITHÉLIUM VAGINAL DE CHIENNE AU MICROSCOPE OPTIQUE. (COLORATION MAY-GRÜNWARD ET GIEMSA) .....	42
FIGURE 14 : PRINCIPE GÉNÉRAL DU DOSAGE IMMUNOLOGIQUE COMPÉTITIF .....	47
FIGURE 15 : PRINCIPE GÉNÉRAL DU DOSAGE ELISA COMPÉTITIF QUANTITATIF DE LA PROGESTÉRONNE.....	49
FIGURE 16 : EXEMPLE DE COURBE D'ÉTALONNAGE POUR L'ELISA PAR COMPÉTITION.....	50
FIGURE 17 : OVAIRE GAUCHE D'UNE CHIENNE AVEC 2 FOLLICULES EN CROISSANCE PENDANT LE PRO-ŒSTRUS, CRÂNIALEMENT AU REIN.....	58
FIGURE 18 : OVAIRE À L'ÉCHOGRAPHIE AVANT L'OVULATION AVEC FOLLICULES DE FORME RONDE .....	59
FIGURE 19 : OVAIRE AVANT L'OVULATION À L'ÉCHOGRAPHIE AVANT L'OVULATION AVEC FOLLICULES TRIANGULAIRES .....	59
FIGURE 20 : COLLAPSUS COMPLET DES FOLLICULES APRÈS L'OVULATION À L'ÉCHOGRAPHIE.....	60
FIGURE 21 : PERSISTANCE DE STRUCTURES HYPOÉCHOGÈNES, CORRESPONDANT AU CORPS JAUNES, SUR L'OVAIRE APRÈS L'OVULATION À L'ÉCHOGRAPHIE .....	60
FIGURE 22 : HALO ANÉCHOGÈNE AUTOUR DE L'OVAIRE EN POST-OVULATION À L'ÉCHOGRAPHIE OVARIENNE .....	61
FIGURE 23 : PHOTO DE LA MUQUEUSE VAGINALE AU DÉBUT (À GAUCHE) ET À LA FIN (À DROITE) DU PRO-ŒSTRUS CHEZ LA CHIENNE, À L'ENDOSCOPIE VAGINALE.....	63
FIGURE 24 : MUQUEUSE VAGINALE CHEZ UNE CHIENNE EN ŒSTRUS, À L'ENDOSCOPIE VAGINALE.....	64

FIGURE 25 : MUQUEUSE VAGINALE CHEZ UNE CHIENNE AU DÉBUT DE METOESTRUS À L'ENDOSCOPIE VAGINALE .....	64
FIGURE 26 : MUQUEUSE VAGINALE D'UNE CHIENNE EN ANOESTRUS, À L'ENDOSCOPIE VAGINALE.....	64
FIGURE 27 : SCHÉMA DU PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL, DU DÉBUT DES PERTES SANGUINES JUSQU'AU DÉBUT DU METOESTRUS .....	68
FIGURE 28 : MOYENNES DE LA CONCENTRATION EN PROGESTÉRONNE CHEZ LES CHIENNES DE L'ÉTUDE PAR RAPPORT AU MOMENT DE L'OVULATION (ÉCART-TYPE EN BARRE D'ERREUR) (N=10).....	74
FIGURE 29 : VITESSE D'AUGMENTATION DE LA CONCENTRATION EN PROGESTÉRONNE ENTRE LE JOUR DE L'OVULATION ET LE 4IÈME JOUR APRÈS L'OVULATION EN FONCTION DES CHIENNES, CALCULÉES PAR RÉGRESSION LINÉAIRE (LES BARRES D'ERREUR CORRESPONDENT AUX INTERVALLES DE CONFIANCE À 95%). LES LETTRES INDIQUENT LES VALEURS STATISTIQUEMENT SIMILAIRES 2 À 2. ....	75

# TABLEAUX

TABLEAU 1 : BILAN DES CHANGEMENTS MORPHOLOGIQUES ET COMPORTEMENTAUX AU COURS DU CYCLE SEXUEL DE LA CHIENNE .....	32
TABLEAU 2 : PÉRIODES DE FERTILITÉ ET DE FÉCONDITÉ .....	36
TABLEAU 3 : ANALYSE CYTOLOGIQUE VAGINALE AU COURS DU CYCLE ŒSTRAL DE LA CHIENNE .....	44
TABLEAU 4 : EXEMPLE D'INTERPRÉTATION D'UN TEST ELISA SEMI-QUANTITATIF, OVULATION TEST VIRBAC®.....	51
TABLEAU 5 : VARIANCE INTRA-DOSAGE DU MINI VIDAS BIOMÉRIEUX® POUR LES DOSAGES DE LA PROGESTÉRONNE CHEZ LA CHIENNE .....	52
TABLEAU 6 : VARIATIONS DE L'ASPECT DE LA MUQUEUSE VAGINAL AU COURS DU CYCLE SEXUEL DE LA CHIENNE.....	65
TABLEAU 7 : RÉCAPITULATIF DU NOMBRE DE FOLLICULES OVULATOIRES, DU NOMBRE DE FŒTUS ET DE LA TAILLE DES PORTÉES EN FONCTION DES CHIENNES ET DE LEUR TAUX DE PROGESTÉRONNE À LA PREMIÈRE ET DEUXIÈME INSÉMINATION ARTIFICIELLE (IA).....	73
TABLEAU 8 : DIFFÉRENCE DE LA CONCENTRATION DE LA PROGESTÉRONNE ENTRE LES DEUX INSÉMINATIONS ARTIFICIELLES (IA) EN FONCTION DU NOMBRE DE FOLLICULES OVULATOIRE/CORPS JAUNE ET LA TAILLE DE LA PORTÉE .....	76
TABLEAU 9 : MOYENNES DU NOMBRE DE CORPS JAUNE, FŒTUS À 25 JOURS ET DU POURCENTAGE DE FÉCONDITÉ EN FONCTION DE LA VITESSE DE CROISSANCE DE LA PROGESTÉRONNE ENTRE LE JOUR DE L'OVULATION ET LE 4 <sup>ÈME</sup> JOUR. (+/-ÉCART-TYPE) (N=7).....	77

# INTRODUCTION

La chienne a un cycle de reproduction qui diffère des autres espèces avec une phase lutéale longue et un œstrus obligatoire. La chienne a également la particularité d'ovuler un ovocyte immature, non fécondable, qui va poursuivre sa maturation dans l'oviducte. Cette dernière particularité est indispensable pour choisir le moment de la mise à la reproduction. En effet, elle permet de définir la période de fécondité de la chienne, c'est-à-dire la période pendant laquelle l'ovocyte est fécondable par les spermatozoïdes. Les ovocytes sont fécondables de la fin de leur maturation, environ 2 jours après l'ovulation, jusqu'à leur dégénérescence, environ 4 à 5 jours après l'ovulation.

Il existe différentes méthodes de mise à la reproduction des chiennes : la saillie naturelle, l'insémination artificielle intra-vaginale ou intra-utérine, avec du sperme frais, réfrigéré ou congelé.

Estimer le moment de l'ovulation est une pratique courante dans le suivi des chaleurs de la chienne. Elle permet de choisir le meilleur moment de la mise à la reproduction, en fonction de la période de fécondité et de la qualité du sperme.

Il existe de nombreuses méthodes pour suivre le cycle de la chienne et estimer le moment de l'ovulation. Certaines permettent de confirmer les chaleurs, mais ne permettent pas d'estimer avec précision le moment de l'ovulation comme les modifications comportementales et morphologiques, les frottis vaginaux et l'endoscopie vaginale. Le dosage de la progestérone sanguine est une méthode fiable pour estimer le moment de l'ovulation. De plus, les méthodes de dosage rapides sont maintenant disponibles pour les vétérinaires, dans la pratique courante de leur exercice.

La progestérone croît de façon exponentielle pendant l'œstrus et tout particulièrement après l'ovulation, de valeurs basales inférieures à 1 ng/ml à des valeurs très élevées qui peuvent aller jusqu'à 90 ng/ml.

Selon les études et les méthodes de dosage de la progestérone, le moment de l'ovulation varie entre 2 et 10 ng/mL, avec une valeur stable d'une chienne à l'autre.

Ses valeurs permettent de déterminer le début de la période de fécondité de la chienne et de décider du moment de la mise à la reproduction. Seulement, il est difficile de savoir chez une chienne présentée pour la première fois tardivement au cours de son œstrus, à partir de quelle valeur de la progestérone il n'est plus intéressant de la mettre à la reproduction. D'après la thèse de Géraldine Schreck, qui a montré qu'il n'y avait pas de différence entre les chiennes inséminées entre 10 à 25 ng/ml et 25 à 50 ng/ml (Schreck 2020).

Le but de cette étude est d'évaluer la cinétique de la progestérone en post-ovulation et ses variations de taux de croissance selon les chiennes. D'autre part, nous cherchons à évaluer s'il existe un lien entre la vitesse de croissance de la progestérone en post-ovulation et le nombre de corps jaunes issues de l'ovulation.

Nous rappellerons, tout d'abord, la physiologie du cycle sexuel de la chienne et ses variations hormonale. Ensuite, nous développerons les méthodes de suivi du cycle sexuel de la chienne. Nous finirons par développée notre études et ses résultats.

# I. Le cycle sexuel de la chienne : importance de la progestérone et variations hormonales

## A. La progestérone, une hormone ovarienne

Les ovaires sont le lieu de la production des gamètes et de la sécrétion d'hormones sexuelles stéroïdiennes, dont fait partie la progestérone. Cette dernière est produite par les corps jaunes ovariens, issus des follicules après l'ovulation. La folliculogénèse, l'ovulation et la formation des corps jaunes sont régulés par l'axe hypothalamo-hypophysaire.

### 1. L'axe hypothalamo-hypophysaire

**L'hypothalamus** est une glande endocrine localisée à proximité de la ligne médiane ventrale du diencephale. Elle est composée de neurones, organisés en noyaux, sécrétant entre autres la **GnRH** (Gonadotrophines Releasing Hormone). Cette dernière, peptide transmis à l'adénohypophyse via le système porte hypothalamo-hypophysaire, permet la régulation des sécrétions hypophysaires.

**L'hypophyse** est composée de 3 parties : la neurohypophyse, le lobe intermédiaire et l'adénohypophyse. Cette dernière est responsable de la sécrétion pulsatile des molécules impliquées dans la régulation de l'activité ovarienne, qui sont :

- Les gonadotrophines : la **FSH** (Follicle Stimulating Hormone) et la **LH** (luteinising hormone), sécrétées sous contrôle de la GnRH.
- La prolactine, sous contrôle de la dopamine. Cette dernière est une hormone hypothalamique qui inhibe la sécrétion de la prolactine. (Davidson et Stabenfeldt 2013).

La FSH et la LH stimulent la folliculogénèse, permettent la maturation folliculaire, l'ovulation et la formation du corps jaune. Elles sont donc indispensables à la production des

gamètes et la synthèse des hormones sexuelles au niveau des ovaires. En retour, ses hormones ovariennes exercent un rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, dont la progestérone et les œstrogènes. (Robinson et Noakes 2019; Davidson et Stabenfeldt 2013)

La prolactine est impliquée dans le développement mammaire, la lactation et le maintien du corps jaune. Elle est donc indispensable à la production de progestérone pendant la phase lutéale (Davidson et Stabenfeldt 2013; Concannon 2011).

## 2. Gamétogenèse et stéroïdogénèse ovarienne

### a) La gamétogenèse

La gamétogenèse commence pendant la vie embryonnaire avec la production d'**ovogonies** par mitoses successives à partir de cellule germinale primordiale. A la naissance, la mitose des ovogonies cesse, et certaines se différencient en **ovocytes primaires**.

La gamétogenèse se poursuit après la naissance. A partir de la puberté, les ovocytes primaires débutent la méiose. La première division de méiose, donne naissance à partir d'un ovocyte primaire à un **ovocyte secondaire** et un premier globule polaire. La deuxième division de la méiose donne naissance à un **ovule haploïde**, gamète femelle fécondable, et un second globule polaire (Figure 1) (Rosenfeld et Schatten 2007).

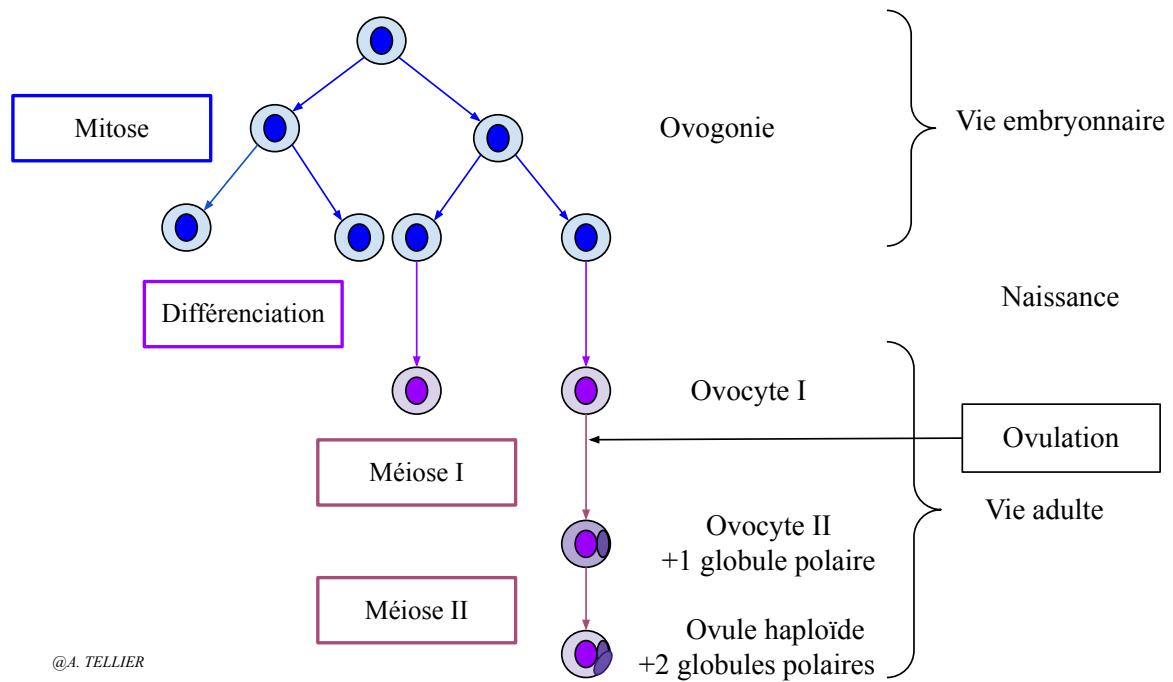


Figure 1 : Les différentes étapes de la gamétogenèse chez la chienne (@A. Tellier; England 2010; Rosenfeld et Schatten 2007)

## b) La folliculogénèse

La folliculogénèse a lieu dans les ovaires, au niveau de son cortex. (Rosenfeld et Schatten 2007)

### (1) La croissance folliculaire initiale indépendante du cycle sexuel

La production des follicules est complète au cours de la vie embryonnaire. Les follicules présents à la naissance, au premier stade de leur développement sont appelés **follicules primordiaux** (Robinson et Noakes 2019). Ils sont formés d'une couche d'épithélium folliculaire squameux qui entoure les ovocytes primaires (Rosenfeld et Schatten 2007).



A partir de la puberté, les follicules primordiaux vont évoluer tout au long de la vie de la chienne (Robinson et Noakes 2019).

La première partie de leur croissance se fait indépendamment des hormones et du cycle sexuel. Le follicule primordial va évoluer successivement en :

- **Follicule primaire** où l'ovocyte primaire est entouré d'une couche d'épithélium folliculaire cubique
- **Follicule secondaire** ou **follicule pré-antral** où l'ovocyte primaire est entouré par l'épithélium folliculaire qui a proliféré et qui est alors pluristratifié. Cet épithélium forme la granulosa. Autour de l'ovocyte, une membrane glycoprotéique, produite à la fois par la granulosa et l'ovocyte lui-même, se forme. Il s'agit de la membrane pellucide. La thèque externe et interne se forment autour de la granulosa à partir des cellules interstitielles du stroma ovarien.
- **Follicule tertiaire, antral** ou de **Graaf** : le follicule secondaire a grossi et un antrum, rempli de liquide, s'est formé au sein de la granulosa. Les cellules interstitielles formant la thèque ont, quant à elles, terminé leur développement et leur différenciation en cellules de la thèque interne et externe. (Robinson et Noakes 2019; Rosenfeld et Schatten 2007)

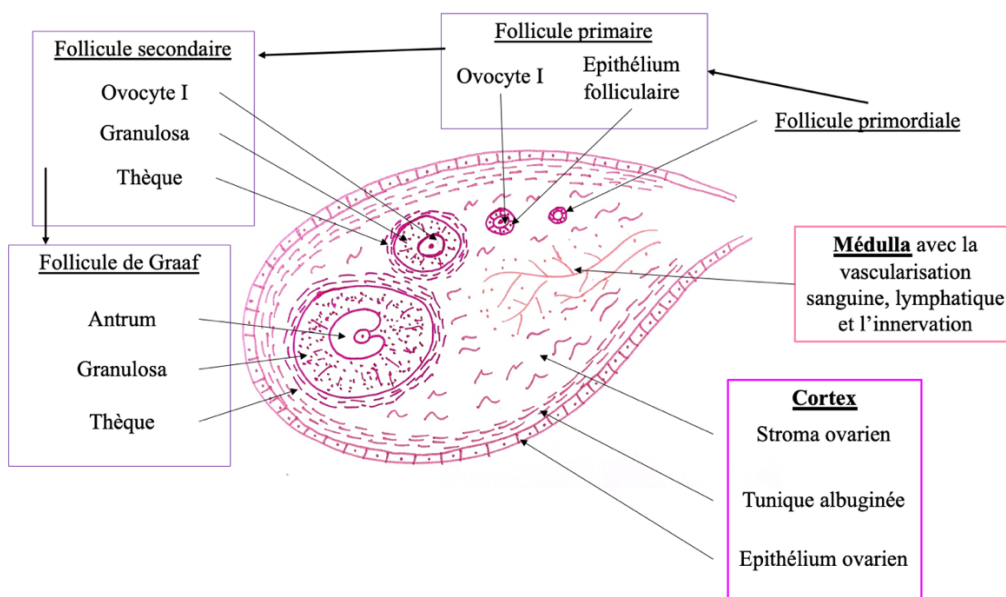


Figure 2 : Schéma de la croissance folliculaire dans l'ovaire (Robinson et Noakes 2019; Rosenfeld et Schatten 2007)

## (2) La croissance folliculaire sous contrôle hormonal dans le cycle sexuel

Au stade de follicule de Graaf, les cellules de la thèque et de la granulosa commencent à synthétiser des hormones sexuelles stéroïdiennes (androgènes et œstrogènes respectivement) (cf I.3) (Davidson et Stabenfeldt 2013)

La deuxième partie de du développement folliculaire se déroule sous contrôle des gonadotrophines sexuelles (FSH et LH). Elle consiste en la croissance et la maturation des follicules antraux ou leur régression suivie de l'atrésie. Elle comporte plusieurs phases :

**Le recrutement** de certains follicules qui entrent en croissance sous l'influence de la FSH. Le recrutement est à l'origine de l'émergence d'une vague de croissance folliculaire.

**La sélection** de certains follicules destinés à se développer.

**La dominance** des follicules sélectionnés qui poursuivent leur maturation et la régression et atrésie des autres (Robinson et Noakes 2019).

L'entrée en croissance des follicules antraux dépend de la FSH. Certains follicules dominants vont devenir de moins en moins sensibles à la FSH et acquérir des récepteurs à la LH (sur les cellules de la granulosa). Ces follicules dominants vont sécréter de l'œstradiol et de l'inhibine qui vont inhiber la libération de FSH centrale. Le rétrocontrôle par l'œstradiol se fait à partir d'un certain seuil de concentration et donc à un certain stade du développement des follicules. A ce stade, les follicules dépendant uniquement de la FSH et non de la LH, vont régresser et s'atrésier (Robinson et Noakes 2019).

## (3) Pré-lutéinisation des follicules et début de la synthèse de progestérone

Chez la chienne, à la fin de la croissance folliculaire, il y a une **pré-lutéinisation** des cellules de la granulosa et de la thèque ce qui représente une particularité de l'endocrinologie sexuelle chez la chienne. Elle a lieu environ entre 36-50 heures avant l'ovulation (Chastant-Maillard et *al.*, 2011). Les follicules commencent alors à synthétiser de la progestérone même

si le corps jaune ne s'est pas encore formé, c'est-à-dire avant même l'ovulation. La synthèse d'œstradiol commence à diminuer (Onclin et *al.*, 2002). Cette diminution du rapport œstradiol/progestérone exerce un rétrocontrôle positif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire. La sécrétion pulsatile de FSH et de LH augmente. Un pic de LH est induit et provoque l'ovulation. (Feldman et Nelson 2003). Cette théorie est controversée. En effet certaines études rapportent que le pic d'œstradiol est concomitant au pic de LH pré-ovulatoire. Ainsi il est supposé que l'œstradiol exerce un rétrocontrôle positif sur l'axe-hypothalamo-hypophysaire et qu'il serait à l'origine du pic de LH pré-ovulatoire (de Gier et *al.*, 2006).

### c) L'ovulation

#### (1) L'ovulation est induite par un pic de LH

L'ovulation est induite par l'augmentation pulsatile de la sécrétion de LH, avec un pic de sécrétion, qui aboutit à des mécanismes de rupture des follicules, à la libération des ovocytes et à la transformation du follicule ovulatoire en corps jaune (Rosenfeld et Schatten 2007). En effet la LH va induire une augmentation des prostaglandines et des collagénases qui vont dégrader les parois folliculaires et libérer les ovocytes.

L'ovulation complète se déroule en 24 à 36 heures (Reynaud et *al.*, 2009). Une hémorragie locale survient au moment de l'ovulation, les parois du follicule s'affaissent et les corps jaune se forment (Rosenfeld et Schatten 2007).

#### (2) Maturation et survie des ovocytes dans l'oviducte

Chez la chienne, contrairement aux autres espèces de mammifères, l'ovulation aboutit à la libération d'un ovocyte immature en prophase II de la méiose. Après l'ovulation, les ovocytes doivent donc terminer leur méiose, dans l'oviducte, pour devenir fécondables.

Les premiers ovocytes mûrent et fécondables apparaissent entre 48 et 54 heures après l'ovulation (Chastant-Maillard et *al.*, 2011). En effet, d'après Tsutsui, les ovocytes fécondables apparaissent entre 48 et 72 heures après l'ovulation, déterminée par laparoscopie toutes les 24

heures. Les ovocytes ont été récupérés par ovariectomie et analysée par histologie. (Tsutsui 1975 d'après Reynaud et *al.*, 2005). Reynaud et *al.* a déterminé l'ovulation par échographie ovarienne trois fois par jour et a mis en évidence les premier ovocytes murent 54 heures plus tard après ovariectomie et analyse histologique (Reynaud et *al.*, 2005). Certains ovocytes peuvent avoir terminer leur maturation jusqu'à 109 heures après l'ovulation (Reynaud et *al.*, 2015). Cette reprise de la méiose serait entre autres permise par la progestérone. Même si les mécanismes ne sont pas encore connus, elle serait indispensable à la reprise de la méiose en post-ovulation (Reynaud et *al.*, 2015).

Une fois la méiose terminée, l'ovocyte devient un ovule fécondable.

Les ovocytes matures survivent dans l'oviducte, entre 92-127 heures (Reynaud et *al.*, 2005) et jusqu'à 7 jours maximum après l'ovulation avant de dégénérer (Tsutsui et *al.*, 2009). Dans cette dernière étude, Tsutsui et *al.*, ont déterminé l'ovulation à partir de dosage de la progestérone, et ont défini l'ovulation à 2 ng/ml.

Les chiffres de Tsutsui et *al.* diffèrent légèrement de ceux de Concannon, qui a déterminé l'ovulation à partir du pic de LH. Concannon a trouvé que chez la majorité des chiennes, les ovocytes survivent 24 à 48 heures après leur maturation dans l'oviducte, mais chez certaines ils peuvent survivre 72 à 96 heures voire plus rarement de 120 à 144 heures (Concannon 2011).

Ainsi, chez la majorité des chiennes, les ovocytes matures et fécondables sont présents dans les oviductes entre 2 et 4 à 5 jours après l'ovulation, même si les chiffres diffèrent entre les études et selon la méthode de détermination de l'ovulation.

### (3) Nombre d'ovocytes

Dans la majorité des cas, chaque follicule libère un unique ovocyte. Chez certaines chienne, certains follicules peuvent contenir plusieurs ovocytes. Environ 4% seulement des follicules contiennent entre 2 et 5 ovocytes dont un seul serait de qualité et pourrait être fécondable (Reynaud et *al.*, 2009) Cette observation est issue de l'analyse histologique des follicules pré-ovulatoire. Ainsi le nombre d'ovocytes fécondables correspond dans la plupart des cas au nombre de follicules ovulatoires.

Le nombre de follicules ovulatoires varie selon le format de la chienne. Plusieurs études ont mis en évidence un nombre significativement plus élevé de follicule ovulatoire chez les

chiennes de plus grand format. En moyenne, les chiennes de petit format (< 10 kg) auraient 5,5 follicules ovulatoires, les chiennes de format moyen 7,8, et les chiennes de grand format 10,1 (>20 kg) (Marinelli et *al.*, 2009; Reynaud et *al.*, 2006)

#### d) Corps jaune et production de progestérone

##### (1) Formation des corps jaune et production de progestérone

Le corps jaune se forme rapidement après l'ovulation, par la lutéinisation des cellules de la granulosa et de la thèque, et une angiogenèse importante.

Une fois formé, le corps jaune conserve une structure assez stable avec des cellules lutéales (sécrétrices de stéroïdes), des fibroblastes, des petites cellules musculaires lisses, des péricytes et des cellules endothéliales (Rosenfeld et Schatten 2007).

Les cellules lutéales des corps jaunes synthétisent la progestérone. Cette dernière est impliquée dans le maintien de la gestation et le développement du tissu mammaire. Elle exerce également un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en inhibant la sécrétion pulsatile de LH, empêchant alors toute nouvelle ovulation (Feldman et Nelson 2003).

##### (2) Maintien du corps jaune et lutéolyse

Le maintien du corps jaune est assuré par la prolactine, sécrétée par l'anté-hypophyse. La diminution de la sécrétion de cette hormone lutéotrope entraîne la régression du corps jaune.

La lutéolyse semble indépendante de l'utérus chez la chienne, et aucun mécanisme de lutéolyse n'a été mis en évidence. Ainsi, que la chienne soit gestante ou non, le corps jaune et la production de progestérone persistent un temps presque similaire voire plus longtemps chez la chienne non gestante (Concannon 2011).

La phase lutéale est définie comme la période pendant laquelle les corps jaunes produisent de la progestérone à une concentration supérieure à 2ng/ml (Walter et al. 2011), 1,5ng/ml (Concannon 2011), 1ng/ml (Schaefer-Okkens et Kooistra 2010; Feldman et Nelson

2003) ou 0,2ng/ml selon les auteurs (Volkman et al. 2006). La phase lutéale est plus ou moins longue en fonction du seuil de progestérone défini par les auteurs dans leurs études.

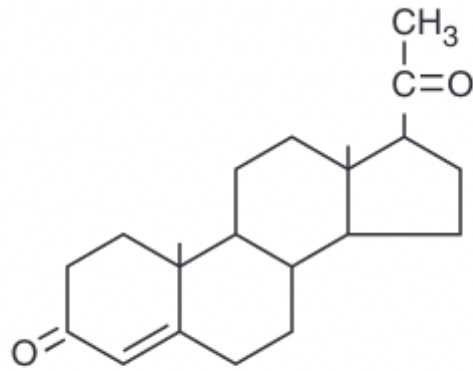
Lorsque la chienne est gestante, le corps jaune est présent tout au long de la gestation, jusqu'à la veille de la parturition soit 64+/-1 jours, avec une concentration en progestérone inférieure à 1ng/ml (Concannon 2011).

La phase lutéale dure en moyenne 75 jours, de 60 à 100 jours, pour un seuil de progestérone de 1 ng/ml (Schaefer-Okkens et Kooistra 2010; Feldman et Nelson 2003). D'autres auteurs ont décrit la fin de la période lutéale en dessous de 1,5ng/ml. Dans ce cas, la période lutéale se termine 70 jours en moyenne après le pic de LH, de 55 à 80 jours (Concannon 2011).

Les corps jaunes des chiennes sont sensibles à la PGF2alpha lorsqu'ils sont matures et qu'ils pourraient en exprimer des récepteurs et ce n'est qu'à partir du 25<sup>ème</sup> jour après l'ovulation où le CJ devient réceptif aux prostaglandines F2 alpha. Cependant, ce mécanisme ne semble pas impliqué dans la lutéolyse chez la chienne (Robinson et Noakes 2019; Rosenfeld et Schatten 2007).

### e) Synthèse de la progestérone dans les cellules folliculaires et lutéales

La **progestérone** est une hormone stéroïdienne sexuelle, comme les androgènes et les œstrogènes. Les hormones stéroïdiennes sexuelles sont des molécules composées d'un complexe polycyclique de 17 atomes de carbones formant 4 anneaux et sont synthétisées à partir du cholestérol dans les ovaires principalement. D'autres organes sont capables de produire des hormones stéroïdiennes. Les glandes surrénales sont capables de synthétiser de la progestérone mais elle y est majoritairement convertie en glucocorticoïdes ou en minéralocorticoïdes, hormones stéroïdes que les ovaires ne sont pas capables de produire (Taraborrelli 2015).



## PROGESTERONE

Figure 3 : Structure moléculaire de la progestérone (Hakan 2008)

Les hormones stéroïdiennes sont synthétisées par les cellules de la thèque et de la granulosa des follicules et des corps jaunes. Le précurseur principal de leur synthèse est le cholestérol. Ces deux types cellulaires sont en étroite relation dans la production de ces hormones, car ils expriment des récepteurs et des enzymes différentes :

- **Les cellules de la thèque** expriment principalement le récepteur à la LH qui stimule la production des productions des **androgènes** (dont la testostérone) à partir du cholestérol. En effet la LH stimule l'activité de l'enzyme CYP17 (Cytochrome P450 17 alpha hydroxylase/17,20 lyase) qui permet cette conversion (Figure 4 ; Figure 5).
- **Les cellules de la granulosa** sont responsables de la conversion des androgènes synthétisés par les cellules de la thèque en **œstrogènes**. En effet, elles expriment l'aromatase, stimulée par la FSH, qui permet cette conversion. Elles expriment majoritairement le récepteur à la FSH au début du cycle folliculaire. Au cours du cycle, la FSH stimule l'expression des récepteurs à la LH (Figure 5).
- **Les deux types de cellule** expriment les enzymes CYP11A1 (enzyme de clivage de la chaîne latérale) et la 3β-HSD qui permettent de produire de la **progestérone** à partir du cholestérol. Mais avant la lutéinisation du follicule, la granulosa est très peu vascularisée et ne produit que peu de progestérone. Après la lutéinisation, les cellules de la granulosa sont davantage vascularisées, par une angiogenèse importante. De plus, elles expriment peu la CYP17 et ne produisent

donc que très peu d'androgènes à partir de la progestérone. C'est pourquoi la synthèse de la progestérone est majoritairement assurée par les cellules lutéinisées de la granulosa (Figure 6) (Jamnongjit et Hammes 2006).

La progestérone circulante est fixée aux "cortisol binding globulines" et à l'albumine sérique. Elle a une demi-vie courte d'environ 5 minutes. Elle est métabolisée majoritairement dans le foie avant d'être excrétée par voie rénale. Elle peut aussi être convertie en minéralocorticoïde désoxycorticostérone par le rein (Taraborrelli 2015).

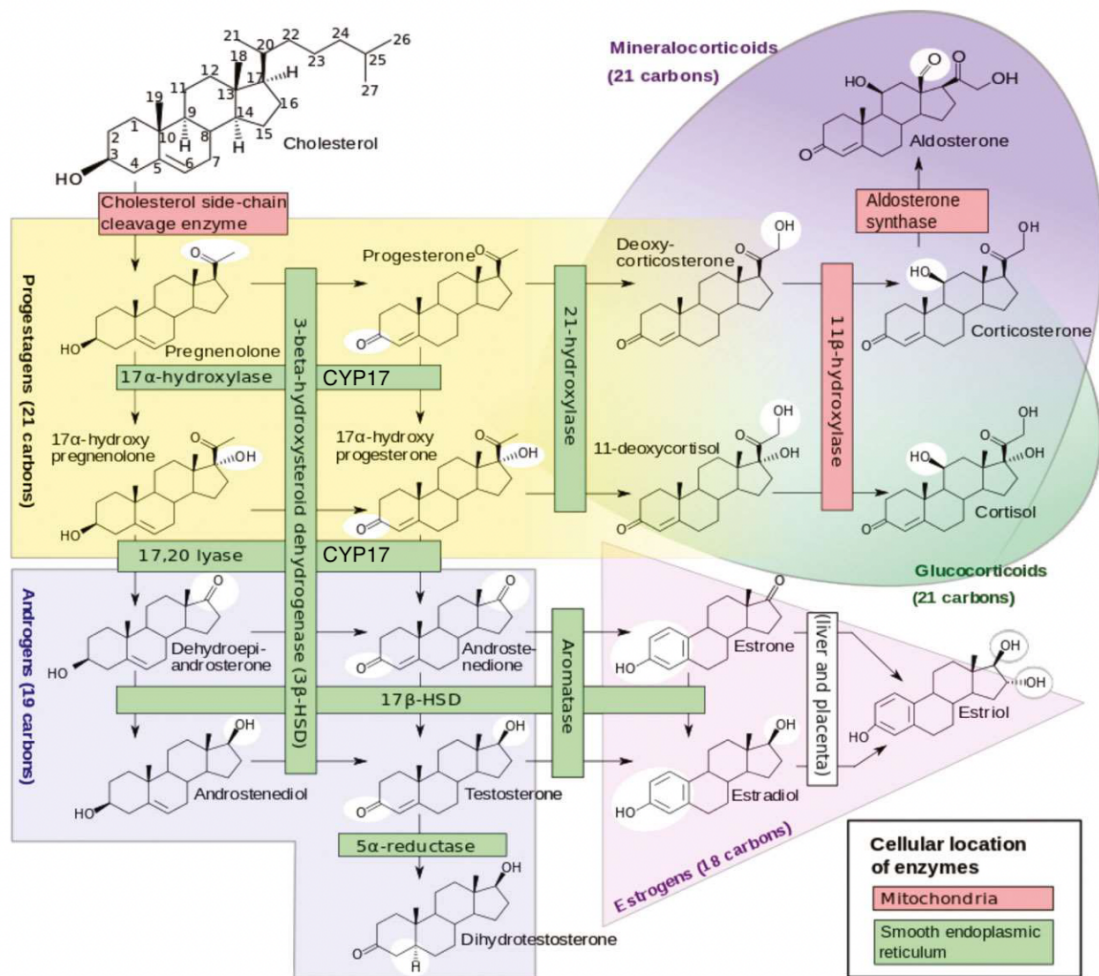
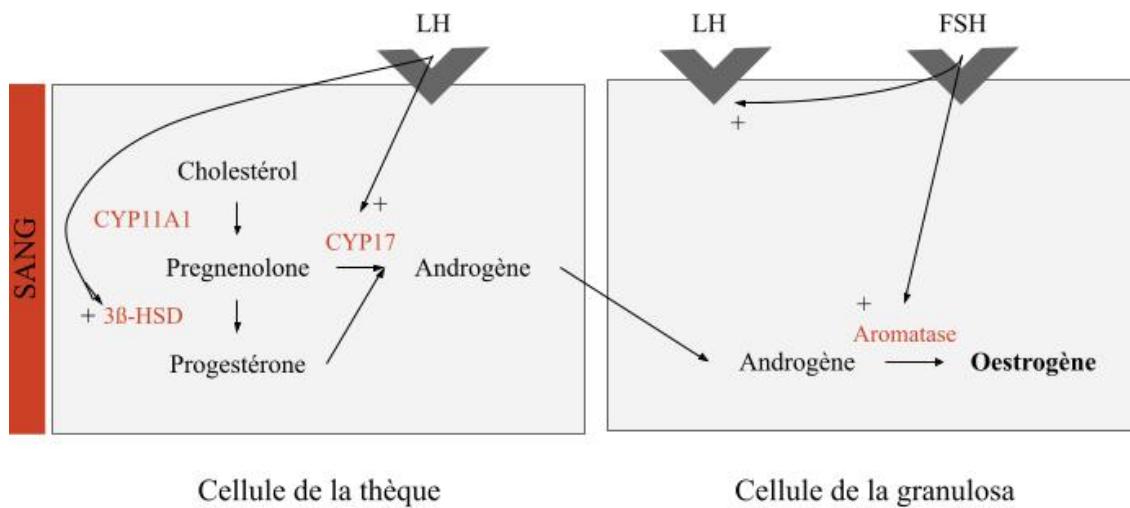


Figure 1. Steroidogenesis, an overview.

Figure 4 : Bilan de la synthèse des hormones stéroïdiennes chez les mammifères (Taraborrelli 2015)

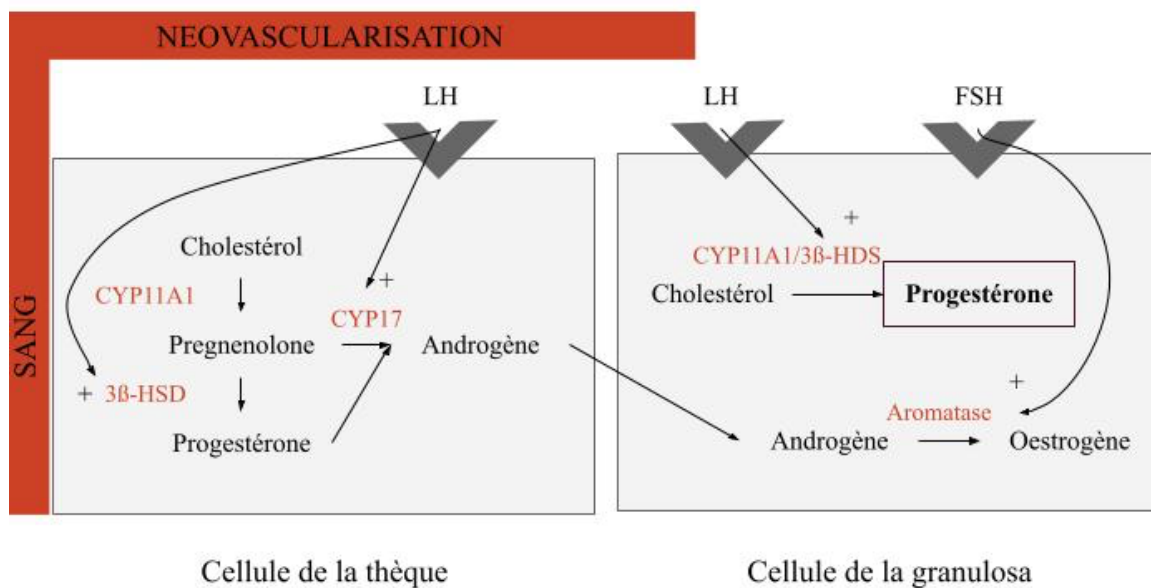




ENZYMES

RÉCEPTEURS :

Figure 5 : Schéma simplifié de la synthèse des œstrogènes pendant la phase folliculaire, par l'interaction entre les cellules de la thèque et de la granulosa. (@A. Tellier; Taraborrelli 2015; Jamnongjit et Hammes 2006)



ENZYMES

RÉCEPTEURS :

Figure 6 : Schéma simplifié de la synthèse de la progestérone par les cellules lutéales de la granulosa des corps jaunes. (@A. Tellier; Taraborrelli 2015; Jamnongjit et Hammes 2006)

### 3. Bilan des interactions hormonales au cours du cycle ovarien

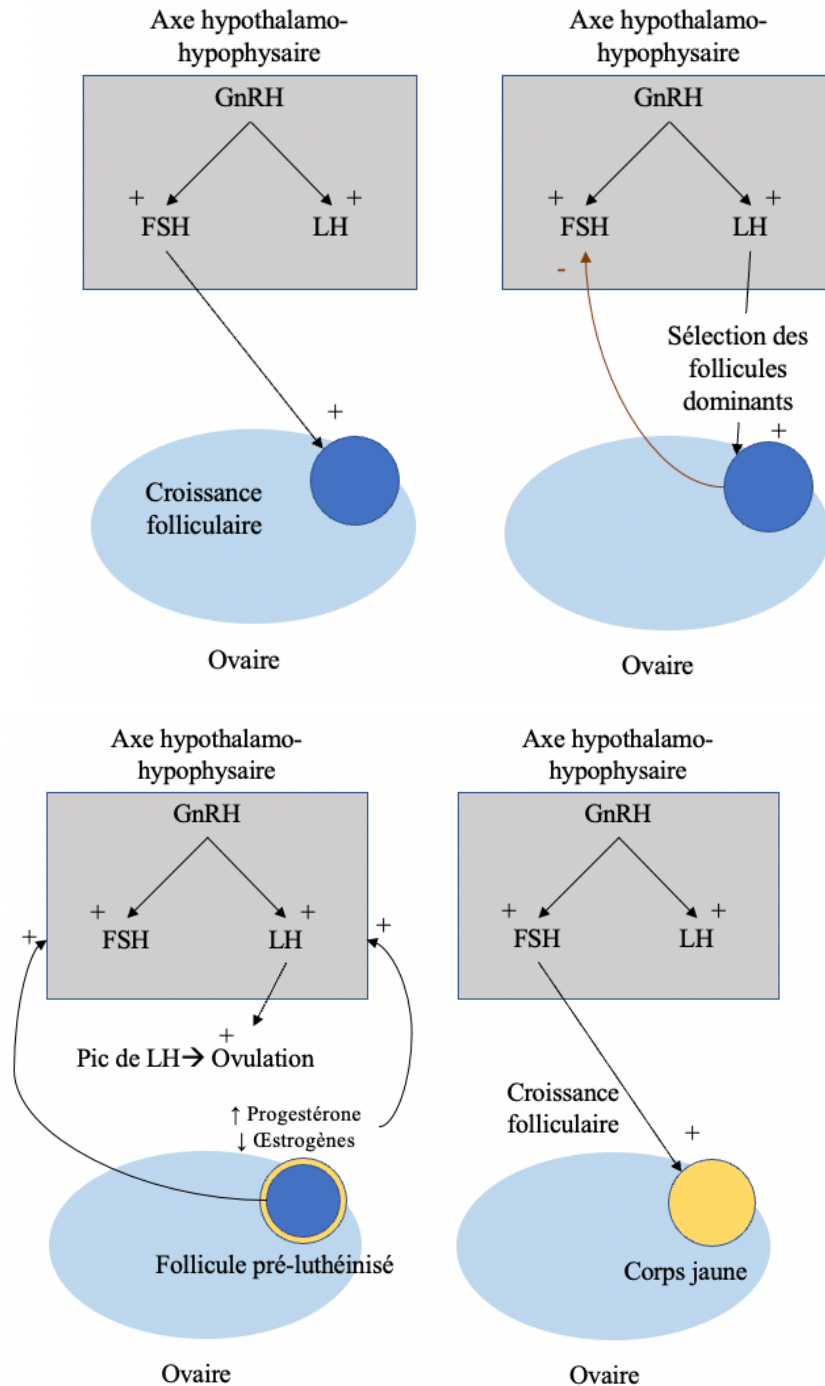


Figure 7 : Bilan des interactions hormonales au cours du cycle ovarien (@A. Tellier; Feldman et Nelson 2003)

## B. Les variations au cours du cycle sexuel de la chienne

### 1. Les phases du cycle sexuel : modifications comportementales et morphologiques sous contrôle hormonal

Le cycle sexuel de la chienne est divisé en 4 phases : le proestrus, l'œstrus, le metoestrus et l'anoestrus. La durée du cycle est variable selon les chiennes et l'intervalle entre deux œstrus peut être de 5 à 12 mois, mais de 6 à 7 mois en moyenne.

La chienne est une espèce mono-estrienne et polytoque, avec un cycle qui se déroule généralement sans saisonnalité. Ce cycle diffère des autres espèces par son anoestrus prolongé obligatoire et par une phase lutéale prolongée, qu'il y ait une gestation ou non.

L'activité de reproduction et le cycle commence à la puberté, lors du premier oestrus. L'âge du premier oestrus est variable selon les chiennes, en lien avec leur race et leur taille à l'âge adulte. Il a généralement lieu entre 6 et 14 mois (Concannon 2011).

#### a) Proestrus

Le proestrus est la phase qui se déroule avant l'oestrus, et est caractérisée par une augmentation de l'activité de reproduction. Cette phase dure 5 à 20 jours, 9 jours en moyenne (Concannon 2011).

C'est au cours du proestrus qu'a lieu la fin de la croissance et la maturation folliculaire, à l'origine d'une augmentation de la production d'oestrogène. La concentration en œstrogène augmente de 5 à 15 pg/ml au début du proestrus, jusqu'à un pic d'environ 70 pg/ml, avant de diminuer. Le proestrus se termine généralement 0,5 à 3 jours après le pic d'oestrogène (Concannon 2011).

**L'imprégnation œstrogénique** entraîne des modifications morphologiques et comportementales. La chienne attire le mâle, mais refuse l'accouplement, qu'elle n'acceptera que pendant l'œstrus. Un gonflement progressif de la vulve, qui devient ferme et œdématiée, est observé. Des pertes vulvaires sanguinolentes peuvent être également présentes. Ces pertes proviennent de l'utérus, dont l'endomètre s'épaissit en vue d'une gestation. Elles sont variables selon les chiennes et peuvent être plus ou moins visibles. En effet, elles sont plus ou moins abondantes selon les chiennes, voire absentes, notamment chez les chiennes qui se nettoient trop régulièrement la région vulvaire. Enfin, elles ne permettent pas de déterminer la fin du proœstrus puisqu'elles peuvent s'arrêter ou se poursuivre pendant l'œstrus (Robinson et Noakes 2019; Concannon 2011).

Les œstrogènes entraînent également un œdème vaginal et une prolifération de l'épithélium vaginal. Ces modifications sont visibles à l'endoscopie et à l'analyse cytologique vaginale (II.B.2; II.B.6.a).

Pendant (cette phase du cycle, **la progestérone** commence à augmenter très progressivement, par la pré-lutéinisation des follicules. Elle va passer de 0,2-0,4 ng/ml à 0,6-0,8 ng/ml 1 à 2 jours avant le pic de LH à une concentration entre 0,9 et 2,2 ng/ml au moment du pic de LH (Concannon 2011).

## b) Œstrus

L'œstrus est défini comme la période pendant laquelle la chienne accepte l'accouplement, contrairement au proœstrus. Elle dure entre 5 et 15 jours (9 jours en moyenne) (Concannon 2011). A l'extrême, certaines chiennes peuvent avoir un œstrus de 1 à 2 jours ou un œstrus très prolongé entre 18 et 20 jours (Feldman et Nelson 2003).

La chienne va courtiser le mâle et adopter des positions d'accouplement (élévation du périnée à l'approche du mâle, et une pression sur le dos entraînant une tension des membres postérieurs et un déplacement de la queue sur le côté) (Feldman et Nelson 2003).

La vulve reste tuméfiée et gonflée pendant cette phase, mais devient plus flasque que pendant le proœstrus. Les pertes vulvaires sanguinolentes persistent généralement en début d'œstrus avant de devenir progressivement plus claire, rosée voire jaune (Robinson et Noakes 2019).

**L'œstradiol** continue à diminuer jusqu'à des valeurs intermédiaires entre 10 et 20 pg/ml. Au même moment, **la progestérone** sérique augmente rapidement au-dessus de 1-3 ng/ml au moment du pic de LH. Elle continue à augmenter rapidement pendant tout l'œstrus (Concannon 2011). C'est la diminution du rapport œstrogène sur progestérone qui serait à l'origine du comportement observé par la chienne pendant l'œstrus (Feldman et Nelson 2003).

Le pic de LH dure environ 24 à 60 heures (Hollinshead et Hanlon 2019), et induit l'ovulation pendant l'œstrus. L'ovulation a lieu en moyenne 2 jours après le pic de LH (Concannon 2011; Nishiyama et *al.*, 1999), entre 1 et 3 jours chez la plupart des chiennes (Feldman et Nelson 2003).

### c) Metoestrus

Le metoestrus succède directement l'œstrus et débute lorsque la chienne n'accepte plus l'accouplement. La vulve diminue et reprend le même aspect que pendant l'anœstrus.

Il s'agit de la phase lutéale post-œstrale, pendant laquelle les corps jaunes sont présents sur l'ovaire et sécrétant. La fin du metoestrus correspond au moment de la lutéolyse. Cette phase du cycle sexuel dure de 50 à 80 jours, 60 jours en moyenne (Concannon 2011).

La progestérone atteint un pic entre 15 et 80 ng/ml entre le 20ème et le 35ème jour du cycle avant de redescendre progressivement à une valeur basale inférieure à 1 ng/ml. L'œstradiol est à une valeur intermédiaire entre 15 et 30 pg/ml atteignant un pic au milieu de la phase lutéale avant de diminuer (Concannon 2011).

La progestérone entraîne une hypertrophie du tissu mammaire pendant cette période (Concannon 2011).

### d) Anœstrus

L'anœstrus est la période d'inactivité sexuelle et ovarienne qui dure au minimum 7 semaines, avec une moyenne entre 18 et 20 semaines. Les corps jaunes ont régressé, avec une progestérone à des valeurs basales (inférieures à 1-2 ng/ml) et une activité folliculaire à son minimum, avec des valeurs d'œstradiols basses (inférieures à 5-10pg/ml) (Concannon 2011).

Les sécrétions génitales sont rares et le col est fermé. Aucun comportement sexuel n'est observé.

A la fin de l'anœstrus, l'activité pulsatile de la GnRH augmente ainsi que la concentration en FSH qui stimule le début d'une nouvelle vague de croissance folliculaire en prévision du prochain œstrus (Robinson et Noakes 2019).

C'est également pendant cette période que le recrutement folliculaire commence, parallèlement à l'augmentation de FSH et associé à une augmentation des œstrogènes (environ 60 à 100 jours avant le pic de LH pré-ovulatoire) (England et *al.*, 2009).

*Tableau 1 : Bilan des changements morphologiques et comportementaux au cours du cycle sexuel de la chienne*

Phase du cycle	Durée (jours)	Manifestations principales
<b>Proœstrus</b>	9 jours en moyenne (5 jusqu'à 20)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gonflement de la vulve</li> <li>- Pertes vulvaires sanguinolentes</li> <li>- Attraction mais refus du mâle</li> </ul>
<b>Oœstrus</b>	9 jours en moyenne (5 jusqu'à 15)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Acceptation du mâle</li> <li>- Gonflement de la vulve</li> <li>- Vulve plus flasque</li> <li>- Pertes vulvaires sanguinolentes moins abondantes, absentes ou plus claire</li> </ul>
<b>Metoœstrus</b>	60 jours en moyenne (50 jusqu'à 80)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Arrêt de l'acceptation du mâle</li> <li>- Vulve non tuméfiée</li> </ul>
<b>Anoœstrus</b>	18 à 20 semaine en moyenne	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Absence de sécrétion vaginal</li> <li>- Repos sexuel</li> </ul>

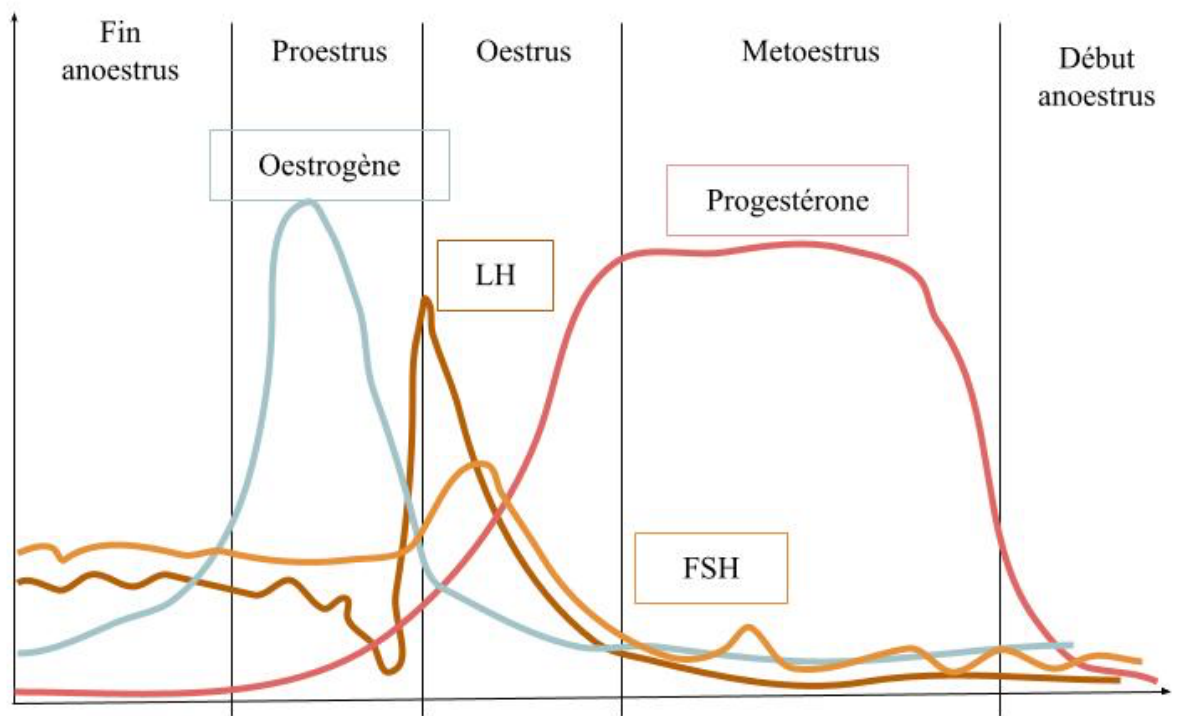


Figure 8 : Bilan schématique des variations hormonale au cours du cycle sexuel chez la chienne (@A. Tellier; Concannon 2011; Feldman et Nelson 2003)

## II. La progestérone, un outil intéressant parmi d'autre, dans le choix de la mise à la reproduction chez la chienne

### A. Période de fécondation et de fertilité chez la chienne

#### 1. La période de fécondation

La période de fécondation correspond au moment où des ovocytes matures, viables, sont présents dans les trompes utérines. Comme détaillé précédemment, l'ovulation a lieu environ 2 jours après le pic de LH et l'ovocyte subit une maturation d'environ 2 jours dans les oviductes.

Elle s'étend alors :

- De la fin de la maturation des ovocytes, 2 jours après l'ovulation, environ 4 jours après le pic de LH (Chastant-Maillard et *al.*, 2011).
- Jusqu'à la dégénérescence des ovocytes dans les trompes utérines. Chez la plupart des chiennes, les ovocytes matures survivent entre 1 et 3 jours après la fin de leur maturation, ce qui correspond au 4 et 7ème jour après le pic de LH (Concannon 2011; Reynaud et *al.*, 2015). Une baisse significative de la fécondité est observée à partir du 7ème jour post-ovulation, soit le 9ème jour après le pic de LH, et devient nulle au-delà du 10ème jour. Chez les chiennes qui présentent une période de fécondation plus longue qui peut aller jusqu'à 8 à 10 jours après le pic de LH, les chances d'obtenir une gestation avec une saillie naturelle sont moindres (Tsutsui et *al.*, 2009; Concannon 2011).
- De plus, la fermeture du col de l'utérus survient entre 5 et 6 jours après l'ovulation, empêchant la remontée des spermatozoïdes et la fécondation de l'ovocyte par saillie naturelle. Au-delà, malgré une baisse de la fécondité significative des ovocytes, la gestation reste encore possible jusqu'à 8 jours après l'ovulation par insémination intra-utérine. A ce moment les inséminations vaginales ont un taux de réussite de 10% et les inséminations intra-utérines de 60% (Tsutsui et *al.*, 2009; Verstegen et *al.*, 2001).



Ainsi, l'ovocyte est fécondable entre **2 et 4 à 5 jours après l'ovulation**, soit 4 et 6 à 7 jours après le pic de LH. Pour déterminer le moment de la mise à la reproduction, il est important de définir la période de fertilité (England et Concannon 2002).

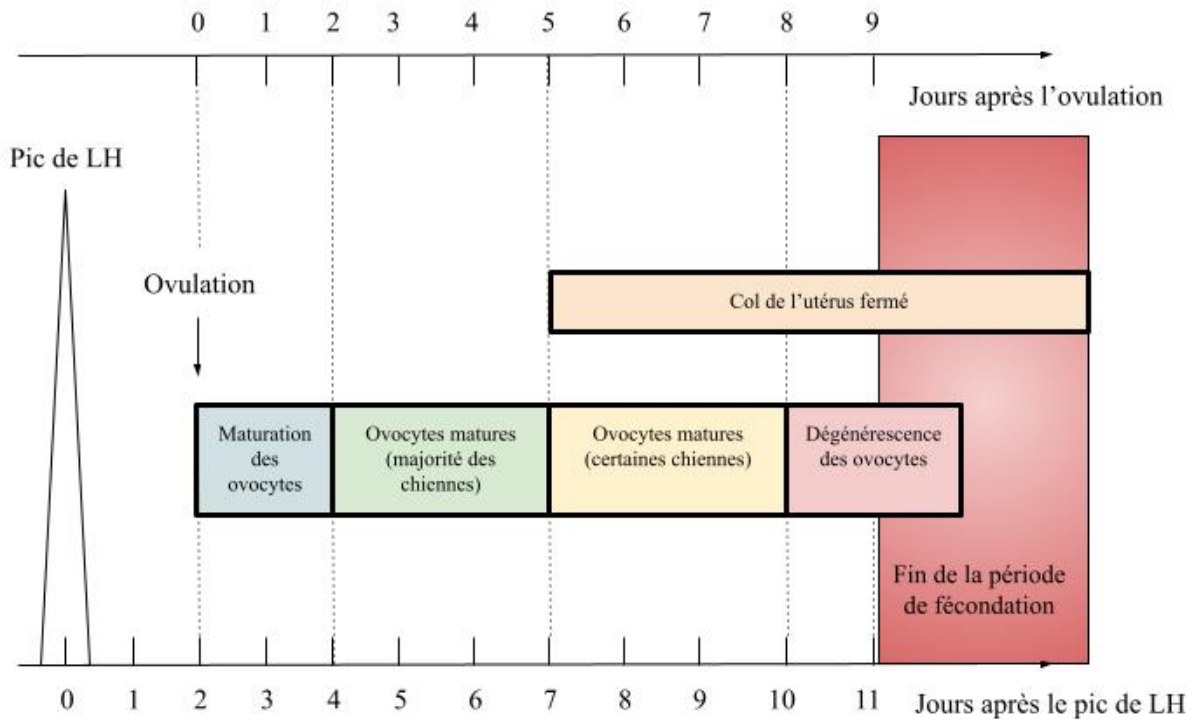


Figure 9 : Période de fécondité chez la chienne après l'ovulation et le pic de LH, en fonction de la maturation et survie des ovocyte et de l'ouverture du col de l'utérus. (@A. Tellier; England et Concannon 2002; Tsutsui et al. 2009; Concannon 2011; Chastant-Maillard et al., 2011)

## 2. La période de fertilité

La période de fertilité est la période pendant laquelle une saillie ou une insémination peut aboutir à une gestation. Elle prend en compte la période de fécondation définie précédemment mais également la survie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles.

C'est pendant cette période qu'il est conseillé de mettre à la reproduction la chienne (England et Concannon 2002).

### a) Période de fertilité, saillie naturelle et insémination en sperme frais

Les spermatozoïdes survivent entre 5 et 6 jours, jusqu'à 7 jours dans l'utérus (Concannon 2011). Les saillies 5 jours avant l'ovulation, soit 3 jours avant le pic de LH, sont donc souvent fertiles (Concannon 2011). Ainsi la période de fertilité se déroule de 3 jours avant le pic de LH, jusqu'à 7 jours après le pic de LH (soit 5 jours avant et après l'ovulation) (England et Concannon 2002). La survie est d'autant plus longue que la qualité de la semence est bonne (Concannon 2011; England et Concannon 2002).

Même si la période de fertilité maximale est relativement longue, il y aurait un pic de fertilité entre le jour du pic de LH et 6 jours après (soit de 2 jours avant l'ovulation jusqu'à 4 jours après) La mise à la reproduction pendant la période de fécondité reste tout de même idéale, jusqu'à 1 jour avant la fin de la maturation des ovocytes, pour permettre la capacitation des spermatozoïdes dans le tractus génital. La capacitation des spermatozoïdes chez le chien est estimée à 7 heures (Mahi et Yanagimachi 1976; England et Concannon 2002).

Ainsi le meilleur moment de la mise à la reproduction théorique est 4 jours après le pic de LH, quand l'ovocyte a terminé sa maturation (Linde-Forsberg 1991).

*Tableau 2 : Périodes de fertilité et de fécondité (England et Concannon 2002)*

	Jours par rapport au pic de LH	Jour par rapport à l'ovulation
Période de fertilité	-3 à +7	-5 à +5
Pic de fertilité	0 à +6	-2 à +4
Période de fécondation	+4 à +6	+2 à +4

## b) Sperme de mauvaise qualité, congelé ou réfrigéré

Les inséminations artificielles avec de la semence de mauvaise qualité ou en sperme réfrigéré ou congelé ont plus de chance de fonctionner après la fin de la maturation des ovocytes. En effet, la durée de survie des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles est diminuée. La semence réfrigérée a une durée de vie entre 2 et 4 jours et le sperme congelé de moins de 24 heures (Nishiyama *et al.*, 1999). Ainsi il est conseillé de réaliser les inséminations artificielles pendant la période de fécondité définie précédemment (II.A.1) (England et Concannon 2002).

## B. Méthodes pour déterminer le moment de la mise à la reproduction

Pour déterminer le moment de mise à la reproduction, il faut déterminer le moment du cycle œstral, mais aussi le moment de l'ovulation et estimer la période de fertilité.

### 1. Changements comportementaux et morphologiques

Le comportement de la chienne, l'aspect extérieur de la vulve et les écoulements vulvaires permettent de déterminer le moment du cycle sexuel. Seulement ils ne sont pas assez précis pour déterminer la période de fertilité ou de fécondation (Fontbonne 2008).

Les **écoulements vulvaires sanguinolents** permettent d'estimer le début du pro-oestrus. Seulement cette observation ne permet pas d'estimer le moment idéal de la mise à la reproduction (Goodman 2001). En effet, il existe plusieurs limites :

- Comme expliqué précédemment, les écoulements vulvaires sanguinolents pendant le pro-oestrus sont variables d'une chienne à l'autre. Ils peuvent être très discret et ne passés inaperçus.

- La durée du pro-oestrus est variable selon les chiennes, et peut s'étendre de 5 à 20 jours (Concannon 2011). Le début des pertes sanguines ne permet donc pas d'estimer le début de l'oestrus.
- Le moment de l'ovulation ne peut également pas être estimé à partir du début des pertes sanguines. En effet, les chiennes ovulent au plus tôt 5 jours après le début du pro-oestrus jusqu'à 30 jours après (England et Concannon 2002).

Le **comportement de la chienne** d'acceptation du mâle pourrait permettre de déterminer le début de l'oestrus. Seulement, il existe une grande variabilité selon les chiennes ce qui rend cette méthode peu fiable. Ce comportement peut se manifester de façon franche dès le début de l'oestrus, comme il peut se manifester de manière beaucoup plus discrète ou plus tardive. De plus, selon le mâle qui leur est présenté, les chiennes vont manifester plus ou moins de réceptivité, voire refuser le mâle ( England et Concannon 2002; Goodman 2001).

**L'aspect de la vulve** peut être un outil intéressant dans la détection du début de l'oestrus. En effet, l'imprégnation oestrogénique du pro-oestrus rend la vulve turgescente et ferme. La chute des œstrogènes en début d'oestrus rend la vulve flasque. Bien que l'aspect de la vulve permette de déterminer le début de l'oestrus, elle ne permet pas de déterminer avec fiabilité le moment de la mise à la reproduction. En effet, il existe une grande variabilité de la date de l'ovulation à partir du début de l'oestrus en fonction des chiennes, et en fonction des cycles pour une même chienne (England et Concannon 2002; Fontbonne 2008; Goodman 2001).

Ces signes sont donc insuffisants pour déterminer avec précision le moment de l'ovulation et donc le moment idéal de mise à la reproduction (Fontbonne 2008; Goodman 2001).

Il est alors nécessaire de combiner cette observation des signes extérieurs avec d'autres méthodes de suivi du cycle sexuel.

## 2. L'analyse cytologique vaginale

La cytologie vaginale consiste à récupérer des cellules exfoliées de l'épithélium vaginal, de les colorer et de les observer au microscope.

L'épithélium vaginal s'épaissit sous l'effet des œstrogènes et évolue donc au cours du cycle sexuel de la chienne. L'analyse cytologique vaginale est un marqueur indirect de la concentration en œstrogène et permet d'estimer le moment du cycle sexuel.

Cette technique, peu coûteuse et rapide, complète l'observation des signes morphologiques et comportementaux (Gogny et Fieni 2010; England et Concannon 2002; Goodman 2001).

### a) Technique et coloration

#### (1) Technique de prélèvement : le frottis vaginal

Il existe plusieurs techniques de prélèvements des cellules vaginales, qui se font à l'aide d'un coton-tige imbibé de solution saline (England et Concannon 2002).

Il est préférable de réaliser le prélèvement des cellules au niveau du vagin crânial, car les cellules de la fosse clitoridienne ne sont pas représentatives de la phase du cycle sexuel (Goodman 2001). Certains auteurs utilisent d'ailleurs un spéculum, qui permet d'éviter le contact avec la fosse clitoridienne, et de limiter les résultats erronés (Wright 1990; England et Concannon 2002).

La récupération des cellules vaginales peut également se faire sans spéculum dans le vagin crânial (Antonov 2017). Nous allons détailler cette technique, qui est celle utilisée dans notre étude et sur le terrain (Figure 10) :

- L'écouvillon, préalablement humidifié avec une solution saline, est inséré obliquement voire verticalement au niveau de la commissure supérieure de la vulve, permettant d'éviter la fosse clitoridienne qui se trouve en région ventrale juste en avant de la commissure inférieure des lèvres de la vulve.
- Il faut ensuite faire progresser verticalement l'écouvillon dans le vagin jusqu'à son plafond

- Lorsque la progression n'est plus possible, l'écouvillon est poussé horizontalement pour continuer la progression.
- Des mouvements de rotations sont réalisés avec l'écouvillon ainsi placé pour récupérer les cellules.
- L'écouvillon est sorti et roulé délicatement sur une lame de microscope en plusieurs bandes longitudinales (Gogny et Fieni 2010).

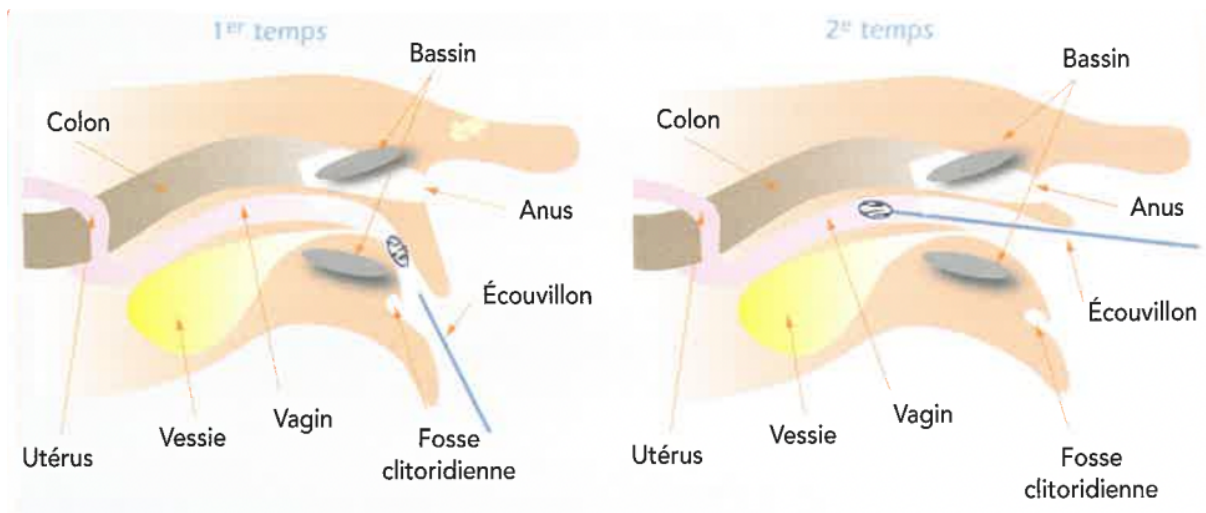


Figure 10 : Réalisation du frottis vaginal (Gogny et Fieni 2010)

## (2) Colorations

Les deux colorations les plus utilisées sont le May-Grünwald et Giemsa simplifiée et la coloration de Harris Shorr.

- La coloration de May-Grünwald et Giemsa (rose à violette) est rapide à réaliser (quelques secondes). Elle permet de bien visualiser les polynucléaires neutrophiles, et de différencier la morphologie des cellules de l'épithélium vaginal.
- La coloration de Harris Shorr (orange et bleue) est plus longue à réaliser (10 à 15 minutes). Elle permet de mieux différencier les cellules de l'épithélium vaginal et de déterminer l'index éosinophile (voir définition dans II.B.2.b)(2)) (Gogny et Fieni 2010).

L'observation des cellules se fait au microscope optique à un grossissement 100x à 400x (Antonov 2017).

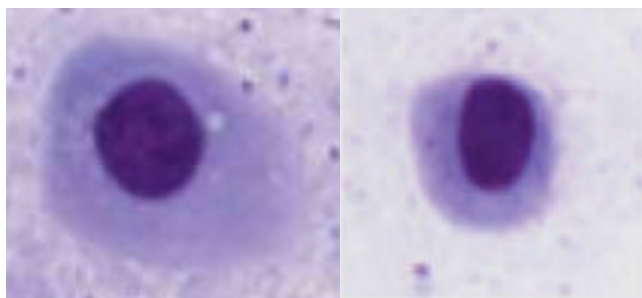
## b) Interprétation

### (1) Les cellules de l'épithélium vaginale

L'épithélium vaginal s'épaissit sous l'effet des œstrogènes. Il passe de quelques couches de cellules épithéliales à 20 à 30 cellules d'épaisseur. Plus les cellules s'éloignent de la membrane basale, plus elles s'éloignent de l'irrigation sanguine, plus elles vont entrer dans un mécanisme de mort cellulaire. Les cellules de l'épithélium vaginal, observables à la cytologie vaginale sont les suivantes :

#### - Les cellules parabasales :

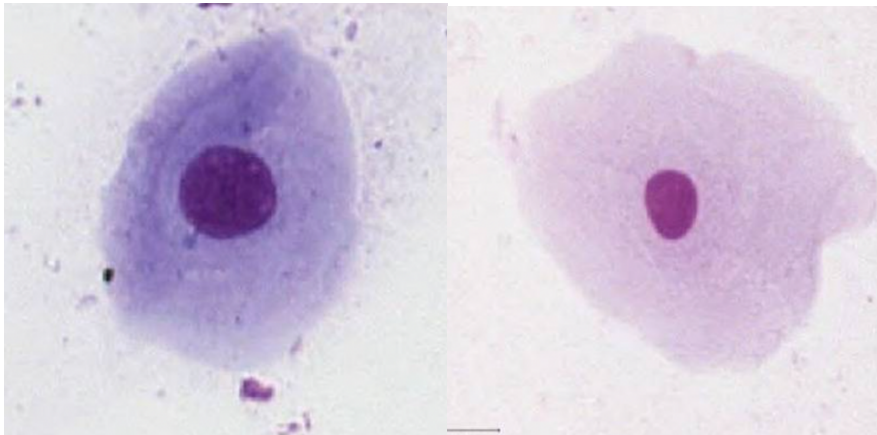
Ce sont les plus "vivantes" observables à la cytologie vaginale et les plus proches de la couche de cellules germinales. Elles sont petites, rondes ou ovales avec un contour cytoplasmique lisse et un rapport nucléo-cytoplasmique élevé (Figure 11).



*Figure 11 : Cellules parabasales de l'épithélium vaginal de chienne au microscope optique (coloration May-Grünwald et Giemsa). (Reckers et al., 2022)*

#### - Cellules intermédiaires :

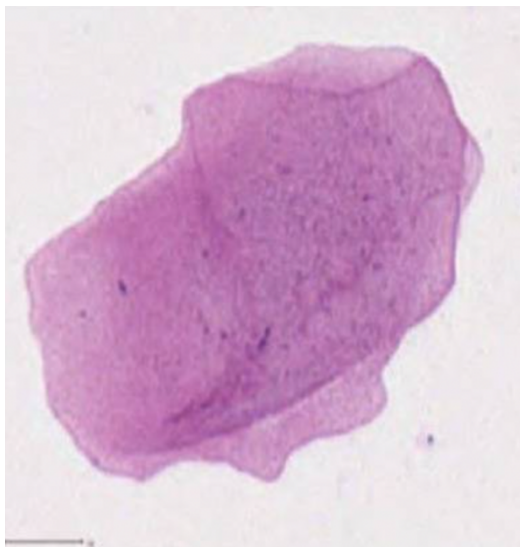
Ces cellules sont issues de la mort progressive des cellules parabasales. Elles sont de plus grande taille que les cellules parabasales et présentent un rapport nucléo-cytoplasmique plus faible. Elles peuvent être de plus ou moins grande taille et il est possible de distinguer des petites et des grandes cellules intermédiaires (Figure 12).



*Figure 12 : Petite et grande cellule intermédiaire de l'épithélium vaginal de chienne au microscope optique (coloration May-Grünwald et Giemsa). (Reckers et al., 2022)*

**- Cellules superficielles :**

Ce sont des cellules mortes issues des deux types de cellules décrites précédemment. Ce sont les cellules les plus grandes du frottis vaginal. Elles ont des contours anguleux, avec un petit noyau pycnotique. A un stade moins avancé de mort cellulaire, elles peuvent encore présenter un noyau vésiculeux. Au stade le plus avancé de la mort cellulaire, elles deviennent des cellules au contour anguleux, kératinisés, et sont dépourvues de noyaux, aussi appelés squames anucléées (Figure 13) (Feldman et Nelson 2003; Antonov 2017).



*Figure 13 : Cellules superficielles de l'épithélium vaginal de chienne au microscope optique. (coloration May-Grünwald et Giemsa). (Reckers et al., 2022)*

Il est également possible de voir sur la cytologie vaginale des polynucléaires neutrophiles, des globules rouges et des bactéries (Antonov 2017) .



## (2) Variations selon les phases du cycle sexuel

La muqueuse vaginale évolue au cours du cycle sexuel, sous l'effet des variations de la concentration en œstrogène sérique. Les cellules épithéliales vaginales vont proliférer et la présence de cellules vaginales en mort cellulaire va augmenter parallèlement à l'augmentation en œstrogène. (Feldman et Nelson 2003)

### - **Proestrus :**

Au début du proestrus, le frottis vaginal est assez semblable à celui observé pendant le metoestrus avec une majorité de cellules parabasales et intermédiaires (grandes ou petites). Des érythrocytes sont présents en quantité variable selon les chiennes, en lien avec le début des pertes sanguines. Le fond du frottis est sale, par la présence de sécrétions cervicales et vaginales visqueuses.

Au milieu du proestrus, l'épithélium vaginal continue à s'épaissir. Les polynucléaires neutrophiles disparaissent, puisqu'ils ne peuvent plus traverser l'épithélium. Le nombre de cellules superficielles augmente parallèlement à la diminution du nombre de cellules parabasales et intermédiaires. Les érythrocytes continuent à apparaître.

A la fin du proestrus, la cytologie vaginale devient semblable à celle observée en oestrus avec 80% de cellules superficielles. La quantité d'érythrocytes est variable selon les chiennes et le fond devient propre (Feldman et Nelson 2003).

### - **Œstrus :**

Comme à la toute fin du proestrus, plus de 80% de cellules superficielles sont observées sur le frottis vaginal et elles sont regroupées en placard. Les polynucléaires sont absents et d'éventuels érythrocytes sont encore présents. Le fond du frottis est propre (Feldman et Nelson 2003).

### - **Metoestrus :**

L'épithélium vaginal se désépaissit. Les cellules superficielles diminuent rapidement au début du metoestrus (20% dans les 24-48 heures) et une majorité de cellules intermédiaires ou parabasales est présente. Les polynucléaires réapparaissent de nouveau (Feldman et Nelson 2003).

- **Anoestrus :**

Le frottis vaginal est pauvre en cellule et montre majoritairement des cellules parabasales. Des cellules intermédiaires et de possibles polynucléaires neutrophiles peuvent être observés. Les érythrocytes sont absents. Le fond du frottis est plutôt sale. (Feldman et Nelson 2003).

L'**index éosinophilique** correspond au pourcentage de cellules acidophiles sur le nombre total de cellules du frottis. Il permet de compléter le type de cellules ou l'aspect du fond du frottis. Les cellules acidophiles prennent un aspect orangé, contrairement aux cellules basophiles qui vont être colorées en bleu avec la coloration Harris Schorr. Il varie au cours du cycle sexuel (Tableau 3) (Gogny et Fieni 2010).

*Tableau 3 : Analyse cytologique vaginale au cours du cycle œstral de la chienne*

Type de cellule	Proestrus		Œstrus	Metoestrus	Anoestrus
	Début	Avancé			
Parabasale	+++	+	-	+	+
Intermédiaire	+++	+	-	+	+/-
Superficielle	-	++	+++	-	-
Érythrocytes	+	++	+/-	-	-
Polynucléaires neutrophiles	+/- -	-	-	+	+/-
Index éosinophilique	30%	70%	>80-90%	<20%	10%

Bien que facile d'utilisation, la cytologie vaginale ne permet pas de préciser le moment du pic de LH, l'ovulation ou la période de fertilité. De plus, il existe une grande variabilité de l'interprétation des lames entre les observateurs. Cela n'en fait pas une méthode fiable seule (England et Concannon 2002; Arlt 2018).

### 3. Déterminer le pic de LH

Déterminer le moment du pic de LH a longtemps été considéré comme la méthode de référence pour déterminer le moment de l'ovulation. En effet, il s'agirait de la méthode la plus fiable pour déterminer le moment de l'ovulation qui a lieu environ 2 jours après le pic de LH (Concannon 2011).

Seulement cette méthode présente de nombreuses limites pratiques :

- La méthode de référence est le dosage radio-immunologique. Cette méthode présente de nombreux inconvénients de par l'utilisation des radio-isotopes : elle est chère, techniquement difficile, dangereuse pour le personnel, longue et requiert des réactifs peu disponibles. Ainsi, elle n'est pas disponible dans tous les pays (Hollinshead et Hanlon 2019).
- Il est nécessaire de réaliser des dosages au moins quotidiennement, puisque le pic de LH ne dure que 24 à 60 heures environ pour ne pas le louper (Hollinshead et Hanlon 2019). Il est même parfois nécessaire de réaliser 2 dosages quotidiens (Fontbonne 2008). Ainsi cette méthode est très contraignante pour le propriétaire et pour l'animal.
- Des kits de dosages ELISA semi-quantitatifs pour déterminer le pic de LH existent et donneraient des résultats similaires au dosage radio-immunologique (Nishiyama et *al.*, 1999). Il permettrait ainsi de se détacher des nombreuses contraintes du dosage radio-immunologique. Seulement, ils ne permettent pas de réaliser des dosages moins fréquents, leur durée de conservation est limitée dans le temps et ils ne sont pas disponibles dans tous les pays. Ils nécessitent d'être utilisés quotidiennement pour ne pas louper le pic de LH (Nishiyama et *al.*, 1999; Hollinshead et Hanlon 2019).
- Certains auteurs rapportent une variation importante entre le pic de LH pré-ovulatoire et le moment de l'ovulation. Ce qui peut faire penser qu'il serait plus intéressant de déterminer directement le moment de l'ovulation que le pic de LH (Hollinshead et Hanlon 2019; de Gier et *al.*, 2006).

## 4. La progestérone

La concentration sanguine en progestérone est utilisée pour estimer le moment de l'ovulation chez la chienne.

Un des avantages du dosage de la progestérone par rapport au dosage de la LH est qu'il n'est pas nécessaire de réaliser des dosages quotidiens. L'augmentation progressive de la progestérone rend des dosages tous les 2 à 3 jours suffisants pour déterminer le moment de l'ovulation et la période de fécondation (England et Concannon 2002).

### a) Méthodes de dosage de la progestérone sanguine

Il existe plusieurs techniques disponibles pour mesurer la concentration de progestérone sanguine chez la chienne, comme le dosage radio-immunologique, le dosage immuno-enzymatique et le dosage chimio-luminescent (Gloria et *al.*, 2018).

#### (1) Principe général du dosage immunologique par compétition

Les différentes méthodes de dosages sont des dosages de type immunologique. Ils reposent sur l'interaction entre un antigène (la progestérone) et un anticorps spécifique. Cette dernière est ensuite révélée et quantifiée par un traceur qui peut être un radioisotope (dosage radio-immunologique), une enzyme (dosage immuno-enzymatique) ou un fluorochrome (Association des collègues des enseignants d'immunologie des universités de langue française 2014).

Le dosage de la progestérone se fait par dosage immunologique par compétition. En effet, le faible poids moléculaire et la faible concentration de la progestérone dans le sérum, font du dosage par compétition la méthode de choix.

Dans cette méthode, la progestérone à doser est mise en compétition avec une hormone. Cette dernière étant choisie suivant la caractéristique suivante : sa capacité à se fixer sur le même anticorps que la progestérone, de manière compétitive. La réaction est quantifiée grâce au traceur. Ainsi dans la réaction, il y a (Figure 14) :

- La progestérone que l'on souhaite doser
- Une hormone marquée par un traceur, en concentration connue
- Des anticorps avec des récepteurs spécifiques de la progestérone et de l'hormone marquée

A l'équilibre, on obtient :

- La progestérone et l'hormone marquées fixées aux anticorps
- Une partie libre avec la progestérone et l'hormone marquée non fixée

Le degré d'inhibition de la fixation de l'hormone marquée par la progestérone est proportionnel à la concentration de la progestérone. Une courbe d'étalonnage est établie pour des valeurs de progestérone connues et permet alors de calculer la valeur de progestérone dans une solution donnée (Hakan 2008; Ververidis et *al.*, 2002).

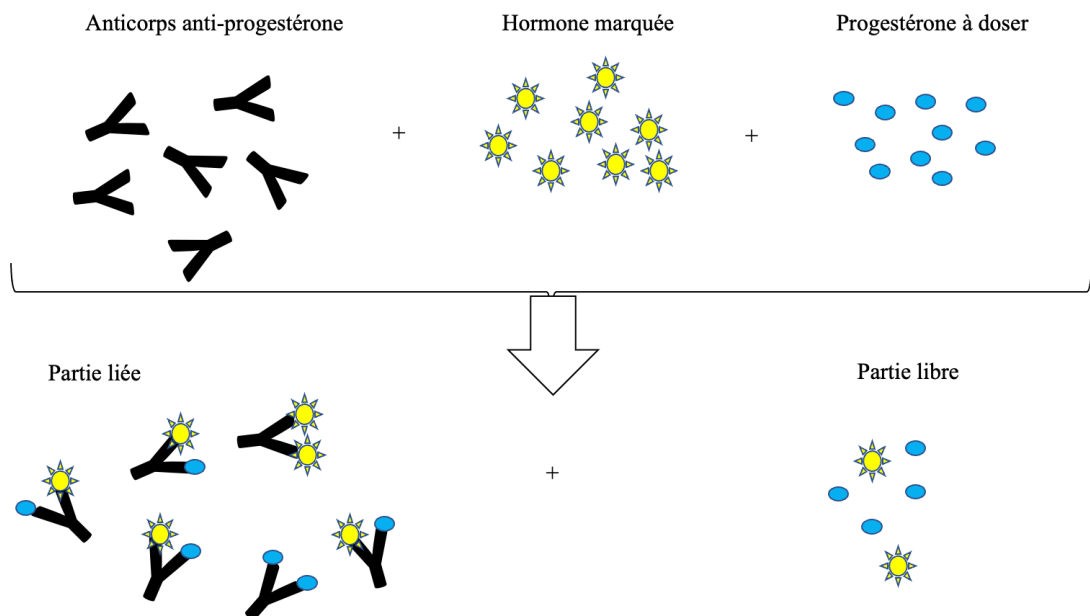


Figure 14 : Principe général du dosage immunologique compétitif (@A.Tellier; Hakan 2008)

## (2) Dosage radio-immunologique

Ce type de dosage est considéré comme la méthode de référence pour mesurer la concentration en progestérone sanguine.

Il s'agit d'un dosage radio-immunologique par compétition, dont le fonctionnement général a été décrit précédemment. Le traceur utilisé est un radio-isotope. La mesure de la radioactivité permet de quantifier la réaction.

Cette technique présente de nombreux inconvénients, notamment par l'utilisation de radio-isotopes. En effet, les ces derniers ont une stabilité limitée dans le temps, ils doivent être manipulés par un personnel compétent, la gestion de leur déchet est compliquée. De plus, l'analyse est coûteuse, longue et est généralement réalisée dans des laboratoires extérieurs et n'est pas réalisable tous les jours (Hakan 2008; Gloria *et al.*, 2018; Moxon, Copley, et England 2010).

Les autres types de marquages ont été développés, qui ne présentent pas tous ces inconvénients, comme les enzymes et les fluorogènes chimiluminescents (Hakan 2008).

## (3) Dosage immuno-enzymatique

Le dosage ELISA (Enzyme-linked ImmunoSorbent Assay) ou EIA (Enzyme Immuno Assay) est utilisé pour les dosages de la progestérone. Il existe plusieurs méthodes d'ELISA mais celle de choix pour la progestérone est l'ELISA compétitif, dont la méthode générale a été décrite précédemment.

Il diffère du dosage radio-immunologique par l'utilisation d'une enzyme pour révéler la réaction plutôt que les radio-isotopes. Il existe une variante du dosage ELISA, le FLISA (Fluorescence-Linked ImmunoSorbent Assay), dans laquelle un fluorochrome est utilisé pour révéler la réaction (Association des collègues des enseignants d'immunologie des universités de langue française 2014; Hakan 2008).

Les dosages ELISA peuvent donner des résultats quantitatifs, comme le dosage radio-immunologique ou semi-quantitatif et qualitatif. Ils peuvent être tout aussi sensible et précis que le dosage radio-immunologique sans présenter les inconvénients des radio-isotopes (Hakan 2008).

#### (4) Dosage immuno-enzymatique quantitatif

Le dosage ELISA compétitif quantitatif donne une valeur chiffrée de la concentration en progestérone.

Comme pour le dosage radio-immunologique, l'ELISA quantitatif se déroule de la façon suivante (Figure 15) :

- Le sérum avec la progestérone est mis dans les puits qui contiennent les anticorps spécifiques
- Le conjugué avec les hormones liées à une enzyme est ajouté
- Après lavage, un substrat et des chromogènes sont ajoutés. La réaction enzymatique se fait à ce moment-là. Ce sont les chromogènes qui sont à l'origine de la formation d'une couleur (proportionnelle à la quantité d'enzymes).
- La mesure de l'absorbance permet de quantifier la réaction enzymatique qui est inversement proportionnelle à la concentration en progestérone (Ververidis et al., 2002; Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française 2014).

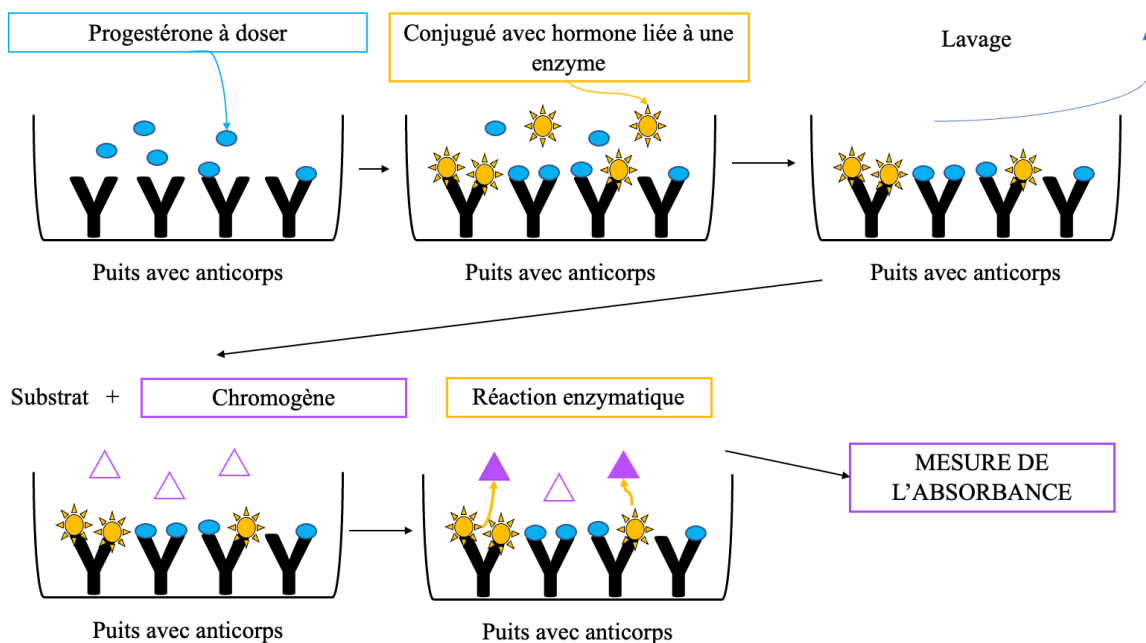


Figure 15 : Principe général du dosage ELISA compétitif quantitatif de la progestérone (@A. Tellier; Ververidis et al. 2002)

Comme pour le dosage radio-immunologique, une courbe d'étalonnage avec des valeurs de concentration connue de la progestérone est nécessaire (Figure 16).

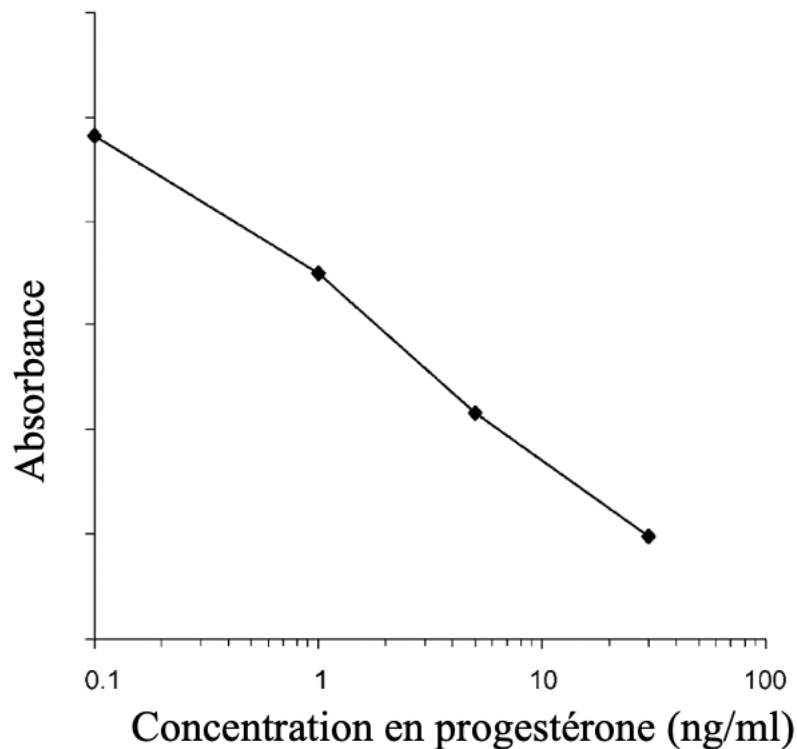


Figure 16 : Exemple de courbe d'étalonnage pour l'ELISA par compétition (Ververidis et al., 2002)

Il existe maintenant des automates à disposition des cliniques qui utilisent cette méthode de dosage comme par exemple le Catalyste Progestérone de Idexx®. Ils permettent de réaliser les analyses sur place avec un résultat rapide et moins onéreux.

### (5) Dosage immuno-enzymatique semi-quantitatif ou qualitatif

Les ELISA semi-quantitatifs et qualitatifs sont vendus pour l'utilisation rapide en clinique vétérinaire. Ils sont une alternative peu chère et facile d'utilisation (Moxon, Copley, et England 2010). Plusieurs kits de test ELISA quantitatifs sont vendus aux vétérinaires, comme le test Ovucheck de Biovet® ou l'ovulation test de Virbac®.



Il fonctionne comme les ELISA quantitatif, sauf que la mesure est faite à l'œil nu, en fonction de la couleur observée et des couleurs de l'étalonnage.

Ils peuvent avoir un intérêt pratique, et être suffisant pour déterminer le moment de l'accouplement. Seulement il n'affiche pas de valeur chiffrée de la progestérone (Arbeiter et al., 1991; Moxon et al., 2010).

Tableau 4 : Exemple d'interprétation d'un test ELISA semi-quantitatif, Ovulation test Virbac®

**■ INTERPRETATION DES RESULTATS:**

Les couleurs du test correspondent aux niveaux de progestérone.

Couleurs	Concentration de progestérone correspondante	Recommandations*
C1 Bleu vif	0 à 1 ng/ml	Niveau de base de la progestérone. Effectuer un nouveau test toutes les 48 heures jusqu'à obtention d'un résultat C2 (Bleu clair).
C2 Bleu clair	1 à 2,5 ng/ml	L'augmentation du taux de progestérone a débuté. Effectuer un nouveau test toutes les 24 heures jusqu'à l'obtention d'un résultat C3 (Bleu pâle).
C3 Bleu pâle	2,5 à 8 ng/ml	Correspond à la période d'ovulation. Saillir ou inséminer 2 fois entre 1 à 3 jours plus tard. Avec du sperme congelé, inséminer dans 1, 3 et 5 jours.
C4 Blanc	> 8 ng/ml	Saillir ou inséminer immédiatement. Attention, vous pouvez vous trouver en fin de période fertile.

(6) Dosage immuno-fluorescent : le mini Vidas®, un exemple d'automate à disposition des vétérinaires

Les dosages immuno-fluorescent sont des variantes du dosage ELISA. Ils utilisent un fluorochrome pour quantifier la réaction.

L'automate mini-vidas de Biomérieux® mesure par dosage immuno-fluoro-enzymatique. La méthode de dosage combine un dosage immuno-enzymatique compétitif, avec une détection par fluorescence.

Dans les réceptacles solides, se trouve des anticorps monoclonaux sur lesquels la progestérone contenue dans le plasma va venir se fixer. Les éléments non fixés vont être éliminés pendant les phases de lavages successifs.

Le conjugué est ensuite ajouté dans le réceptacle et va venir saturer le reste des anticorps libres. Le conjugué est un dérivé de la progestérone marqué par une phosphatase alcaline. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage. Puis la phosphatase alcaline hydrolyse le substrat en un produit fluorescent. La mesure de la fluorescence est inversement proportionnelle à la progestérone contenue dans l'échantillon. La mesure de la progestérone se fait à partir d'une courbe d'étalonnage comme les autres dosages décrits. Une calibration doit se faire tous les 14 jours. Les résultats sont donnés en ng/ml de 0,25 à 80 ng/ml en 45 minutes à partir de 200 microlitres de plasma (Brugger et *al.*, 2011).

La précision du dosage a été mesurée. Les variances intra-dosage sont répertoriées dans le tableau suivant (Tableau 5). Elles correspondent aux coefficients de variation des mesures d'un même échantillon au cours de la même série de dosage. Les variances intra-dosage varient de 3,1 à 25,4%. Elles sont assez faibles pour les concentrations de 6,8 à 61,8 ng/ml mais élevé pour une concentration de 1,1ng/ml. Les variance inter-dosage, c'est-à-dire pour un même échantillon sur plusieurs séries différentes, vont de 2,1 à 4,3%.

*Tableau 5 : Variance intra-dosage du Mini Vidas Biomérieux® pour les dosages de la progestérone chez la chienne (Brugger et al., 2011)*

Table 2. Within-run (intra-assay)

Sample	1	2	3	4	5
Mean value	1.1	6.8	43.7	51.4	61.8
CV%	25.4	6.6	3.1	2.6	3.4

Par rapport au dosage radio-immunologique, le mini-Vidas donne des valeurs proches du dosage radio-immunologique, avec une tendance à donner des valeurs plus hautes. Seulement en dessous de 2 ng/mL, la différence avec le dosage radio-immunologique devient plus importante.

Ainsi, cet automate a une bonne précision et est exactement au-dessus des valeurs de 2ng/ml (Brugger et *al.*, 2011).

D'autres méthodes de dosages existent, comme le dosage chemiluminescent. Celui-ci est également disponible pour les vétérinaires avec l'automate Progesterone II, Roche diagnostic®.

## b) Interprétation

La progestérone est un marqueur intéressant pour déterminer le moment de l'ovulation. En effet, la valeur de la progestérone au moment de l'ovulation varie peu en fonction des chiennes (Chastant-Maillard et *al.*, 2011).

Chez la chienne, les follicules subissent une pré-lutéinisation avant l'ovulation. La progestérone commence alors à augmenter avant l'ovulation. Cette augmentation pré-ovulatoire de la progestérone se déroule pendant et après le pic de LH, soit 2 jours avant l'ovulation. Après l'ovulation, la progestérone augmente rapidement jusqu'à un pic, 20 à 30 jours plus tard, avant de commencer à décliner (England et Concannon 2002; Feldman et Nelson 2003).

Le dosage de la progestérone sanguine doit être couplé avec d'autres méthodes de suivi du cycle (notamment avec les frottis vaginaux qui confirment l'œstrus). Certains auteurs suggèrent de commencer les dosages de progestérone à partir de plus de 50% de cellules superficielles sur le frottis vaginal voire au-delà de 70% (Arlt 2018), c'est-à-dire à partir de 9 à 10 jours après le début du proestrus.

### (1) Déterminer le moment de l'ovulation et décider d'une mise à la reproduction

Les dosages de la progestérone permettent de déterminer le moment du pic de LH ou le moment de l'ovulation. Ensuite la mise à la reproduction peut être décidée en fonction de la période de fécondation et la méthode d'insémination (sperme frais, réfrigéré ou congelé, II.A)

Les valeurs de la progestérone au moment de l'ovulation ont été estimées par rapport au pic de LH ou en association avec l'échographie ovarienne dans de très nombreuses études.

Le pic de LH a lieu dès que la progestérone dépasse 2 ng/ml. L'insémination doit avoir lieu environ 4 à 6 jours après (England et Concannon 2002; Hollinshead et Hanlon 2019).

Le moment de l'ovulation aurait lieu entre environ 3 et 10 ng/ml, avec des variations importantes en fonction des études (Hollinshead et Hanlon 2019; Wright 1990; Silva, Onclin, et Verstegen 1996; Fontbonne 2008). L'ovulation aurait lieu aux alentours de 6 ng/ml (Reynaud et *al.*, 2006). En pratique, on considère généralement que l'ovulation a lieu dès que la progestérone sanguine dépasse les 5 ng/ml et que l'ovocyte est mature et fécondable au-dessus de 8 à 10 ng/ml (England et Concannon 2002; Gloria et *al.*, 2018; Concannon 2011; Linde-Forsberg 1991; Hollinshead et Hanlon 2019).

Pour les inséminations avec du sperme congelé, il est conseillé d'inséminer tardivement au cours de l'œstrus, à des valeurs entre 10 et 25 ng/ml (Linde-Forsberg 1991).

Il existe des variations entre les laboratoires pour les mêmes méthodes de dosage et entre les différentes méthodes de dosage. Cela pourrait expliquer la variation importante des résultats entre les différentes études. La comparaison et l'interprétation entre différentes méthodes doit donc être modulée. La décision de l'insémination doit être décidée en fonction des valeurs de référence de la méthode de dosage et du laboratoire choisi (Hollinshead et Hanlon 2019; Gloria et *al.*, 2018; Arlt 2018).

Avec le miniVidas®, de bons résultats sont obtenus avec des inséminations à partir de 8 et 10 ng/ml, voire au-dessus de 10 ng/ml (Schreck 2020).

Au-delà de 25 ng/ml, ce serait la fin de la période de fécondité (England 2010). Seulement, si une chienne est présentée tardivement pendant ses chaleurs, quelles que soient les valeurs de la progestérone, il est conseillé de tenter une mise à la reproduction pour éviter d'attendre les 6 mois avant le nouveau cycle (Linde-Forsberg 1991). De plus, il a été mis en évidence des taux de gestation similaires entre des chiennes inséminées entre 10 et 25 ng/ml et 25 et 50 ng/ml qui remet en question une réelle baisse de la fertilité au-dessus de 25 ng/ml (Schreck 2020). Ainsi, si une chienne est présentée tardivement, il est nécessaire de vérifier par cytologie vaginale qu'elle est toujours en œstrus avec absence de polynucléaires neutrophiles (PNN), et il est possible de réaliser une insémination artificielle quel que soit la valeur de la progestéronémie.

## (2) Existe-il une variation de la progestérone selon les chiennes ?

Le dosage de la progestérone est une méthode fiable. Pour une même méthode de dosage, il n'existe pas de différence significative des valeurs absolues de la progestérone entre les chiennes, quel que soit leur race, leur âge ou leur poids au moment du pic de LH et au moment de l'ovulation (Fontbonne 2008). Cette étude prospective réalisée sur 1300 chiennes et 1420 cycles œstraux le montre (Hollinshead et Hanlon 2019).

Les valeurs de la progestérone plasmatique pendant la phase lutéale ne varient pas en fonction de l'âge et du poids des chiennes et ne semblent pas être influencées par le nombre de corps jaunes (Marinelli et al., 2009).

Le taux d'augmentation de la progestérone après le pic de LH varie de façon significative entre les chiennes (Schreck 2020), et pourrait être corrélé à leur poids. Dans cette étude de 63 chiennes, une différence significative entre le poids des chiennes et la vitesse d'augmentation de la progestérone autour de l'ovulation a été mise en évidence. Les chiennes de petit format (<9 kg) ont une croissance de la progestérone plus rapide que les chiennes de grand format (>40 kg). Seulement, cette étude n'est que sur 63 chiennes et un nombre de races limité (19 races) (Kutzler et al., 2003). Contrairement à cette étude, aucune différence entre les chiennes de différents formats n'a été mise en évidence par Hollinshead et Hanlon (Hollinshead et Hanlon 2019).

Cette différence d'augmentation du taux de la progestérone ne semble pas influencer le taux de gestation ou sur la taille de la portée (Schreck 2020), sauf en cas d'insémination en sperme congelé. Il a été observé que les chiennes qui présentent un taux d'augmentation de la progestérone plus lent après le pic de LH, ont une taille de portée significativement plus petite que les chiennes qui présentent un taux de croissance de la progestérone rapide (Hollinshead et Hanlon 2019).

La vitesse d'augmentation de la progestérone après le pic de LH pourrait peut-être être influencée par le nombre de follicules ovulatoires et de corps jaunes. En effet, nous pourrions penser que plus le nombre de corps jaunes est important, plus la production de progestérone est rapide. Les arguments en faveur de cette hypothèse sont :

- La présence de portées plus petites chez les chiennes avec un taux d'augmentation de la progestérone plus lent (Hollinshead et Hanlon 2019).

- La différence significative entre les croissances de la progestérone entre les chiennes de format différents. Selon le format et la race de la chienne, le nombre de follicule ovulatoire varie (Kutzler et *al.*, 2003). Seulement, ce sont les chiennes de grand format qui ont un taux d'ovulation plus important que les chiennes de petits formats. Mais cette étude ne prend pas en compte l'âge des chiennes, qui est également un facteur de variation du nombre de follicules ovulatoires (Marinelli et *al.*, 2009).
- La corrélation entre le taux d'ovulation et la concentration en progestérone pendant l'œstrus chez d'autres espèces comme le porc. Un taux d'ovulation plus élevé, avec un nombre de corps jaune plus important aboutit à des concentrations en progestérone circulante plus élevée pendant le metoestrus chez le porc, après l'ovulation (Guthrie et *al.*, 1974). Dans l'article suivant, chez les cochettes, on ne retrouve pas cette différence au moment de l'œstrus mais au milieu et à la fin de phase lutéale (Knox et *al.*, 2003).

La vitesse d'ovulation des follicules à l'échographie, qu'ils ovulent tous simultanément ou plus longtemps dans le temps, ne semble également pas influencer sur la progestérone au moment de l'ovulation (Domosławska et *al.*, 2014).

La taille des follicules n'influe pas sur la concentration en progestérone intra-folliculaire avant et après le pic de LH. Il n'y a pas de corrélation entre la production de progestérone intra-folliculaire et la progestérone plasmatique avec la taille des chiennes (Reynaud et *al.*, 2010).

Il n'existe aucune étude qui étudie la corrélation de la vitesse de croissance de la progestérone et le nombre de follicules ovulatoire et de corps jaune pendant après l'ovulation.

## 5. L'échographie ovarienne

L'échographie ovarienne est une méthode non invasive qui permet d'estimer le moment de l'ovulation. Elle permet d'observer la croissance folliculaire et leur transformation en corps jaunes.

### a) Technique de l'échographie ovarienne et ses difficultés

Pour la réalisation d'une échographie ovarienne, la chienne peut être placée en décubitus sternal ou dorsal, vigile, avec éventuellement une tonte des poils abdominaux (Renton *et al.*, 1992; Wallace *et al.*, 1992; Fontbonne 2008; Tsuchida *et al.*, 2022). L'examen dure environ 20 minutes (Fontbonne 2008).

L'échographie ovarienne en mode bi-dimensionnelle est généralement réalisée avec des sondes linéaires. La fréquence de la sonde doit être élevée et d'au minimum 7,5 Mhz du fait de la proximité anatomique des ovaires et de la peau (Renton *et al.*, 1992; Wallace *et al.*, 1992; Fontbonne 2008). Certains auteurs utilisent même des sondes de fréquence beaucoup plus élevée de 18 Mhz (Tsuchida *et al.*, 2022).

Les ovaires, à l'échographie, sont visibles au pôle caudal des reins. Il est important de balayer cette zone médialement et latéralement en coupe sagittale, puisque les ovaires peuvent se trouver caudo-médiale ou latéro-médiale au pôle caudale du rein. Leur localisation est légèrement variable d'une chienne à l'autre mais également variable d'un jour à l'autre chez une même chienne (Wallace *et al.*, 1992). L'ovaire droit peut être plus difficile à observer, par sa proximité avec les intestins. Cette difficulté peut être surmonté en plaçant la chienne debout (Fontbonne 2008).

Il est également plus difficile d'observer les ovaires chez les chiennes de grand format, en embonpoint, ou qui halètent (Fontbonne 2008; England *et al.*, 2009; Wallace *et al.*, 1992).

Les ovaires chez la chienne en anœstrus sont des structures ovoïdes d'échogénicité semblable ou légèrement plus échogène que celle du cortex rénal (Renton *et al.*, 1992; Wallace *et al.*, 1992).

## b) L'évolution des ovaires au cours du cycle sexuel, et utilisation

L'échographie des ovaires, en mode bidimensionnel, est un outil intéressant dans le suivi de l'œstrus et pour déterminer le moment de l'ovulation. Elle permet de suivre la croissance folliculaire et de détecter le moment de l'ovulation. Elle doit être au minimum réalisée quotidiennement (Hollinshead et Hanlon 2019).

### (1) Les follicules avant l'ovulation

Les follicules apparaissent, au sein du stroma ovarien échogène, comme des structures rondes anéchogènes (Fontbonne 2008; Renton *et al.*, 1992).

A la fin de l'anœstrus, environ 60 à 100 jours avant le pic de LH, des follicules de petite taille commencent à être visualisés. C'est le début de la phase de croissance folliculaire (England *et al.*, 2009).

Ils augmentent en taille au cours du pro-œstrus, de 2 à 3 mm jusqu'à 7 à 10 mm avant l'ovulation (England et Concannon 2002). Au début du pro-œstrus, jusqu'à 2 à 3 jours avant l'ovulation, les follicules présentent une paroi fine (Figure 17) (Le Fresne 2010).

Deux à trois jours avant l'ovulation, les follicules apparaissent comme des structures anéchogènes, remplis de liquide avec une paroi épaisse, au sein du stroma ovarien. L'épaississement de la paroi juste quelques jours avant l'ovulation est probablement en lien

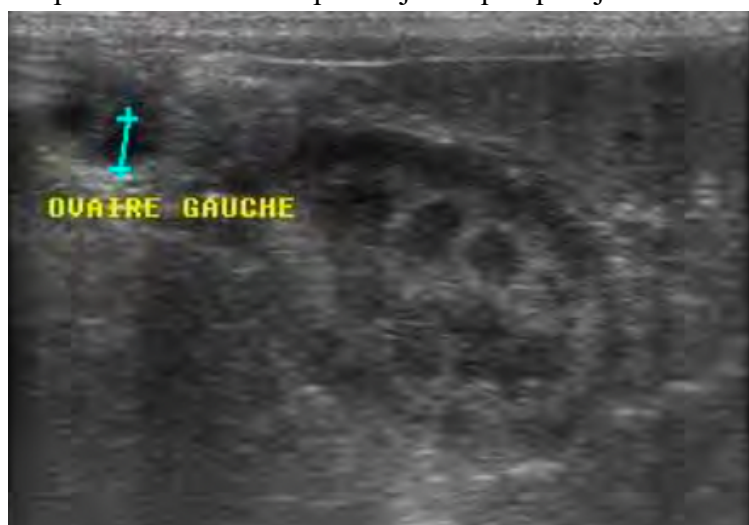


Figure 17 : Ovaire gauche d'une chienne avec 2 follicules en croissance pendant le pro-œstrus, crânialement au rein. (Le Fresne 2010)

avec la pré-lutéinisation des follicules (Le Fresne 2010). Le plus souvent, ils ont une forme ronde mais ils peuvent prendre une forme plus triangulaire ou aplatie lorsqu'ils sont regroupés (Figure 18 ; Figure 19) (Fontbonne 2008; Renton *et al.*, 1992). Ils sont bien visibles à ce moment-là, et peuvent être individualisés.



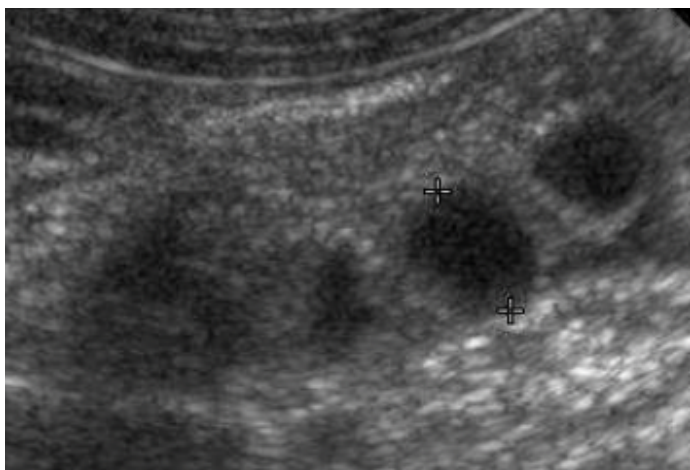


Figure 18 : Ovaire à l'échographie avant l'ovulation avec follicules de forme ronde (Fontbonne 2008)

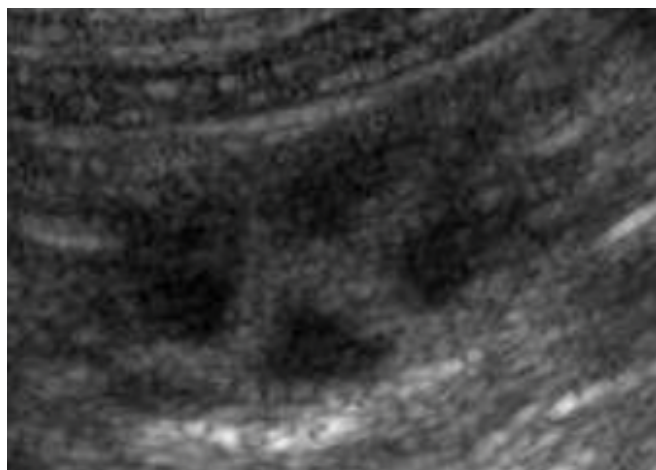


Figure 19 : Ovaire avant l'ovulation à l'échographie avant l'ovulation avec follicules triangulaires (Fontbonne 2008)

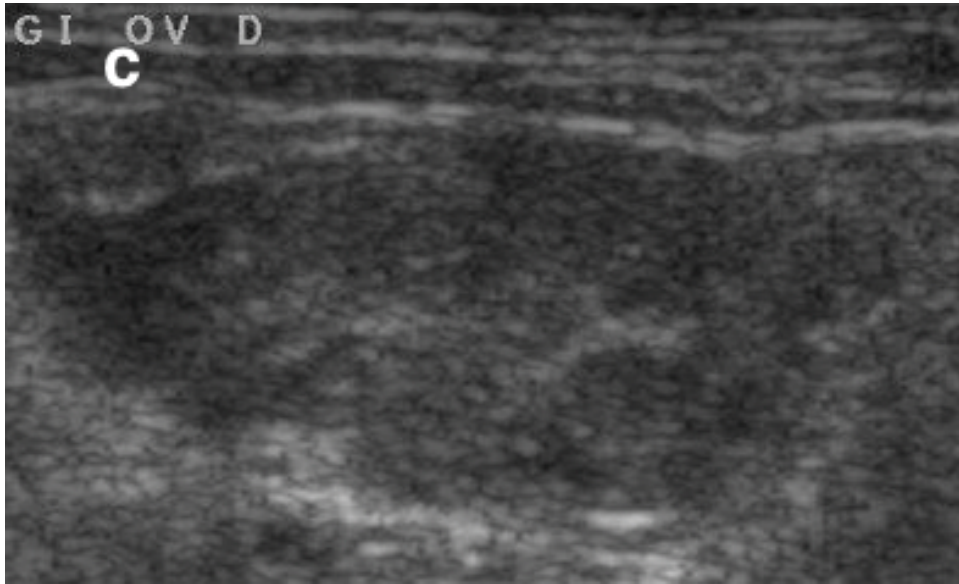
## (2) L'ovulation

L'échographie ovarienne est une méthode fiable pour déterminer le moment de l'ovulation, bien que ce ne soit pas toujours évident.

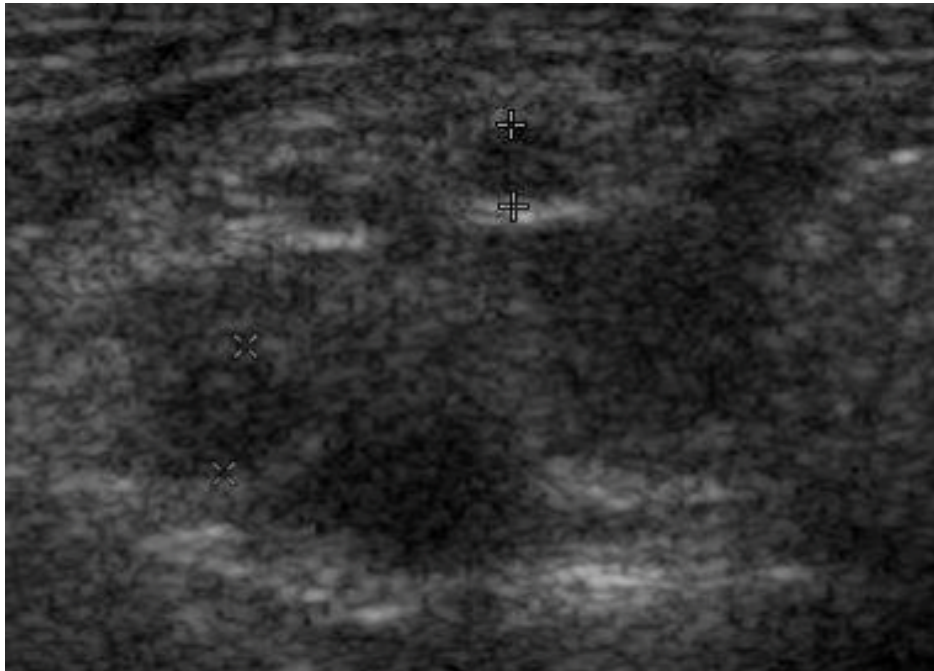
Physiologiquement, il est supposé que les follicules se collapsent au moment de l'ovulation et une hémorragie se produit. Les corps jaunes se forment et se gorgent de sang.

L'ovulation se produit en moins de 12 heures. Les principales modifications au moment de l'ovulation sont :

- Une disparition complète des follicules. L'ovaire apparaît alors homogène. Cette observation ne concerne pas la majorité des chiennes (Figure 20) (Fontbonne 2008) ;
- La disparition de certains follicules avec la persistance d'autres follicules de plus petite taille (majorité des chiennes) ;
- Un changement de forme ou la diminution de taille des follicules ;
- Une collection liquidienne autour de l'ovaire, sous la forme d'un halo anéchogène peut être observée chez certaines chiennes qui disparaît rapidement en 12 heures (Figure 22) ;
- Un changement d'échogénicité des follicules qui deviennent hypoéchogènes (Figure 21). Ces structures hypoéchogènes correspondent aux corps jaunes (England et Concannon 2002; Renton *et al.*, 1992; Wallace *et al.*, 1992; Fontbonne 2008).



*Figure 20 : Collapsus complet des follicules après l'ovulation à l'échographie (Fontbonne 2008)*



*Figure 21 : Persistance de structures hypoéchogènes, correspondant au corps jaunes, sur l'ovaire après l'ovulation à l'échographie (Fontbonne 2008)*

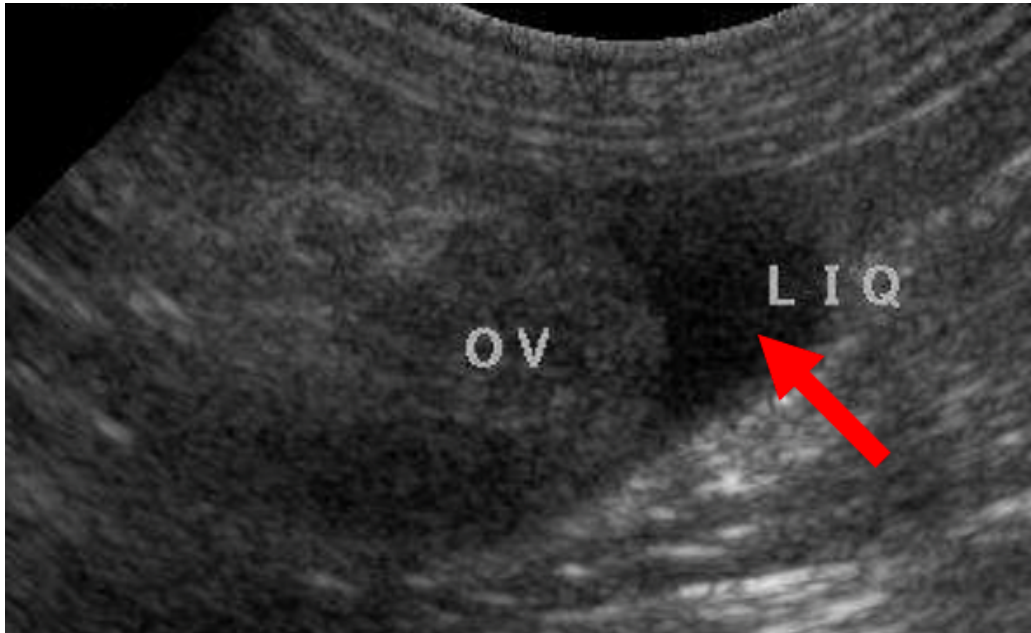


Figure 22 : Halo anéchogène autour de l'ovaire en post-ovulation à l'échographie ovarienne (Fontbonne 2008)

Au moment de l'ovulation les follicules ne s'affaissent pas toujours ce qui peut rendre la détection compliquée. De plus, les changements d'échogénicités sont difficiles à objectiver. En effet, les corps jaunes présentent encore une cavité liquidienne en leur centre, semblable à celle des follicules (Renton et *al.*, 1992; England et *al.*, 2009).

Certaines études montrent une faible fiabilité de l'échographie ovarienne pour déterminer le moment de l'ovulation. Renton et *al.*, montrent par exemple une moins bonne précision de l'échographie ovarienne que le dosage de la progestérone par ELISA avec une détection d'uniquement 42% des ovulations. De même, Hase et *al.*, montrent une fiabilité d'uniquement 54,5% (Renton et *al.*, 1992; Hase et *al.*, 2000).

La mesure du flux sanguin ovarien en péri-ovulatoire a été étudiée comme méthode moins subjective des variations d'échogénicité et pour pallier le manque de fiabilité de la méthode. Seulement, elle n'est corrélée qu'au pic de LH avec une augmentation significative du flux sanguin et non à l'ovulation (Bergeron et *al.*, 2013).

Des études plus récentes, avec un matériel échographique plus récent montrent des résultats bien meilleurs de la détection de l'ovulation, avec plus de 90% de détection des ovulations (Fontbonne 2008; Tsuchida et *al.*, 2022).

Ainsi, l'amélioration du matériel échographique fait, aujourd'hui, de l'échographie une méthode fiable pour déterminer le moment de l'ovulation. Seulement, elles doivent être réalisées quotidiennement, elles sont plus chronophages que les dosages de la progestérone sanguine et représentent un coût plus élevé pour l'éleveur.

## 6. Autres techniques

### a) L'endoscopie vaginal

L'endoscopie vaginale consiste à observer la surface de la muqueuse vaginale à l'aide, généralement d'un endoscope rigide ou souple ou par examen direct à l'aide d'un proctoscope pédiatrique sur chienne debout (England et Concannon 2002).

Cette technique est rapide et peut se faire sur chienne vigile et debout. Il n'est pas nécessaire de la réaliser tous les jours puisque l'évolution de l'aspect de la muqueuse est très progressive au cours du cycle (England et Concannon 2002). Seulement, elle requiert un équipement onéreux, qui ne peut être disponible dans toutes les cliniques et dont les interprétations peuvent dépendre de l'observateur (Fontbonne 2008).

Elle permet d'observer les modifications de la muqueuse vaginale, qui sont sous contrôle des œstrogènes et ainsi d'estimer l'avancée dans le cycle sexuel. Ainsi elle permet d'estimer la période de fertilité, mais elle ne permet en aucun cas de déterminer avec précision le moment de l'ovulation. Les œstrogènes sont en effet à l'origine d'un épaissement et d'un œdème de la muqueuse vaginale (England et Concannon 2002; Fontbonne 2008).

Au début du pro-œstrus, les œstrogènes sont en augmentation. La muqueuse vaginale est alors épaisse et œdématiée par rétention d'eau. La couleur de la muqueuse est rosée à rose pâle par l'épaississement de la muqueuse qui masque la vascularisation. Au cours du pro-œstrus, sous imprégnation oestrogénique, la muqueuse continue à s'épaissir et devient de plus en plus pâle jusqu'à devenir couleurs crème. Des perte séro-hémorragique sont également visibles en provenance du col de l'utérus.

Environ 2 jours avant le pic de LH, la diminution de la concentration en œstrogène commence. La muqueuse reste pâle mais l'œdème diminue rapidement. La muqueuse commence à se rétracter et devient plissée.

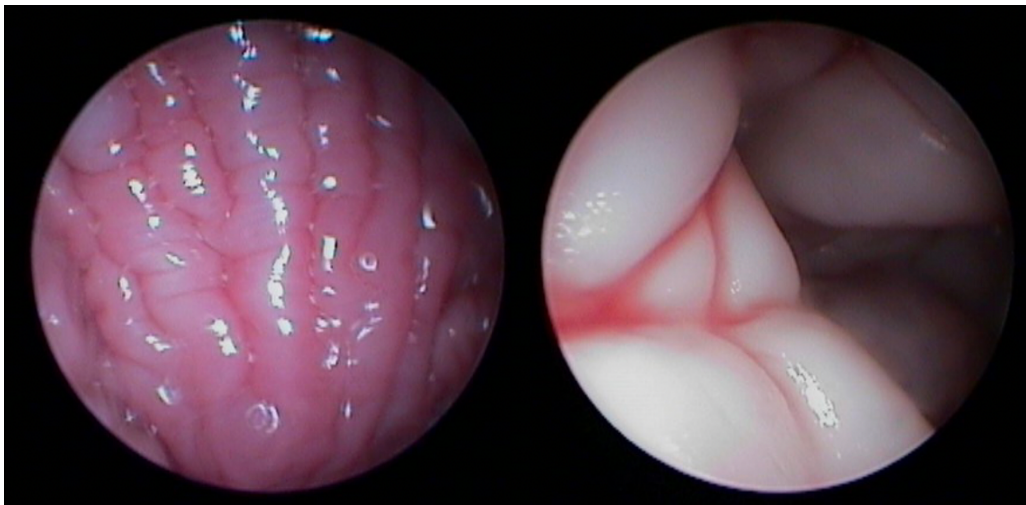
Au début de l'œstrus, les plis continuent à s'élargir. Environ 2 à 3 jours après le pic de LH, la muqueuse a continué à se rétracter et les plis deviennent très angulés : la muqueuse est dite crénelée (England et Concannon 2002)

La crénelation maximale est atteinte 2 à 3 jours après l'ovulation, ce qui correspond approximativement au début de la période féconde (Concannon 2011).

La fin de l'œstrus et le début du metoestrus, coïncide avec le début de la desquamation épithéliale de la muqueuse vaginale. La muqueuse devient alors plus fine à certains endroits. De petites zones plus rouges sont alors observées entre les zones pâles et la muqueuse s'aplatie (England et Concannon 2002).

Pendant l'anœstrus, la muqueuse est lisse, fine et fragile avec une concentration en œstrogène à une valeur basale. La finesse de la muqueuse rend les vaisseaux sanguins bien visibles, et la muqueuse vaginale a alors une couleur rosée à rouge (England et Concannon 2002; Garnier 2009).

Ainsi, le début de la période de fertilité coïncide avec le début du plissement de la muqueuse vaginale, correspondant au pic de LH et la période de fécondation au moment où la muqueuse est crénelée, avec des plis très anguleux. Ces observations permettent alors de planifier le moment de l'insémination ou de la saillie (England et Concannon 2002)



*Figure 23 : Photo de la muqueuse vaginale au début (à gauche) et à la fin (à droite) du pro-œstrus chez la chienne, à l'endoscopie vaginale (Garnier 2009)*





*Figure 24 : Muqueuse vaginale chez une chienne en œstrus, à l'endoscopie vaginale (Garnier 2009)*



*Figure 25 : Muqueuse vaginale chez une chienne au début de metoestrus à l'endoscopie vaginale (Garnier 2009)*



*Figure 26 : Muqueuse vaginale d'une chienne en anoestrus, à l'endoscopie vaginale (Garnier 2009)*

Tableau 6 : Variations de l'aspect de la muqueuse vaginale au cours du cycle sexuel de la chienne

	Hormones	Aspect de la muqueuse vaginale
<b>Pro-œstrus</b>	Augmentation de la concentration en œstrogène jusqu'à des valeurs hautes	Épaisse, œdématiée, couleur rosée à pale crémeuse en fin de pro-œstrus Écoulements séro-hémorragiques en provenance du col de l'utérus
<b>Œstrus</b>	Pic de LH, début de la diminution en œstrogène	Œdème moins important, plis grossiers, pâle
	2 à 3 jours après le pic de LH, poursuite de la diminution en œstrogène	Plis très anguleux (muqueuse dite crénelée), pâle
<b>Début metoestrus</b>	Œstrogènes bas	Zones rouges et zones pâles, régression des plis
<b>Anoestrus</b>	Estrogènes au valeurs basales	Lisse, fine, fragile, rosée à rouge

### b) Mesure de la résistance électrique du mucus vaginal

Il existe des variations de la résistance du mucus vaginal aux alentours de l'ovulation. Pour les mesurer, il suffit de placer une sonde Ohm-mètre dans le vagin quotidiennement. Seulement, cette technique ne serait pas reproductible selon les chiennes (Fontbonne 2008).

### III. Partie expérimentale

#### A. Objectif de l'étude

Le but de cette étude est d'étudier la cinétique de la progestérone en post-ovulation, ses facteurs de variations et ses conséquences.

Certains auteurs rapportent une variation de la vitesse de croissance de la progestérone en post-ovulation (Hollinshead et Hanlon 2019) (Kutzler et *al.*, 2003). Cette variation pourrait expliquer un taux de gestation similaires entre des chiennes inséminer de 10 à 25 ng/ml et de 25 ng/ml à 50 ng/ml (Schreck 2020), puisque certaines chiennes présenteraient des valeurs de progestérone très élevées, rapidement après l'ovulation.

Il pourrait y avoir une variation de cette pente en fonction de la taille de la chienne, mais cette observation n'est pas retrouvée dans toutes les études.

La question de l'influence du nombre de corps jaunes sur les variations de cinétiques de la progestérone post-ovulation n'a pour l'instant jamais été étudiée, mais a déjà été soulevée par certains auteurs. (Schreck 2020; Hollinshead et Hanlon 2019)

Les différentes études ont confronté uniquement ces variations de croissances avec la prolificité des chiennes et leur poids.

Une étude montre que les chiennes avec des taux de croissance de la progestérone plus lent présentent des portés significativement plus petits. Cette observation pourrait conforter l'hypothèse de l'influence du nombre de corps jaune sur la vitesse de croissance de la progestérone. En effet, une portée plus grande pourrait provenir d'un nombre de follicules pré-ovulatoires plus grand et donc d'un nombre de corps jaune plus important.

Seulement, la taille de la portée ne permet pas de connaître le nombre de corps jaune, puisqu'elle ne prend pas en compte le nombre d'ovocytes non fécondée et la résorption embryonnaires précoce. Il ne s'agit donc pas d'un critère suffisant, et compter directement le nombre de corps jaune est nécessaire.

De plus, il nous est impossible de savoir si les variations de l'évolution du taux de la progestérone sont la cause de portée de plus petite taille, ou si elles sont réellement la conséquence du nombre de corps jaunes.



Ainsi notre étude présente plusieurs objectifs. Nous souhaiterions confirmer l'existence de variations significatives de croissance de la progestérone selon les chiennes, savoir si elle dépend du nombre de corps jaunes et connaître son influence sur la fécondité des ovocytes.

## B. Matériel et méthode

### 1. Animaux

Les 10 chiennes qui ont participé à l'étude ont été recrutées par le service de reproduction du CHUV (Centre Hospitalier Universitaire Vétérinaire) d'ONIRIS, dans le cadre de leur suivie de chaleur en vue d'une mise à la reproduction, et ont résidé chez leur propriétaire tout au long de l'étude. Les femelles appartiennent à des races différentes et d'âge variable entre 2 et 8 ans : un chihuahua, deux Yorkshire Terrier, trois bouledogues français et quatre border collie.

### 2. Protocole

Les chiennes ont été présentées 8 jours après le début des pertes sanguines. Des frottis vaginaux ont été réalisés tous les jours jusqu'à confirmation de l'œstrus. Un fois confirmé, le suivie de la progestérone sanguine a débuté : selon la concentration en progestérone, une nouvelle prise de sang a eu lieu 1, 2 ou 3 jours plus tard. Chaque prise de sang est associée à une échographie ovarienne et un frottis vaginal (Figure 27).

Lorsque la progestérone a dépassé 10ng/ml, la chienne a été inséminée par du sperme frais ou a été saillie naturellement deux fois à 48 heures d'intervalle.

A partir de la première insémination, un suivie de la progestérone a été réalisé quotidiennement ou tous à deux jours, associée à une échographie ovarienne et un frotti vaginal, jusqu'au metœstrus (Figure 27).

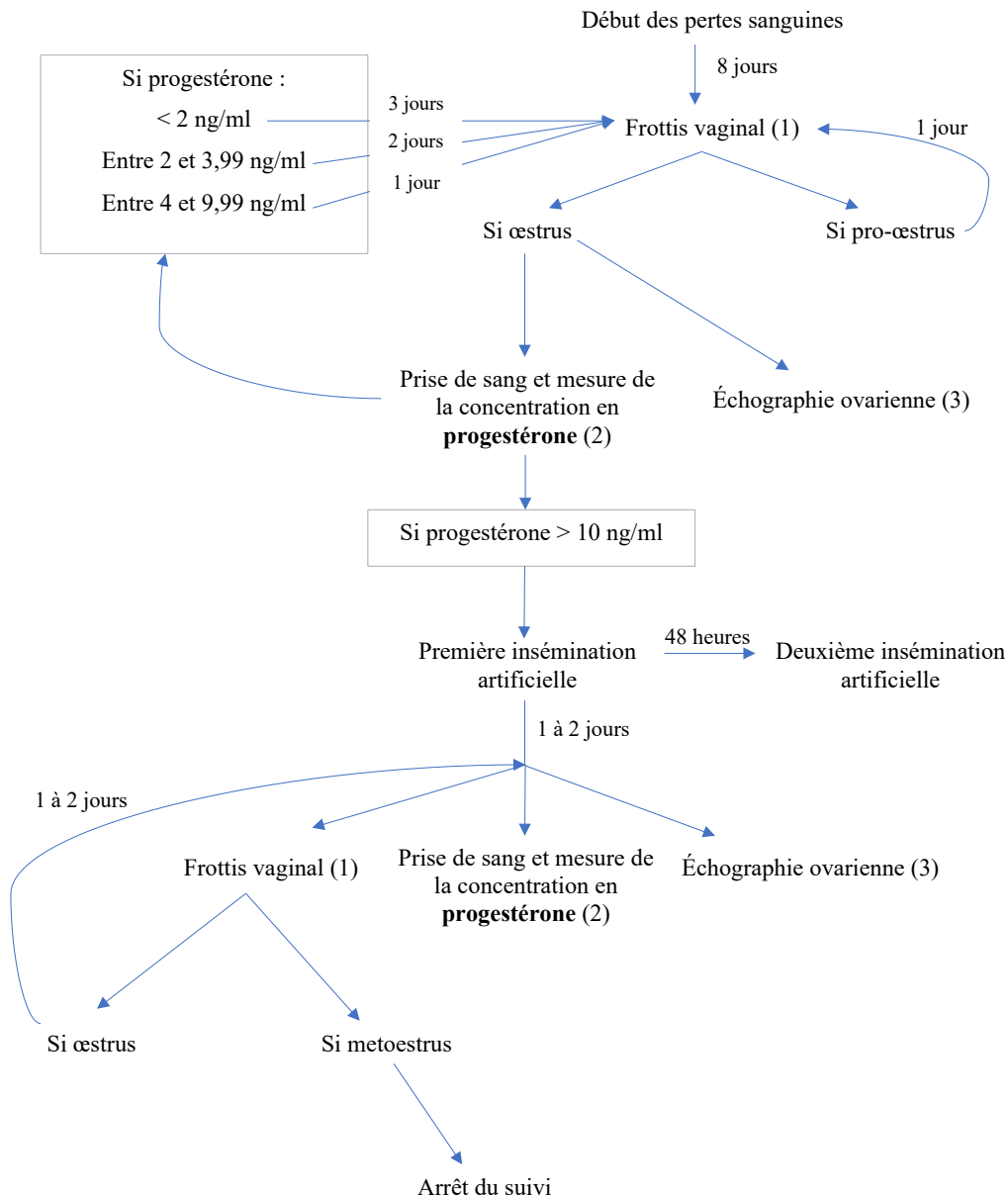


Figure 27 : Schéma du protocole expérimental, du début des pertes sanguines jusqu'au début du metoestrus

Les frottis vaginaux (1) ont été réalisés avec des écouvillons stériles humidifiés, avec du NaCl à 0,9% selon la méthode décrite précédemment (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). Pour chaque frottis vaginal, 2 lames ont été réalisées et colorée avec une coloration de May-Gründwald Giemsa (RAL 555®) et de Harris Schorr (Erreur ! Source du renvoi introuvable.). L'observation des lames au microscope optique a consisté à déterminer l'indice éosinophilique, la présence ou l'absence de polynucléaire neutrophile et les cellules de

l'épithélium vaginal. Le premier jour du metoestrus, et donc l'arrêt de l'expérience a été considéré comme le premier jour d'apparition des polynucléaires neutrophile sur la cytologie vaginale.

**Les échographies ovariennes (2)** ont été réalisées à l'aide d'une sonde linéaire de 12,5MHz, associée à un échographe ESAOTE Pie Medical®. Les chiennes ont été positionnées en décubitus dorsal ou latéral. Pour améliorer l'observation échographique, les chiennes ont été tondu est au niveau de l'angle costo-lombaire (une zone de 2cmx2cm) et du gel échographique est utilisé entre la peau et la sonde. Les échographies ont consisté à déterminer le nombre de follicules avant l'ovulation et de corps jaunes après celle-ci sur les deux ovaires. L'échographie ovarienne est considérée comme une méthode fiable pour dénombrer les follicules ovariens (Fontbonne 2008).

**Les dosages de la progestérone sanguine (3)** ont nécessité des prélèvements sanguins sur tube hépariné, au niveau de la veine jugulaire, céphalique ou saphène externe. Après centrifugation, 200 µl de plasma sont récupérés et la concentration en progestérone est dosée avec l'automate mini VIDAS de Biomérieux® (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Ces dosages ont permis le suivi des chaleurs et la décision de la mise à la reproduction comme un suivi classique mis en œuvre dans le service de biotechnologies et pathologie de la reproduction du CHUV d'ONIRIS. Contrairement à un suivi classique de chaleur, les dosages de la progestérone ont été poursuivis après la première insémination artificielle, jusqu'au début du metoestrus par la mise en évidence de polynucléaires neutrophiles sur les frottis vaginaux.

Le protocole expérimental a été validé par un comité d'éthique vétérinaire, le CERVO (Comité d'Éthique en Recherche clinique et épidémiologique Vétérinaire d'Oniris), avant le début de sa mise en place.

### 3. Étude statistique

L'analyse des données commence après le moment de l'ovulation, qui a été défini comme la première valeur de la progestérone a dépassé les 10ng/ml. L'analyse se termine 4 jours après l'ovulation, moment théorique de chute de la fertilité. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel RStudio®.

### a) Mise en évidence de différences de vitesse de croissance

Pour mettre en évidence des différences de croissance de la progestérone après l'ovulation, nous avons réalisé des régressions linéaires des courbes de progestérone chez chacune des chiennes de l'étude. Elles nous ont permis de déterminer la pente des courbes, et ainsi la vitesse de croissance de la progestérone chez chacune des chiennes. Les pentes des régressions linéaires ont été comparées à l'aide d'intervalle de confiance à 95%.

### b) Lien entre la croissance de la progestérone, le nombre de follicule et la fécondité.

Une régression linéaire multiple de la valeur de la progestérone en fonction du nombre de follicules, le pourcentage de fécondation et le nombre de fœtus a été réalisée pour mettre en évidence un éventuel lien.

Nous avons comparé le nombre de follicules, de fœtus et le pourcentage de fécondité des chiennes avec une croissance significativement plus lente et plus rapide. Un test de Fisher a permis la comparaison.

## C. Résultats

Les 10 chiennes qui ont participé à notre étude ont été retenues dans nos résultats.

### 1. Description des frottis vaginaux au cours de l'œstrus

Au cours de l'œstrus, les frottis vaginaux étaient composés principalement de squames anucléées et de cellules superficielles en placard sur un fond de frottis sales. L'indice éosinophilique était élevé tout au long de l'œstrus (>80%). Au début de l'œstrus, des érythrocytes étaient présents sur le frottis. Ils ont disparu progressivement au cours de l'œstrus.

Aucun polynucléaire neutrophile n'a été observé pendant l'œstrus. Ils sont apparus entre 2 et 8 jours après l'ovulation, avec une moyenne de 5,4 jours. La progestérone au moment de l'apparition des polynucléaires neutrophiles était de 61,86 +/-21,18 ng/ml (+/- écart-type).

L'apparition des polynucléaires neutrophiles était accompagné d'une chute importante de l'indice éosinophilique (environ 50%) et de l'apparition de cellules intermédiaires qui nous ont permis de confirmer le metoestrus.

## 2. Description des échographies ovariennes au cours de l'œstrus

Une des chiennes (chienne 9) a montré des nodules sur la rate au moment de l'échographie. Elle ne présentait aucun signe clinique au moment de l'expérience, mais elle a présenté un taux de progestérone faible par rapport aux autres chiennes de l'étude.

Au début de l'œstrus, les follicules étaient difficilement individualisables, et leur dénombrement difficile. Deux à trois jours avant l'ovulation, les follicules ont été plus faciles à dénombrer.

Au moment de l'ovulation, nous avons observé chez 4 chiennes une disparition complète des follicules, sans visualisation possible des corps jaunes. Chez ses 4 chiennes, les corps jaunes sont apparues 1 à 2 jours après l'ovulation. Chez les 6 autres chiennes, nous avons observé des structures hypoéchogènes, les corps jaunes en formation, qui ont remplacés les follicules. Une des chiennes a présenté simultanément des follicules et des corps jaunes sur les ovaires au moment de l'échographie.

L'ovulation observée à l'échographie a eu lieu au moment où les chiennes ont dépassé les 10 ng/ml de concentration de la progestérone chez 9/10 des chiennes de l'étude. L'une des chiennes a présenté les premiers signe de l'ovulation a un taux de 5,14 ng/ml de progestérone (chienne 6).

Le nombre de corps jaunes total différait du nombre de follicules avant l'ovulation chez 7 chiennes sur 10 de l'études. La différence entre les deux était de 1 pour 4 des chiennes et de 2 pour 3 des chiennes.

En cas de différence entre le nombre de follicules pré-ovulatoires et le nombre de corps jaunes dénombrés, nous avons retenu le chiffre le plus grand des deux pour notre étude (Tableau 7).

### 3. Diagnostic de gestation et taille des portées

Le nombre de fœtus à 25 jours et la taille de la portée au moment de la mise bas sont inférieurs ou égal au nombre de follicules ovulatoires déterminés pour chacune des chiennes. Cette observation conforte l'idée que notre méthode n'a pas entraîné un dénombrement de plus de follicules qu'il y en avait réellement. Le pourcentage de follicules ovulatoires dont l'ovocyte n'a pas abouti à la formation d'un fœtus à 25 jours est de 37% (n=9).

La chienne 8 n'est pas venue au diagnostic de gestation à 25 jours. La chienne 9 qui a présentée des nodules sur la rate est la seule chiennes a avoir eu un diagnostic de gestation négatif à 25 jours. La chienne 6 a avortée.

Ainsi, le taux de gestation au cours de notre étude est de 90% et le taux de mise bas de 80%.

*Tableau 7 : Récapitulatif du nombre de follicules ovulatoires, du nombre de fœtus et de la taille des portées en fonction des chiennes et de leur taux de progestérone à la première et deuxième insémination artificielle (IA)*

Chienne	Race	Âge (Année)	Progestérone à la première IA (ng/ml)	Progestérone à la deuxième IA (Ng/ml)	Nombre de follicule ovulatoire/ corps jaune	Nombre de fœtus à 25 jours	Taille de la portée
1	Chihuahua	3	13,46	28,95	5	4	4
2	Yorkshire Terrier	4	11,37	40,03	8	4	4
3	Yorkshire Terrier	5	14,53	40,52	8	4	3
4	Bouledogue français	4	41,73	>80	6	6	6
5	Bouledogue français	3	15,61	54,15	8	5	5
6	Bouledogue français	6	20,9	68,75	10	9	0
7	Border Collie	3	11,31	31,58	10	5	7
8	Border Collie	8	15,95	61,76	11	-	7
9	Border Collie	7	13,2	21,53	6	0	0
10	Border Collie	2	11,12	31,13	9	7	6

#### 4. Description des variations de la cinétique de la progestérone après l'ovulation

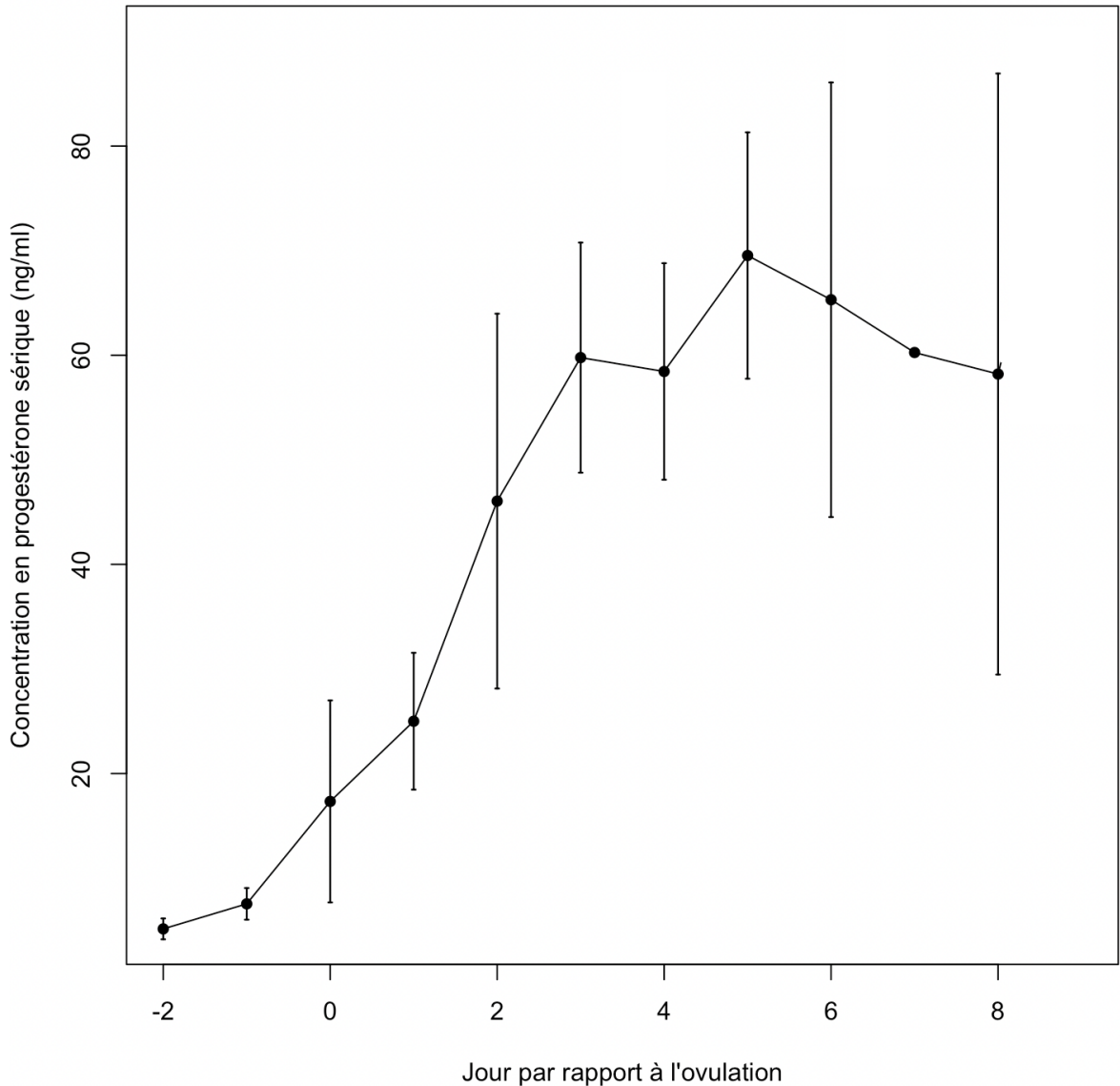


Figure 28 : Moyennes de la concentration en progestérone chez les chiennes de l'étude par rapport au moment de l'ovulation (écart-type en barre d'erreur) (n=10)

La moyenne de la concentration en progestérone est de 46,05 ng/ml en moyenne ( $\pm 17,92$  d'écart-type) 2 jours après l'ovulation et de 58,44 ng/ml en moyenne ( $\pm 10,35$  d'écart-type) 4 jours après l'ovulation, jour de la fin de la période de fécondité théorique.

La progestérone augmente après l'ovulation. Quatre chiennes sur les dix ont montré une diminution de la concentration en progestérone entre le 4<sup>ème</sup> jour après l'ovulation et la fin



de l'œstrus, ce qui explique une diminution de la moyenne des progestérone (Figure 28). Nous pouvons également remarquer une variation subjective de la vitesse de la croissance de la progestérone. Une des chiennes dépasse les 80 ng/ml dès le 2<sup>ème</sup> jour après l'ovulation alors qu'une autre chienne ne dépasse pas les 30 ng/ml 2 jours après l'ovulation. Ces différences sont bien visibles dans le Tableau 7 dans lequel sont répertoriés les valeurs de la progestérone au moment de la première et deuxième insémination artificielle.

Pour objectiver cette différence de croissance, nous avons comparé les pentes de la croissance de la progestérone, calculées par régressions linéaires. Les régressions linéaires ont montré d'excellent coefficient de corrélation ( $R^2 > 95$ ). Une unique chienne n'a présenté que 2 valeurs de la progestérone après l'ovulation, et aucun intervalle de confiance n'a pu être calculé. Cette comparaison nous a permis de mettre en évidence des différences significatives de vitesse d'augmentation de la progestérone après l'ovulation (Figure 29).

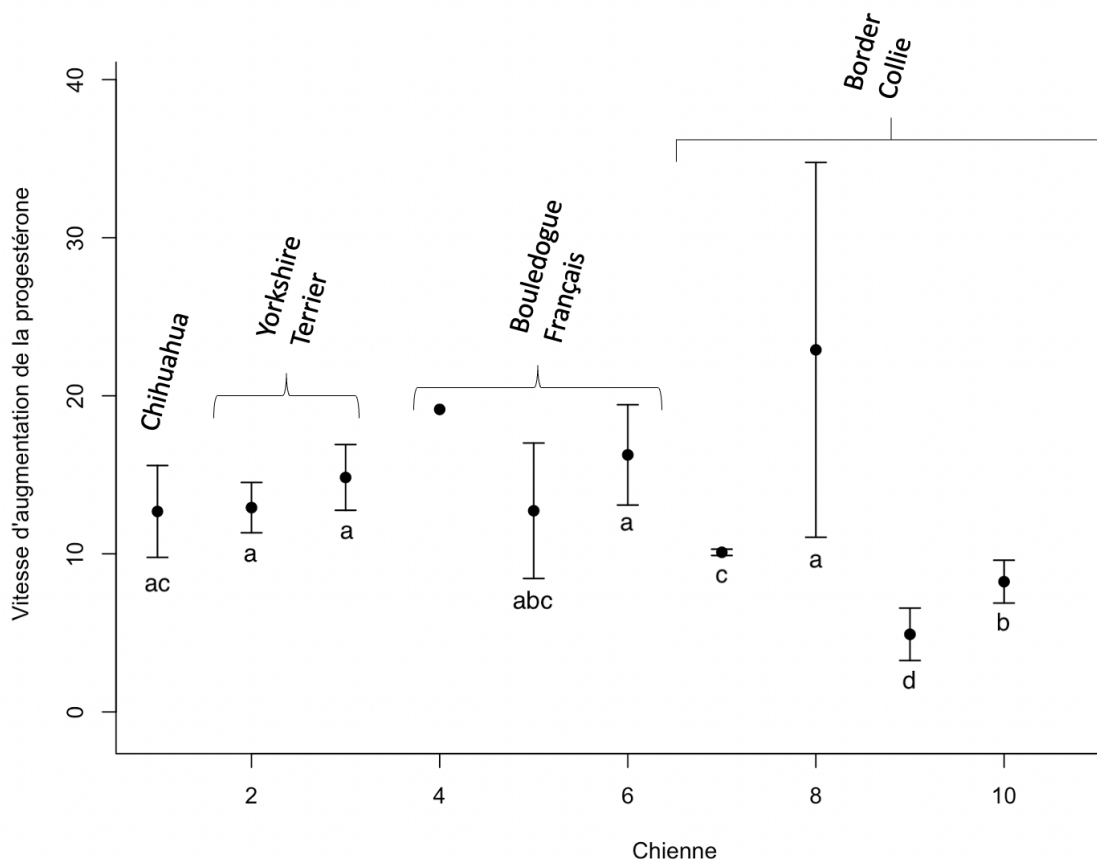


Figure 29 : Vitesse d'augmentation de la concentration en progestérone entre le jour de l'ovulation et le 4<sup>ème</sup> jour après l'ovulation en fonction des chiennes, calculées par régression linéaire (les barres d'erreur correspondent aux intervalles de confiance à 95%). Les lettres indiquent les valeurs statistiquement similaires 2 à 2.

## 5. Le lien entre la progestérone, le nombre de follicule, de fœtus et le pourcentage de fécondité

La régression linéaire multiple n'a montré aucun lien statistiquement significatif entre la variation de la progestérone et le nombre de corps jaune et de fœtus (n=10).

De même, les régressions linéaires entre la variation de la progestérone entre la première et la deuxième insémination artificielle, le nombre de corps jaune d'une part et la taille de la portée d'autre part (Tableau 8) n'ont montré aucun lien statistique (n=10).

*Tableau 8 : Différence de la concentration de la progestérone entre les deux inséminations artificielles (IA) en fonction du nombre de follicules ovulatoire/corps jaune et la taille de la portée*

Chienne	Différence de concentration de la progestérone entre la première et la deuxième IA	Nombre de follicule ovulatoire/ corps jaune	Taille de la portée
1	15,59	5	4
2	28,66	8	4
3	25,99	8	3
4	38,57	6	6
5	38,54	8	5
6	47,85	10	0
7	20,27	10	7
8	54,81	11	7
9	8,33	6	0
10	20,01	9	6

Nous avons défini 2 groupes de chiennes :

- Les chiennes avec une croissance rapide de la progestérone. Il s'agit des chiennes qui présentent une pente de la courbe de la progestérone significativement plus grande que le reste des chiennes à 95% (chienne 2, 3, 6 et 8 ; n=4).

- Les chiennes avec une croissance lentes de la progestérone. Il s'agit des chiennes qui présentent une pente de la courbe de la progestérone significativement plus petite que le reste des chiennes à 95% (chienne 7, 9 et 10 ; n=3)

Les trois autres chiennes de l'étude n'ont pas été inclus dans ces deux groupes. En effet, elles présentaient soit une vitesse de croissance de la progestérone statistiquement identique à la fois au groupe lent et au groupe rapide (chienne 1 et 5) ou n'avaient aucun intervalle de confiance calculable (chienne 4). Elles n'ont donc pas été inclus dans la comparaison qui suit.

La comparaison du nombre de corps jaune et du nombre de fœtus des deux groupes précédemment définis, n'a montré aucune différence significative (Tableau 9).

*Tableau 9 : Moyennes du nombre de corps jaune, fœtus à 25 jours et du pourcentage de fécondité en fonction de la vitesse de croissance de la progestérone entre le jour de l'ovulation et le 4<sup>ème</sup> jour. (+/-écart-type) (n=7)*

	Nombre de corps jaune	Nombre de Fœtus à 25 jours à l'échographie	Pourcentage de fécondité
Chienne avec croissance rapide de la progestérone (n=4)	9,25+/-1,5	5,67+/-2,89	63,33+/-23,09
Chienne avec croissance lente de la progestérone (n=3)	8,33+/-2,08	4,00+/-3,60	42,59+/-39,41

Le pourcentage de fécondité a été défini comme le nombre de fœtus à 25 jours sur le nombre de follicules ovulatoires. Aucune différence statistiquement significative n'a pu être mise en évidence entre les chiennes qui présentent une croissance rapide ou lente de la progestérone après l'ovulation.

La chienne 9 est la seule chienne qui a présenté un diagnostic de gestation négatif à 25 jours, avait une croissance de la progestérone après l'ovulation particulièrement basse par rapport aux autres chiennes de l'étude (Figure 29, chienne 9). Il s'agit également de la chienne qui a présenté un nodule sur la rate, visible à l'échographie.

## D. Discussion

### 1. Variation de la croissance de la progestérone après l'ovulation et ses conséquences sur la gestion de la mise à la reproduction

Ainsi, notre étude confirme qu'il existe une variation significative de la croissance de la progestérone après l'ovulation selon les chiennes. Cette variation a déjà été démontrée par certains auteurs (Hollinshead et Hanlon 2019; Kutzler et *al.*, 2003), et fortement suspecté par d'autre (Schreck 2020).

La valeur de la progestérone au moment de l'ovulation reste, quant à elle, constante d'une chienne à l'autre. De nombreux auteurs l'on déjà démontré et nous avons également pu l'observé à l'échographie ovarienne (Fontbonne 2008; Hollinshead et Hanlon 2019). La progestérone est donc une méthode fiable pour déterminer le moment de l'ovulation lorsqu'une chienne est présentée dès le début de l'œstrus.

Seulement les variations de la progestérone après l'ovulation rendent la détermination de la fin de la période de fertilité impossible si la chienne est présentée tardivement au cours de son œstrus.

England à évoquer une valeur de 25ng/ml de progestéronémie, comme valeur de la fin de période de fertilité chez la chienne au cours de l'œstrus. Seulement, cette valeur est controversée (England 2010). En effet, Schreck a montré une fertilité similaires chez des chiennes inséminées de 10 à 25 ng/ml et de 25 à 50 ng/ml (Schreck 2020). De plus, la valeur de 25 ng/ml ne correspond pas à la valeurs moyenne de la progestérone 4 jours après l'ovulation, que nous avons déterminer avec notre automate ( $58,44 \pm 10,35$  ng/ml), qui correspondrait à la fin de la période de fertilité théorique.

Ainsi, une chienne amenée tardivement au cours de son œstrus, qui aurait dépassé la valeur de 10 ng/ml peut être inséminée avec l'espoir d'une gestation, sans attendre le prochain œstrus, tant que le frottis vaginal confirme l'œstrus par l'absence de polynucléaire neutrophiles (Schreck 2020; Linde-Forsberg 1991).

## 2. Lien entre la progestérone, le nombre de corps jaune et la fertilité

Nous n'avons pas mis en évidence de lien entre la croissance de la progestérone après l'ovulation, le nombre de corps jaune et le nombre de fœtus à 25 jours de gestation ni le pourcentage de fécondation.

Cependant, l'unique chienne de l'étude qui n'était pas gestante 25 jours après la saillie, présentait une croissance de la progestérone significativement plus lente que le reste des chiennes. Cette chienne présentait également des nodules sur la rate à l'échographie, sans signes cliniques associées.

Nous pourrions alors penser qu'il existe une baisse de fertilité lorsque la pente de la progestérone est trop faible. En effet, l'importance de la progestérone dans la maturation et la fécondation des ovocytes a déjà été prouvée (Reynaud *et al.*, 2015). Dans cette étude, il est montré que le temps de maturation des ovocytes est rallongé lors d'utilisation d'aglépristone, ainsi que la capacité des spermatozoïdes à rejoindre les ovocytes dans les voies génitales femelles et à les féconder. Seulement, cette étude ne permet pas de connaître quelle concentration ou quelle vitesse d'augmentation de la progestérone est nécessaire pour ne pas influencer sur la fertilité de la chienne. Cette hypothèse permettrait d'expliquer les observations faites par Hollinshead et Hanlon (Hollinshead et Hanlon 2019). Dans leur étude, Hollinshead et Hanlon montrent une prolificité significativement plus faible, lors d'insémination en sperme congelé, chez les chiennes qui présentent une croissance lente de la progestérone. Ils ont également comparé la prolificité des chiennes avec une croissance rapide et lente de la progestérone lors d'insémination en sperme frais. Lors de ce deuxième type d'insémination, aucune différence n'a été montrée. Ainsi, nous pourrions penser que la progestérone influence sur la fertilité, et que la différence est significative uniquement en cas d'utilisation de semence de moins bonne qualité, comme le sperme congelé.

Ainsi l'association d'une pente plus faible avec un sperme de moins bonne qualité aboutirait à une chute de la fertilité.

Malheureusement, le nombre insuffisant de chiennes dans l'étude ne permet pas de confirmer cette hypothèse. De plus la seule chienne sur laquelle nous appuyons notre réflexion présentait des nodules sur la rate, et nous ne pouvons exclure que la baisse de fertilité ne soit en lien avec une maladie concomitante.

### 3. Nombre de follicules ovulatoires et de corps jaune, et prédiction de la taille de la portée

Le nombre de follicules et de corps jaunes a été inférieurs, chez la majorité des chiennes de notre étude (9/10) au nombre de fœtus à 25 jours et à la taille de la portée. Le nombre de follicules et de corps jaunes portés par les ovaires ne peut donc pas prédire la taille de la portée.

En effet, il peut y avoir des non fécondation de certains ovocytes et des résorptions embryonnaires précoces avant 25 jours. Le pourcentage de résorption embryonnaire précoce mesuré par échographie par Engand et Russo est 10,6% chez des chiennes Labrador Retriever (England et Russo 2006). Nous avons trouvé une différence de 37% entre le nombre de follicules et corps jaune et le nombre de fœtus à 25 jours chez les chiennes de notre étude. La résorption embryonnaire ne semble alors pas expliquer toute cette différence, mais il existe bien des ovocytes non fécondés.

Certaines chiennes de l'étude ont présenté une portée plus petite que le nombre de fœtus dénombrés à 25 jours. Cette observation peut s'expliquée par la mort de certains ou de tous les fœtus.

### 4. Limites et perspectives de l'étude

Les mesures de la progestérone, les échographies ovariennes et les frottis vaginaux n'ont pas été réalisés avec régularité chez les chiennes. En effet, elles ne sont pas restées sur place au cours de l'étude et leur venue au service de reproduction était dépendante de l'emploi du temps de leur propriétaire. Ainsi, les mesures de la progestérone n'ont pas été réalisées aux mêmes jours après l'ovulation chez toutes les chiennes. Une chienne n'a d'ailleurs pu être présentée que deux fois après l'ovulation. Nous n'avons alors pas pu comparer sa croissance de progestérone, faute de données suffisantes.

La fertilité en fonction de la progestérone n'a pu être évaluée dans notre étude. En effet, le manque de chienne, ne nous a pas permis de conclure. De plus, il aurait été nécessaire de confirmer la qualité du sperme avant chaque insémination, pour exclure une chute de fertilité liée au mâle. Seule les deux femelles Yorkshire Terrier ont reçues un sperme dont la qualité a été analysée avant l'insémination. La qualité du sperme était excellente (5/5).

Il serait alors intéressant de poursuivre l'étude avec un plus grand nombre de chienne pour étudier leur fertilité en fonction de leur croissance de progestérone et de la qualité du sperme du mâle.

# CONCLUSION

Notre thèse a permis dans un premier temps de répertorié toutes les techniques de suivi des chaleurs chez la chienne, qui permettent de déterminer le moment idéal de la saillie ou de l'insémination artificielle.

Nous nous sommes intéressés dans notre étude à la mesure de la progestérone sanguine. Cette méthode est fiable pour déterminer le moment de l'ovulation lorsque les chiennes sont présentées dès le début de leur œstrus. En effet, la valeur de la progestérone au moment de l'ovulation est stable en fonction des chiennes.

Nous avons montré qu'il existe cependant une grande variabilité de la vitesse de croissance de la progestérone juste après l'ovulation. Ainsi, certaines chiennes atteignent des valeurs très élevées de progestérone très rapidement alors que d'autre n'augmentent que progressivement. Cette observation conforte l'idée de Géraldine Schreck. Une chienne présentée tardivement au cours de son œstrus, qui aurait déjà dépassé le seuil de l'ovulation au niveau de sa progestérone, pourrait tout de même être inséminée quel que soit son taux, tant que l'œstrus est confirmé par un frotti vaginal avec l'absence de polynucléaires neutrophiles (PNN).

Nous n'avons pas montré de lien entre ces variations et le nombre de follicules ovulatoires, de corps jaunes et la prolificité.

Seulement nous suspectons une influence de la vitesse d'augmentation de la progestérone après l'ovulation sur la fécondation. Des résultats plus concluants pourraient être obtenues avec un nombre plus important de chienne.



# Bibliographies

Antonov A., 2017. « Application of Exfoliative Vaginal Cytology in Clinical Canine Reproduction – a Review ». *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 20 (3): 193-203. <https://doi.org/10.15547/bjvm.997>.

Arbeiter K., Dobretsberger M., Müller E., et Holzmann A., 1991. « Ein indirekter Nachweis der Ovulation und Fertilisation beim Hund durch Progesteronverlaufsuntersuchungen ». *Journal of Veterinary Medicine Series A* 38 (1-10): 696-701. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1991.tb01066.x>.

Arlt S., 2018. « Canine Ovulation Timing: A Survey on Methodology and an Assessment on Reliability of Vaginal Cytology ». *Reproduction in Domestic Animals* 53 (novembre): 53-62. <https://doi.org/10.1111/rda.13352>.

Association des collèges des enseignants d'immunologie des universités de langue française, éd. 2014. « Technique avec traceurs ». In *Méthodes en immunologie: des principes aux bonnes applications*, 41-74. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson.

Bergeron L.H., Nykamp S.G., Brisson B.A., Madan P., et Gartley C.J., 2013. « An Evaluation of B-Mode and Color Doppler Ultrasonography for Detecting Perioovulatory Events in the Bitch ». *Theriogenology* 79 (2): 274-83. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.08.016>.

Brugger N., Otzdorff, C., Walter B., Hoffmann B., et Braun J., 2011. « Quantitative Determination of Progesterone (P4) in Canine Blood Serum Using an Enzyme-Linked Fluorescence Assay: P4 in Canine Blood Serum Using an ELFA ». *Reproduction in Domestic Animals* 46 (5): 870-73. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2011.01757.x>.

Chastant-Maillard S., Viaris de Lesegno C., Chebrou M., Thoumire S., Meylheuc T., Fontbonne A., Chodkiewicz M., Saint-Dizier M., et Reynaud K., 2011. « The Canine Oocyte: Uncommon Features of in Vivo and in Vitro Maturation ». *Reproduction, Fertility and Development* 23 (3): 391. <https://doi.org/10.1071/RD10064>.

Concannon P. W., 2011. « Reproductive Cycles of the Domestic Bitch ». *Animal Reproduction Science* 124 (3-4): 200-210. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028>.

Davidson A. P., et Stabenfeldt G. H., 2013. « Control of Gonadal and Gamete Development ». In *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology - E-Book*, 5th éd., 408-15. Elsevier.

De Gier J., Kooistra H. S., Djajadiningrat-Laanen S.C., Dieleman S.J., et Okkens A.C.,

2006. « 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* 65 (7): 1346-59. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.010>.

Domosławska, A., Jurczak A., et Janowski T., 2014. « Progesterone Level Does Not Distinguish the Different Course of Canine Ovulation Determined by Ultrasonography ». *Polish Journal of Veterinary Sciences* 17 (2): 293-97. <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0040>.

England, G., et Concannon P. W., 2002. « Determination of the optimal breeding time in the bitch : basic considerations. » In *Recent advances in small animal reproduction.*, International Veterinary Service (www.ivis.org). Ithaca, New York.

England, G., 2010. « Clinical Approach to the Infertile Bitch ». In *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*, édité par England et von Heimendahl, 51-62. British Small Animal Veterinary Association. <https://doi.org/10.22233/9781905319541.6>.

England, G., et Russo M., 2006. « Ultrasonographic Characteristics of Early Pregnancy Failure in Bitches ». *Theriogenology* 66 (6-7): 1694-98. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.028>.

England G., Russo M., et Freeman S. L., 2009 « Follicular Dynamics, Ovulation and Conception Rates in Bitches ». *Reproduction in Domestic Animals* 44 (juillet): 53-58. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01416.x>.

Feldman E. C., et Richard W. N., 2003. « Ovarian cycle and vaginal cytology ». In *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction*, 3rd ed. Elsevier Health Sciences.

Fontbonne A., 2008. « In vivo ovulation, oocyte maturation and fertilisation in the bitch ». AgroParisTech.

Garnier R., 2009. « Suivi du cycle oestral et insémination intra-utérine chez la chienne sous vaginoscopie : réalisation d'un support audio-visuel ». Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes Atlantique: Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation.

Alessia G., Contri A., Carluccio A., et Robbe D., 2018. « Blood Perioovulatory Progesterone Quantification Using Different Techniques in the Dog ». *Animal Reproduction Science* 192 (mai): 179-84. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.006>.

Gogny, A., et Fieni F., 2010. « Comment réaliser et interpréter une analyse cytologique vaginale chez le chien et le chat », *Le Nouveau Praticien Vétérinaire*, n° 9: 40-44.

Goodman M., 2001. « Ovulation Timing: Concepts and Controversies ». *Veterinary*

*Clinics of North America: Small Animal Practice* 31 (2): 219-35.  
[https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(01\)50201-6](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(01)50201-6).

Guthrie H. D., Henricks D. M., et Handlin D. L., 1974. « Plasma Hormone levels and fertility in pigs induced to superovulate with PMSG ». *Reproduction* 41 (2): 361-70.  
<https://doi.org/10.1530/jrf.0.0410361>.

Hakan A., éd. 2008. « Clinical Reproductive Endocrinology ». In *Clinical biochemistry of domestic animals*, 6th ed, 635-62. Amsterdam ; Boston: Academic Press/Elsevier.

Hase M., Hori T., Kawakami E., et Tsutsui T., 2000. « Plasma LH and Progesterone Levels before and after Ovulation and Observation of Ovarian Follicles by Ultrasonographic Diagnosis System in Dogs. » *Journal of Veterinary Medical Science* 62 (3): 243-48.  
<https://doi.org/10.1292/jvms.62.243>.

Hollinshead F. W., et Hanlon D. W., 2019. « Normal Progesterone Profiles during Estrus in the Bitch: A Prospective Analysis of 1420 Estrous Cycles ». *Theriogenology* 125 (février): 37-42. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.10.018>.

Jamnongjit M., et Hammes S. R., 2006. « Ovarian Steroids: The Good, the Bad, and the Signals That Raise Them ». *Cell Cycle* 5 (11): 1178-83. <https://doi.org/10.4161/cc.5.11.2803>.

Knox R. V., Vatzias G., Naber C. H., et Zimmerman D. R., 2003. « Plasma Gonadotropins and Ovarian Hormones during the Estrous Cycle in High Compared to Low Ovulation Rate Gilts1 ». *Journal of Animal Science* 81 (1): 249-60.  
<https://doi.org/10.2527/2003.811249x>.

Kutzler M. A., Mohammed H. O., Lamb S. V., et Meyers-Wallen V. N., 2003. « Accuracy of Canine Parturition Date Prediction from the Initial Rise in Preovulatory Progesterone Concentration ». *Theriogenology* 60 (6): 1187-96. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00109-2).

Le Fresne, J., 2010. « Echographie ovarienne chez la chienne : intérêt dans le diagnostic de l'ovulation ». Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes Atlantique: Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation.

Linde-Forsberg, C., 1991. « Achieving Canine Pregnancy by Using Frozen or Chilled Extended Semen ». *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 21 (3): 467-85.  
[https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(91\)50054-1](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(91)50054-1).

Mahi C. A., et Yanagimachi R., 1976. « Maturation and Sperm Penetration of Canine Ovarian Oocytes in Vitro ». *Journal of Experimental Zoology* 196 (2): 189-95.  
<https://doi.org/10.1002/jez.1401960206>.

Marinelli L., Rota A., Carnier P., Da Dalt L., et Gabai G., 2009. « Factors Affecting Progesterone Production in Corpora Lutea from Pregnant and Diestrous Bitches ». *Animal Reproduction Science* 114 (1-3): 289-300. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.10.001>.

Moxon R., Copley D., et England G., 2010. « Technical and Financial Evaluation of Assays for Progesterone in Canine Practice in the UK ». *Veterinary Record* 167 (14): 528-31. <https://doi.org/10.1136/vr.c5082>.

Nishiyama T., Kinugasa T., Kimura T., Watanabe G., Taya K., Tsumagari S., et Takeishi M., 1999. « Determination of Optimal Time for Mating by Artificial Insemination with Chilled Semen Using Luteinizing Hormone Surge as an Indicator in Beagles ». *Journal of the American Animal Hospital Association* 35 (4): 348-52. <https://doi.org/10.5326/15473317-35-4-348>.

Onclin, K., Murphy B., et Verstegen J.P., 2002. « Comparisons of Estradiol, LH and FSH Patterns in Pregnant and Nonpregnant Beagle Bitches ». *Theriogenology* 57 (8): 1957-72. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00644-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00644-1).

Reckers F., Klopfleisch R., Belik V., et Arlt S., 2022. « Canine Vaginal Cytology: A Revised Definition of Exfoliated Vaginal Cells ». *Frontiers in Veterinary Science* 9 (mars): 834031. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.834031>.

Renton J.P., Boyd J.S., Harvey M.J.A., Ferguson J.M., Nickson D.A., et Eckersall P.D., 1992. « Comparison of Endocrine Changes and Ultrasound as Means of Identifying Ovulation in the Bitch ». *Research in Veterinary Science* 53 (1): 74-79. [https://doi.org/10.1016/0034-5288\(92\)90088-J](https://doi.org/10.1016/0034-5288(92)90088-J).

Reynaud K., Fontbonne A., Marseloo N., Thoumire S., Chebrou M., Viaris de Lesegno C., et Chastant-Maillard S., 2005. « In Vivo Meiotic Resumption, Fertilization and Early Embryonic Development in the Bitch ». *Reproduction* 130 (2): 193-201. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00500>.

Reynaud K., Viaris de Lesegno C., Chebrou M., Thoumire S., et Chastant-Maillard S., 2009. « Follicle Population, Cumulus Mucification, and Oocyte Chromatin Configuration during the Perioovulatory Period in the Female Dog ». *Theriogenology* 72 (8): 1120-31. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.006>.

Reynaud K., Chastant-Maillard S., Batard S., Thoumire S., et Monget P., 2010. « IGF System and Ovarian Folliculogenesis in Dog Breeds of Various Sizes: Is There a Link? » *Journal of Endocrinology* 206 (1): 85-92. <https://doi.org/10.1677/JOE-09-0450>.

Reynaud K., Fontbonne A., Marseloo N., Viaris de Lesegno C., Saint-Dizier M., et

Chastant-Maillard S., 2006. « In Vivo Canine Oocyte Maturation, Fertilization and Early Embryogenesis: A Review ». *Theriogenology* 66 (6-7): 1685-93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.049>.

Reynaud K., Saint-Dizier M., Zahid Tahir M., Havard T., Harichaux G., Labas V., Thoumire S., Fontbonne A., Grimard B., et Chastant-Maillard S., 2015. « Progesterone Plays a Critical Role in Canine Oocyte Maturation and Fertilization1 ». *Biology of Reproduction* 93 (4). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.130955>.

Robinson B., et Noakes D.E., 2019. « Reproductive Physiology of the Female ». In *Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 2-34. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-7233-8.00001-X>.

Rosenfeld C. S., et Schatten H., éd. 2007. « Overview of Female Reproductive Organs ». In *Comparative Reproductive Biology*, 1st ed, 99-109. Ames, Iowa: Blackwell Pub.

Schaefers-Okkens A.C., et Kooistra H.S., éd. 2010. « Ovaries ». In *Clinical Endocrinology of Dogs and Cats: An Illustrated Text*, 2nd. rev. and extended ed, 203-34. Vet. Hannover: Schlütersche.

Schreck G.. 2020. « Contribution à l'optimisation des protocoles d'insémination artificielle chez la chienne : étude rétrospective réalisée au CIAC entre 2010 et 2020. » Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes Atlantique: Oniris : Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de L'alimentation.

Silva, L. D. M., Onclin K., et Verstegen J.P., 1996. « Assesment of ovarian changes around ovulation in bitches by ultrasonography, laparoscopie and hormonal assays ». *Veterinary Radiology & Ultrasound* 37 (4): 313-20. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1996.tb01236.x>.

Taraborrelli S., 2015. « Physiology, Production and Action of Progesterone ». *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 94 (novembre): 8-16. <https://doi.org/10.1111/aogs.12771>.

Tsuchida M., Komura N., Yoshihara T., Kawasaki Y., Sakurai D., et Suzuki H., 2022. « Ultrasonographic Observation in Combination with Progesterone Monitoring for Detection of Ovulation in Labrador Retrievers ». *Reproduction in Domestic Animals* 57 (2): 149-56. <https://doi.org/10.1111/rda.14035>.

Tsutsui T., 1975. « Studies on the reproduction in the dog. IV. On the fertile period of ovum after ovulation ». *Japanese Journal of Animal Reproduction* 21 : 65-69.

Tsutsui T., Takahashi F., Hori T., Kawakami E., et Concannon P. W., 2009. « Prolonged

Duration of Fertility of Dog Ova ». *Reproduction in Domestic Animals* 44 (juillet): 230-33. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01450.x>.

Verstegen, J. P., Silva L. D., et Onclin K., 2001. « Determination of the Role of Cervical Closure in Fertility Regulation after Mating or Artificial Insemination in Beagle Bitches ». *Journal of Reproduction and Fertility. Supplement* 57: 31-34.

Ververidis H. N., Boscós C. M., Stefanakis A., et Krambovitis E., 2002. « Use of Enzyme-Immunoassay for Oestradiol-17 $\beta$  and Progesterone Quantification in Canine Serum ». *Animal Reproduction Science*, 12.

Volkman D.H., Kutzler M.A., Wheeler R., et Krekeler. 2006 N., « The Use of Deslorelin Implants for the Synchronization of Estrous in Diestrous Bitches ». *Theriogenology* 66 (6-7): 1497-1501. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.01.033>.

Wallace S. S., Mahaffey M. B., Miller D. M., Thompson F. N., et Chakraborty P. K., 1992. « Ultrasonographic Appearance of the Ovaries of Dogs during the Follicular and Luteal Phases of the Estrous Cycle ». *American Journal of Veterinary Research* 53 (2): 209-15.

Walter B., Otzdorff C., Brugger N., et Braun J.. 2011. « Estrus Induction in Beagle Bitches with the GnRH-Agonist Implant Containing 4.7 Mg Deslorelin ». *Theriogenology* 75 (6): 1125-29. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.022>.

Wright P. J., 1990. « Application of Vaginal Cytology and Plasma Progesterone Determinations to the Management of Reproduction in the Bitch ». *Journal of Small Animal Practice* 31 (7): 335-40. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1990.tb00824.x>.







**Alice TELLIER**

**ETUDE DE LA CINÉTIQUE DE LA PROGESTÉRONE EN POST-OVULATION CHEZ LA CHIENNE, ASSOCIÉE À L'ÉCHOGRAPHIE OVARIENNE**

**STUDY OF PROGESTERONE KINETICS IN POST-OVULATION IN THE BITCH, ASSOCIATED WITH OVARIAN ULTRASOUND**

**Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 19/09/2022**

**RESUME**

Cette thèse étudie la cinétique de la croissance de la progestérone après l'ovulation. Nous avons montré qu'il existe cependant une grande variabilité de la vitesse de croissance de la progestérone juste après l'ovulation. Ainsi, certaines chiennes atteignent des valeurs très élevées de progestérone très rapidement alors que d'autres n'augmentent que progressivement. Ainsi une chienne présentée tardivement au cours de son œstrus, qui aurait déjà dépassé le seuil de progestérone de l'ovulation, pourrait tout de même être inséminée quel que soit son taux à condition que l'œstrus soit confirmé par un frotti vaginal.

Cette étude est associée à l'échographie ovarienne qui a permis de dénombrer le nombre de follicules ovulatoires et corps jaunes. Aucun lien entre les variations de la progestérone après l'ovulation et le nombre de corps jaune n'a pu être mis en évidence.

**MOTS CLES :**

- Chienne
- Œstrus
- Progestérone
- Ovulation
- Échographie
- Reproduction

**DATE DE SOUTENANCE : 19/09/2022**