



**HAL**  
open science

# Induction de l'oestrus par l'utilisation d'implants sous-cutanés d'agonistes de la GNRH chez les félins de taille moyenne

Alexine Porret

► **To cite this version:**

Alexine Porret. Induction de l'oestrus par l'utilisation d'implants sous-cutanés d'agonistes de la GNRH chez les félins de taille moyenne. Médecine vétérinaire et santé animale. 2020. dumas-04795102

**HAL Id: dumas-04795102**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04795102v1>**

Submitted on 21 Nov 2024

**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.

Copyright

Année 2020

**INDUCTION DE L'OESTRUS PAR L'UTILISATION  
D'IMPLANTS SOUS-CUTANÉS D'AGONISTES DE LA  
GNRH CHEZ LES FÉLINS DE TAILLE MOYENNE**

**THÈSE**

pour obtenir le grade de

**DOCTEUR VÉTÉRINAIRE,**

présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE CRÉTEIL (UPEC)

le 15 octobre 2020

par

**Alexine, Aurore PORRET**

sous la direction de

**Alain FONTBONNE**

Président **M. Philippe Grimbert**

1<sup>er</sup> Assesseur **M. Alain Fontbonne**

2<sup>nd</sup> Assesseur **M. Pascal Arné**

Professeur à la Faculté de Médecine de CRÉTEIL

Professeur à l'EnvA

Maître de Conférence à l'EnvA

## Liste des membres du corps enseignant



Directeur : Pr Christophe Degueurce

Directeur des formations : Pr Henry Chateau

Directrice de la scolarité et de la vie étudiante : Dr Catherine Colmin

Directeurs honoraires : MM. les Professeurs C. Pilet, B. Toma, A.-L. Parodi, R. Morailon, J.-P. Cotard, J.-P. Mialot & M. Gogny

### Département d'Élevage et de Pathologie des Équidés et des Carnivores (DEPEC)

Chef du département : Pr Grandjean Dominique - Adjoint : Pr Blot Stéphane

<p><b>Unité pédagogique d'anesthésie, réanimation, urgences, soins intensifs</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Fernandez Parra Rocio, Maître de conférences associée</li> <li>- Pr Verwaerde Patrick*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de clinique équine</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Audigé Fabrice</li> <li>- Dr Bertoni Léila, Maître de conférences</li> <li>- Dr Bourzac Céline, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Coudry Virginie, Praticien hospitalier</li> <li>- Pr Denoix Jean-Marie</li> <li>- Dr Giraudet Aude, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Jacquet Sandrine, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Mespoulhès-Rivière Céline, Praticien hospitalier*</li> <li>- Dr Moiroud Claire, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Tanquerel Ludovic, Chargé d'enseignement contractuel</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de médecine et imagerie médicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Benckroun Ghita, Maître de conférences</li> <li>- Pr Blot Stéphane*</li> <li>- Dr Canonne-Guibert Morgane, Maître de conférences</li> <li>- Dr Freiche-Legros Valérie, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Maurey-Guéneac Christelle, Maître de conférences</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de médecine de l'élevage et du sport</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cabrera Gonzales Joaquin, Chargé d'enseignement contractuel</li> <li>- Dr Fontbonne Alain, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grandjean Dominique*</li> <li>- Dr Hoummady Sara, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Maenhoudt Cindy, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Nudelmann Nicolas, Maître de conférences</li> <li>- Dr Ribeiro dos Santos Natalia, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie chirurgicale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Decambon Adeline, Maître de conférences</li> <li>- Pr Fayolle Pascal</li> <li>- Dr Manassero Mathieu, Maître de conférences</li> <li>- Pr Viateau-Duval Véronique*</li> </ul> <p><b>Discipline : cardiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Chetboul Valérie</li> <li>- Dr Saponaro Vittorio, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Discipline : ophtalmologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chahory Sabine, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Discipline : nouveaux animaux de compagnie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Pignon Charly, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Volait Laetitia, Praticien hospitalier</li> </ul>
--	--

### Département des Productions Animales et de Santé Publique (DPASP)

Chef du département : Pr Millemann Yves - Adjoint : Pr Dufour Barbara

<p><b>Unité pédagogique d'hygiène, qualité et sécurité des aliments</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Bolnot François, Maître de conférences</li> <li>- Pr Cartier Vincent</li> <li>- Dr Gauthier Michel, Maître de conférences associé</li> <li>- Dr Mtimet Narjes, Chargée d'enseignement contractuelle</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de maladies réglementées, zoonoses et épidémiologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Crozet Guillaume, Chargé d'enseignement contractuel</li> <li>- Pr Dufour Barbara*</li> <li>- Pr Haddad/Hoang-Xuan Nadia</li> <li>- Dr Rivière Julie, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pathologie des animaux de production</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Adjou Karim</li> <li>- Dr Belbis Guillaume, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Delsart Maxime, Maître de conférences associé</li> <li>- Pr Millemann Yves</li> <li>- Dr Plassard Vincent, Praticien hospitalier</li> <li>- Dr Ravary-Plumioën Bérange, Maître de conférences</li> </ul>	<p><b>Unité pédagogique de reproduction animale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Constant Fabienne, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Denis Marine, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Dr Desbois Christophe, Maître de conférences (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr Maufré Vincent, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de zootechnie, économie rurale</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Arné Pascal, Maître de conférences</li> <li>- Dr Barassin Isabelle, Maître de conférences</li> <li>- Pr Bossé Philippe*</li> <li>- Dr De Paula Reis Alline, Maître de conférences</li> <li>- Pr Grimard-Ballif Bénédicte</li> <li>- Pr Ponter Andrew</li> </ul> <p><b>Rattachée DPASP</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Wolgast Valérie, Praticien hospitalier</li> </ul>
--	--

### Département des Sciences Biologiques et Pharmaceutiques (DSBP)

Chef du département : Pr Desquilbet Loïc - Adjoint : Pr Pilot-Storck Fanny

<p><b>Unité pédagogique d'anatomie des animaux domestiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Boissady Emilie, Chargée d'enseignement contractuelle</li> <li>- Pr Chateau Henry</li> <li>- Pr Crevier-Denoix Nathalie</li> <li>- Pr Robert Céline*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de bactériologie, immunologie, virologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Boulouis Henri-Jean</li> <li>- Pr Eloit Marc</li> <li>- Dr Lagrée Anne-Claire, Maître de conférences</li> <li>- Pr Le Poder Sophie</li> <li>- Dr Le Roux Delphine, Maître de conférences*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de biochimie, biologie clinique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pr Bellier Sylvain*</li> <li>- Dr Deshuillers Pierre, Maître de conférences</li> <li>- Dr Lagrange Isabelle, Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique d'histologie, anatomie pathologique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Cordonnier-Lefort Nathalie, Maître de conférences</li> <li>- Pr Fontaine Jean-Jacques</li> <li>- Dr Laloy Eve, Maître de conférences</li> <li>- Dr Reyes-Gomez Edouard, Maître de conférences*</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de management, communication, outils scientifiques</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mme Conan Muriel, Professeur certifié (Anglais)</li> <li>- Pr Desquilbet Loïc, (Biostatistique, Épidémiologie)</li> <li>- Dr Legrand Chantal, Maître de conférences associée</li> <li>- Dr Marignac Geneviève, Maître de conférences*</li> <li>- Dr Rose Hélène, Maître de conférences associée</li> </ul>	<p><b>Unité de parasitologie, maladies parasitaires, dermatologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Blaga Radu, Maître de conférences (rattaché au DPASP)</li> <li>- Dr Briand Amaury, Assistant d'Enseignement et de Recherche Contractuel (rattaché au DEPEC)</li> <li>- Dr Cochet-Faivre Noëlle, Praticien hospitalier (rattachée au DEPEC)</li> <li>- Pr Guillot Jacques*</li> <li>- Dr Polack Bruno, Maître de conférences</li> <li>- Dr Risco-Castillo Veronica, Maître de conférences</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de pharmacie et toxicologie</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Kohlhauser Matthias, Maître de conférences</li> <li>- Dr Perrot Sébastien, Maître de conférences*</li> <li>- Pr Tissier Renaud</li> </ul> <p><b>Unité pédagogique de physiologie, éthologie, génétique</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dr Chevallier Lucie, Maître de conférences (Génétique)</li> <li>- Dr Crépeaux Guillemette, Maître de conférences (Physiologie, Pharmacologie)</li> <li>- Pr Gilbert Caroline (Ethologie)</li> <li>- Pr Pilot-Storck Fanny (Physiologie, Pharmacologie)</li> <li>- Pr Tiret Laurent (Physiologie, Pharmacologie)*</li> <li>- Dr Titeux Emmanuelle (Ethologie), Praticien hospitalier</li> </ul> <p><b>Discipline : éducation physique et sportive</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- M. Philips Pascal, Professeur certifié</li> </ul>
--	---

\* responsable d'unité pédagogique

Professeurs émérites : Pr Combrisson Hélène, Pr Enriquez Brigitte, Pr Panthier Jean-Jacques, Pr Paragon Bernard.



# Remerciements

**A M. Philippe Grimbart, Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil,**

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse, Hommage respectueux

**A M. Alain Fontbonne, Professeur à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,**

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail, pour m'avoir offert la chance de travailler sur ce sujet, pour vos conseils, pour votre soutien, votre gentillesse et pour le temps que vous m'avez consacré, Sincères et respectueux remerciements.

**A M. Pascal Arné, Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,**

Pour m'avoir fait l'honneur d'être l'assesseur de cette thèse, pour vos conseils précieux et avisés, votre lecture attentive, votre disponibilité et l'intérêt porté dans ce travail, Sincères et respectueux remerciements.

**A Mme. Katarina Jewgenow, Directrice déléguée et chef de département de la biologie de la reproduction à l'IZW,**

Pour votre soutien, vos conseils, votre disponibilité, l'intérêt porté dans ce travail et le temps que vous m'avez consacré, Sincères et respectueux remerciements.

**A M. Charly Pignon, Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,**

Pour avoir pris le temps de m'aider dans la rédaction du protocole, de nous avoir permis d'entrer en contact avec les vétérinaires membres de l'AFVPZ, Sincères et respectueux remerciements.

**A M. Nicolas Nuddelman, Maître de Conférences à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort,**

Pour votre soutien et votre aide dans la réalisation des expériences, pour le temps que vous y avez consacré, Sincères et respectueux remerciements.

# Table des matières

Liste des figures.....	3
Liste des tableaux.....	4
Liste des abréviations.....	5
Introduction.....	7
<b>Première partie : Etude bibliographique : les protocoles d'induction des chaleurs utilisés chez les félidés.....</b>	<b>9</b>
I. Les protocoles d'induction des chaleurs les plus utilisés actuellement chez les félidés.....	9
I.1. <i>Rappels d'endocrinologie</i> .....	9
I.1.1. L'endocrinologie du cycle ovarien chez les Félidés.....	9
I.1.2. La base des protocoles d'induction de la croissance folliculaire et de l'ovulation.....	12
I.2. <i>Les hormones utilisées</i> .....	12
I.2.1. Stimulation de la croissance folliculaire.....	12
I.2.2. Pour induire l'ovulation.....	16
I.3. <i>Les protocoles les plus utilisés</i> .....	17
I.3.1. Le protocole standard eCG/hCG.....	17
I.3.2. Le protocole pFSH/pLH.....	18
I.3.3. Le protocole eCG/pLH.....	19
I.4. <i>Les limites de ces protocoles</i> .....	19
I.4.1. Une réponse variable selon les espèces.....	19
I.4.2. L'impact de l'anesthésie.....	20
I.5. <i>Les éléments qui influencent les protocoles d'induction des chaleurs</i> .....	20
I.5.1. L'ovulation spontanée.....	20
I.5.2. L'impact du stress.....	21
I.5.3. L'impact de l'âge de l'animal.....	21
I.5.4. L'impact du régime alimentaire.....	22
I.5.5. Saisonnalité de la reproduction.....	22
II. Des alternatives aux protocoles les plus couramment utilisés pour améliorer la reproduction en captivité.....	25
II.1. <i>La nécessité d'inhiber l'activité ovarienne</i> .....	25
II.2. <i>L'utilisation d'implant de progestagène</i> .....	25
II.3. <i>L'utilisation de progestagènes par voie orale</i> .....	28
II.4. <i>Des protocoles alternatifs à base d'agonistes de la GnRH</i> .....	31
II.5. <i>Bilan des connaissances</i> .....	33
<b>Deuxième partie : Mise en place d'un nouveau protocole d'induction des chaleurs chez les félins de taille moyenne.....</b>	<b>34</b>
I. Objectifs de l'étude.....	34
II. Matériels et méthodes.....	34
II.1. <i>Les animaux</i> .....	34
II.2. <i>Le matériel</i> .....	35
II.2.1. L'élaboration de la lettre avec les différents protocoles et sa diffusion aux parcs zoologiques.....	35
II.2.2. Matériel utilisé pour l'examen de l'appareil reproducteur.....	35
II.3. <i>Méthodes</i> .....	36
II.3.1. Réalisation du frottis vaginal.....	36
II.3.2. Réalisation du dosage de progestérone plasmatique.....	36
II.3.3. Réalisation de l'échographie des ovaires et de l'utérus.....	36
II.3.3. Réalisation de l'endoscopie vaginale.....	36
II.3. <i>Les protocoles proposés</i> .....	36
III. Résultats.....	37
III.1. <i>Réponses des vétérinaires de l'AFVPZ à notre lettre et animaux exclus ou inclus dans l'étude</i> ..	37
III.2. <i>Etude de la femelle serval</i> .....	37
III.2.1 Anamnèse et commémoratifs.....	37

III.2.2. Anesthésie .....	38
III.2.3. Cytologie vaginale .....	38
III.1.4. Echographie génitale .....	39
III.1.5. Dosage de progestérone .....	39
III.1.6. Endoscopie vaginale.....	40
<i>III.3. Bilan</i> .....	42
<b>IV. Discussion</b> .....	43
<i>IV.1. Les aléas dus à la COVID-19</i> .....	43
<i>IV.2. La nécessité d'adaptation du protocole face au faible nombre de lynx disponible en France</i> .....	43
<i>IV.3. Des difficultés à impliquer les parcs zoologiques de France</i> .....	43
<i>V.4. Que faire maintenant ?</i> .....	43
<b>Conclusion</b> .....	45
<b>Liste des références bibliographiques</b> .....	46
<b>Annexes</b> .....	50

---

# Liste des figures

---

Figure 1 : Cycle ovarien de la chatte associé aux profils hormonaux des hormones ovariennes et aux changements dynamiques des structures ovariennes fonctionnelles. Source : Jewgenow <i>et al.</i> , (2014).....	10
Figure 2 : Représentation graphique du profil hormonal des métabolites fécaux d'œstrogènes (triangles blancs) et de progestérone (cercles noirs) chez un Chat de Pallas femelle et une panthère nébuleuse tout au long de la gestation. Le jour 0 correspond au jour de l'accouplement. Source : (Brown, 2006).....	11
Figure 3 : Représentation graphique du profil hormonal des résidus fécaux d'oestradiol (a) et de progestérone (b) chez des chattes domestiques sans traitement et accouplement naturel et chez des chattes ayant reçu un protocole de stimulation hormonale des gonadotropines. Source : Graham <i>et al.</i> (2000).....	14
Figure 4: Succès des protocoles de stimulation ovarienne pour une insémination artificielle intra utérine chez des espèces de félidés. Source : Pelican <i>et al.</i> , (2006a) .....	17
Figure 5 : Spécificité des espèces de félidés relative aux doses de gonadotropines nécessaires pour obtenir une réponse à l'induction de l'ovulation et un délai similaire après injections d'eCG et d'hCG. Source :Pelican <i>et al.</i> , (2006a) .....	20
Figure 6 : Influence de l'âge sur la réponse ovarienne et le succès de la gestation chez des femelles guépards après un traitement à base de gonadotropines et une insémination artificielle. Source : Pelican <i>et al.</i> (2006a) .....	22
Figure 7 : Prévention de l'ovulation par du lévonorgestrel (A) et de l'antide (B) chez des femelles enclines à ovuler spontanément. Source : Pelican <i>et al.</i> (2008).....	26
Figure 8 : Représentation graphique de l' influence des progestagènes oraux sur le suivi longitudinal des métabolites d'œstrogènes fécaux. Source : Stewart <i>et al.</i> (2010).....	28
Figure 9 : Cytologie vaginale de Sissi en coloration Harris Schorr. Source : Personnelle .....	38
Figure 10 : Images de l'endoscopie vaginale de Sissi. Source : personnelle .....	41
Figure 11 : Photographie illustrant la présence de spicules sur le pénis de Skaam. Source : personnelle.....	61

# Liste des tableaux

---

Tableau 1 : Concentrations moyennes des métabolites fécaux chez des groupes de femelles guépards pré-traitées <i>versus</i> non pré-traitées avec de l'altrénogest <i>per os</i> avant la stimulation par les gonadotropines. Source : Thuwanut <i>et al.</i> (2019).....	30
Tableau 2 : Résultats de l'induction de l'œstrus et de l'ovulation à l'aide de Suprelorin ® chez les 13 chattes. Source : Zambelli <i>et al.</i> (2015) .....	32
Tableau 3 : Aspect du frottis vaginal au cours du cycle sexuel chez des lionnes Africaines (en coloration Wright et Giemsa). Source : Callealta <i>et al.</i> (2020).....	51
Tableau 4: Résultats du bilan biochimique et du dosage de progestérone de Sissi. Source : personnelle.....	60
Tableau 5 : Résultat du bilan biochimique de Skaam. Source : personnelle .....	62

# Liste des abréviations

---

AFVPZ : Association Francophone des Vétérinaires de Parcs Zoologiques

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

E2 : oestradiol

eCG : equine Chorionic Gonadotrophin (Gonadotropine Chorionique équine)

ENVA : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

FIV : Fécondation *In Vitro*

FSH : Follicle Stimulating Hormone (Hormone folliculostimulante)

GnRH : Gonadotropin Releasing Hormone (Hormone de libération des gonadotropines hypophysaires)

hCG : human Chorionic Gonadotrophin (Gonadotropine Chorionique humaine)

IA : Insémination Artificielle

IM : IntraMusculaire

IV: IntraVeineux

IZW : l'Institut de la Faune Sauvage – Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research

LH : Luteinizing Hormone (Hormone Lutéinisante)

pFSH : porcine Follicle Stimulating Hormone (Hormone Folliculo-Stimulante porcine)

PGF2 $\alpha$  : Prostaglandine F2 $\alpha$

PGFM : Métabolite de la Prostaglandine F2 $\alpha$

pLH : porcine Luteinizing Hormone (Hormone Lutéinisante porcine)

PNN : Polynucléaire Neutrophile

Rpm : rotation par minute

UI : Unité Internationale

USD : United State Dollar (Dollar des Etats-Unis d'Amérique)



# Introduction

---

L'objectif de cette thèse se situe en appont d'une étude plus vaste conduite par l'Institut de la Faune Sauvage (Berlin, Allemagne) – Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research (IZW) dont le but est de contribuer à la sauvegarde des félins tels que le Lynx ibérique (*Lynx pardinus*) qui se trouve être le félin le plus menacé d'extinction au monde. Parmi les axes poursuivis, il importe de mieux connaître et maîtriser la fonction de reproduction dans le but de garantir la diversité génétique des espèces et plus largement leur survie.

De nombreux programmes d'élevage et de techniques de reproduction assistée ont ainsi été mis en œuvre dans les zoos ou réserves naturelles afin de réduire les risques d'extinction de ces espèces. La mise en place de ces méthodes nécessite de bien connaître le cycle sexuel de la femelle afin de maîtriser les étapes clés du cycle ovarien. Chez les félins, la plupart des protocoles actuellement utilisés pour la reproduction assistée repose sur l'induction des chaleurs et de l'ovulation chez les femelles. Cela permet de se placer dans les meilleures conditions pour réaliser une fécondation *in vitro*, une insémination artificielle ou un transfert d'embryon.

Ainsi, dans le cadre d'un projet élaboré par l'IZW et visant à induire les chaleurs et l'ovulation chez le lynx roux (*Lynx rufus*) et le lynx boréal (*Lynx lynx*), nous avons été contactés par le Docteur Katarina Jewgenow, chef du département de biologie de la reproduction de cet institut, pour apporter notre contribution à cette étude. Son but était de mettre en place un protocole permettant d'induire des chaleurs et une ovulation chez ces deux espèces de lynx. Du fait de la difficulté de trouver des zoos partenaires en Allemagne pour réaliser cette étude, le Dr Jewgenow nous a contactés dans le but d'accéder à des parcs zoologiques en France pour pouvoir poursuivre la mise en place du protocole.

Ce projet a été rendu nécessaire du fait que les protocoles de stimulation ovarienne les plus utilisés actuellement chez les félins sont basés sur l'emploi de gonadotropines exogènes qui présentent trop d'effets indésirables et donnent des résultats décevants avec des taux de gestation faibles.

Nous avons donc voulu tester un protocole d'induction des chaleurs évitant les effets indésirables des procédures les plus couramment utilisées et pour cela, chercher des alternatives aux gonadotropines exogènes. Nous avons donc décidé de travailler avec des agonistes de la GnRH qui sont devenus les molécules de choix pour le contrôle de la reproduction chez les carnivores au cours de ces dernières années.

Parmi les buts poursuivis, nous souhaitons également que notre protocole présente un minimum de risque pour les animaux et recourir le moins possible aux anesthésies qui sont parfois non justifiées. De plus, le nombre de lynx roux et de lynx boréaux femelles étant réduit dans les zoos français, nous avons décidé avec l'IZW d'étendre le protocole d'induction des chaleurs et de l'ovulation aux félins de taille moyenne afin de disposer d'un nombre d'animaux plus conséquent et d'avoir ainsi plus de résultats à exploiter.

Notre étude se déroulera en deux parties. Dans un premier temps, nous présenterons les protocoles d'induction des chaleurs les plus fréquemment employés actuellement chez les félinidés et l'émergence de nouvelles d'alternatives. Puis, dans un second temps, nous proposerons une partie

expérimentale où ou nous nous nous appliquerons à démontrer si un nouveau protocole aussi performant mais entraînant moins d'effets indésirables peut être proposé et à l'appliquer aux félins à notre disposition.

# Première partie : Etude bibliographique : les protocoles d'induction des chaleurs utilisés chez les félidés

---

## I. Les protocoles d'induction des chaleurs les plus utilisés actuellement chez les félidés

Toutes les espèces de félins à l'exception du chat domestique (*Felis sylvestris catus*) sont menacées d'extinction sur toute ou partie de leur aire de répartition naturelle (Pelican *et al.*, 2006a). De plus, la plupart de ces espèces ne se reproduisent pas bien en captivité pour différentes raisons : agressions entre mâles, incompatibilités comportementales et infertilité (Thongphakdee *et al.*, 2018). Des techniques de reproduction assistée sont alors mises en place pour faciliter leur reproduction dans ces établissements. L'utilisation de ces techniques nécessite une bonne connaissance du cycle sexuel de la femelle et de connaître les étapes clés de l'activité ovarienne (Pelican *et al.*, 2006a). Cela permet alors de proposer des protocoles adaptés et ciblés en conséquence afin d'améliorer les capacités de reproduction des différentes espèces. Deux options sont possibles: un suivi du cycle de la femelle afin de détecter le moment de l'œstrus ou l'induction de la croissance des follicules puis de l'ovulation à l'aide de protocoles hormonaux.

### I.1. Rappels d'endocrinologie

#### I.1.1. L'endocrinologie du cycle ovarien chez les Félidés

A l'exception du lynx, les félins présentent un cycle ovarien dont le modèle est celui du chat domestique (Jewgenow *et al.*, 2014). Nous pouvons donc nous baser sur les connaissances afférentes à la chatte pour étudier le cycle ovarien des différentes espèces de félidés. L'ensemble des variations hormonales ovariennes au cours du cycle ovarien de la chatte est illustré dans la Figure 1.

Les principales hormones ovariennes sont (Wildt *et al.*, 1981):

- les œstrogènes, sécrétés par les cellules de la granulosa. L'augmentation de leur sécrétion coïncide avec celle de la taille des follicules. L'hormone principale est le 17- $\beta$ -œstradiol dont la sécrétion est irrégulière mais demeure élevée durant la période pré-ovulatoire, en association avec l'expression des chaleurs ;
- la progestérone, sécrétée par les corps jaunes et le placenta en fin de gestation;

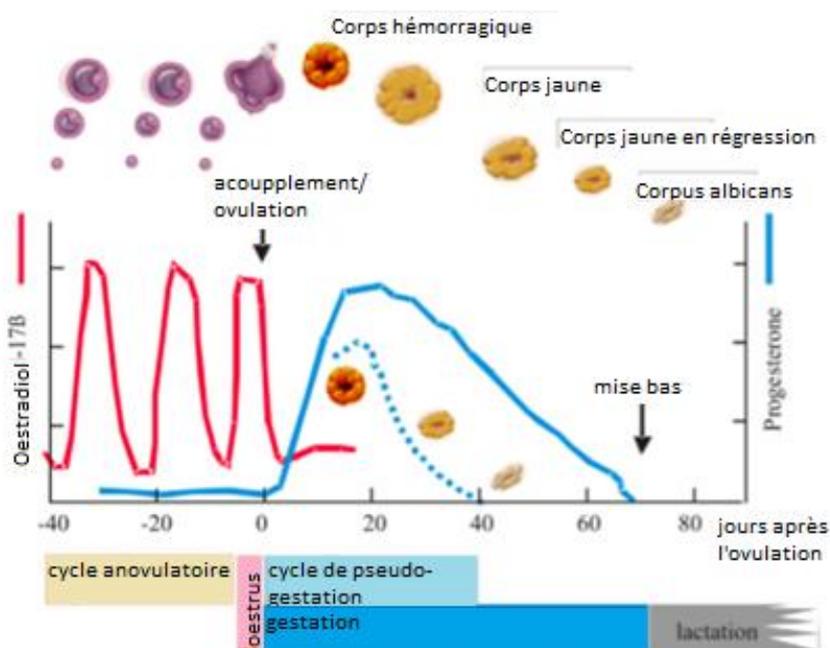
Chez la plupart des félins, il semble nécessaire au cours de l'accouplement qu'il y ait de multiples intromissions, souvent étalés sur plusieurs jours pour déclencher un pic hormonal suffisant pour induire l'ovulation. Cette cascade d'évènements provoque une maturation finale des follicules et de l'ovocyte et entraîne l'ovulation après l'accouplement (Brown, 2011). L'ovulation intervient donc environ 24 à 48 h après un coït « efficace » (Shille *et al.*, 1983 ; Brown, 2006) car tout accouplement n'est pas forcément suivi d'une ovulation dépendant du moment où il intervient. Le pic de LH se

produit quelques minutes après l'accouplement (Brown, 2006). Une concentration de LH élevée se maintient pendant quelques heures puis revient à un niveau basal au bout de 4 à 16 h (Brown, 2006). Après l'ovulation, pendant la phase de dioestrus, un ou plusieurs corps jaunes synthétisent de la progestérone dont les concentrations restent élevées pendant une durée variable, selon que la chatte est gestante ou pseudo-gestante (Brown, 2011).

Trois types de cycles sont alors possibles chez la chatte. Lorsqu'il n'y a pas d'ovulation, on parle de cycle anovulatoire, la femelle retourne alors en chaleurs dans un délai de 2 à 4 semaines (Brown, 2011). Lorsqu'il y a ovulation sans fécondation, la chatte entre en pseudo-gestation. Quand l'ovulation est suivie d'une fécondation, la chatte devient gestante.

Figure 1: Cycle ovarien de la chatte associé aux profils hormonaux des hormones ovariennes et aux changements dynamiques des structures ovariennes fonctionnelles. Source : Jewgenow et al., (2014)

*Nous pouvons voir les différents types de cycles chez la chatte (en dessous du graphique : cycle anovulatoire, œstrus suivi d'une pseudo-gestation ou œstrus suivi d'une gestation) accompagné des changements hormonaux respectifs (sur le graphique on peut voir en tracé rouge, les variations de concentrations d'œstradiol et en bleu les variations de progestérone, la ligne pointillée bleu correspond aux concentrations de progestérone lors de pseudo-gestation) et des changements de structures ovariennes fonctionnelles (au-dessus du graphique, nous pouvons voir les vagues folliculaires se succédant lors du cycle anovulatoire ainsi que l'évolution du corps jaune lors de pseudo-gestation et de gestation).*



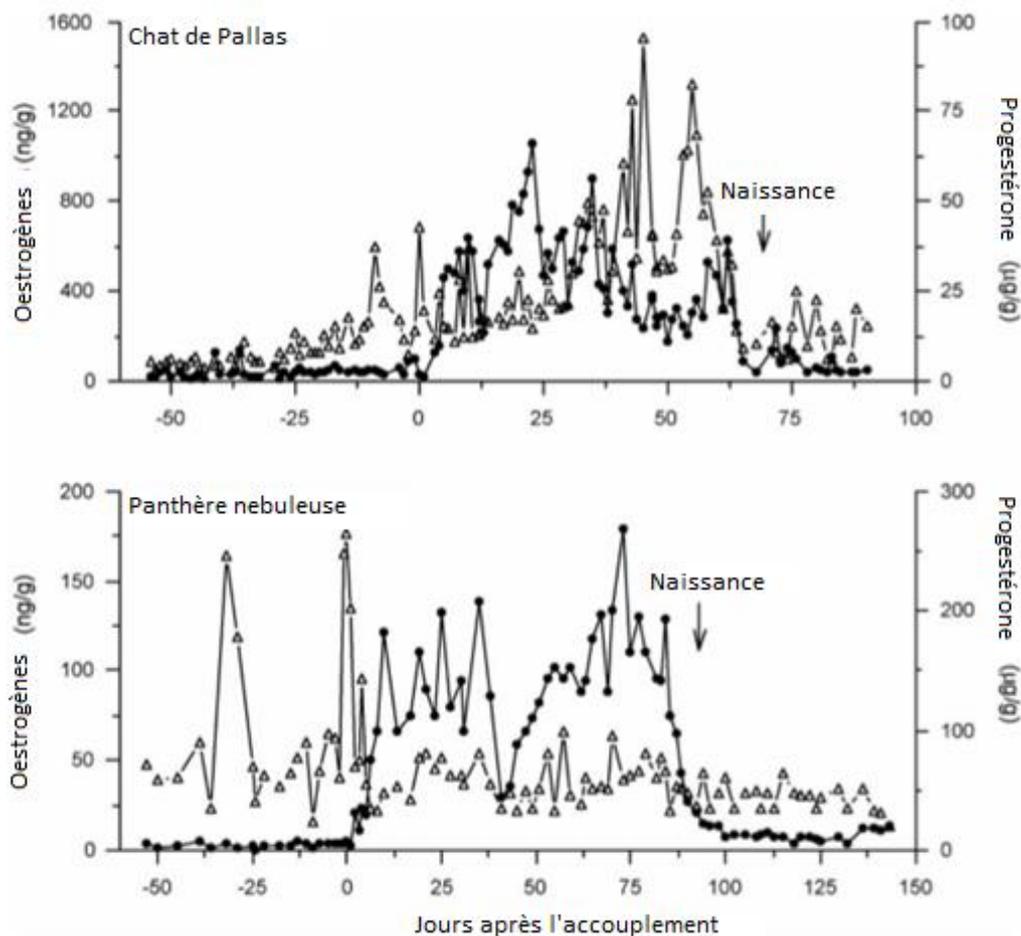
Chez le chat domestique, la concentration sérique d'œstradiol est variable mais généralement supérieure à 20 pg/mL au cours de l'œstrus chez les femelles accouplées ou non (Jewgenow et al., 2014).

De plus, chez cette espèce, les œstrogènes augmentent de façon significative et constante au cours de la seconde moitié de gestation avec un pic distinct intervenant une semaine avant la parturition.

Cependant, chez les félins sauvages, ce profil de sécrétion diffère selon les espèces : si les œstrogènes augmentent dans la seconde moitié de la gestation chez le guépard (*Acinonyx jubatus*), le chat de Pallas (*Otocolobus manul*) et le chat pêcheur (*Prionailurus viverrinus*) tout comme le chat domestique, ils demeurent inchangés chez la panthère nébuleuse (*Neofelis nebulosa*) et le tigre (*Panthera tigris*) comme nous pouvons le voir sur la Figure 2 (Brown, 2006).

Figure 2 : Représentation graphique du profil hormonal des métabolites fécaux d'œstrogènes (triangles blancs) et de progestérone (cercles noirs) chez un Chat de Pallas femelle et une panthère nébuleuse tout au long de la gestation. Le jour 0 correspond au jour de l'accouplement.  
 Source : (Brown, 2006)

Nous pouvons constater chez le chat de Pallas une augmentation de la concentration en œstrogènes à partir de 30 jours de gestation environ alors que pour la panthère nébuleuse, la concentration en œstrogènes reste inchangée pendant toute la durée de la gestation.



La sécrétion de progestérone par le corps jaune débute un à deux jours après l'ovulation (soit deux à trois jours après l'accouplement) et reste élevée pendant 64 à 67 jours chez les chattes gestantes, et seulement 36 à 38 jours chez les chattes non gestantes, soit une durée représentant un peu plus de la moitié du temps de gestation. Chez les félins non domestiques, les concentrations de progestérone, en cas de gestation ou de pseudo-gestation, sont similaires et vont jusqu'à atteindre 15 ng/mL et la durée de pseudo-gestation équivaut à un tiers voire la moitié de celle de la gestation (Brown, 2006 ; Jewgenow *et al.*, 2014).

Sont présentés en Annexe 1 les différents types de frottis observés chez des lionnes (*Panthera leo*) en fonction du cycle ovarien, permettant ainsi d'orienter l'observateur sur la période du cycle où se situe l'animal. D'après Callealta *et al.*, (2020) cette technique peut donc être appliquée pour classer les différents stades du cycle de reproduction chez d'autres espèces de félins.

On trouve également d'autres hormones telles que la prolactine, la relaxine et la PGF2 $\alpha$  qui ont chacune un rôle important au cours de la gestation.

La prolactinémie augmente chez la chatte autour du 35<sup>ème</sup> jour de gestation et de nouveau en fin de gestation. La prolactine possède une action lutéotrope surtout après 30 jours de gestation en stimulant le tissu lutéal afin de maintenir une progéstonémie élevée et d'empêcher la résorption foetale (Brown, 2006).

La relaxine circulante sécrétée par l'unité foeto-placentaire augmente à partir du 20<sup>ème</sup> jour puis tout au long de la gestation puis diminue au moment de la parturition. Elle a pour rôles de maintenir la gestation en inhibant les contractions utérines et de relâcher les tissus pelviens afin de faciliter la mise bas (Stewart et Stabenfeldt, 1985 ; Brown, 2011).

La concentration de PGF2 $\alpha$  (prostaglandine F2 $\alpha$ ) produite par l'endomètre ainsi que par l'unité foeto-placentaire, s'accroît à partir du 35<sup>ème</sup> jour, se stabilise à 45 jours puis forme un pic en fin de gestation facilitant la mise-bas. (Brown, 2006).

### ***1.1.2. La base des protocoles d'induction de la croissance folliculaire et de l'ovulation***

Afin d'induire la croissance folliculaire et l'ovulation, on utilise le plus souvent des hormones exogènes, qui reproduisent l'action des hormones endogènes.

L'hypothalamus sécrète une hormone, la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), qui stimule les sécrétions de FSH (Folliculo-Stimulating Hormone) et de LH (Luteinizing Hormone) par l'hypophyse. La FSH permet le recrutement de follicules, leur croissance et leur maturation afin d'assurer la sécrétion d'œstrogènes par les cellules de la thèque interne de ces mêmes follicules. La LH déclenche l'ovulation puis la formation du corps jaune qui sécrète la progestérone (Brown, 2006). On va donc chercher à utiliser des hormones exogènes ayant des effets de type LH ou FSH pour établir les protocoles de stimulation ovarienne.

## **1.2. Les hormones utilisées**

On distingue deux catégories d'hormones en fonction de leur effet : celles qui stimulent la croissance folliculaire et celles qui induisent l'ovulation.

### ***1.2.1. Stimulation de la croissance folliculaire***

Ces hormones vont exercer une action semblable à celle de la FSH. Il existe plusieurs hormones de synthèse actuellement disponibles dont les plus utilisées d'après Pelican *et al.*, (2006a) sont :

- **La FSH porcine purifiée** : les acides aminés de cette hormone possèdent une forte homologie avec ceux de la FSH du tigre de Sibérie (*Panthera tigris altaica*) et sa forme purifiée ne présente que très peu d'effet de type LH. Néanmoins, son utilisation a entraîné quelques cas d'échecs de maturation des ovocytes et une sécrétion de progestérone anormale chez le tigre (Crichton *et al.*, 2003). Cependant, la détermination de la séquence d'acides aminés de

la FSH de tigre pourrait permettre de synthétiser une FSH spécifique des félins, ce qui améliorerait considérablement la réponse ovarienne tout en minimisant la formation d'anticorps à la suite d'injections répétées de protéines hétérologues (Pelican *et al.*, 2006a). La demi-vie de la pFSH est courte, nécessitant ainsi des injections quotidiennes pendant 3 à 6 jours consécutifs se révélant stressantes pour l'animal et pouvant compromettre le bon déroulement de la reproduction (Swanson *et al.*, 1997). C'est une hormone qui est utilisée chez de nombreux félins tels que le chat domestique, le caracal (*Caracal caracal*), le jaguarondi (*Herpailurus yagouaroundi*), le tigre, le guépard, le lion, le chat du désert (*Felis margarita*), le chat à pied noir (*Felis nigripes*), le chat des marais (*Felis chaus*), le chat pêcheur, le jaguar (*Panthera onca*) et le puma (*Felis concolor*) mais qui présente également l'inconvénient d'avoir un coût élevé surtout pour des félins de grande taille nécessitant de nombreuses injections (350 dollars américains pour 100 µg de pFSH).

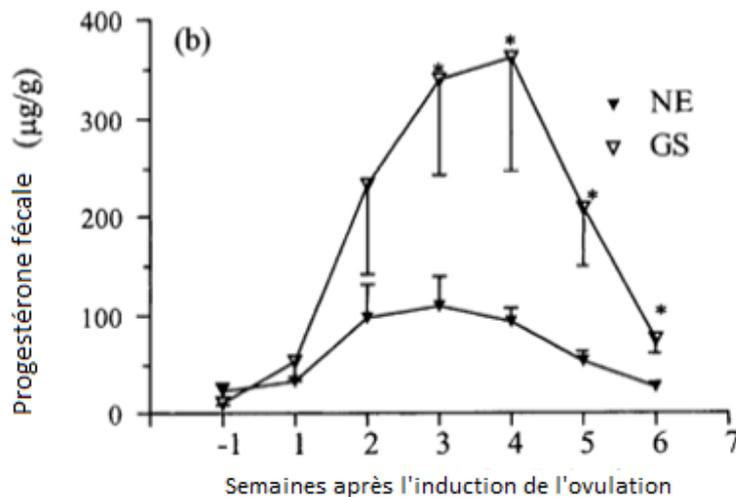
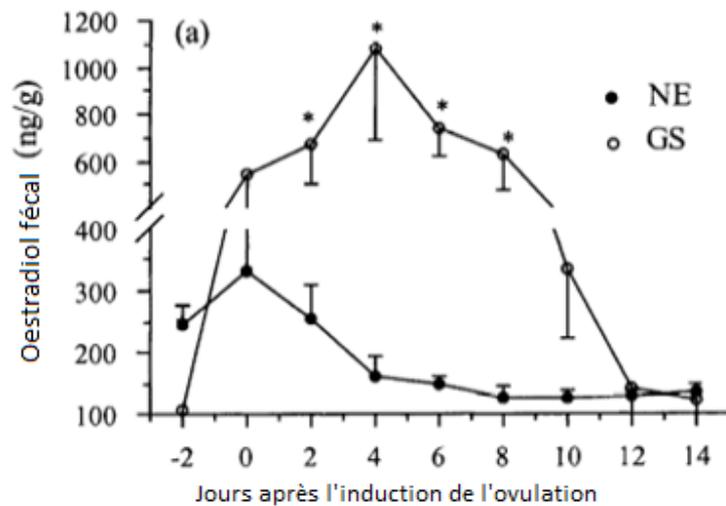
- l'Equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) : Chez le chat, l'eCG est traditionnellement utilisée pour induire la croissance folliculaire, bien que des doses élevées ou de multiples injections soient connues pour induire également l'ovulation (Swanson *et al.*, 1997). Comme l'eCG persiste dans la circulation pendant 4-5 jours (environ 120 heures) après une seule injection, elle est souvent préférée à la pFSH (qui requiert plusieurs administrations) pour les procédures de reproduction assistée (Swanson, 2019). A ce jour, elle a été utilisée chez le chat domestique, le chat léopard (*Prionailurus bengalensis*), le guépard, la panthère nébuleuse, le puma, l'ocelot (*Leopardus pardalis*), le tigre, la panthère des neiges (*Panthera uncia*) et le lion (Pelican *et al.*, 2006a). Cependant, cette hormone présente un inconvénient majeur qui est le développement d'une réponse immunitaire par la formation d'anticorps anti-eCG chez l'animal traité, diminuant ainsi l'action de cette hormone sur les ovaires si elle est administrée trop fréquemment (Swanson *et al.*, 1997). On peut constater cet effet à partir de 3 séries d'une injection d'eCG, c'est pourquoi il est recommandé d'espacer de 4 à 5 mois les séries d'injections afin d'éviter cette réponse immunitaire ou bien d'opter pour un autre protocole hormonal afin de ne pas toujours utiliser ces gonadotropines (Swanson *et al.*, 1995). Il existe cependant une variabilité individuelle de la réponse immunitaire en cause chez le chat domestique et les félinés sauvages (Swanson *et al.*, 1996a). Certaines gonadotropines et en particulier l'eCG présentent un autre inconvénient majeur qui est le fait que leur longue rémanence dans l'organisme entraîne une sécrétion d'œstrogènes à des taux très élevés, supra-physiologiques par le développement de follicules secondaires qui, après ovulation, donnent des corps jaunes secondaires (Swanson *et al.*, 1996b). On obtient donc très souvent des profils hormonaux anormaux (Stewart *et al.*, 2010). Nous pouvons ainsi observer cette augmentation anormale des taux plasmatiques d'œstrogènes après l'ovulation dans la Figure 3. Graham *et al.*, (2000) ont montré que les concentrations des métabolites fécaux d'œstrogènes sont significativement et négativement corrélés avec la proportion d'ovocytes/embryons retrouvés dans l'utérus en comparaison avec ceux retrouvés dans les oviductes. Cela suggère que l'élévation anormalement importante des œstrogènes produites par les follicules accessoires pourraient retarder le transport des embryons depuis les oviductes jusqu'à l'utérus (Graham *et al.*, 2000). Une telle perturbation chez les félins traités aux gonadotropines pourrait être un des facteurs contribuant à une mauvaise fertilité après l'IA et à un environnement utérin de mauvaise qualité (Graham *et al.*, 2000). L'autre hypothèse serait que l'ovulation des follicules accessoires et la fécondation retardée des ovocytes libérés pourraient produire des embryons capables de s'implanter

dans l'utérus mais dont le développement fœtal ou placentaire ultérieurs pourraient être compromis (Conforti *et al.*, 2013). Ce phénomène se retrouve aussi chez les félinés sauvages chez lesquels l'eCG est utilisé dans les protocoles de reproduction assistée et est à relier à l'action prolongée de l'eCG, induisant souvent une seconde vague de maturation folliculaire (Pelican *et al.*, 2006a). Cependant, cet effet de l'eCG sur le développement de follicules et de corps jaunes secondaires pourrait n'être que partiel et amplifié par l'action d'autres gonadotropines exogènes puisqu'il a été montré que l'administration d'un antisérum neutralisant l'eCG n'empêchait pas la formation de ces structures ovariennes secondaires (Swanson *et al.*, 1996b).

Figure 3 : Représentation graphique du profil hormonal des résidus fécaux d'oestradiol (a) et de progestérone (b) chez des chattes domestiques sans traitement et accouplement naturel et chez des chattes ayant reçu un protocole de stimulation hormonale des gonadotropines. Source : Graham *et al.* (2000).

*Sur la Figure 3.a, nous pouvons voir les concentrations des métabolites d'œstrogènes chez les chattes domestiques dont les chaleurs n'ont pas été induites par des gonadotropines (cercles noirs) et celles dont les chaleurs ont été induites par des gonadotropines (cercles blancs) tandis que la Figure 3.b correspond aux concentrations des métabolites de progestérone chez les chattes domestiques dont les chaleurs n'ont pas été induites par des gonadotropines (triangles noirs) et celles dont les chaleurs ont été induites aux gonadotropines (triangles blancs, les*

intervalles d'erreurs étant marqués par les astérisques). Le jour 0 correspond au jour de l'induction de l'ovulation (par l'accouplement ou l'administration de gonadotropines)



De plus, la stimulation ovarienne par les gonadotropines entraîne une sécrétion excessive ou trop précoce de progestérone (Graham *et al.*, 2000), illustrée par la Figure 3, ou, au contraire, une insuffisance lutéale ou une lutéolyse précoce lors de la gestation qui suit par la présence de corps jaunes secondaires et de cellules lutéales de mauvaises qualités (Stewart *et al.*, 2012 ; Swanson, 2019). Par ailleurs, il n'est pas possible de réduire trop les doses d'eCG pour éviter cette hyperstimulation ovarienne. En effet, chez le guépard et la panthère nébuleuse des doses insuffisantes d'eCG produisent des follicules incapables d'ovuler en réponse à la stimulation d'hCG (*cf. infra*), malgré l'utilisation de doses très importantes de cette dernière hormone (75-

100 UI). La cause de ces faibles taux de réussites d'ovulation pourrait être associée aux effets de l'eCG sur les récepteurs ovariens à la LH (Howard *et al.*, 1997).

### ***1.2.2. Pour induire l'ovulation***

L'ovulation est induite une fois que les follicules sont au stade pré-ovulatoire. Il existe actuellement trois catégories hormones d'après Pelican *et al.*, (2006a) permettant d'obtenir ce résultat :

- La LH porcine purifiée (pLH): Tout comme la pFSH, on retrouve le même degré de similarité entre les séquences en acides aminés de la pLH et de la LH du tigre qui existe sous forme purifiée (Crichton *et al.*, 2003). De plus, la durée de demi-vie de la pLH est courte mais les différents protocoles existants n'utilisent qu'une seule injection pour induire l'ovulation la plupart du temps (Pope, 2000 ; Pope *et al.*, 2006).
- La Human Chorionic Gonadotrophin (hCG) : L'hCG, tout comme l'eCG, est une gonadotropine exogène dont la fonction est, souvent en association avec une injection d'eCG la précédant, d'induire une maturation folliculaire terminale et l'ovulation (Swanson *et al.*, 1997). Chez le chat, l'hCG a une grande affinité pour les récepteurs à la LH et est utilisé depuis plus de deux décennies pour induire l'ovulation chez les femelles en œstrus naturel ou traitées avec de l'eCG. La demi-vie de l'hCG est plus longue que celle de la pLH et ne nécessite qu'une seule injection, les félins y étant également très sensibles (Swanson *et al.*, 1997). Malgré des caractéristiques pharmacocinétiques similaires à l'eCG, l'hCG persiste dans la circulation 96 heures soit moins longtemps que l'eCG détectable durant environ 120 heures (Swanson *et al.*, 1997). Cependant, l'ovulation intervenant approximativement 30 à 40 heures après l'administration d'hCG, on en déduit qu'elle peut persister dans la circulation encore 66 heures post ovulation, promouvant certainement la croissance de follicules secondaires ou accessoires post ovulatoires et susceptible de perturber la lutéinisation des follicules ayant ovulé ou non. Ainsi, si son effet sur l'induction de l'ovulation est bien avéré, l'hCG agit également sur la croissance folliculaire et l'induction de la croissance de follicules accessoires et d'ovulations secondaires chez le chat (Swanson *et al.*, 1997). Il a été montré que le développement de follicules secondaires et que l'élévation excessive de la concentration d'œstrogènes se produisent également chez d'autres espèces de félins (Graham *et al.*, 2000). La persistance de l'hCG suite à une seule injection et ses effets démontrés sur les follicules lorsqu'il est administré seul suggèrent qu'elle est au moins partiellement responsable du développement de follicules accessoires après l'ovulation chez la chatte. Ainsi, la persistance de l'hCG dans la circulation, en combinaison avec l'eCG résiduel, peut stimuler le développement de follicules et de corps jaunes secondaires (Conforti 2013). Cela perturbe donc le profil hormonal des félinés avec des niveaux d'œstrogènes très élevés qui interfèrent avec le succès de la reproduction (Swanson, 2019). De plus, la persistance de l'hCG dans la circulation et ses effets lutéotropes prolongés peuvent expliquer la lutéinisation des follicules accessoires et la formation de corps jaunes secondaires. Par ailleurs, de façon similaire à l'eCG, son utilisation peut engendrer la formation d'anticorps anti-hCG. Il est donc recommandé de la même manière que pour l'eCG de respecter un intervalle de 6 mois avant de ré-administrer cette hormone sur le même animal afin de limiter ce phénomène (Swanson *et al.*, 1997). L'hCG s'avère donc efficace

mais possède de nombreuses actions indésirables. C'est pourquoi il serait utile de pouvoir remplacer cette molécule par des substances possédant moins d'effets secondaires.

- **GnRH ou agonistes de la GnRH :** Un agoniste de la GnRH est une molécule interagissant avec les récepteurs à la GnRH et permettant leur activation. L'effet de cette molécule est donc identique à celui de la GnRH. L'action de ces hormones intervient directement au niveau de l'hypophyse contrairement à la pLH et l'hCG qui agissent sur l'ovaire. Elles sont utilisées chez les carnivores sous forme d'implants sous-cutanés qui libèrent en continu des agonistes de GnRH dans l'organisme (desloréline actuellement seule molécule disponible en Europe) activant la folliculogénèse dans un premier temps. Cela pourrait permettre d'induire des chaleurs suivies d'ovulation (Pelican *et al.*, 2006a ; Zambelli *et al.*, 2015). Nous détaillerons plus en détail les protocoles utilisant ces hormones par la suite dans le paragraphe II.4

### **I.3. Les protocoles les plus utilisés**

#### ***I.3.1. Le protocole standard eCG/hCG***

Chez les félidés, le protocole standard consiste à réaliser une injection (IM ou IV) d'eCG suivi par une injection d'hCG 80 à 84 h plus tard. C'est le protocole de stimulation ovarienne le plus répandu pour des inséminations artificielles et il a déjà abouti à l'obtention de portées vivantes chez le chat domestique et chez sept autres espèces de félins (Pelican *et al.*, 2006a) comme nous pouvons le voir dans la Figure 4. Chez la plupart des félidés, l'ovulation se produit 37 à 42 heures après l'injection d'hCG (Brown, 2011).

Figure 4: Succès des protocoles de stimulation ovarienne pour une insémination artificielle intra utérine chez des espèces de félidés. Source : Pelican *et al.*, (2006a)

*Ce tableau compile le cas de différentes espèces de félins chez lesquelles un protocole standard à base de gonadotropines exogènes a été proposé ainsi que leur poids respectifs et les doses de gonadotropines qu'ils ont reçu pour induire les chaleurs et l'ovulation. Le type de semence (frais ou congelé) utilisée pour l'insémination artificielle suite au protocole de stimulation ovarienne est également précisé. Enfin, le nombre de gestation suite à cette insémination artificielle est rapporté*

en pourcentage précisant ainsi le niveau de succès consécutif aux protocoles de stimulation ovarienne.

Espèces	Masse corporelle moyenne (kg)	Gonadotropines et les doses respectives		Types de sperme	Nombre de gestation (%)
Chat domestique	2	100 UI eCG	100/75 UI hCG	Frais	9/18 (50.0)
Chat domestique	2	Oestrus naturel	200 UI hCG	Congelé	8/14 (57.1)
Oncille	2	200/100 UI eCG	150/75 hCG	Frais	1/4 (25.0)
Océlot	9	500 UI eCG	225 UI hCG	Frais et congelé	1/4 (25.0)
Panthère nébuleuse	15	100 UI eCG	75 UI hCG	Frais	1/20 (5.0)
Panthère des neiges	30	600 UI eCG	300 UI hCG	Frais	1/15 (6.7)
Guépard	35	200 UI eCG	100 UI hCG	Frais	6/13 (46.2)
Puma	35	200 UI eCG	100 UI hCG	Frais	1/9 (11.1)
Tigre	250	1000 UI eCG	750 UI hCG	Frais	2/7 (28.6)

Néanmoins, dans son étude, Graham *et al.*, (2000) ont montré grâce à des observations laparoscopiques et des données endocrines fécales que le protocole standard d'induction de l'ovulation avec 100 UI d'eCG et 75 UI d'hCG cause une hyperstimulation ovarienne chez le chat domestique. Comme nous l'avons évoqué précédemment, la stimulation par les gonadotropines exogènes entraîne des profils anormaux d'œstrogènes fécaux temporaires avec des concentrations chez les femelles traitées ainsi culminant plus tardivement et restant élevés pendant une plus longue période en comparaison aux femelles accouplées de façon naturelle. Chez 83 % des chattes traitées par des gonadotropines, plus de follicules non ovulés et/ou des corps jaunes étaient observés sur les ovaires lors de l'ovariohystérectomie à 7 jours post ovulation qu'au moment de la laparoscopie (réalisée deux jours après l'injection d'hCG) et le nombre de ces follicules accessoires était corrélé aux concentrations d'œstrogènes fécales.

Les résultats obtenus suite à l'utilisation de ce protocole se révèlent assez décevants, comme nous pouvons le voir dans la Figure 4 avec des taux de gestation tous inférieurs à 50 % pour les félidés sauvages, cela probablement à cause de l'hyperstimulation ovarienne et de l'insuffisance lutéale causés par la présence de corps jaunes secondaires due aux perturbations endocrines causées par la stimulation des gonadotropines exogènes (Pelican *et al.*, 2006a).

### **1.3.2. Le protocole pFSH/pLH**

Comme nous l'avons vu précédemment, ces deux hormones ont une durée de vie plus courte (2 heures environ) et leur utilisation nécessite donc plusieurs injections, souvent quotidiennes, afin d'obtenir une réponse ovarienne conséquente ce qui est plutôt stressant pour les animaux et peut compromettre la faisabilité et le succès de la reproduction (Crichton *et al.*, 2003). Bien que l'utilisation de ce protocole ait permis d'obtenir un nombre assez important de production d'ovocytes chez les chats et plusieurs espèces de félins sauvages tels que le tigre, le succès de reproduction reste néanmoins inférieur à celui obtenu par le protocole eCG/hCG qui nécessite moins d'injections, se révélant donc moins stressant pour les animaux et ayant donc moins de risque de compromettre le succès de reproduction (Crichton *et al.*, 2003). Un protocole assez courant consiste à transférer des embryons dans une femelle donneuse à qui l'on a aspiré des ovocytes suite à une stimulation de pFSH et de pLH (Pelican *et al.*, 2006a). Ainsi, le transfert d'un embryon de 5 à 7 jours se fait

chirurgicalement dans les cornes utérines des femelles chez qui les ovocytes ont été aspirés 5 à 7 jours avant (Pope *et al.*, 2006).

### ***1.3.3. Le protocole eCG/pLH***

Ce protocole consiste à réaliser une injection (IM ou IV) d'eCG puis de pLH 85 heures plus tard (Swanson, 2019). Il s'avère très efficace pour induire l'ovulation au même titre que les deux premiers protocoles cités (Conforti *et al.*, 2013). En effet, il a été démontré par Conforti *et al.* (2013) que l'insémination artificielle avec le protocole eCG/pLH était une alternative efficace au traitement eCG/hCG pour produire plus de sites d'implantations embryonnaires et être à l'origine de fœtus normaux pouvant se développer jusqu'au terme. Cette procédure permet ainsi une meilleure synchronisation ovarienne tout en diminuant la formation de follicules secondaires et de corps jaunes anormaux. Son emploi avant insémination artificielle sur des chats domestiques a permis de produire des taux élevés de gestation et des portées de taille normale (5 chatons environ) (Swanson, 2019). Des portées sont également nées chez plusieurs espèces de félins sauvages tel que l'ocelot, le tigre et le chat du Pallas (Swanson, 2019). Bien que le protocole eCG/ pLH permette d'obtenir une réponse ovarienne « plus physiologique » avec moins d'effets secondaires, avant de l'initier, les femelles doivent absolument être en anœstrus pour qu'il soit vraiment efficace, ce qui reste un défi chez de nombreux félinidés sauvages (Swanson, 2019) .

## **1.4. Les limites de ces protocoles**

### ***1.4.1. Une réponse variable selon les espèces***

Les 38 espèces de la famille des Félinidés ont des cycles de reproduction qui leurs sont propres et répondent différemment aux hormones exogènes (Thongphakdee *et al.*, 2018). Ainsi, comme nous pouvons le voir dans le Figure 5, un ocelot de 9 kg nécessite plus de deux fois la dose d'eCG et d'hCG employée pour un guépard de 35 kg ou une panthère nébuleuse de 15 kg; il semble ainsi ne pas y avoir de corrélation entre le poids vif d'une espèce de félin et la dose de gonadotropine nécessaire pour induire une ovulation (Pelican *et al.*, 2006a). La dose d'eCG nécessaire ne serait donc pas dépendante de la masse corporelle du félin, mais serait plutôt liée à une sensibilité propre à chaque espèce. On suppose que cette sensibilité pourrait être un processus acquis par l'évolution (l'ocelot étant originaire d'Amérique latine tandis que le guépard est originaire d'Afrique/ Asie et la panthère nébuleuse également d'Asie) (Howard *et al.*, 1997).

Figure 5 : Spécificité des espèces de félinés relative aux doses de gonadotropines nécessaires pour obtenir une réponse à l'induction de l'ovulation et un délai similaire après injections d'eCG et d'hCG. Source :Pelican *et al.*, (2006a)

Espèces	Masse corporelle moyenne (kg)	Doses de gonadotropines		Heure de l'ovulation après l'hCG
		eCG (UI)	hCG (UI)	
Chat domestique	2	100	75	25-30
Chat léopard	3	100	75	25-30
Ocelot	9	500	225	~39
Panthère nébuleuse	15	100	75	37-40
Panthère des neiges	30	600	300	~40
Guépard	35	200	100	40-42
Tigre	250	1000	750	39-46

Cette réponse très variable selon les espèces se retrouve au niveau du succès de l'insémination artificielle. Le protocole basé sur une injection d'eCG puis d'hCG a permis d'obtenir des portées vivantes chez le chat domestique et huit autres espèces de félinés. Néanmoins le taux de gestation après l'insémination artificielle est très variable : on a obtenu un taux de gestation correct seulement chez le chat domestique, le guépard et le chat léopard avec plus de 45 % de gestations. Le taux de gestation des autres espèces de félinés était inférieur à 30 % ce qui reste peu satisfaisant (Pelican *et al.*, 2006a).

#### ***1.4.2. L'impact de l'anesthésie***

Il est nécessaire de réaliser une anesthésie chez la plupart des félinés sauvages afin de permettre l'administration d'hormones et/ou l'application de techniques de reproduction assistée. En effet, sans anesthésie, nous devrions réaliser des manœuvres de contention assez dangereuses pour les personnes impliquées et l'animal, entraînant par ailleurs un stress très important pour l'animal ce qui risquerait d'interférer avec le succès de la reproduction comme nous le verrons dans le paragraphe 1.5.2. Néanmoins, l'anesthésie elle-même pourrait avoir un effet sur l'ovulation chez les félinés. En effet, dans leur étude, Howard *et al.* (1992) ont obtenu un taux de gestation de 50 % avec une anesthésie post-ovulatoire et un taux de 14,3 % lors d'anesthésie pré-ovulatoire. Selon eux, cela semble indiquer un effet inhibiteur ou retardataire de l'anesthésie sur l'ovulation. Il est alors recommandé de ne pas anesthésier les femelles dans les 42 heures suivant l'injection d'hCG et cela afin que l'anesthésie soit mise en oeuvre effectivement après l'ovulation (Howard *et al.*, 1997). Cette hypothèse est remise en cause par une autre étude montrant un taux de gestation de 56 % chez la chatte suite à une insémination artificielle (et donc une anesthésie) ayant eu lieu avant l'ovulation (Tsutsui *et al.*, 2000). L'influence néfaste ou non de l'anesthésie reste ainsi controversée parmi les spécialistes.

### **1.5. Les éléments qui influencent les protocoles d'induction des chaleurs**

#### ***1.5.1. L'ovulation spontanée***

On a longtemps pensé que les félinés ne présentaient que des ovulations induites et que le coût était nécessaire à la sécrétion d'une décharge de LH suffisante pour induire l'ovulation. Cependant, à ce jour, on a prouvé que certaines espèces de félinés manifestent sporadiquement ou majoritairement une ovulation spontanée, c'est-à-dire se déclenchant suite au pic d'œstrogènes et de LH sans besoin d'une stimulation tel que le coût. Les félinés présentent ainsi différents types

d'ovulation allant de la libération réflexe exclusive de LH par une stimulation somato-sensorielle génitale durant l'accouplement (ovulation induite) à des pics de LH induits par des stéroïdes endogènes sans coït nécessaire (ovulation spontanée) (Thongphakdee *et al.*, 2018). La différence entre ces différents types d'ovulation n'existe pas seulement entre les différentes espèces mais également entre les individus d'une même espèce (Brown, 2006 ; Thongphakdee *et al.*, 2018).

Le tigre, le puma, la panthère des neiges, le guépard, l'once ( *Leopardus tigrinus* ), l'ocelot et le lynx semblent présenter des ovulations induites exclusivement tandis que l'ovulation spontanée survient au moins occasionnellement chez le lion, le léopard, le chat pêcheur, le chat de Pallas et régulièrement chez la panthère nébuleuse, le margay ( *Leopardus wiedii* ) et certains chats domestiques (Brown, 2011). Les espèces à ovulations spontanées s'avèrent plus délicates pour la mise au point de techniques de reproduction assistées efficaces, car la production de progestérone par les corps jaunes spontanés peut compromettre les effets d'eCG et d'hCG en perturbant l'endocrinologie ovarienne impactant ainsi la fertilité, le développement embryonnaire et l'implantation. Le succès des techniques de reproduction assistée est donc faible chez les félins sauvages (Thongphakdee *et al.*, 2018). Cependant, le problème pourrait être encore plus complexe qu'une simple interférence avec les corps jaunes existant. Les variations de la réponse ovarienne aux gonadotropines peuvent aussi être attribuées à la variabilité de la phase de l'activité folliculaire au moment où l'eCG est administrée.

### **1.5.2. L'impact du stress**

Le grand public fait pression sur les parcs zoologiques afin de développer des méthodes permettant d'évaluer le stress des animaux pour déterminer si les conditions de captivité peuvent affecter la santé et la reproduction des différentes espèces (Boutet, 2019). Cependant cela reste difficile à évaluer. Chez les félins, on a souvent relié les échecs de reproduction à un défaut de qualité de leur environnement (la proximité avec des prédateurs potentiels, un cadre de vie inadapté, une irrégularité de l'apport alimentaire ou encore les manipulations vétérinaires). L'analyse des corticostéroïdes excrétés dans les fèces ou les urines constitue une méthode d'évaluation du stress (Pelican *et al.*, 2006a). Associée à des évaluations comportementales, cette méthode est un bon indicateur de stress chez les félins (Brown, 2006). La méthode de choix reste l'analyse des corticostéroïdes fécaux car leur excrétion urinaire ne dépasse pas les 2 % alors que plus de 86 % des corticostéroïdes sont éliminés dans les matières fécales (Brown *et al.*, 1994). De plus, les manipulations vétérinaires et/ou les conditions de vie en captivité peuvent jouer sur le cycle sexuel de certains félins (Moreira *et al.*, 2001). De nombreux éléments précités peuvent provoquer un stress chez beaucoup d'espèces captives se traduisant par une hausse de la cortisolémie (Pelican *et al.*, 2006a). Un faisceau de preuves montre que le cycle reproductif est alors perturbé et que l'activité surrénalienne est augmentée lorsque les animaux sont contraints ou anesthésiés (Pelican *et al.*, 2006a).

### **1.5.3. L'impact de l'âge de l'animal**

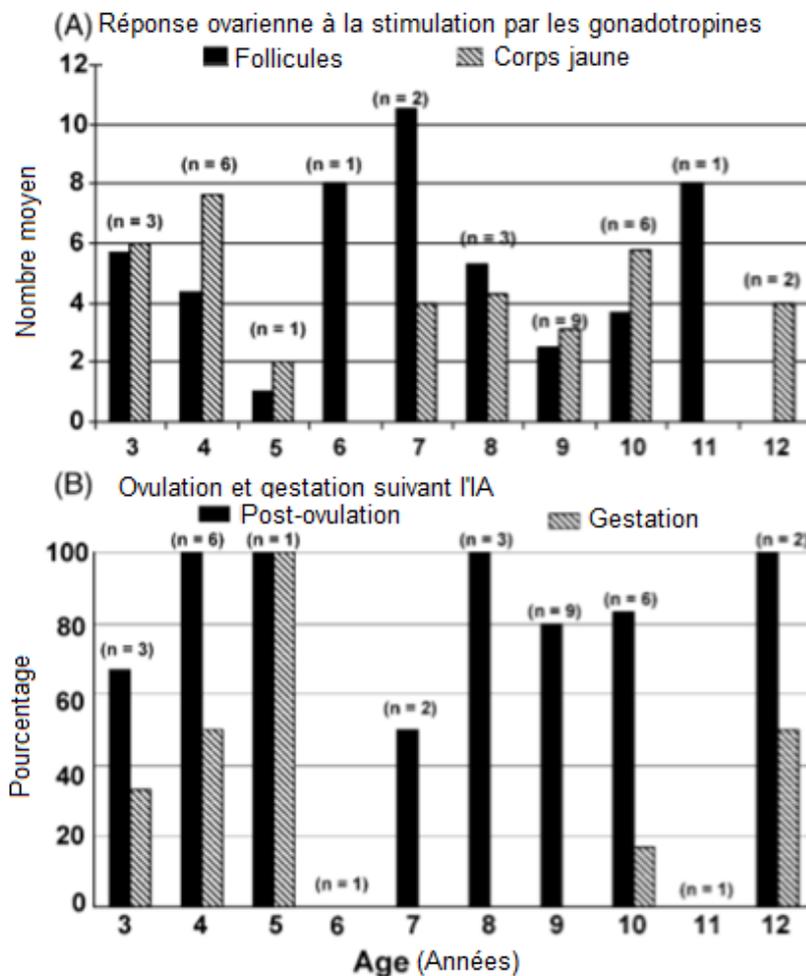
L'impact de l'âge de la femelle a été étudié, notamment chez le guépard chez qui il a été montré que les femelles âgées de plus de 7 ans n'ayant jamais eu de progéniture sont de très mauvaises candidates à l'insémination artificielle (alors qu'elles peuvent vivre jusqu'à 15 ans en captivité) (Pelican *et al.*, 2006a). En effet, comme nous pouvons le voir sur la Figure 6, il semble y avoir un déclin du taux de gestation chez les femelles guépard à partir de l'âge de 7 ans. De plus, les capacités de reproduction diminueraient assez vite avec l'âge faisant des femelles les plus jeunes, les plus adaptées à l'insémination artificielle. Le faible taux de gestation serait lié aux modifications de l'environnement utérin avec l'apparition d'hyperplasie utérine et à la diminution de la qualité des

ovocytes avec l'âge qui sont aussi observées chez la chatte (Pelican *et al.*, 2006a). Néanmoins, il semble que la réponse ovarienne aux gonadotropines exogènes ne soit pas altérée par l'âge comme nous pouvons le voir sur la Figure 6.

Figure 6 : Influence de l'âge sur la réponse ovarienne et le succès de la gestation chez des femelles guépards après un traitement à base de gonadotropines et une insémination artificielle.  
 Source : Pelican *et al.* (2006a)

(A) Nombre moyen de follicules (barres verticales noires) et de corps jaunes (barres verticales hachurées) après le traitement à base d'eCG et hCG (46-48h après l'injection d'hCG)

(B) Pourcentages des guépards ovulant au moment de l'insémination artificielle (barres verticales noires) et qui deviennent gestantes (barres hachurées). On peut noter le déclin du taux de gestation à partir de l'âge de 7 ans chez les femelles guépards.



#### 1.5.4. L'impact du régime alimentaire

Pelican *et al.* (2006a) rappellent l'importance du régime alimentaire sur la santé de l'animal. Il s'agit d'un élément essentiel à prendre en compte dans le succès de la reproduction.

#### 1.5.5. Saisonnalité de la reproduction

La chatte domestique est un animal qui présente un polyœstrus saisonnier lors d'exposition à la lumière naturelle mais qui peut être cyclée toute l'année si on l'expose à de la lumière à raison de 12 à 24 h quotidiennement. Il s'agit d'une espèce « à jour longs » laquelle présente donc, en général,

une activité ovarienne réduite lorsque la photopériode diminue et qui reprend lors d'une exposition plus importante à la lumière. La mélatonine semble réguler la saisonnalité induite par la photopériode chez le chat (Brown, 2011). En effet, le développement folliculaire et le cycle œstrien peuvent être stoppés en donnant de la mélatonine par voie orale avant le coucher du soleil, mimant ainsi une photopériode courte (Graham et al., 2004).

La reproduction est principalement saisonnière chez certains félins non domestiques comme le tigre, la panthère nébuleuse, le chat de Pallas, le lynx boréal et la panthère des neiges. Au contraire, l'activité folliculaire chez le lion en captivité, le léopard, le lynx roux, le margay, l'ocelot, l'oncille, le jaguar et le chat pêcheur n'est pas influencée par la saison (Brown, 2006 ; Thongphakdee *et al.*, 2018). De même que chez le chat domestique, la photopériode joue un rôle en modulant la reproduction chez les espèces saisonnières, sous l'effet probable de la mélatonine (Brown, 2011). Il est donc très important que les protocoles tiennent compte du fait que les espèces dont on souhaite améliorer le succès de la reproduction soient saisonnières ou non car cela va conditionner le succès des différents protocoles d'induction des chaleurs selon le moment de l'année pendant lesquels on souhaite les appliquer.



## **II. Des alternatives aux protocoles les plus couramment utilisés pour améliorer la reproduction en captivité**

### **II.1. La nécessité d'inhiber l'activité ovarienne**

Historiquement, les félidés femelles sauvages étaient traités avec des gonadotropines exogènes sans connaître au préalable leur statut ovarien, si elles étaient en œstrus, anœstrus ou en phase lutéale. Il n'est donc pas surprenant que les succès des inséminations artificielles à cette époque aient été alors très irréguliers et décevants (Swanson, 2019).

Comme les chattes sont supposées n'ovuler que si elles sont accouplées (et donc en négligeant – à tort – le problème des ovulations spontanées), l'inhibition de l'activité ovarienne avant l'induction de l'œstrus et de l'ovulation par les gonadotropines a longtemps été considérée comme sans intérêt. De nos jours, on souhaite au contraire développer des protocoles qui inhibent l'activité ovarienne avant la mise en place du protocole à base de gonadotropines exogènes, évitant ainsi une hyperstimulation (dans le cas de follicules ovariens pré-existants) ou une hypostimulation ( en cas de tissu lutéal présent) (Pelican *et al.*, 2008).

Pour que la reproduction assistée ait une efficacité optimale chez les félidés, l'activité ovarienne doit être inhibée au moment où l'induction de l'œstrus est requise. Cet environnement augmente en effet les probabilités d'avoir une réponse folliculaire uniforme et conséquente à la stimulation ovarienne en diminuant fortement le risque d'avoir un milieu endocrinien altéré (Stewart *et al.*, 2010). Bien que les progestagènes comme l'acétate de mélangestrol, l'acétate de mégestrol et l'acétate de médroxyprogestérone soient des agents contraceptifs très utilisés chez les félins, leur capacité à inhiber temporairement l'activité ovarienne dans le but d'une reproduction assistée n'a pas été investiguée (Stewart *et al.*, 2010).

L'administration de progestagènes par voie orale (altrénogest) ou d'implants sous-cutanés de progestagène (lévonorgestrel) pour inhiber l'activité ovarienne a été utilisée pour améliorer les réponses aux inductions de l'ovulation par des gonadotropines exogènes chez le chat domestique; entraînant de meilleurs résultats de la reproduction assistée (Thuwanut *et al.*, 2019).

### **II.2. L'utilisation d'implant de progestagène**

Dans une étude, Pelican *et al.* (2008) se sont intéressés à la sensibilité ovarienne suite à la stimulation par des gonadotropines exogènes (eCG/ hCG) précédée d'un traitement à base d'un implant de progestagènes (lévonorgestrel) laissé en place durant 37 jours ou d'une administration d'un antagoniste de la GnRH (antide à 6 mg/kg par injection, avec 2 injections à 15 jours d'intervalle) chez le chat domestique. Les métabolites hormonaux ont été évalués à l'aide d'échantillons fécaux collectés quotidiennement pendant 60 jours avant le pré-traitement, durant les 37 jours du pré-traitement inhibiteur puis pendant plus de 60 jours après les injections d'eCG et d'hCG.

En se basant sur le profil des hormones fécales, ces auteurs ont montré que le lévonorgestrel inhibe complètement l'activité ovarienne tandis que l'antide synchronise les phases folliculaires mais n'induit pas une inhibition complète de l'ovaire. Les deux traitements empêchent l'ovulation chez les animaux ovulant spontanément mais ne causent pas de régression des corps jaune déjà existants comme nous pouvons le voir sur la Figure 7. Le lévonorgestrel, contrairement à l'antide, permet

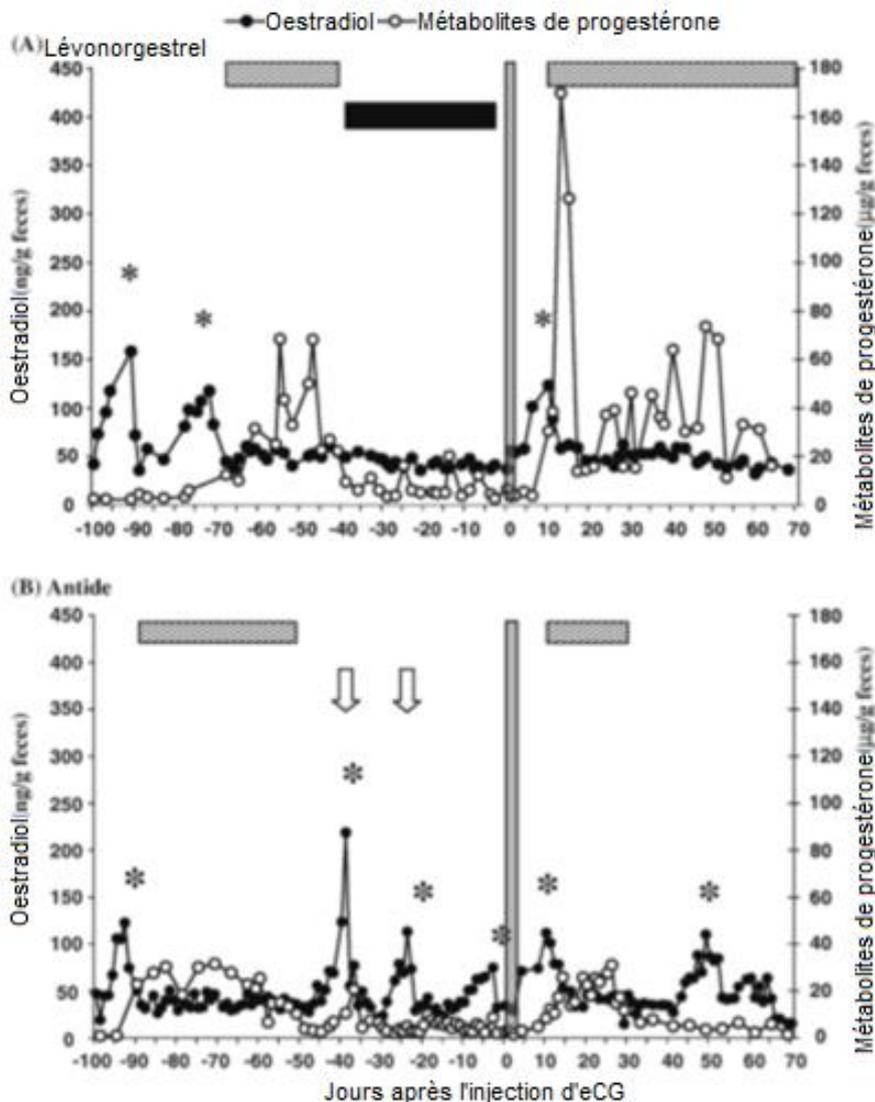
d'inhiber l'activité ovarienne au moment de l'injection d'eCG. Les résultats démontrent que l'inhibition de l'activité ovarienne avec le traitement de lévonorgestrel peut empêcher l'échec de stimulation ovarienne qui se produit lorsque l'on administre les gonadotropines exogènes aux chattes dont les ovaires sont actifs. Les ovaires "inhibés" après le traitement de lévonorgestrel s'avèrent très sensibles aux gonadotropines ce qui améliore leur efficacité. Cette étude révèle aussi que la sensibilité ovarienne à la stimulation des gonadotropines diffère entre les chattes domestiques présentant une ovulation spontanée et celles manifestant exclusivement des ovulations induites. Le pré-traitement par le lévonorgestrel modérant les différences de réponse entre les ovulations induite et spontanée est donc très intéressant et peut suggérer un rôle de la progestérone dans l'initiation de l'ovulation par les ovaires. En effet, les femelles recevant du lévonorgestrel présentent une réponse similaire à la stimulation de gonadotropines que les femelles présentant une ovulation spontanée. Ainsi, il semble que traiter avec des implants de lévonorgestrel permet de s'affranchir des différentes phases du cycle (Pelican *et al.*, 2008).

Figure 7 : Prévention de l'ovulation par du lévonorgestrel (A) et de l'antide (B) chez des femelles enclines à ovuler spontanément. Source : Pelican *et al.* (2008)

*Les métabolites d'oestradiol sont représentés par les cercles noirs et les métabolites de progestérone par les cercles blancs. Les barres horizontales hachurées représentent les périodes d'ovulations spontanées. Les astérisques indiquent des pics d'oestradiol associés à une phase folliculaire. La barre noire horizontale représente les 37 jours d'implant de lévonorgestrel. Les flèches*

verticales représentent les jours des injections d'antide. Les barres verticales représentent le jour de l'injection d'eCG.

Nous pouvons voir sur ces deux graphiques qu'aucune phase lutéale n'a débuté pendant les traitements au lévonorgestrel ou à l'antide chez les femelles ovulant spontanément.



Dans une autre étude, l'effet du lévonorgestrel (Norplant®) a été comparé à celui d'un antagoniste de la GnRH chez le chat domestique montrant que le premier permettait une excellente réponse uniforme des ovaires pour une IA en étant utilisé avant un protocole de stimulation par des gonadotropines en comparaison avec l'emploi de gonadotropines seules (Pelican *et al.*, 2010). Ce traitement préalable semble dépendre de l'espèce chez les autres félinés sauvages. Des études préliminaires ont été réalisées chez le chat pêcheur, le guépard et la panthère nébuleuse donnant des résultats encourageants pour les deux premières espèces. En effet, deux chats pêcheurs ayant reçu un implant de Norplant® avant un traitement eCG/hCG ont montré des cicatrices ovulatoires précoces avec peu de follicules non ovulés, soit la réponse parfaite pour une IA. De même, les trois guépards de l'étude ont ovulé après le même traitement et un animal seulement a présenté un nombre significatif de follicules non ovulés. Si trois des huit panthères nébuleuses (soit 37,5 %) ont ovulé après ce même traitement, toutes les femelles ont présenté de multiples follicules anovulatoires (Pelican *et al.*, 2006a). Cependant, cette approche requiert une anesthésie pour

insérer et retirer l'implant et, plus important encore, les résultats s'avèrent variables quant au retour d'une cyclicité ovarienne après le retrait de l'implant (allant de 2 semaines à 2 mois environ) (Stewart *et al.*, 2010).

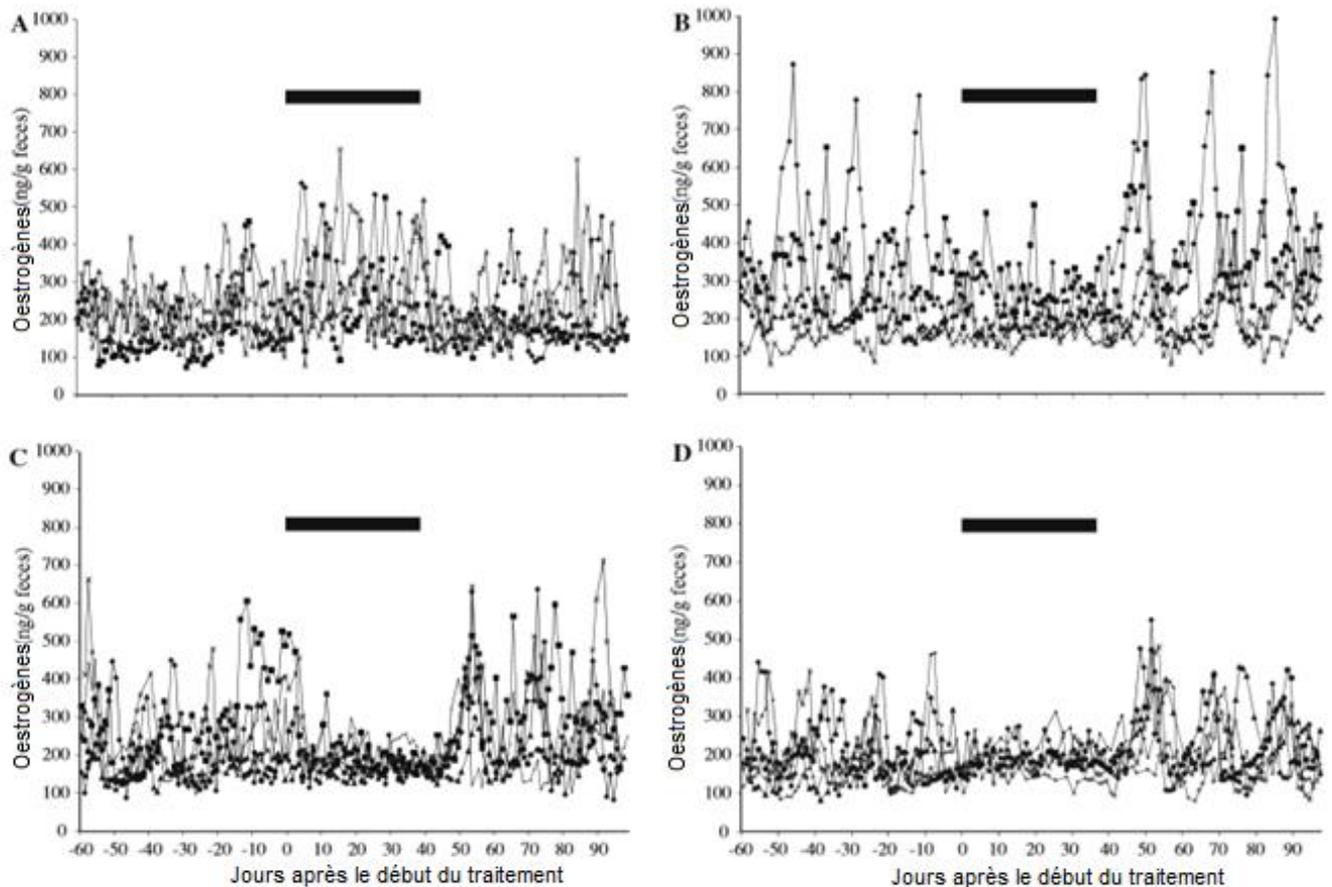
### **II.3. L'utilisation de progestagènes par voie orale**

L'utilisation de progestagènes donnés par voie orale semble être une alternative à l'usage d'implant et montre des résultats satisfaisants. En effet, dans une étude, Stewart *et al.* (2010) ont analysé l'influence des progestagènes donnés par voie orale (altrénogest) sur l'activité ovarienne du chat domestique en réalisant un suivi non invasif *via* les stéroïdes fécaux. Les chattes ont été assignées à différents dosages d'altrénogest : 0 mg/ kg (groupe témoin de 5 chats), 0,044 mg/kg (groupe « faible dose » composé de 5 chats), 0,088 mg/kg (groupe « dose intermédiaire » composé de 6 chats) et 0,352 mg/kg (groupe « dose élevée » composé de 6 chats). Les résultats de cette étude ont démontré que les progestagènes oraux suppriment rapidement le début d'une nouvelle activité folliculaire chez le chat, mais ils n'ont aucune influence sur une phase folliculaire déjà en cours. En effet, une fois qu'un certain seuil dans la folliculogenèse est atteint, même la dose la plus élevée de progestagènes testée dans cette étude est incapable de perturber la progression finale du follicule chez le chat (néanmoins la viabilité de cette structure finale et de son ovocyte reste à étudier). Les chattes retrouvent une activité folliculaire normale après l'arrêt des progestagènes. Ils ont démontré l'efficacité des progestagènes oraux pour l'inhibition réversible à court terme avec un retour à une activité folliculaire en 10 à 16 jours pour une dose d'altrénogest intermédiaire chez le chat domestique sans observation d'effet secondaire. Il a aussi été démontré que les progestagènes oraux exerçaient un effet dose dépendant qui était quantifiable *via* le suivi de métabolites fécaux comme nous pouvons le voir sur la Figure 8.

Figure 8 : Représentation graphique de l' influence des progestagènes oraux sur le suivi longitudinal des métabolites d'oestrogènes fécaux. Source : Stewart *et al.* (2010)

*Les chattes étaient séparées en différents groupes et certaines recevaient 0 mg/kg d'altrénogest (A) (groupe témoin), 0,044 mg/kg d'altrénogest (B) ou dose faible, 0,088 mg/kg d'altrénogest (C) ou dose intermédiaire et enfin 0,352 mg/kg d'altrénogest (D) ou dose élevée. Chaque barre horizontale*

noire indique les 38 jours de traitement d'altrénogest. Les résultats individuels de chaque chat avec son traitement sont représentés par les différentes lignes sur le graphique.



L'activité folliculaire est partiellement inhibée même à faible dose, suggérant que la dose minimum efficace d'altrénogest est d'au moins 0,044 mg/kg.

L'altrénogest dosé à 0,088 mg/kg semble être optimal chez le chat, empêchant la survenue d'un pic d'œstrogènes tout en permettant des concentrations d'œstrogènes et de progestérone dans les normes et une reprise normale de la folliculogenèse ovarienne. La synchronisation avec des progestagènes oraux est meilleure qu'avec l'implant de lévonorgestrel chez le chat, particulièrement quand on compare le retour à une activité ovarienne avec la dose intermédiaire (10 -16 jours) vis-à-vis de celle associée à un implant de lévonorgestrel (11 à 79 jours) (Stewart *et al.*, 2010).

Dans une autre étude portant cette fois sur l'administration de progestagènes oraux chez des félinés sauvages, Thuwanut *et al.* (2019) ont démontré que la réponse ovarienne aux gonadotropines exogènes chez la femelle guépard est améliorée après un traitement à court terme consistant en l'administration de progestagènes oraux. Un groupe de femelles a reçu 200 UI d'eCG suivi de 3000 UI de pLH par voie intramusculaire (groupe témoin) pour induire une ovulation 81 à 83 h plus tard tandis que le second groupe (groupe ALT) a reçu le même traitement précédé de la distribution de 7 jours de progestagènes par voie orale (0,1 mg/kg d'altrénogest) mixé quotidiennement dans la nourriture de chaque guépard. Les concentrations de métabolites fécaux d'œstradiol, de progestérone et de glucocorticoïdes ont été mesurées par dosage immuno-enzymatique trois semaines avant la mise en place du pré-traitement à l'altrénogest (Période 1), 7 jours durant la période d'inhibition ovarienne (Période 2), durant le traitement à base d'eCG et de pLH et la

laparoscopie (Période 3) et enfin, 6 semaines après la laparoscopie (Période 4). Il a été établi que les concentrations moyennes en métabolites fécaux d'œstradiol augmentaient en réponse à l'eCG chez les femelles guépards pré-traitées avec de l'altrénogest entre la période 2 et 3 et se maintenaient pendant la Période 4 tandis que, pour le groupe témoin, les concentrations moyennes en métabolites fécaux d'œstradiol ne variaient pas tout au long des Périodes 1 à 4 comme nous pouvons le voir dans le Tableau 1. Les concentrations moyennes en métabolites fécaux de progestérone post-ovulation (Période 4) ne différaient pas entre le groupe traité et le groupe témoin. Les concentrations moyennes en métabolites fécaux de progestérone des deux groupes augmentaient durant la Période 4 en comparaison aux Périodes 1 à 3 (Tableau 1). Les femelles recevant le pré-traitement à base d'altrénogest présentaient aussi des concentrations moyennes en métabolites fécaux de glucocorticoïdes plus basses que le groupe témoin lors de l'inhibition ovarienne. Les résultats suggèrent donc que la réponse ovarienne au traitement à base de gonadotropines est améliorée chez le guépard après le pré-traitement par des progestagènes oraux avec une augmentation des œstrogènes après la stimulation chez ces femelles en comparaison aux femelles témoins et une diminution des concentrations en glucocorticoïdes qui pourrait augmenter l'efficacité des gonadotropines exogènes.

Tableau 1 : Concentrations moyennes des métabolites fécaux chez des groupes de femelles guépards pré-traitées versus non pré-traitées avec de l'altrénogest per os avant la stimulation par les gonadotropines. Source : Thuwanut et al. (2019)

Dans ce tableau sont indiquées les valeurs moyennes des concentrations des métabolites des femelles +/- leur intervalle de références. Le groupe témoin est composé de 5 femelles tandis que le groupe des femelles pré-traitées à l'altrénogest est composé de 7 femelles. Les différentes lettres majuscules indiquent des différences entre les groupes témoin et ALT au sein de la même période de collecte des échantillons fécaux pour chaque métabolite hormonal. Les différentes lettres en minuscule indiquent les différences parmi la période de collecte des échantillons fécaux pour chaque métabolite hormonal.

Hormones (µg/g de fèces sèches)	Groupe	Période			
		Période 1: 3 semaines avant le pré-traitement à l'altrénogest	Période 2: Inhibition ovarienne	Période 3: de la stimulation par les gonadotropines aux observations laparoscopiques	Période 4: 45 jours après la laparoscopie
Progestérone	Témoin	1.89 ± 0.83 A,a	0.64 ± 0.24 A,a	1.62 ± 0.93 A,a	20.53 ± 15.95 A,b
	ALT	1.99 ± 0.75 A,a	2.28 ± 1.16 B,a	2.29 ± 1.20 A,a	27.27 ± 7.18 A,b
Oestradiol	Témoin	0.29 ± 0.07 A,a	0.41 ± 0.25 A,a	0.31 ± 0.06 A,a	0.26 ± 0.03 A,a
	ALT	0.16 ± 0.03 A,a	0.18 ± 0.02 A,a	0.30 ± 0.08 A,b	0.23 ± 0.03 A,a,b
Glucocorticoïdes	Témoin	0.40 ± 0.11 A,a	0.47 ± 0.15 A,a	0.23 ± 0.05 A,a	0.33 ± 0.05 A,a
	ALT	0.31 ± 0.08 A,a	0.25 ± 0.06 B,b	0.23 ± 0.03 A,b	0.28 ± 0.04 A,a,b

Il semble que les progestagènes oraux permettent d'inhiber la fonction ovarienne à travers un rétrocontrôle négatif qui engage les récepteurs de la progestérone des cellules cibles de l'hypothalamus et qui inhibe la libération de LH de l'hypophyse. Cette inhibition de l'activité ovarienne entraîne une réponse plus rapide et plus efficace aux gonadotropines exogènes en augmentant la sensibilité globale de l'ovaire à la stimulation (Thuwanut et al., 2019).

Excepté cet effet d'inhibition, les progestagènes oraux peuvent aussi fonctionner en synergie avec la stéroïdogénèse et le remodelage des cellules de la granulosa au niveau de l'ovaire, entraînant l'inhibition du développement folliculaire durant la période d'administration des gonadotropines (Thuwanut et al., 2019). Ainsi, les résultats de l'étude de Thuwanut et al. (2019) confirment les

avantages de l'administration de progestagènes exogènes pour générer une réponse ovarienne plus uniforme dans le développement folliculaire et l'induction de l'ovulation chez les guépards (Thuwanut *et al.*, 2019).

Par ailleurs dans une autre étude, Stewart *et al.* (2012) se sont fixés pour objectif d'estimer l'effet précis d'un pré-traitement de progestagènes oraux sur la sensibilité ovarienne aux gonadotropines exogènes chez le chat domestique, incluant l'évaluation d'une combinaison de dose d'eCG/hCG plus faible (50UI d'eCG et 37.5 UI d'hCG) ou plus élevée (100 UI d'eCG et 75 d'hCG). Nous savons déjà que l'ovaire du chat est très sensible à la combinaison eCG/hCG ; cette étude a démontré que cette sensibilité s'exprimait même à un dosage inhabituellement bas (50 UI d'eCG et 37,5 UI d'hCG), non utilisé en routine chez cette espèce. Elle a également démontré que certains des dysfonctionnements associés, incluant l'hyper-élévation de la sécrétion de stéroïdes fécaux étaient atténués par une mise au repos préemptif de l'ovaire au moyen de progestérone orale.

Le mécanisme supposé par lequel l'exposition au progestagène met au repos les ovaires du chat implique probablement un rétro-contrôle négatif sur l'hypothalamus et la glande pituitaire combiné aux effets directs sur la stéroïdogénèse et le remodelage des cellules de la granulosa au niveau de l'ovaire.

Cependant, il est aussi apparu que l'exposition préalable aux progestagènes était incapable d'empêcher d'autres dysfonctionnements associés à l'utilisation d'eCG/hCG, incluant la formation de corps jaunes auxiliaires, des morphologies anormales de corps jaunes et une densité élevée de cellules lutéales altérées à l'origine de l'insuffisance lutéale et des faibles taux de gestation observées (Stewart *et al.*, 2012).

Des études sur la panthère nébuleuse et les guépards ont montré une efficacité similaire pour ces deux espèces du pré-traitement avec de l'altrénogest sur l'inhibition de l'activité ovarienne et la synchronisation de l'activité folliculaire (Pelican *et al.*, 2006b ; Crosier *et al.*, 2017).

L'administration préalable d'altrénogest au traitement de stimulation ovarienne a aussi été évaluée chez les petits félins incluant l'ocelot, le chat pêcheur, le chat de Pallas et le chat des sables, avec une inhibition de l'activité ovarienne satisfaisante chez ses espèces (Swanson *et al.*, 2017).

Comme chez les guépards et la panthère nébuleuse, la dose d'altrénogest et le moment de l'arrêt chez les petits félins ont requis certaines adaptations pour obtenir le niveau souhaité de stimulation ovarienne (Swanson, 2019).

#### **II.4. Des protocoles alternatifs à base d'agonistes de la GnRH**

Parmi les hormones agonistes de la GnRH, la desloréline est classée comme super-agoniste à cause de sa forte affinité pour les récepteurs à la GnRH et sa demi-vie dans l'organisme plus élevée que celle de la GnRH. L'induction des chaleurs avec la desloréline, peut raccourcir le délai avant l'insémination artificielle mais requiert toujours un suivi quotidien des chaleurs et nécessite l'insertion et le retrait d'un implant sous-cutané (Swanson, 2019). Ce retrait est en effet nécessaire car laissé en place, celui-ci entraîne à terme la suppression des chaleurs et donc de la fertilité par la suppression de la sécrétion de LH, ce qui est contraire à ce que l'on souhaite obtenir. De plus, cette suppression de la sécrétion de LH risque d'entraîner une diminution, voire un arrêt de la fonction lutéale, donc de la sécrétion de progestérone par les corps jaunes, et donc un arrêt de gestation par insuffisance lutéale.

D'après l'AMM de la desloréline, cette dernière ne peut être utilisée que dans l'unique indication de supprimer la fertilité chez les chiens mâles adultes. Néanmoins, il est possible d'utiliser l'effet initial activateur hypophysaire pour déclencher des chaleurs chez la chienne souvent dénommé « effet flare-up » ou effet activateur (Fontaine *et al.*, 2011).

L'administration d'agonistes de la GnRH induit en premier lieu une phase de stimulation qui dure quelques jours avec une augmentation importante des concentrations de LH et FSH, effet souhaité ici (Zambelli *et al.*, 2015).

Chez la chatte, plusieurs études ont montré que l'implant de desloréline pouvait entraîner une augmentation de type œstral du taux fécal d'E2 chez des femelles traitées, cela accompagné de manifestations comportementales de chaleurs, dépendant évidemment du moment du cycle ovarien au cours duquel la femelle a été implantée (Zambelli *et al.*, 2015).

Zambelli *et al.*, (2015) se sont intéressé au traitement de 13 chattes en anœstrus ou dioœstrus chez lesquelles on insère un implant sous-cutané de 4,7 mg de desloréline (Suprelorin®) afin de vérifier sa capacité à induire leurs chaleurs.

Les résultats obtenus ont montré que les chaleurs étaient induites avec succès grâce à l'implant de desloréline puisque 100 % des femelles incluses dans le protocole ont montré une réponse positive au traitement avec un œstrus détecté en moyenne 5 jours (+/- 2 jours) après l'insertion sous-cutanée de l'implant de desloréline comme nous pouvons le voir sur le Tableau 2.

Tableau 2 : Résultats de l'induction de l'œstrus et de l'ovulation à l'aide de Suprelorin® chez les 13 chattes. Source : Zambelli *et al.*(2015)

Numéro du sujet	Race	Stade du cycle lors de l'implantation	Taux de progestérone sérique (en ng/mL)	Nombre de jours entre le traitement et l'œstrus	Manifestations comportementales	Nombre de follicules détectés à l'échographie	Taux de progestérone sérique après induction de l'ovulation ( en ng/mL)	Insémination artificielle réalisée
1	Croisé	Anœstrus/dioœstrus	0,3	4	Non	3	8	Non
2	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,46	4	Oui	4	9,4	Non
3	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,22	4	Oui	3	8,1	Non
4	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,41	4	Non	5	13	Non
5	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,22	4	Non	6	7,8	Non
6	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,35	11	Non	3	7	Non
7	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,24	4	Oui	4	11	Non
8	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,43	4	Non	3	12,4	Non
9	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,22	3	Oui	7	10,1	Non
10	Croisé	Anœstrus/ dioœstrus	0,3	4	Non	8	9,5	Non
11	Maine Coon	Anœstrus/ dioœstrus	0,21	7	Oui	5	4,9	Oui
12	Norvégien	Anœstrus/ dioœstrus	0,36	5	Oui	5	12	Oui
13	Norvégien	Anœstrus/ dioœstrus	0,52	7	Oui	6	9	Oui

Comme nous pouvons également le remarquer dans le Tableau 2, 7 des 13 chattes ont manifesté des comportements d'œstrus tandis que les 6 autres n'ont pas manifesté de variations particulières de leur comportement. Les manifestations comportementales observées chez les 7 chattes étaient similaires à des comportements naturels. L'analyse cytologique a permis la détection de l'œstrus chez tous les animaux ; les frottis vaginaux révélant la présence de 100 % de cellules kératinisées durant le pic d'œstrus ont obtenus en 4 à 11 jours avec une moyenne de 5 jours (+/- 2 jours) après la pose de l'implant. L'examen échographique des ovaires a montré la présence de structures rondes hypoéchogènes compatibles avec des follicules chez toutes les femelles. Ces structures semblaient toutes normales en nombre comme en terme de morphologie. Cette étude est la première à évaluer l'efficacité de l'implant sous-cutané dosé à 4,7 mg de desloréline à induire des

œstrus fertiles chez la chatte. Par ailleurs, 3 de ces chattes ont été inséminées et sont devenues gestantes, montrant l'efficacité de ce protocole de stimulation des chaleurs.

## **II.5. Bilan des connaissances**

Bien que la reproduction naturelle soit toujours privilégiée afin de contribuer à la sauvegarde des populations sauvages menacées, la plupart des espèces ne se reproduit pas bien en captivité pour différentes raisons (les agressions entre mâles, les incompatibilités de comportement et l'infertilité) (Thongphakdee *et al.*, 2018).

En conséquence, la gestion de l'élevage en captivité recourant à des techniques de reproduction assistée a été appliquée comme un outil alternatif pour accroître les effectifs de ces populations captives (Thongphakdee *et al.*, 2018). L'utilisation de ces techniques nécessite une bonne connaissance du cycle sexuel de la femelle notamment des étapes clés de l'activité ovarienne (Pelican *et al.*, 2006a). Cela permet en effet de proposer des protocoles qui agissent sur l'activité ovarienne afin d'améliorer les capacités de reproduction des différentes espèces. L'un des plus grand défi restant est de surmonter les problèmes associés à la très grande variabilité des réponses ovariennes aux traitements d'induction de l'ovulation disponibles (Brown, 2011).

La plupart des protocoles d'induction de l'ovulation chez les félins implique l'administration d'un dosage spécifique d'eCG (à effet FSH) pour stimuler la croissance folliculaire suivi par de l'hCG afin d'induire l'ovulation. L'inconvénient majeur de ce protocole est que les doses de gonadotropines nécessaires ainsi que leur longue rémanence dans l'organisme entraînent une sécrétion d'œstrogènes à des taux supra-physiologiques ainsi que le développement de follicules secondaires et de corps jaunes après la première ovulation, perturbant l'environnement hormonal et aboutissant à des implantations anormales, retardant ainsi le développement fœtal. De ce fait, ces protocoles entraînent de nombreux effets secondaires et sont très décevants en termes de résultats (faibles taux de gestation, insuffisance lutéale fréquente, etc...) (Pelican *et al.*, 2006a ; Swanson, 2019).

En conséquence, la recherche sur la reproduction assistée de ces espèces progresse trop lentement.

De plus, les études ont montré qu'il fallait que l'ovaire soit en anœstrus ou en période d'inactivité afin que le traitement d'induction de chaleurs ovulantes soit optimal.

Le but de ce travail va consister à présenter, dans la seconde partie de cette thèse, la mise en place d'un protocole visant à induire des chaleurs suivies d'ovulation chez les félins de taille moyenne, sans risque d'hyperstimulation ovarienne ou de dérégler la cyclicité des animaux.

# Deuxième partie : Mise en place d'un nouveau protocole d'induction des chaleurs chez les félins de taille moyenne

---

## I. Objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude étaient de développer un protocole visant à induire des chaleurs suivies d'ovulation chez les lynx roux et les lynx boréaux, sans hyperstimulation ovarienne et sans dérégler la cyclicité de ces animaux. Ce protocole, à la demande de l'IZW, avait pour but de contribuer à la reproduction des différentes espèces de lynx, en particulier le lynx ibérique qui est une espèce menacée d'extinction. Néanmoins, la présence de lynx femelles reste assez rare dans les zoos de France (seulement 28 zoos possèdent des lynx boréaux et 2 possèdent des lynx roux), c'est pourquoi nous avons décidé en accord avec l'IZW d'étendre cette étude aux félins de taille moyenne, qui restent assez proches du lynx en terme de gabarit et donc ne devraient pas nécessiter de changements majeurs en terme de molécules. Notre souhait était donc de voir s'il était possible d'induire des chaleurs et l'ovulation chez les félins de taille moyenne, en évaluant les concentrations en métabolites fécaux d'œstrogènes et progestérone, de vérifier l'absence d'hyperstimulation ovarienne et enfin, en accord avec les zoos, s'il était possible d'obtenir des portées suite à ce protocole d'induction des chaleurs et de l'ovulation.

## II. Matériels et méthodes

Ce protocole repose sur une collaboration avec 110 vétérinaires membres de l'Association Francophone des Vétérinaires des Parcs Zoologiques (AFVPZ) sollicités pour inclure leurs félins dans cette étude et avec l'Institut de la Faune Sauvage (IZW Berlin) qui nous a aidé dans la rédaction du protocole et qui devait réaliser *a posteriori* les dosages hormonaux sur les échantillons fécaux.

### II.1. Les animaux

Nous avons décidé de nous focaliser sur les félins de taille moyenne pour cette étude. Initialement, le protocole devait se concentrer uniquement sur les lynx mais ces derniers présentant un cycle monoœstrien distinct de celui des autres félidés nous avons élargi le protocole aux félins de taille moyenne en faisant le postulat qu'étant de même gabarit que le lynx, ils réagiraient de façon similaire aux doses employées. Ainsi les félins inclus dans notre protocole sont les suivants : le serval (*Leptailurus serval*), le caracal (*Caracal caracal*), le chat pêcheur (*Prionailurus viverrinus*), l'ocelot (*Leopardus pardalis*), la panthère nébuleuse (*Neofelis nebulosa*), le lynx boréal (*Lynx lynx*) -/et lynx roux (*Lynx rufus*) (pour ces deux dernières espèces, un protocole adapté a été proposé en raison de leur cycle ovarien particulier). Le lynx présente une stratégie de reproduction unique avec un cycle monoestrien et des corps jaunes persistants sur plusieurs années. Ces derniers produisent en permanence de la progestérone (en moyenne 5 ng/mL) et induisent un rétro-contrôle négatif inactivant la folliculogénèse, transformant ainsi le cycle « poly-œstrien » observé chez la plupart des

félins en un cycle monœstrien propre au lynx (Jewgenow *et al.*, 2014 ; Painer *et al.*, 2014) . Cette particularité a son importance car elle pose de nombreux problèmes pour mettre en place des techniques de reproduction assistée chez les espèces du genre *Lynx*.

Pour l'ensemble des animaux inclus dans le protocole, l'historique de reproduction est étudié et un examen complet de l'appareil reproducteur est réalisé.

## **II.2. Le matériel**

### ***II.2.1. L'élaboration de la lettre avec les différents protocoles et sa diffusion aux parcs zoologiques***

Nous avons rédigé une lettre visible en Annexe 2 à destination des 110 vétérinaires membres de l'Association Francophone des Vétérinaires des Parcs Zoologiques (AFVPZ) afin de leur proposer de collaborer à notre étude et de participer aux différents protocoles afin d'avoir un assez grand nombre de félins de taille moyenne pour notre projet. Nous avons commencé notre lettre en expliquant les objectifs de cette étude, les problèmes liés aux protocoles d'induction à base de gonadotropines exogènes et la nécessité de développer de nouveaux protocoles. Nous avons ensuite détaillé deux protocoles distincts : un premier concernant les espèces à reproduction non saisonnière en captivité comme le caracal, le serval et le chat pêcheur et un second protocole ciblant la panthère nébuleuse, espèce saisonnière, pour laquelle l'application du protocole devrait se situer en dehors de la période de reproduction. En fonction de la motivation des zoos, nous avons proposé également un troisième protocole pour le lynx roux et le lynx boréal qui, comme nous l'avons indiqué précédemment, présentent un cycle ovarien unique, qui requiert donc quelques adaptations de la procédure. Nous avons ensuite détaillé la prise en charge respective de chacun des animaux inclus, avec le dosage des métabolites fécaux par l'IZW (le protocole de dosage des métabolites hormonaux dans les fèces étant décrit en Annexe 3), le matériel et les molécules nécessaires à la procédure et qui se chargera de les fournir (parcs zoologique ou l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort – ENVA-).

### ***II.2.2. Matériel utilisé pour l'examen de l'appareil reproducteur***

Il est prévu de réaliser un examen complet de l'appareil reproducteur des femelles de félidés afin de vérifier l'absence d'anomalie grâce à une échographie des ovaires et de l'utérus, une endoscopie vaginale, la réalisation d'un frottis vaginal et un dosage de progestérone afin de vérifier dans quelle phase du cycle se trouve l'animal pour éviter d'induire des chaleurs sur une femelle déjà en œstrus. Cette procédure est réalisée sous anesthésie générale dont le protocole anesthésique sera établi par le vétérinaire du zoo correspondant.

La réalisation du frottis vaginal s'effectue à l'aide d'un écouvillon clair humide adapté à la taille de l'animal, un kit de coloration Harris Schorr du laboratoire français RAL diagnostics, des lames de microscopie Menzel-Gläzer et un microscope optique.

Le dosage de progestérone est un dosage plasmatique réalisé à l'aide d'un tube sec gélosé, un système d'immunoanalyse Immulite 2000 XPi (Siemens, Allemagne) présent au Biopôle de l'ENVA et du sang veineux de l'animal.

L'échographie des ovaires et de l'utérus est réalisée avec un échographe portable LOGIC-e à l'aide d'une sonde linéaire multifréquence de 8 à 12 MHz.

L'endoscopie vaginale est réalisée à l'aide d'un endoscope 67030BA de la marque Karl Storz et d'une sonde endoscopique de diamètre de 1,9 mm de diamètre et de 14 cm de longueur.

### **II.3. Méthodes**

#### ***II.3.1. Réalisation du frottis vaginal***

L'observation des cellules vaginales prélevées à différents stades du cycle permet d'apprécier l'imprégnation œstrogénique de l'animal (Coquempot *et al.*, 2014). On introduit l'écouvillon horizontalement et peu profondément dans le vagin en frottant bien contre les parois vaginales sans l'aide d'un spéculum. On étale ensuite le frottis sur une lame qu'on aura identifiée au crayon. Il existe plusieurs colorations disponibles : ici une coloration de Harris Schorr a été réalisée. L'interprétation du frottis doit tenir compte de l'ensemble des cellules présentes, de leur aspect et de leur caractère acidophile ou basophile (Mills *et al.*, 1979). On regarde le résultat au microscope optique aux différents grossissements (x10 et x40).

#### ***II.3.2. Réalisation du dosage de progestérone plasmatique***

Le dosage de progestérone plasmatique est réalisé à l'aide de sang récolté à la veine saphène externe de l'animal et stocké dans un tube sec sur gélose avant d'être analysé au Biopôle de l'Ecole nationale vétérinaire d'Alfort grâce à l'Immulite 2000 XPi (Siemens, Allemagne).

#### ***II.3.3. Réalisation de l'échographie des ovaires et de l'utérus***

L'approche échographique est réalisée de manière bilatérale par les flancs.

#### ***II.3.3. Réalisation de l'endoscopie vaginale***

La sonde endoscopique est insérée directement dans le vagin de la femelle.

### **II.3. Les protocoles proposés**

- Protocole 1 : pour les espèces à reproduction non saisonnière, comme les caracals, servals, ocelots et chats pêcheurs, on administre quotidiennement de l'altrénogest (Regumate ®) en suspension buvable dans la nourriture à la dose de 0,088mg/kg pendant 38 jours. L'administration est aisée, le Regumate ® n'ayant pas de goût en lui-même (Swanson, 2019). On va ensuite induire des chaleurs avec un implant sous-cutané de desloréline (Suprelorin 4,7 mg ®) posé 3 jours après la fin du traitement à l'altrénogest en région post-ombilicale, de façon à pouvoir être retiré facilement (Zambelli *et al.*, 2015). Si cela est possible, une échographie de l'utérus et des ovaires ainsi qu'un frottis vaginal pourront être réalisés juste avant la pose de l'implant. L'implant devra enfin être retiré au bout de 10 jours. Un autre examen échographique pourrait être réalisé à ce moment-là. Pour le suivi hormonal, des échantillons fécaux devront être collectés une fois par semaine jusqu'à l'apparition des premiers signes de chaleurs puis quotidiennement jusqu'à la fin des chaleurs (manifestations comportementales). Des mesures des taux d'œstrogènes et de progestérone fécaux seront réalisées par l'IZW et permettront de détecter, de manière non invasive, si l'œstrus a eu lieu ou non.
- Protocole 2 : pour les panthères nébuleuses, espèce à reproduction saisonnière, en dehors de leur période de reproduction, on induit directement des chaleurs au moyen d'un implant sous-cutané de desloréline (Suprelorin 4,7 mg) (Zambelli *et al.*, 2015). Si cela est possible, une échographie de l'utérus et des ovaires ainsi qu'un frottis vaginal seront réalisés. L'implant

devra être retiré au bout de 10 jours. Un autre examen échographique pourrait être réalisé à ce moment-là. Pour le suivi hormonal, des échantillons fécaux devront être collectés une fois par semaine jusqu'à l'apparition des premiers signes de chaleurs puis quotidiennement jusqu'à la fin des chaleurs (manifestations comportementales).

- Protocole 3 : pour le lynx roux et le lynx boréal, il est nécessaire de réaliser une lutéolyse avant l'induction des chaleurs grâce à un traitement à base de cloprostrérol (PGF2alpha) à la posologie de 2,5 µg/kg, administré quotidiennement durant 5 jours (en 1<sup>ère</sup> intention) ou en 3 injections toutes les 16h par voie intramusculaire (Painer *et al.*, 2014). Cette étape est essentielle afin d'obtenir un taux basal de progestérone avant l'induction des chaleurs. Le reste du protocole est identique à ceux des autres espèces avec induction des chaleurs à l'aide de l'implant de desloréline.

### **III. Résultats**

#### **III.1. Réponses des vétérinaires de l'AFVPZ à notre lettre et animaux exclus ou inclus dans l'étude**

Malgré plusieurs relances, nous n'avons obtenu que peu de réponses de la part des vétérinaires des parcs zoologiques sollicités pour participer à notre étude. Sur les 110 vétérinaires membres de l'AFVPZ, seulement 4 zoos ont répondu favorablement à notre lettre et proposaient d'inclure dans le protocole une serval, une caracal, une ocelot et des grands félins comme le lion, le tigre de Sumatra et le puma qui n'étaient pas initialement prévus dans notre étude.

La femelle caracal vit dans le même enclos que le mâle. Un dosage de progestérone a été effectué et a révélé une valeur de 40 ng/mL prouvant qu'elle avait ovulé. Cette femelle étant donc à risque d'être gestante, nous l'avons exclue du protocole.

Concernant la femelle serval, aucune chaleur n'a jamais été observée depuis son arrivée au zoo en février 2016. Nous avons donc décidé de réaliser une visite préliminaire avant le démarrage du protocole à base d'altrénogest et de desloréline avec la mise en place d'un examen reproductif complet (frottis vaginal, dosage de progestérone, échographie génitale, endoscopie vaginale) afin de comprendre pourquoi cette femelle ne s'est jamais reproduit malgré la présence d'un mâle dans son enclos depuis 2018. Un examen clinique et reproductif du mâle avec lequel elle vit ainsi qu'un spermogramme ont également été réalisés afin de détecter d'éventuelles anomalies pouvant expliquer l'absence de reproduction entre les deux servals.

Les fiches d'identification de ces deux servals sont présentes en Annexe 4.

Concernant les autres participations à l'étude (un ocelot, un puma et un Tigre de Sumatra), elles n'ont malheureusement pas donné suite, le confinement national ayant été déclaré suite à la pandémie de la « Covid 19 ».

#### **III.2. Etude de la femelle serval**

##### ***III.2.1 Anamnèse et commémoratifs***

Sissi est une femelle Serval née le 01/10/2014 au Parc zoologique de Jurques en Normandie. Elle a été transférée au zoo d'Amiens le 9 février 2016 et depuis, les soigneurs et le vétérinaire n'ont jamais observé de manifestations comportementales d'œstrus même avec l'arrivée du mâle en février 2018. Aucune naissance n'a donc jamais été rapportée. De plus, trois semaines avant que

nous allons examiner Sissi, cette dernière aurait subi des agressions de la part du mâle. Lors de notre visite le 4 mars 2020, Sissi pesait 10,8 kg.

### III.2.2. Anesthésie

Sissi a reçu 0,6 mL de médétomidine (0,05mg/kg) et 0,4 mL de kétamine (4 mg/kg). Un relais à base d'isoflurane a été mis en place au cours de la procédure qui a duré 1h20 (du début de l'anesthésie jusqu'au réveil).

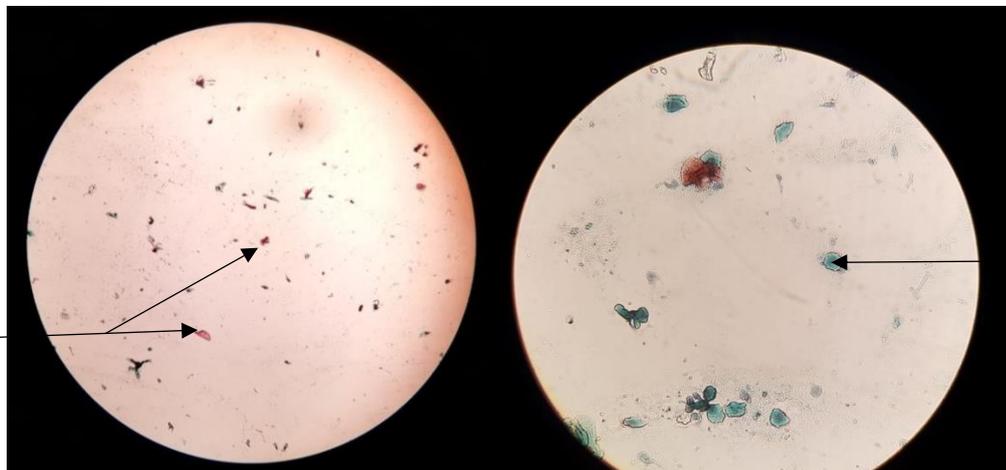
### III.2.3. Cytologie vaginale

Nous pouvons observer en Figure 9 la cytologie vaginale de Sissi mettant en évidence la présence de cellules parabasales, intermédiaires et kératinisées en quantité similaire et modérée, peu de bactérie, du mucus et des débris cellulaires en quantité modérée. Ce résultat est en faveur d'une cytologie d'inter-œstrus (Callealta *et al.*, 2020). Sissi n'est en tout cas pas en anœstrus.

Figure 9 : Cytologie vaginale de Sissi en coloration Harris Schorr. Source : Personnelle

Grossissement : x10

Grossissement : x40



5 % des cellules sont kératinisées sur la lame

Cellule parabasale

Grossissement x100



#### **III.1.4. Echographie génitale**

L'échographie des ovaires et de l'utérus a révélé un ovaire droit présentant quelques structures pouvant être des follicules immatures ou des cicatrices d'ovulations antérieures car de petite taille (quelques millimètres), un ovaire gauche lisse et un peu de liquide dans la corne utérine droite. Cet ovaire où l'on suspecte la présence d'un follicule immature de quelques millimètres de diamètre suggère qu'on se situe en phase d'inter-œstrus.

#### **III.1.5. Dosage de progestérone**

Le taux de progestérone plasmatique était de 0,761 ng/mL donc faible. Sissi n'a donc pas ovulé et se trouvait donc bien en inter-œstrus ou anœstrus. Les résultats de ce taux de progestérone ainsi que le bilan biochimique réalisé (sans anomalie ici) sont visibles en Annexe 5.

### ***III.1.6. Endoscopie vaginale***

A l'endoscopie, nous avons pu observer une muqueuse vaginale épaisse avec des plis, signe que la femelle est bien cyclée et donc pas en anœstrus (Zambelli et Cunto, 2005). Une petite bride vaginale a également été observée et pourrait être à l'origine d'une gêne empêchant la reproduction comme nous pouvons le voir en Figure 10.

Figure 10 : Images de l'endoscopie vaginale de Sissi. Source : personnele

*Nous pouvons voir sur l'image (1) que la muqueuse vaginale est épaisse et présente de nombreux plis (femelle cyclée). Sur les images (2) et (3) nous pouvons observer la présence d'une petite bride vaginale, que l'on peut supposer à l'origine des échecs d'accouplement de Sissi.*

(1)



(2)



Bride vaginale

(3)



Bride vaginale

### III.3.Bilan

L'ensemble des données récoltées sur le terrain nous montre plusieurs éléments : concernant Sissi, tout semble indiquer qu'elle se trouvait en inter-œstrus au moment où nous l'avons examinée (frottis en faveur de cette hypothèse, taux de progestérone basal et endoscopie vaginale montrant qu'elle était bien cyclée). Sissi peut donc être incluse dans le protocole d'induction. Par ailleurs, un examen clinique du mâle et un spermogramme ont été réalisés (voir annexe 6), dans le but d'une éventuelle insémination ultérieure.

## **IV. Discussion**

### **IV.1. Les aléas dus à la COVID-19**

L'objectif de cette étude était de mettre en place un protocole visant à induire des chaleurs suivies d'ovulation chez les félins de taille moyenne, sans risque d'hyperstimulation ovarienne et sans risque de dérégler la cyclicité des animaux. Néanmoins nous n'avons pu aller au bout de ce projet, interrompu par la crise de la COVID-19 et du confinement imposé. En nous basant sur les données de la littérature scientifique, nos résultats d'anamnèse et l'examen reproductif de Sissi qui étaient satisfaisants, on peut penser que le protocole d'induction des chaleurs aurait été concluant. Les autres zoos qui nous avaient contactés pour intégrer leurs félins à l'étude n'ont de même pas donné suite en raison de la période de confinement et de la pandémie actuelle.

### **IV.2. La nécessité d'adaptation du protocole face au faible nombre de lynx disponible en France**

Si nous revenons sur les différentes étapes de l'élaboration de ce protocole, nous conviendrons qu'il a fallu nous adapter et ce à plusieurs égards. En effet, nous voulions tout d'abord réaliser un protocole seulement sur les différentes espèces de lynx afin de pouvoir l'extrapoler au lynx ibérique dont nous voulions participer à la sauvegarde. Cependant, comme nous l'avons évoqué précédemment, le cycle reproductif des lynx est unique et distinct de celui des autres félins ; cela nous obligeait à concevoir un protocole d'induction des chaleurs plus complexe et difficilement réalisable pour les zoos de France (nombreuses anesthésies, suivi important...). C'est pourquoi le protocole initial a été modifié au profit des félins de taille moyenne, permettant ainsi une simplification de l'étude, une faisabilité accrue pour les zoos de France et enfin d'avoir accès à un nombre plus important d'animaux de même gabarit cependant que le lynx et nécessitant probablement des doses similaires. En effet, seulement 30 parcs zoologiques possèdent des lynx boréaux et roux et encore faut-il que ces zoos soient motivés pour intégrer leurs félins dans notre protocole, sachant que certains zoos ont déjà mis leurs lynx femelles sous implant sous-cutané de Suprelorin® en continu afin d'éviter d'avoir des gestations non désirées. De ce fait, élargir le protocole aux félins de taille moyenne a permis de le simplifier (moins d'anesthésies, moins de suivis contraignants) et d'avoir un plus grand nombre d'animaux susceptibles d'intégrer notre étude. Cependant, l'hypothèse que tous les félins de taille similaire réagiraient de la même façon aux protocoles de stimulation, est un postulat que nous avons choisi de faire ici mais cela reste empirique, car pour le moment, on ne trouve pas de données publiées sur les effets observés à la suite de la pose d'implants de desloréline chez les différentes espèces de félins.

### **IV.3. Des difficultés à impliquer les parcs zoologiques de France**

Une autre difficulté à laquelle nous avons dû faire face a été de recruter des félins dans notre protocole. En effet, si nous avons réussi à contacter l'ensemble des 110 vétérinaires membres de l'AFVPZ et à leur soumettre notre protocole *via* l'AFVPZ qui a transmis notre demande, le nombre de zoos possédant des félins de taille moyenne s'élève à 46 parcs zoologiques et parmi ces zoos, seulement 4 ont répondu favorablement à notre demande. Enfin, parmi ces derniers, il fallait s'assurer que les femelles que nous voulions intégrer n'étaient pas gestantes ou en pseudo-gestation ce qui, là encore, limitait le nombre d'animaux pouvant faire partie de notre étude.

### **V.4. Que faire maintenant ?**

Bien que la COVID-19 ait interrompu la suite de nos expériences, on peut penser que le protocole que nous avons mis en place aurait pu se montrer efficace puisqu'il combine les avantages des

progestagènes pour inhiber l'activité ovarienne et des implants de desloréline pour induire les chaleurs qui se sont révélés très efficaces chez les chats domestiques et sont laissés en place trop peu de temps pour développer des effets indésirables semble-t-il. Il serait donc intéressant de continuer dans cette voie et de le proposer de nouveau à l'essai pour avoir ainsi d'autres protocoles disponibles que les gonadotropines à utiliser chez les félins. Ce protocole pourrait également être étendu à l'ensemble des félins, petits, moyens et grands en espérant susciter davantage de motivation et de participations dans les zoos de France. De plus si nous arrivions à obtenir au moins une portée grâce à ce protocole, cela motiverait les autres zoos à s'impliquer davantage, la reproduction assistée étant une biotechnologie que de nombreux zoos voudraient développer.

---

# Conclusion

---

Cette thèse avait pour objectif de proposer une étude consistant à mettre en place un protocole d'induction des chaleurs chez les différentes espèces de lynx, sans les effets indésirables des protocoles les plus utilisés actuellement, et nécessitant le moins d'anesthésies possible.

Cependant, l'application de ce protocole sur les lynx n'était pas réalisable, les femelles du genre *Lynx* sp. présentant un cycle sexuel unique et différent de celui des autres félins ce qui compliquait considérablement le protocole et le rendait difficilement réalisable pour les zoos de France (nombreuses anesthésies et suivi trop important). De plus, le faible nombre de lynx femelles en zoo compliquait plus encore sa réalisation effective. Ainsi, nous avons décidé d'élargir le protocole aux félins de taille moyenne dont on a supposé que les doses employées ne variaient pas par rapport à celles requises pour les lynx qui sont de même gabarit afin de le simplifier dans un premier temps et de le rendre accessible à un plus grand nombre de zoos français et si les résultats s'avéraient concluants de l'adapter aux différentes espèces de lynx. Nous n'avons obtenu au final que quelques réponses positives (4 sur 110 vétérinaires) de zoos motivés par le protocole et qui présentaient soit des femelles qui avaient déjà ovulé et donc étaient ne pouvant être retenues pour notre étude, soit les zoos n'ont pas donné suite en raison du confinement et de la pandémie actuelle. Nous avons néanmoins pu étudier une femelle serval au Zoo d'Amiens dont l'examen de l'appareil reproducteur était satisfaisant et lui permettait d'intégrer notre protocole mais le lancement de l'expérience a également dû être interrompue suite à l'épidémie de la COVID-19 et du confinement qui nous a été imposé.

Néanmoins on peut penser, en accord avec les données de la littérature scientifique et des examens réalisés sur cette serval, qu'elle aurait fait une bonne candidate pour notre étude et que les résultats d'induction des chaleurs auraient été intéressants à analyser. Nous aurions pu espérer, dans le meilleur des cas, obtenir une portée suite à ce protocole d'induction, la femelle serval vivant avec un mâle en très bonne santé et dont l'examen reproducteur montrait également de très bons résultats. Il serait donc utile de poursuivre cette étude dans le futur. Il faudrait d'abord essayer avec la femelle serval qui était une très bonne candidate puis si les résultats sont concluants, motiver davantage de parcs zoologiques à participer afin d'augmenter le nombre d'animaux inclus dans le protocole et donc un plus grand nombre de résultats à exploiter.

# Liste des références bibliographiques

---

- BOUTET P. (2019) La reproduction du caracal, du serval et de l'ocelot. [<http://bibliotheque.vet-alfort.fr/Record.htm?idlist=3&record=19451883124912790659>] (consulté le 12/11/2019).
- BROWN J.L., WASSER S.K., WILDT D.E., GRAHAM L.H. (1994) Comparative Aspects of Steroid Hormone Metabolism and Ovarian Activity in Felids, Measured Noninvasively in Feces1. *Biol. Reprod.* 51(4), 776-786
- BROWN J.L. (2006) Comparative endocrinology of domestic and nondomestic felids. *Theriogenology* 66(1), 25-36
- BROWN J.L. (2011) Female reproductive cycles of wild female felids. *Anim. Reprod. Sci., Special Issue: Reproductive Cycles of Animals* 124(3), 155-162
- CALLEALTA I., GANSWINDT A., LUEDERS I. (2020) Reproductive cycle stage assessment using vaginal cytology evaluation in African lions (*Panthera leo*). *Anim. Reprod. Sci.* 213, 106260
- CONFORTI V.A., BATEMAN H.L., SCHOOK M.W., *et al.* (2013) Laparoscopic Oviductal Artificial Insemination Improves Pregnancy Success in Exogenous Gonadotropin-Treated Domestic Cats as a Model for Endangered Felids. *Biol. Reprod.* 89(1), 1- 9
- COQUEMPOT P., LINDEN A., VOLPE R., FURTHNER E., DELEUZE S. (2014) État des connaissances sur la physiologie de la reproduction des grands félins sauvages, sa maîtrise, et les techniques de reproduction assistée. *Ann. Med. Vét.* 158(2), 109-120
- CRICHTON E.G., BEDOWS E., MILLER-LINDHOLM A.K., *et al.* (2003) Efficacy of Porcine Gonadotropins for Repeated Stimulation of Ovarian Activity for Oocyte Retrieval and In Vitro Embryo Production and Cryopreservation in Siberian Tigers (*Panthera tigris altaica*). *Biol. Reprod.* 68(1), 105-113
- CROSIER A.E., COMIZZOLI P., KOESTER D.C., WILDT D.E. (2017) Circumventing the natural, frequent oestrogen waves of the female cheetah (*Acinonyx jubatus*) using oral progestin (Altrenogest). *Reprod. Fertil. Dev.* 29(8), 1486-1498
- FONTAINE E., MIR F., VANNIER F., *et al.* (2011) Induction of fertile oestrus in the bitch using Deslorelin, a GnRH agonist. *Theriogenology* 76(8), 1561-1566
- FONTBONNE A., LEVY X., FONTAINE E., ROUTIER J.-Y. (2007) L'insémination artificielle chez les félinés. *Bull. Acad. Vét. Fr.* n°2, 143
- GRAHAM L.H., SWANSON W.F., BROWN J.L. (2000) Chorionic gonadotropin administration in domestic cats causes an abnormal endocrine environment that disrupts oviductal embryo transport. *Theriogenology* 54(7), 1117-1131
- GRAHAM L.H., SWANSON W.F., WILDT D.E., BROWN J.L. (2004) Influence of oral melatonin on natural and gonadotropin-induced ovarian function in the domestic cat. *Theriogenology* 61(6), 1061-1076
- HOWARD J.G., BARONE M.A., DONOGHUE A.M., WILDT D.E. (1992) The effect of pre-ovulatory anaesthesia on ovulation in laparoscopically inseminated domestic cats. *J. Reprod. Fertil.* 96(1), 175-186
- HOWARD J.G., ROTH T.L., BYERS A.J., SWANSON W.F., WILDT D.E. (1997) Sensitivity to exogenous gonadotropins for ovulation induction and laparoscopic artificial insemination in the cheetah and clouded leopard. *Biol. Reprod.* 56(4), 1059-1068
- HUDSON L., HAMILTON W. (2010) Atlas of Feline Anatomy For Veterinarians. 2<sup>ème</sup> ed. Jackson, Teton NewMedia.
- JEWGENOW K., PAINER J., AMELKINA O., DEHNHARD M., GOERITZ F. (2014) Lynx reproduction – Long-lasting life cycle of corpora lutea in a feline species. *Reprod. Biol.* 14(2), 83-88
- MILLS J.N., VALLI V.E., LUMSDEN J.H. (1979) Cyclical Changes of Vaginal Cytology in the Cat. *Can. Vet. J.* 20(4), 95-101
- MOREIRA N., MONTEIRO-FILHO E.L.A., MORAES W., *et al.* (2001) Reproductive steroid hormones and ovarian activity in felids of the *Leopardus* genus. *Zoo Biol.* 20(2), 103-116

- PAINER J., GOERITZ F., DEHNHARD M., *et al.* (2014) Hormone-induced luteolysis on physiologically persisting corpora lutea in Eurasian and Iberian lynx (*Lynx lynx* and *Lynx pardinus*). *Theriogenology* 82(4), 557-562
- PAZ R.C.R. da (2012) Wildlife Cats Reproductive Biotechnology. *Curr. Front. Cryobiol.* n°12, 369-388
- PELICAN K.M., WILDT D.E., PUKAZHENTHI B., HOWARD J. (2006a) Ovarian control for assisted reproduction in the domestic cat and wild felids. *Theriogenology, Feline Reproduction* 66(1), 37-48
- PELICAN K.M., WILDT D.E., HOWARD J.G. (2006b) GnRH agonist Lupron® (leuprolide acetate) pre-treatments prevent ovulation in response to gonadotropin stimulation in the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Theriogenology* 66(6-7), 1768-1777
- PELICAN K.M., WILDT D.E., OTTINGER M.A., HOWARD J. (2008) Priming with progestin, but not GnRH antagonist, induces a consistent endocrine response to exogenous gonadotropins in induced and spontaneously ovulating cats. *Domest. Anim. Endocrinol.* 34(2), 160-175
- PELICAN K.M., SPINDLER R.E., PUKAZHENTHI B.S., *et al.* (2010) Progestin Exposure Before Gonadotropin Stimulation Improves Embryo Development after In Vitro Fertilization in the Domestic Cat. *Biol. Reprod.* 83(4), 558-567
- POPE C.E. (2000) Embryo technology in conservation efforts for endangered felids. *Theriogenology* 53(1), 163-174
- POPE C.E., GOMEZ M.C., DRESSER B.L. (2006) In vitro embryo production and embryo transfer in domestic and non-domestic cats. *Theriogenology* 66 (6-7), 1518-1524
- SHILLE V.M., MUNRO C., FARMER S.W., PAPKOFF H., STABENFELDT G.H. (1983) Ovarian and endocrine responses in the cat after coitus. *J. Reprod. Fertil.* 69(1), 29-39
- STEWART R.A., PELICAN K.M., BROWN J.L., *et al.* (2010) Oral progestin induces rapid, reversible suppression of ovarian activity in the cat. *Gen. Comp. Endocrinol.* 166(2), 409-416
- STEWART R.A., PELICAN K.M., CROSIER A.E., *et al.* (2012) Oral progestin priming increases ovarian sensitivity to gonadotropin stimulation and improves luteal function in the cat. *Biol. Reprod.* 87(6), 137
- STEWART D.R., STABENFELDT G.H. (1985) Relaxin activity in the pregnant cat. *Biol. Reprod.* 32(4), 848-854
- SWANSON W.F., HOROHOV D.W., GODKE R. (1995) Production of Exogenous Gonadotrophin-Neutralizing Immunoglobulins in Cats After Repeated eCG-hCG Treatment and Relevance for Assisted Reproduction in Felids. *J. Reprod. Fertil.* 105(1), 35-41
- SWANSON W.F., ROTH T.L., GRAHAM K., HOROHOV D.W., GODKE R. (1996a) Kinetics of the Humoral Immune Response to Multiple Treatments With Exogenous Gonadotropins and Relation to Ovarian Responsiveness in Domestic Cats. *Am. J. Vet. Res.* 57(3), 302-7
- SWANSON W.F., GRAHAM K., HOROHOV D.W., THOMPSON D.L., GODKE R.A. (1996b) Ancillary follicle and secondary corpora lutea formation following exogenous gonadotropin treatment in the domestic cat and effect of passive transfer of gonadotropin-neutralizing antisera. *Theriogenology* 45(3), 561-572
- SWANSON W.F., WOLFE B.A., BROWN J.L., *et al.* (1997) Pharmacokinetics and Ovarian-Stimulatory Effects of Equine and Human Chorionic Gonadotropins Administered Singly and in Combination in the Domestic Cat. *Biol. Reprod.* 57(2), 295-302
- SWANSON W.F., BATEMAN H.L., VANSANDT L.M. (2017) Urethral catheterization and sperm vitrification for simplified semen banking in felids. *Reprod. Domest. Anim.* 52(S2), 255-260
- SWANSON W. (2019) Practical application of laparoscopic oviductal artificial insemination for the propagation of domestic cats and wild felids. *Reprod. Fertil. Dev.* 31, 27
- THONGPHAKDEE A., TIPKANTHA W., PUNKONG C., CHATDARONG K. (2018) Monitoring and controlling ovarian activity in wild felids. *Theriogenology* 109, 14-21
- THUWANUT P., BROWN J.L., COMIZZOLI P., CROSIER A.E. (2019) Responsiveness of the cheetah (*Acinonyx jubatus*) ovary to exogenous gonadotropins after preemptive oral progestin treatment. *Theriogenology* 138, 39-46
- TSUTSUI T., YAMANE I., HATTORI I., *et al.* (2000) Feline Embryo Transfer during the Non-Breeding Season. *J. Vet. Med. Sci.* 62(11), 1169-1175

- WILDT D.E., CHAN S.Y.W., SEAGER S.W.J., CHAKRABORTY P.K. (1981) Ovarian Activity, Circulating Hormones, and Sexual Behavior in the Cat. I. Relationships During the Coitus-Induced Luteal Phase and the Estrous Period Without Mating. *Biol. Reprod.* 25(1), 15-28
- ZAMBELLI D., BINI C., KÜSTER D.G., MOLARI V., CUNTO M. (2015) First deliveries after estrus induction using deslorelin and endoscopic transcervical insemination in the queen. *Theriogenology* 84(5), 773-778
- ZAMBELLI D., CUNTO M. (2005) Vaginal and cervical modifications during the estrus cycle in the domestic cat. *Theriogenology* 64(3), 679-684



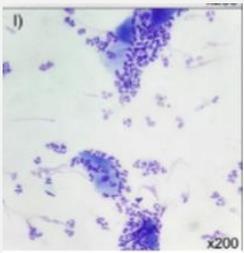
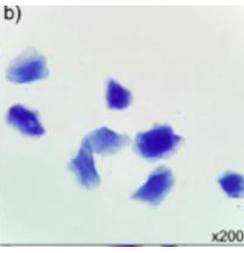
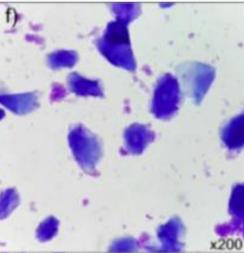
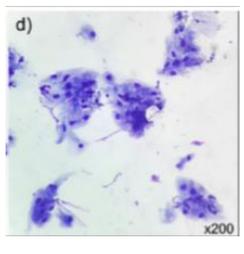
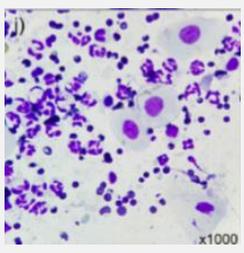
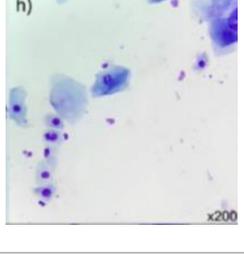
# Annexes

---

Annexe 1 : Les différents types de frottis vaginaux existant chez des lionnes d'Afrique (en coloration Wright et Giemsa) .....	51
Annexe 2 : Protocole d'induction des chaleurs envoyé à l'AFVPZ. Source : personnelle .....	54
Annexe 3 : Protocole de dosage des métabolites des œstrogènes et de la progestérone dans les fèces chez les félidés. Source :Brown <i>et al.</i> (1994) .....	57
Annexe 4 : Specimen report ou fiche d'identification de Skaam (1) et de Sissi (2). Source : Zoo d'Amiens .....	58
Annexe 5 : Tableau 4: Résultats du bilan biochimique et du dosage de progestérone de Sissi. Source : personnelle .....	60
Annexe 6 : Résultats de l'examen reproductif complet de Skaam, le mâle serval, compagnon de Sissi. Source : personnelle .....	61

Annexe 1 : Les différents types de frottis vaginaux existant chez des lionnes d'Afrique (en coloration Wright et Giemsa)

Tableau 3 : Aspect du frottis vaginal au cours du cycle sexuel chez des lionnes Africaines (en coloration Wright et Giemsa). Source : Callealta *et al.* (2020)

Phase du cycle	Cellules observés (grossissement)	Description
Pro-œstrus		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Proportion importante de cellules kératinisées</li> <li>-Peu de bactéries</li> <li>-PNN en quantité importante mais décroissante jusqu'à l'œstrus</li> <li>- Débris cellulaires et mucus en quantité faible à importante</li> </ul>
Œstrus		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proportion dominante de cellules kératinisées</li> <li>-Absence de PNN</li> <li>-Bactéries en quantité modérée à importante</li> <li>- Quantité minimale de mucus et de débris cellulaire</li> </ul>
Post œstrus		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Proportion importante de cellules superficielles agrégées</li> <li>- PNN en quantité importante à modérée</li> <li>- Bactéries en quantité modérée</li> <li>- Mucus et débris cellulaire en quantité modérée</li> </ul>
Diœstrus		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proportion dominante de cellules parabasales et intermédiaires</li> <li>- PNN en faible proportion</li> <li>- Peu de bactéries</li> <li>-Mucus et débris en quantité modérée</li> </ul>
<i>Post-Partum</i>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Proportion dominante de cellules parabasales et intermédiaires</li> <li>- Peu de bactéries</li> <li>- Hématies et PNN en grande quantité</li> <li>-Mucus et débris en quantité modérée</li> </ul>
Inter-œstrus (ou anœstrus)		<ul style="list-style-type: none"> <li>-Quantité modérée similaires de cellules parabasales, intermédiaires et superficielles</li> <li>- PNN en quantité modérée</li> <li>-Peu de bactéries</li> <li>- Mucus et débris cellulaires en quantité modérée</li> </ul>

---



Contacts : [alexine.porret@vet-alfort.fr](mailto:alexine.porret@vet-alfort.fr)

[alain.fontbonne@vet-alfort.fr](mailto:alain.fontbonne@vet-alfort.fr)

[charly.pignon@vet-alfort.fr](mailto:charly.pignon@vet-alfort.fr)

Aux vétérinaires membres de l'AFVPZ

Chères Consœurs, Chers Confrères,

Nous souhaitons vous solliciter afin de collaborer à un protocole visant à pouvoir déclencher des chaleurs suivies d'ovulation chez les félins de taille moyenne, sans risque d'hyperstimulation ovarienne et sans risque de dérégler la cyclicité des animaux.

Ce protocole a pour but d'aider à la sauvegarde d'espèces menacées telles que le Lynx ibérique, mais aussi de pouvoir être appliquées à des félins à cyclicité saisonnière (Lynx boréal, panthère nébuleuse) ou non saisonnière (Ocelot, Caracal, Serval, lynx roux, chat pêcheur).

En effet, la plupart des protocoles d'induction d'ovulation chez les félins implique l'administration d'un dosage spécifique d'eCG (à effet FSH) pour stimuler la croissance folliculaire suivi par de l'hCG afin d'induire l'ovulation. L'inconvénient majeur de ce protocole est que les doses nécessaires de gonadotropines ainsi que leur longue rémanence dans l'organisme entraînent une sécrétion d'oestrogènes à des taux très élevés supra-physiologiques ainsi que le développement de follicules secondaires et de corps jaunes après la première ovulation, perturbant l'environnement hormonal et produisant des implantations anormales, retardant le développement fœtal. De ce fait, ces protocoles entraînent de nombreux effets secondaires et sont très décevants en termes de résultats (faibles taux de gestation, insuffisance lutéale fréquente, etc...).

En conséquence, la recherche sur la reproduction assistée de ces espèces progresse trop lentement.

De plus, les études ont montré qu'il fallait que l'ovaire soit en anœstrus ou en période d'inactivité afin que le traitement d'induction de chaleurs ovulantes soit optimal.

Dans ce but, l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort et l'Institut de la Faune Sauvage (IZW Berlin) se sont associés pour vous proposer de participer au protocole suivant, qui nous aiderait grandement sur le plan de la recherche :

- Au préalable, réaliser une anamnèse reproductive complète sur tous les animaux potentiellement inclus dans l'étude ;
- Pour les caracals, servals, ocelots et chats pêcheurs :
  - Administrer quotidiennement de l'altrénogest (Regumate ® en suspension buvable dans la nourriture (0.088mg/kg) pendant 38 jours. L'administration est aisée, le Regumate ® n'ayant pas de goût en lui-même. (Swanson, 2019)

- Induire des chaleurs avec un implant sous-cutané de desloréline (Suprelorin 4,7 mg ®) posé 3 jours après la fin du traitement à l'altrénogest en région post-ombilicale, de façon à pouvoir être retiré facilement ; (Zambelli *et al.*, 2015) Si cela est possible, une échographie de l'utérus et des ovaires ainsi qu'un frottis vaginal pourront être réalisés juste avant la pose de l'implant par vous-même ou par l'équipe de l'école vétérinaire d'Alfort ;

- L'implant devra être retiré au bout de 10 jours. Un autre examen échographique pourrait être réalisé à ce moment-là. Pour le suivi hormonal, des échantillons fécaux devront être collectés une fois par semaine jusqu'à l'apparition des premiers signes de chaleurs puis quotidiennement jusqu'à la fin des chaleurs (manifestations comportementales). Ensuite, pendant la phase lutéale, les selles devront être collectées deux fois par semaines puis après la phase lutéale, une fois par semaine pendant 6 semaines (les détails de la conservation et de l'acheminement de ces fèces vous seront transmis ultérieurement). L'analyse hormonale sera effectuée à l'IZW Berlin ;

Pour les panthères nébuleuses (si on est en dehors de la période de reproduction) :

- Induire des chaleurs avec un implant sous-cutané de desloréline (Suprelorin 4,7 mg; (Zambelli *et al.*, 2015) Si cela est possible, une échographie de l'utérus et des ovaires ainsi qu'un frottis vaginal pourront être réalisés juste avant la pose de l'implant par vous-même ou par l'équipe de l'école vétérinaire d'Alfort ;

- L'implant devra être retiré au bout de 10 jours. Un autre examen échographique pourrait être réalisé à ce moment-là. Pour le suivi hormonal, des échantillons fécaux devront être collectés une fois par semaine jusqu'à l'apparition des premiers signes de chaleurs puis quotidiennement jusqu'à la fin des chaleurs (manifestations comportementales). Ensuite, pendant la phase lutéale, les selles devront être collectées deux fois par semaines puis après la phase lutéale, une fois par semaine pendant 6 semaines. L'analyse hormonale sera effectuée à l'IZW Berlin ;

- Prise en charge par nos soins

Les molécules (sauf anesthésie) vous seront bien entendues fournies par nos soins. Les échographies de l'utérus et des ovaires seront réalisées par l'équipe d'Alfort ou par le vétérinaire du zoo si celui-ci est compétent dans ce domaine. Les analyses d'échantillons fécaux seront réalisées à l'IZW. Nous vous rembourserons les envois par la poste

Nous avons réellement besoin de votre aide pour faire progresser la recherche sur ces espèces qui sont toutes à des degrés divers, menacées d'extinction. Il est indispensable d'accélérer le recueil de connaissances si l'on veut proposer des protocoles efficaces évitant les effets indésirables et les anesthésies inutiles en raison de protocoles que l'on sait à l'avance souvent voués à l'échec.

PS : Si vous êtes intéressés pour collaborer au protocole utilisé sur les lynx et les bobcats, n'hésitez pas à nous contacter ;

Restant à votre disposition pour tout renseignement complémentaire.

Dr Alain Fontbonne  
Dr Vet, PhD, HDR, Dip.ECAR  
Maître de Conférences en reproduction des carnivores

Dr Katarina Jewgenow  
Directrice déléguée et chef de département de la biologie de la reproduction à l'IZW

Dr Charly Pignon  
Dr Vet, Dip.ECZVM  
Praticien Hospitalier en médecine zoologique

Melle Alexine Porret  
Vétérinaire Doctorante.

---

Annexe 3 : Protocole de dosage des métabolites des œstrogènes et de la progestérone dans les fèces chez les félinés. Source :Brown *et al.* (1994)

- 1- Récolte des fèces, séchage à l'aide d'un évaporateur rotatoire et hachage
- 2- Mélange d'une portion (entre 0,1 et 0,2 g) avec 5 mL d'un solvant organique (éthanol 90 %) et distillation pendant 20 minutes
- 3- Centrifugation à 500 g (ou 1000 rpm) pendant 10 minutes
- 4- Récupération du surnageant, mis à part
- 5- Mélange du culot avec 5 mL un solvant organique (éthanol 90 %) et distillation pendant 1 minute
- 6- Centrifugation à 500 g (ou 1000 rpm) pendant 10 minutes
- 7- Récupération du deuxième surnageant, mis à part
- 8- Les deux surnageants précédents sont mélangés et déshydratés avant de leur ajouter 1 mL d'un second solvant organique (méthanol)
- 9- Evaporation des solvants pendant 1 minute
- 10- Dosage des métabolites sur le mélange des 2 surnageants après dilution

Annexe 4 : Specimen report ou fiche d'identification de Skaam (1) et de Sissi (2). Source : Zoo d'Amiens

## Specimen Report



Species360 WBW17-00666 Local ID: AMIENS / A18002  
 GAN  
 Leptailurus serval Serval  
 Studbooks AZA, ZAA  
 Order Carnivora Family Felidae  
 IUCN Least Concern (LC) CITES II  
 Start Date Jan 01, 1800 End Date Mar 04, 2020

Copyright, Species360, 2020. All rights reserved

### Basic Animal Information

### No Local Data Differences Found

<b>Sex - Contraception</b>	Male -	<b>Status</b>	Alive
<b>Birthdate - Age</b>	May 14, 2017 - 2Y,9M,19D	<b>Preferred ID</b>	AMIENS / A18002
<b>Origin</b>	Aachener Tierpark AG	<b>Rearing</b>	
<b>Birth Type</b>	Captive Birth/Hatch	<b>Hybrid Status</b>	Not Hybrid
<b>Sire</b>	WBW15-00353 (AACHEN ZO / S144)	<b>Dam</b>	WBW15-00354 (AACHEN ZO / S146)
<b>Current Collection</b>	Main Institution Animal Collection	<b>Collection Trip</b>	
<b>Clutch / Litter</b>		<b>Enclosure</b>	Parc Zoologique d'Amiens Métropole

### Visit History

Date in	Acquisition - Vendor/Local ID	Phy Own	Reported By	Disposition - Recipient/Local ID	Phy Own	Date Out
May 14, 2017	Birth/Hatch	In	In AACHEN ZO / S436	Donation To AMIENS/UNDETERM+	Out	Feb 06, 2018
Feb 06, 2018	Donation From AACHEN ZO/S436	In	In AMIENS / A18002			

### Identifiers

Reported By	Effective Date	Type	Identifier	Location	Status	Comments
AMIENS	Feb 06, 2018	Local ID	A18002		Active	
AACHEN ZO	May 14, 2017	Local ID	S436		Active	
AACHEN ZO	Aug 01, 2017	Transponder	276093400230775	Shoulder / Left	In-Use	
AACHEN ZO	Aug 01, 2017	Transponder	276093400230753	Shoulder / Left	Lost	

### Sex Information

Reported By	Date	Sex	Comments
AMIENS	Feb 06, 2018	Male	
AACHEN ZO	Jun 27, 2017	Male	
AACHEN ZO	May 14, 2017	Undetermined	

### Parent Info

Reported By	In ZIMS	Parent Info	Type / Probability	Birth Date	Comments
AACHEN ZO	Yes	WBW15-00354 [AACHEN ZO / S146]	Dam/100%	Sep 21, 2007	
AACHEN ZO	Yes	WBW15-00353 [AACHEN ZO / S144]	Sire/100%	Apr 16, 2010	

### Ancestry Information (calculated by Species360 from shared data)

% Pedigree Known	% Pedigree Certain	Taxonomic Inconsistencies	No. Identified Ancestors
0.00%	0.00%	No	5

### No Rearing Information Found

### No Contraception Information Found

### No Life Stage Information Found

### No Development Milestones Found

### Enclosure History

Enclosure Name	Date Moved In	Date Moved Out	Transfer Reason	Comments
Parc Zoologique d'Amiens Métropole	Feb 06, 2018		Acquisition Event	

### No Management Plan Found

### No Permits Found

### No Weight Information Found

### No Weights Found

### No Lengths Found

### Notes/Observations

Reported By	Text	Source Animals
AMIENS	Date: Sep 10, 2019   Type/Subtype: Animal Information/-   Keyword: - Transpondeur lu le 10/09/2019 (230775)	WBW17-00666

Specimen Report: WBW17-00666 | Local ID: AMIENS / A18002

Printed: Mar 04, 2020 04:34

Parc Zoologique d'Amiens Métropole

Page: 1 of 1

Species360 ZIMS version 2.25.5

# Specimen Report



**Species360** QJQ14-00296 **Local ID:** AMIENS / A16004  
**GAN**  
 Leptailurus serval Serval  
**Studbooks** AZA, ZAA  
**Order** Carnivora **Family** Felidae  
**IUCN** Least Concern (LC) **CITES** II  
**Start Date** Jan 01, 1800 **End Date** Mar 04, 2020

Copyright. Species360, 2020. All rights reserved

### Basic Animal Information

**No Local Data Differences Found**

<b>Sex - Contraception</b> Female -	<b>Status</b> Alive	
<b>Birthdate - Age</b> Oct 01, 2014 - 5Y,5M,3D	<b>Preferred ID</b> AMIENS / A16004	
<b>Origin</b> Parc Zoologique de Jurques	<b>Rearing</b>	
<b>Birth Type</b> Captive Birth/Hatch	<b>Hybrid Status</b> Not Hybrid	
<b>Sire</b> 23417698 (JURQUES / 250)	<b>Dam</b> MIG12-29624855 (JURQUES / 1059)	
<b>Current Collection</b> Main Institution Animal Collection	<b>Collection Trip</b>	
<b>Clutch / Litter</b>	<b>Enclosure</b> Parc Zoologique d'Amiens Métropole	

### Visit History

<u>Date in</u>	<u>Acquisition - Vendor/Local ID</u>	<u>Phy Own</u>	<u>Reported By</u>	<u>Disposition - Recipient/Local ID</u>	<u>Phy Own</u>	<u>Date Out</u>
Oct 01, 2014	Birth/Hatch	In	In JURQUES / 1356	Donation To AMIENS/A16004	Out	Feb 09, 2016
Feb 09, 2016	Donation From JURQUES/1356	In	In AMIENS / A16004		-	-

### Identifiers

<u>Reported By</u>	<u>Effective Date</u>	<u>Type</u>	<u>Identifier</u>	<u>Location</u>	<u>Status</u>	<u>Comments</u>
AMIENS	Feb 09, 2016	Local ID	A16004		Active	
JURQUES	Oct 10, 2014	Transponder	250229600065813	Assigned	Assigned	
JURQUES	Oct 01, 2014	Local ID	1356		Active	

### Sex Information

<u>Reported By</u>	<u>Date</u>	<u>Sex</u>	<u>Comments</u>
AMIENS	Feb 09, 2016	Female	
JURQUES	Oct 01, 2014	Female	

### Parent Info

<u>Reported By</u>	<u>In ZIMS</u>	<u>Parent Info</u>	<u>Type / Probability</u>	<u>Birth Date</u>	<u>Comments</u>
JURQUES	Yes	MIG12-29624855 [JURQUES / 1059]	Dam/100%	Apr 06, 2011	
JURQUES	Yes	23417698 [JURQUES / 250]	Sire/100%	Mar 04, 2004	

### Ancestry Information (calculated by Species360 from shared data)

<u>% Pedigree Known</u>	<u>% Pedigree Certain</u>	<u>Taxonomic Inconsistencies</u>	<u>No. Identified Ancestors</u>
1.56%	0.00%	No	32

### No Rearing Information Found

### No Contraception Information Found

### No Life Stage Information Found

### No Development Milestones Found

### Enclosure History

<u>Enclosure Name</u>	<u>Date Moved In</u>	<u>Date Moved Out</u>	<u>Transfer Reason</u>	<u>Comments</u>
Parc Zoologique d'Amiens Métropole	Feb 09, 2016		Acquisition Event	

### No Management Plan Found

### No Permits Found

### No Weight Information Found

### No Weights Found

### No Lengths Found

### Notes/Observations

<u>Reported By</u>	<u>Text</u>	<u>Source Animals</u>
AMIENS	Date: Feb 18, 2020   Type/Subtype: Animal Information/-   Keyword: - transpondeur lu le 18/02/2020 lors d'une anesthésie pour plaies multiples	QJQ14-00296
AMIENS	Date: Sep 10, 2019   Type/Subtype: Animal Information/-   Keyword: - Transpondeur lu le 10/09/2019	QJQ14-00296

Specimen Report: QJQ14-00296 | Local ID: AMIENS / A16004

Printed: Mar 04, 2020 04:33  
Species360 ZIMS version 2.25.5

Parc Zoologique d'Amiens Métropole

Page: 1 of 1

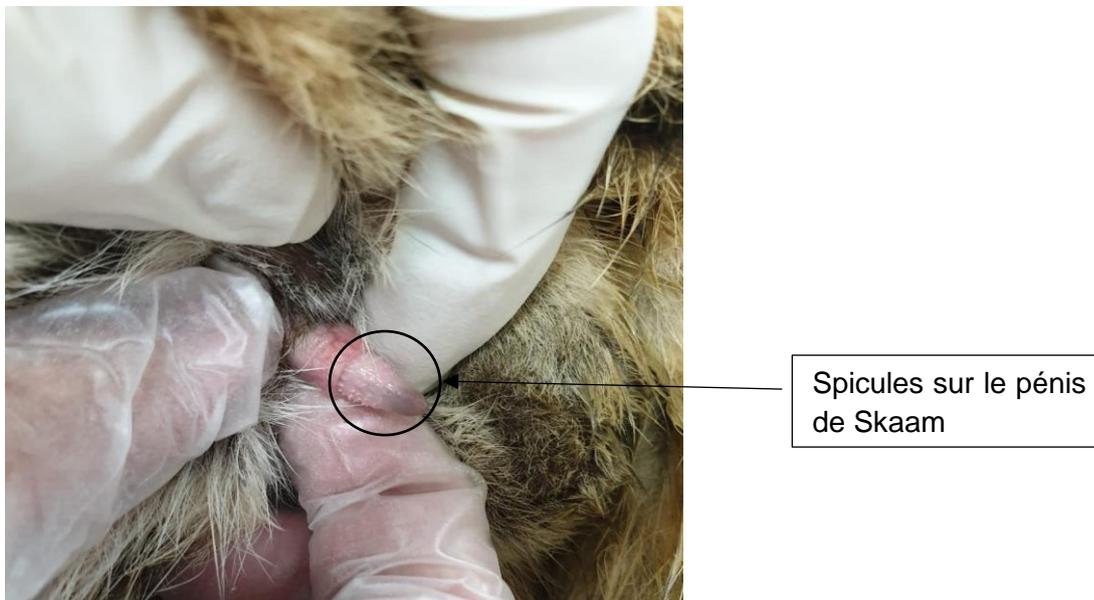
Annexe 5 : Tableau 4: Résultats du bilan biochimique et du dosage de progestérone de Sissi.  
Source : personnelle

	<b>Résultat</b>	<b>Unité</b>
<b>Progestérone</b>	0,761	ng/mL
<b>Urée</b>	0,87	g/L
<b>Créatinine</b>	13	Mg/L
<b>ALAT</b>	77	UI/L
<b>PAL</b>	89	UI/L
<b>Protéines totales sériques</b>	85	g/L
<b>Albumine</b>	36	g/L
<b>Glycémie</b>	1,38	g/L

Annexe 6 : Résultats de l'examen reproductif complet de Skaam, le mâle serval, compagnon de Sissi. Source : personnelle

- Anamnèse et commémoratifs : Skaam est un Serval mâle entier né le 14 mai 2017 au Zoo d'Aachen en Allemagne. Il a été transféré au zoo d'Amiens le 6 février 2018. Excepté des comportements d'agression envers Sissi, il n'a montré que peu d'intérêt pour se reproduire depuis son arrivée. Lors de notre visite le 4 mars 2020, il pesait 12,4 kg.
- Anesthésie : De même que pour Sissi, Skaam a reçu 0.6 mL de médétomidine soit 0.05 mg/kg et 0.4 mL de kétamine soit 3,5 mg/kg. Un relais isoflurane a été mis en place au cours de la procédure qui a duré 1h05 minutes.
- Examen clinique : Skaam présente un bon état général. Les testicules mesurent 1,2 à 1,5 cm à droite et à gauche et leur consistance est normale. Nous avons également pu observer la présence de spicules sur le pénis, visible en Figure 11. En effet, bien que nous n'ayons aucune donnée sur l'anatomie génitale du serval, nous savons que le pénis du chat est court et demeuré dans son orientation embryologique de telle sorte que le corps comme le gland se positionnent en partie caudale. L'ouverture du prépuce se fait ainsi en partie ventrale du scrotum. Chez l'adulte, le gland possède des spicules kératinisés orientés de façon proximale. Lors de la copulation, ces spicules stimulent la muqueuse vaginale, stimulation nécessaire à l'induction de l'ovulation chez les félins (Hudson et Hamilton, 2010).

Figure 11 : Photographie illustrant la présence de spicules sur le pénis de Skaam. Source : personnelle



- Bilan biochimique : De même que pour Sissi, un bilan biochimique a été réalisé afin de voir si Skaam présentait une quelconque atteinte organique à l'origine des difficultés de reproduction observées au sein du couple. Le bilan biochimique est sans anomalie comme nous pouvons l'observer sur le Tableau 2.

Tableau 5 : Résultat du bilan biochimique de Skaam. Source : personnelle

	Résultats	Unité
Urée	0,90	g/L
Créatinine	12	mg/L
ALAT	113	UI/L
PAL	58	UI/L
Protéines totales sériques	79	g/L
Albumine	37	g/L
Glycémie	1,70	g/L

- Electro-éjaculation : C'est cette méthode que nous avons choisi pour récolter le sperme du serval. C'est la méthode la plus utilisée chez les félins sauvages et elle consiste en la stimulation des nerfs innervant les organes reproducteurs par la délivrance d'un courant électrique. Elle requiert une sonde rectale spécifique adaptée à la taille de l'espèce. Cette sonde contient plusieurs électrodes longitudinales orientées en position ventrale et reliées à un générateur ajustable afin de contrôler le degré du stimulus électrique appliqué à l'animal (Fontbonne *et al.*, 2007). La tension et l'intensité appliquées dépendent des protocoles et des espèces rencontrées, variant de un à huit volts et de cinquante à cent milliampères. Le protocole utilisé ici a consisté en 3 séries de 30 stimulations. Avant de débiter la stimulation, le pénis doit être examiné et nettoyé à l'aide d'une solution physiologique. Le sperme est récolté dans des tubes en polystyrène cristal maintenus au bain-marie à 37°C, avec un tube pour chaque fraction spermatique afin d'éviter toute contamination (Paz, 2012). C'est ce qui a été réalisé ici. La lubrification de la sonde avec du gel est importante ; elle permet de maintenir le contact électrique entre le rectum et les électrodes. C'est la première fois que ce genre de manipulation est réalisé sur un serval. Ici nous avons réussi à récolter 20 µL de semence de très bonne qualité. Le spermogramme a révélé 54 % de spermatozoïdes normaux.

# INDUCTION DE L'OESTRUS PAR L'UTILISATION D'IMPLANTS SOUS-CUTANÉS D'AGONISTES DE LA GNRH CHEZ LES FÉLINS DE TAILLE MOYENNE

---

**AUTEUR : Alexine PORRET**

## **RÉSUMÉ :**

Cette thèse cherche une alternative aux protocoles d'induction des chaleurs par les gonadotropines chez les félins de taille moyenne, sans risque d'hyperstimulation ovarienne et sans risque de dérégler la cyclicité des animaux. Cette étude est rendue nécessaire du fait que les protocoles de stimulation ovarienne les plus utilisés actuellement chez les félins sont à base de gonadotropines exogènes. L'inconvénient majeur de ces protocoles est que les doses nécessaires de gonadotropines ainsi que leur longue rémanence dans l'organisme entraînent une sécrétion endogène d'œstrogènes à des taux très élevés ainsi que le développement de follicules secondaires et donc de corps jaunes après la première ovulation, perturbant l'environnement hormonal et produisant des implantations anormales, retardant le développement fœtal. De plus, les études ont montré qu'il fallait que l'ovaire soit en anœstrus ou en période d'inactivité afin que le traitement d'induction de chaleurs ovulantes soit optimal. Nous avons donc décidé de travailler avec des agonistes de la GnRH qui sont devenus les molécules de choix pour le contrôle de la reproduction chez les animaux domestiques au cours de ces dernières années et des progestagènes par voie orale (altrénogest) afin d'inhiber l'activité ovarienne avant l'induction des chaleurs pour être dans les meilleures conditions possibles. L'administration d'agonistes de la GnRH induit en premier lieu une phase de stimulation qui dure quelques jours avec une augmentation importante des concentrations de LH et FSH. Elle a permis d'obtenir d'excellents résultats chez la chatte domestique en termes d'induction des chaleurs et de gestation par la suite. Nous avons alors collaboré avec l'Association Francophone des Vétérinaires de Parc Zoologique afin de pouvoir inclure des félins de taille moyenne à notre étude et avec l'Institut de la Faune Sauvage de Berlin pour la rédaction des protocoles. Parmi les réponses des zoos pour faire participer des félins de taille moyenne à cette étude, nous avons pu travailler avec une femelle Serval chez qui nous avons récolté l'historique de reproduction et réalisé un examen complet avec dosage de progestérone, échographie génitale, endoscopie vaginale et frottis vaginal afin de vérifier l'absence d'anomalie de l'appareil reproducteur avant de l'inclure dans notre protocole. L'examen de la Serval était très satisfaisant et nous allions l'inclure dans notre protocole mais ce projet n'a malheureusement pas pu aboutir complètement en raison de la pandémie de la COVID 19 qui a interrompu nos expériences.

**MOTS CLÉS :** REPRODUCTION ASSISTEE / OESTRUS / INDUCTION HORMONALE / IMPLANT / CYCLE SEXUEL / CONSERVATION DES ESPECES / GONADOTROPINE / DESLORELINE / PROGESTAGENE / CARNIVORE / FELIN / LYNX / SERVAL

## **JURY :**

Président : Pr Philippe GRIMBERT

1<sup>er</sup> Assesseur : Pr Alain FONTBONNE

2<sup>nd</sup> Assesseur : Dr. Pascal ARNÉ

# OESTRUS INDUCTION WITH SUBCUTANEOUS IMPLANTS OF GnRH AGONISTS IN MEDIUM SIZED FELIDS

---

**AUTHOR: Alexine PORRET**

## **SUMMARY:**

This thesis looks for an alternative of estrus induction protocols with gonadotropins on felids by presenting a new protocol aiming to induce a fertile oestrus in medium sized felids, without ovarian hyperstimulation and risks of disrupting the cyclicity of animals. This study is necessary as ovarian stimulation protocols that are the most used nowadays on felids are based on exogenous gonadotropins. The major disadvantage of this protocol is that the gonadotropin dosages and their long time life in the organism cause an elevated secretion of estradiol and an ancillary follicle and corpora lutea development after the first ovulation, disrupting the hormonal environment and impairing oviductal transport of embryos, possibly leading to a reduced fertility. Moreover, studies has shown that for assisted reproduction to be optimized in felids, a 'quiescent' ovary at the time of ovulation induction is required. We have decided to work with GnRH agonists which have become the best molecules for controlling the reproduction on domestic animals during the past few years and oral progestin (altrenogest) to stop the ovarian activity before the oestrus induction so we will be in the best conditions to induce the oestrus. The administration of GnRH agonists first induce a stimulation time during a few day with an increase of the LH and FSH concentrations. GnRH agonists has achieved excellent results in inducing oestrus and gestation in domestic cats. Futhermore, we have decided to collaborate with the AFVPZ so we can include medium sized felids in our study and the Leibniz Institute for Zoo and Wildlife Research for the protocols redaction. Among the zoos' answers to include medium size felids to our study, we have worked with a female Serval and we have collected her reproduction background and realize a vaginal smears, a progesterone dosage, genital ultrasonography and a vaginal endoscopy to check if there are no abnormality on her. The Serval exam was really satisfying and we were going to include it to our study and because of the COVID-19 pandemic, this project could not be completed until the end.

**KEYWORDS:** ASSISTED REPRODUCTION / OESTRUS / HORMONAL INDUCTION / IMPLANT / SEXUAL CYCLE / SPECIES CONSERVATION / GONADOTROPINE / DESLORELINE/ PROGESTAGENES / CARNIVORE / FELID / LYNX / SERVAL

## **JURY:**

Chairperson: Pr Philippe GRIMBERT

1<sup>st</sup> Assessor: Pr Alain FONTBONNE

2<sup>nd</sup> Assessor: Dr Pascal ARNE