

L' Insémination Artificielle chez les félidés



Alain Fontbonne (*DVM, MC, MSc, Dipl.ECAR*)
Xavier Lévy, Emmanuel Fontaine et JY Routier
Reproduction des Carnivores
Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Introduction: les félidés

- Les félidés: une famille disparate, et pourtant homogène:
 - Format: de 1,5 à plus de 300 kg !
 - Présente sur tous les continents
 - Physiologie de la reproduction très semblable entre espèces
- Les félidés une famille animale menacée:
 - 36/37 espèces sont menacées d'extinction
 - Danger direct: commerce illicite, chasse excessive...
 - Modifications des écosystèmes
 - Perte de variabilité génétique
 - Stratégies de sauvegarde:
 - Préservation/restauration de l'habitat:
 - Pas toujours réalisable
 - Reproduction assistée:
 - Idéal dans le cas de population isolées ou très consanguines



SOUS FAMILLE	GENRE	ESPECE Nom latin	ESPECE Nom français	
Acinonychinae	Acinonyx	A jubata	Guepard	
Felinae	Caracal	C. caracal	Caracal	
	Catopuma	C. badia	Chat bai	
	Felis	C. rostrata	C. rostrata	Chat doré d'Asie
		F. bieti	F. bieti	Chat de Biet
		F. catus	F. catus	Chat domestique
		F. chaus	F. chaus	Chat des marais
		F. margarita	F. margarita	Chat des sables
		F. nigripes	F. nigripes	Chat à pieds noirs
		F. sylvestrus (ornata, lybica, sylvestrus)	F. sylvestrus (ornata, lybica, sylvestrus)	Chat sauvage (d'Asie, d'Afrique, européen ou forestier)
		Herpailurus	H. yagouaroundi	Jaguarundi
		Lusopacrus	L. pardalis	Ocelot
		Leptailurus	L. ligata	L. ligata
	L. wiedii		L. wiedii	Marjaj
	L. serval		L. serval	Serval
	Lynx	L. lynx	Lynx	
	Oncifelis	L. canadensis	L. canadensis	Lynx du Canada
		L. pardus	L. pardus	Lynx d'Espagne
		L. rufus	L. rufus	Lynx roux
		O. colocolo	O. colocolo	Chat des porcupes
	Otocoleobus	O. geoffroyi	O. geoffroyi	Chat de Geoffroy
		O. vulgus	O. vulgus	Kodkod
		O. jacobita	O. jacobita	Chat des Andes
		O. manul	O. manul	Chat nain ou Chat de Pallas
	Pantherinae	Panthera	P. bengalensis	Chat léopard de Bergale
	Pardoleobus	P. planiceps	P. planiceps	Chat à tête plate
		P. rubiginosus	P. rubiginosus	Chat rougineux
		P. viverrinus	P. viverrinus	Chat pêcheur
P. onca		P. onca	Chat doré africain ou Chat sauvage africain	
Puma		P. concolor	Puma	
Pantherinae	Neofelis	N. nebulosa	Panthere longibande	
	Panthera	P. leo	Lion	
	Pardoleobus	P. onca	P. onca	Jaguar
		P. pardus	P. pardus	Léopard
		P. tigris	P. tigris	Tigre
Uncia	U. uncia	Chat marbré		
			Léopard des neiges	

1. La reproduction des félinés: considérations générales



Profils hormonaux



■ Etudes réalisées:

■ Chez le chat:

- par prises de sang répétées

■ Chez les félidés sauvages:

- La moitié des 36 espèces seulement ont été étudiées:

- Dosages des hormones stéroïdes dans les fèces (3/4 des cas)
- Dosages des hormones stéroïdes dans l'urine

Activité sexuelle

■ Chez la chatte:

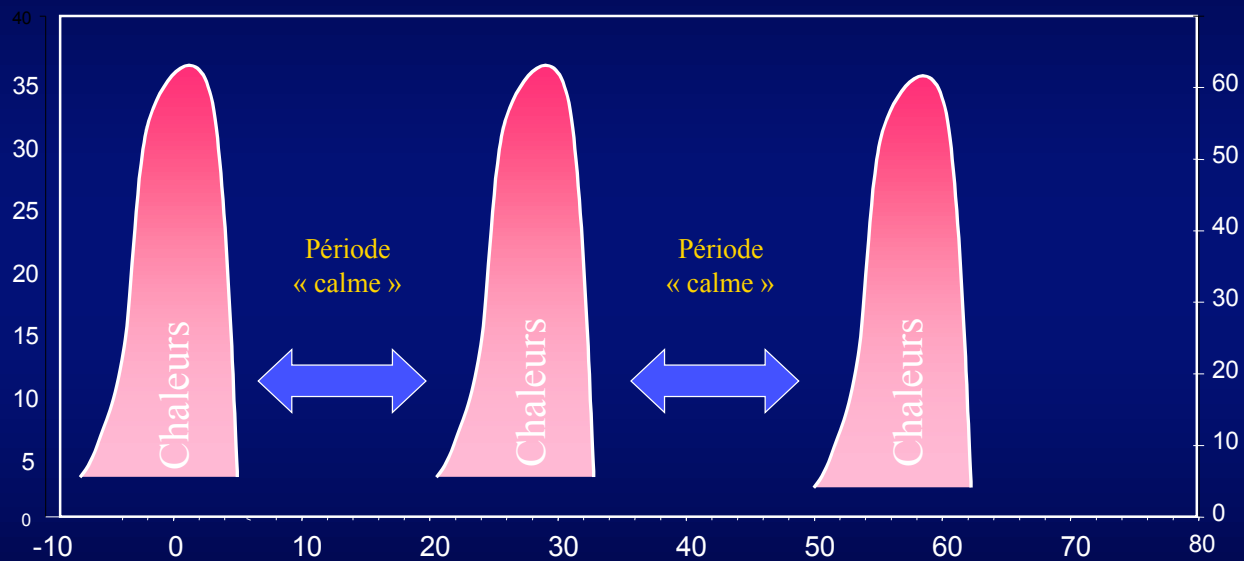
- Fréquence des cycles: très variable suivant la race
- Oestrus : 3 à 7 jours
- Manifestations cliniques:
 - plus nettes dans les races à poil court (siamois...)
 - intensité maximale au 3^{ème} jour



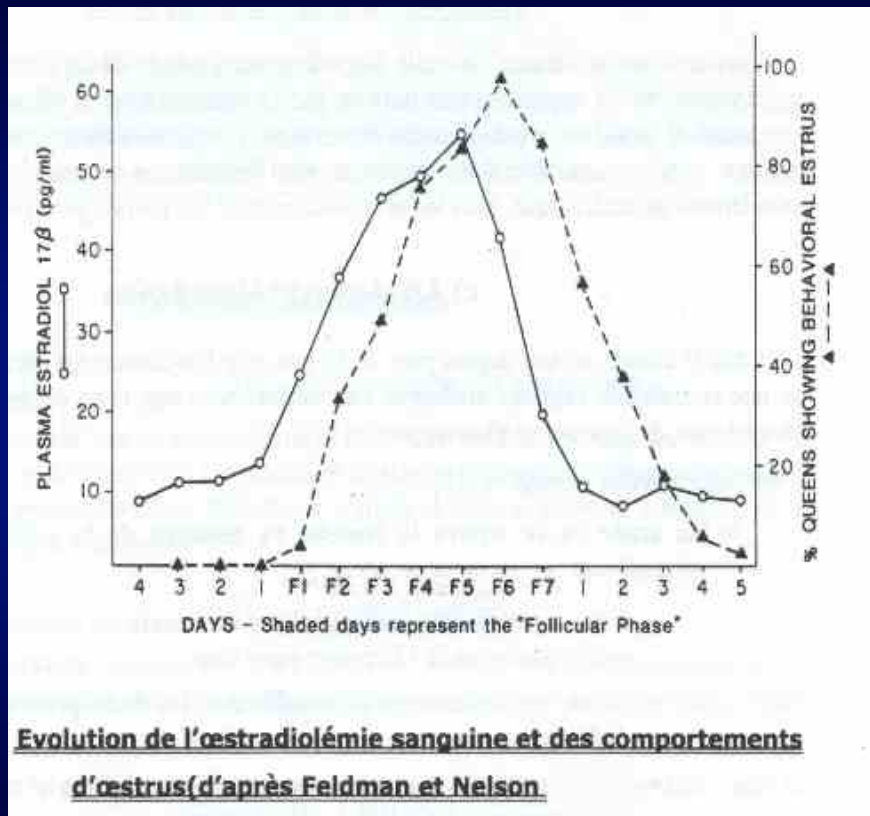
■ Chez les félins sauvages:

- Cycles: environ 2 à 4 semaines
- Oestrus: 3 à 10 jours

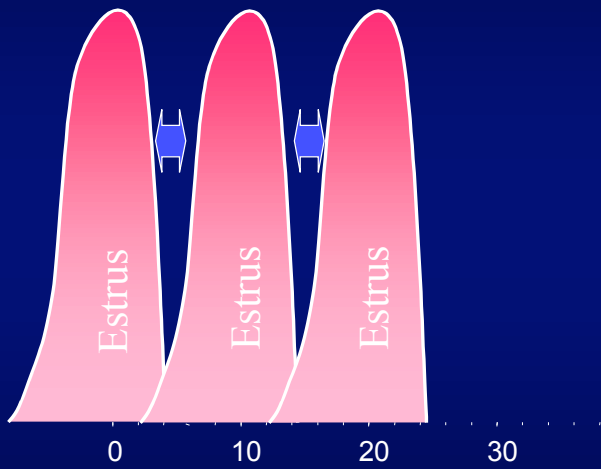
Cas le plus fréquent: cycle sans ovulation



→ *sécrétion d' oestradiol uniquement*



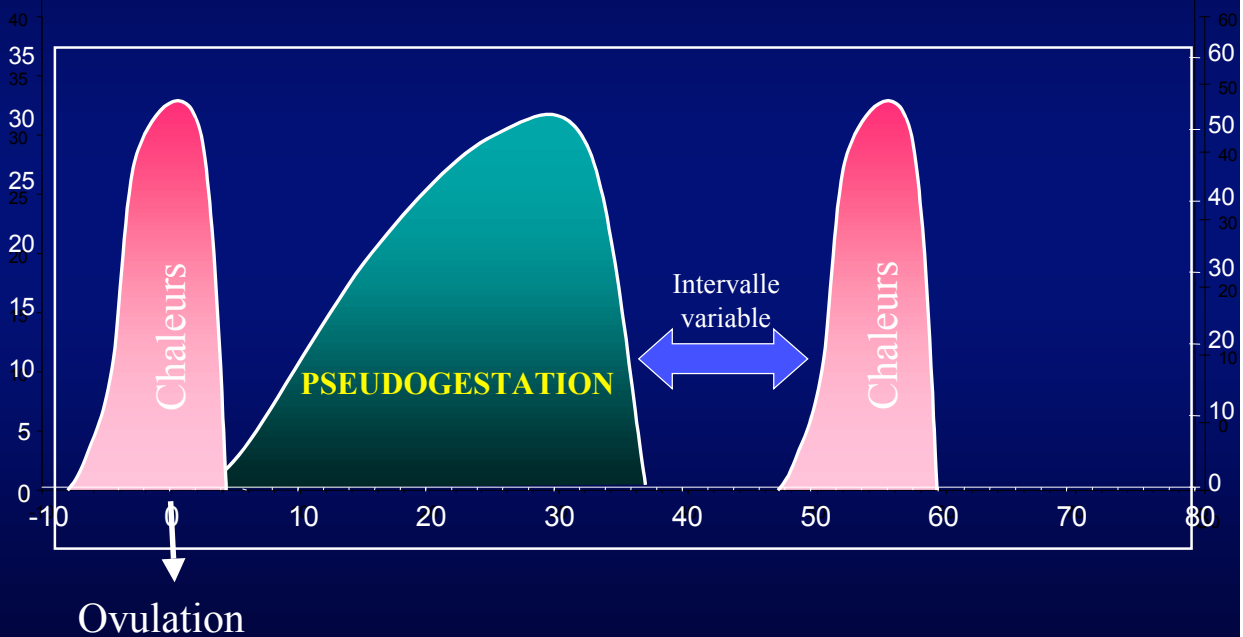
Cas extrême



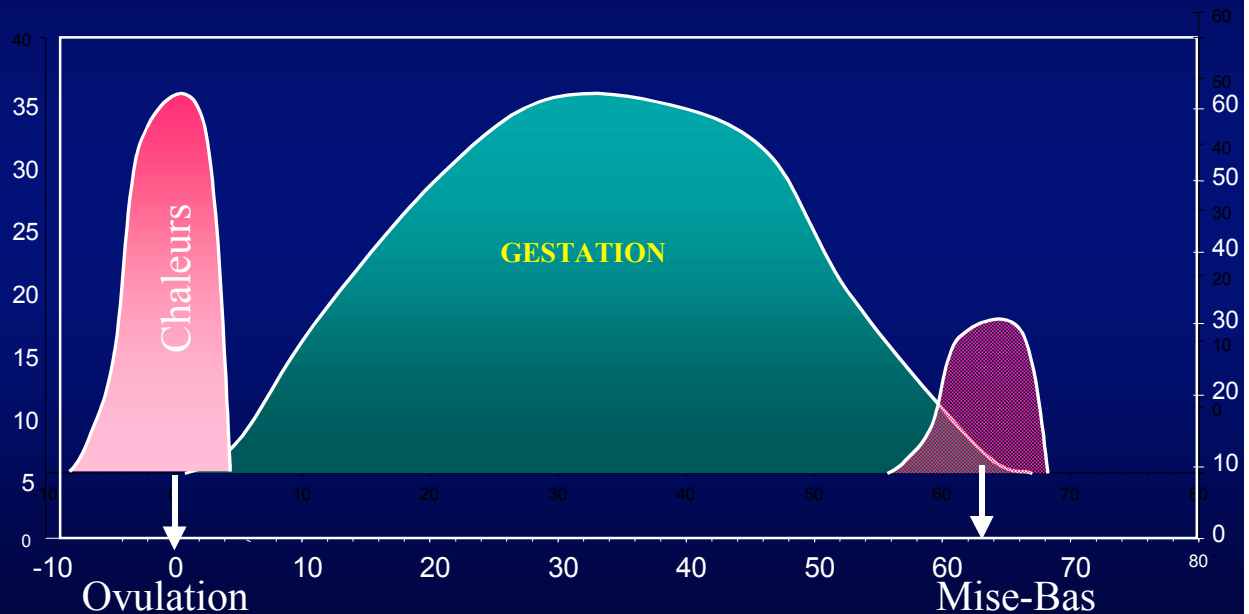
Oestrus
apparemment
persistant

Pseudo-gestation

Progestérone en ng/mL



Gestation



Saisonnalité

- Chat domestique:
 - Anoestrus hivernal
 - Sauf si lumière d'intensité suffisante
 - 12 à 14 heures par jour
 - Rôle de la mélatonine
- Félidés sauvages:
 - Espèces à reproduction saisonnière: tigre, panthère des neiges, chat de Pallas ...
 - Espèces non saisonnières: lion, léopard, puma, guépard, ocelot...

Anoestrus non saisonnier

- Certaines espèces présentent une inactivité ovarienne non liée à la saison
- Rôle de la captivité:
 - USA: 25% des femelles guépard sont en anoestrus permanent (*Brown 2006*)
- Rôle des interactions sociales:
 - Anoestrus induit:
 - Par la présence de congénères: ex: guépard
 - Par l'absence de congénères: ex: ocelot

Déclenchement de l'ovulation

- Chatte domestique:
 - Majorité des cas: ovulation déclenchée par le coït:
 - Rôle de la répétition des coïts
 - Existence d'ovulations « spontanées »
- Félidés sauvages:
 - Ovulations spontanées mises en évidence chez le lion, le léopard et certains chats sauvages
 - Mais pas chez tigre, guépard, ocelot ...



Fertilité

- Chez les femelles: influence de l'âge:
 - Ex: guépard: fertilité quasi nulle passé l'âge de 7 ans :
 - Ovocytes de moins bonne qualité ?
 - Altérations utérines ?
- Chez les mâles:
 - Tératozoospermie fréquente



2. Les indications de l'Insémination Artificielle chez les félidés

Chez le chat domestique

- Accouplement impossible:
 - Faible libido chez les Persans
- Lutte contre les MST
- Echanges géographiques et/ou génétiques
- Mise à la reproduction de chats:
 - Castrés
 - Décédés ou trop âgés
- Cas des lignées de chats consanguines utilisées en recherche



Chez les félidés sauvages

- Permettre le maintien des espèces dans leur milieu naturel
 - cas de petites populations isolées ou très décimées
- Favoriser la diversité génétique
- Permettre d'obtenir des naissances en parcs zoologiques
- Eviter de déplacer les femelles:
 - Diminution des stress et des agressions



3. Induction des chaleurs et de l'ovulation

Utilisation de gonadotropines

- Equine chorionic gonadotropin: eCG
 - Longue persistance dans l'organisme:
 - une seule injection suffit en général pour induire une maturation folliculaire
- Human chorionic gonadotropin: hCG

Species	Average body weight (kg)	Gonadotropin dosage		Time of ovulation after hCG (h)
		eCG (IU)	hCG (IU)	
Domestic cat	2	100	75	25–30
Leopard cat	3	100	75	25–30
Ocelot	9	500	225	~39
Clouded leopard	15	100	75	37–40
Snow leopard	30	600	300	~40
Cheetah	35	200	100	40–42
Tiger	250	1000	750	39–46

Inconvénients des gonadotropines

- Hyperstimulation ovarienne:
 - Développement secondaires de follicules accessoires
 - Rôle de eCG et hCG
 - Troubles du fonctionnement lutéal
- Interactions avec l'activité ovarienne cyclique:
 - Meilleurs résultats si les gonadotropines sont administrées pendant l'anoestrus
 - Intérêt d'un traitement préalable destiné à forcer un repos ovarien:
 - Progestagènes ?
 - Agonistes GnRH ?
- Choix très important de la dose administrée:
 - Ex guépard (*Howard et al. 1997*): 19 femelles
 - 200 UI eCG → naissances
 - 100 UI eCG ou 400 UI eCG → pas de naissances
- Efficacité inconstante:
 - Ex: chez les espèces pouvant ovuler spontanément
 - Existence de follicules non-ovulés
- Les injections répétées sont immunosensibilisantes

Autres approches

- pFSH/pLH:
 - Forte homologie structurale avec la FSH et la LH du tigre
 - Mais... nécessité d'injections répétées
- Agonistes GnRH: desloréline, nafaréline, leuprolide...
- Stimulation mécanique de l'ovulation:
 - Chez la chatte domestique : 5 séries de stimulations à 30 minutes d'intervalle



Influence de l'anesthésie sur l'ovulation

■ Rappel:

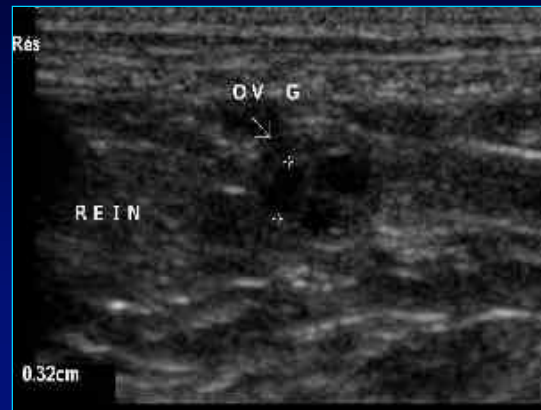
200 UI PMSG ou eCG ———— 80h ———— 100 UI hCG ———— I A

- Ne pas anesthésier pendant la période pré-ovulatoire ?
 - → IA post-ovulatoires
 - Ex: guépard: 43,5 à 48 heures post hCG (Howard et al. 1997)
 - Observations identiques faites chez le puma et le tigre
- Mais théorie controversée:
 - Ex: chat: 56% de réussite lors d'IA pratiquée avant la fin de l'ovulation vs 21% après l'ovulation (Tsutsui et al. 2000)

Choix du moment de déclenchement de l'ovulation

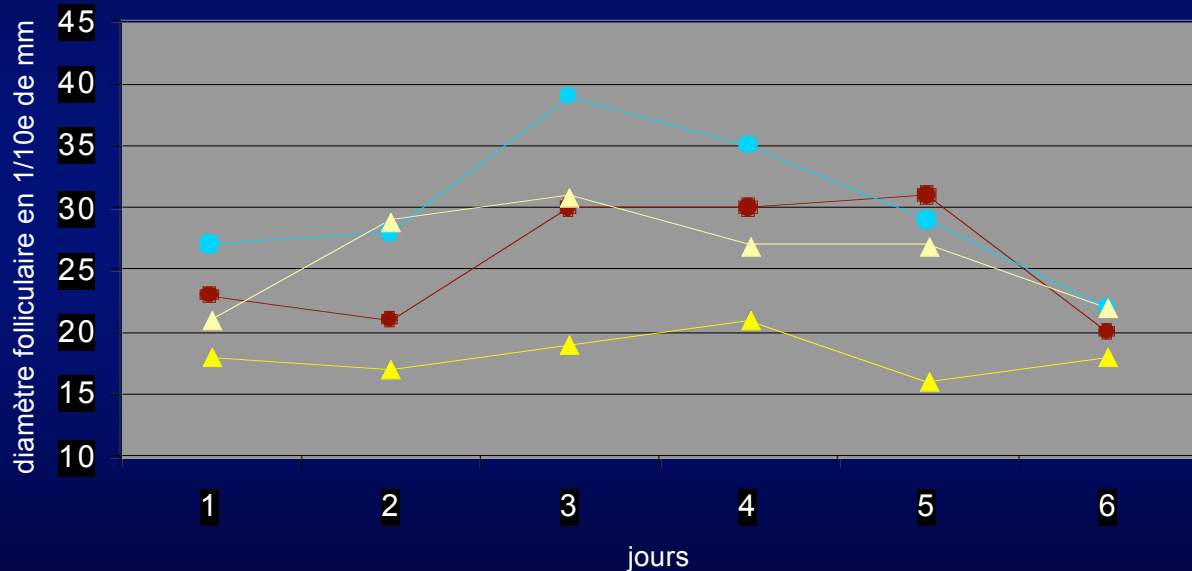
■ Intérêt de l'échographie ovarienne ?

- Chatte domestique:
 - *Malandain et al. 2006* : technique la plus fiable
- Félines sauvages: échographie trans-rectale
 - Mais nécessité d'anesthésier les femelles



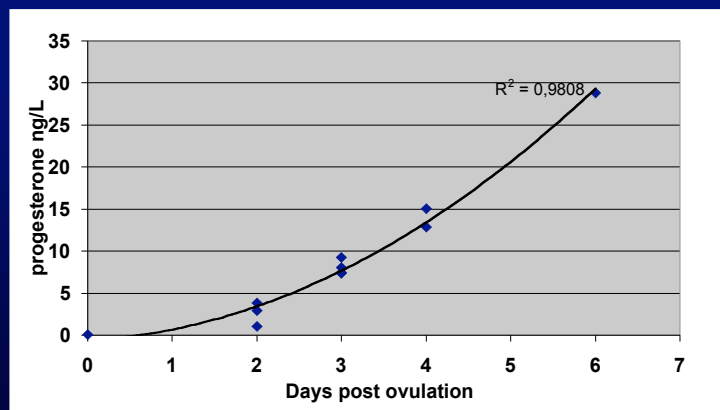
Evolution des follicules de chattes

(Malandain et al. 2006)



Réussite de l'induction de l'ovulation

- Intérêt du dosage de la progestérone:
 - Chatte: dans le sang / Félines sauvages: dans les fèces
 - Mais: élévation différée, post-ovulation



4. Prélèvement et conservation de la semence



4.1. Récolte du sperme

Chez le chat domestique



Vagin Artificiel

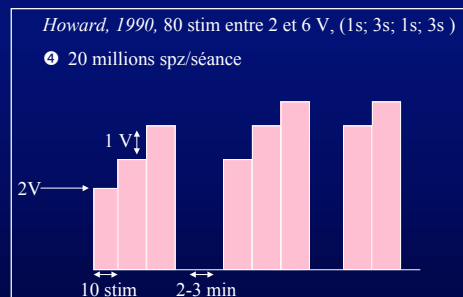
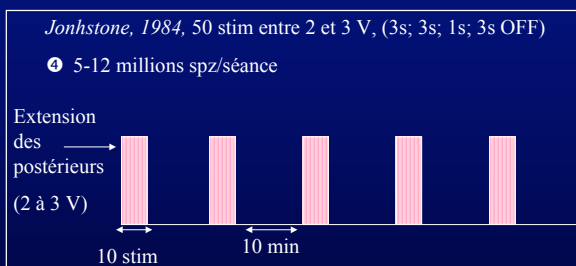
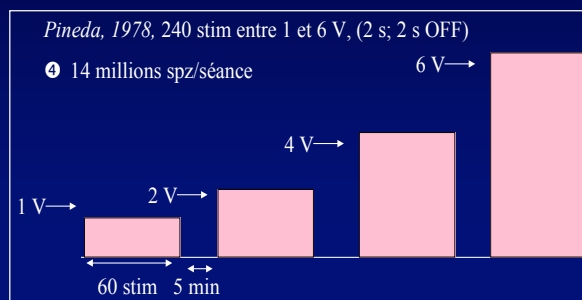
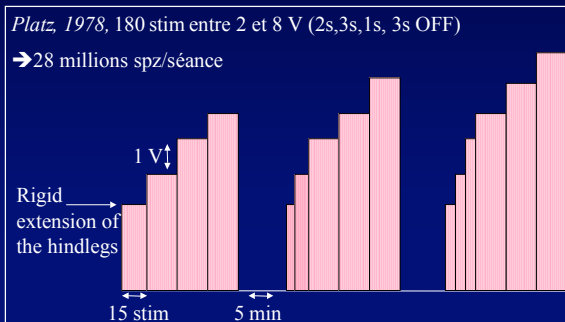


Electro-éjaculation



(matériel P-T Electronics, Boring, Oregon, USA)

Différents protocoles





Qualité et quantité de semence récoltée

	Volume de sperme en mL	Mobilité	Pourcentage d'anomalies	Intégrité des acrosomes	Concentration en millions de spermatozoïdes par mL	Nombre de spermatozoïdes inséminés en millions
Moyenne	0,292	75%	29%	95%	31,667	8,633
Ecart-type	0,079	9,369%	7,468%	4,116%	25,159	7,281
Maximum	0,4	90%	39%	98%	100	30
Minimum	0,1	60%	15%	85%	12	4

Sondage urétral



Comparaison sondage urétral – électro-éjaculation

Cat	Semen Vol. (µl)		pH		IM (%)		FPM		Viability (%)		Norm. Acr. (%)		N. sperm. (10 ⁶ /ml)		Total N. Sperm. (10 ⁶)	
	CT	EE	CT	EE	CT	EE	CT	EE	CT	EE	CT	EE	CT	EE	CT	EE
1	15	55	7.1	7.8	50	60	4	4	80	86	95	96	1260	1900	18.9	104.5
2	15	80	7.1	7.7	40	75	3	4	95	84	94	94	1580	704	23.7	56.3
3	10	100	6.3	8.1	80	55	5	5	86	55	98	83	2700	166	27	16.6
4	2	32	7.9	8.4	70	75	5	5	76	81	88	87	1280	288	2.6	9.2
5	3	30	6.9	7.3	50	50	4	4	55	63	88	97.5	1474	136	4.4	4.1
Mean	9.0 ^a	59.4 ^b	7.1 ^a	7.9 ^b	58.0	63.0	4.2	4.4	78.4	73.8	92.6	91.5	1658.8 ^a	638.8 ^b	15.3	38.1
S.D.	6.3	30.4	0.6	0.4	16.4	11.5	0.8	0.6	14.9	13.9	4.5	6.2	597.3	740.7	11.2	42.4

a vs b P<0.05

Chez les félidés sauvages



Electro-éjaculation

- Protocole CRESAM (lion, guépard):
 - - 1ère série:
 - 10 stimuli à 4 volts, 10 à 5 volts, 10 à 6 volts
 - - 2ème série:
 - 10 stimuli à 5 volts, 10 à 6 volts, 10 à 7 volts
 - - 3ème série:
 - 10 stimuli à 6 volts, 10 à 7 volts.



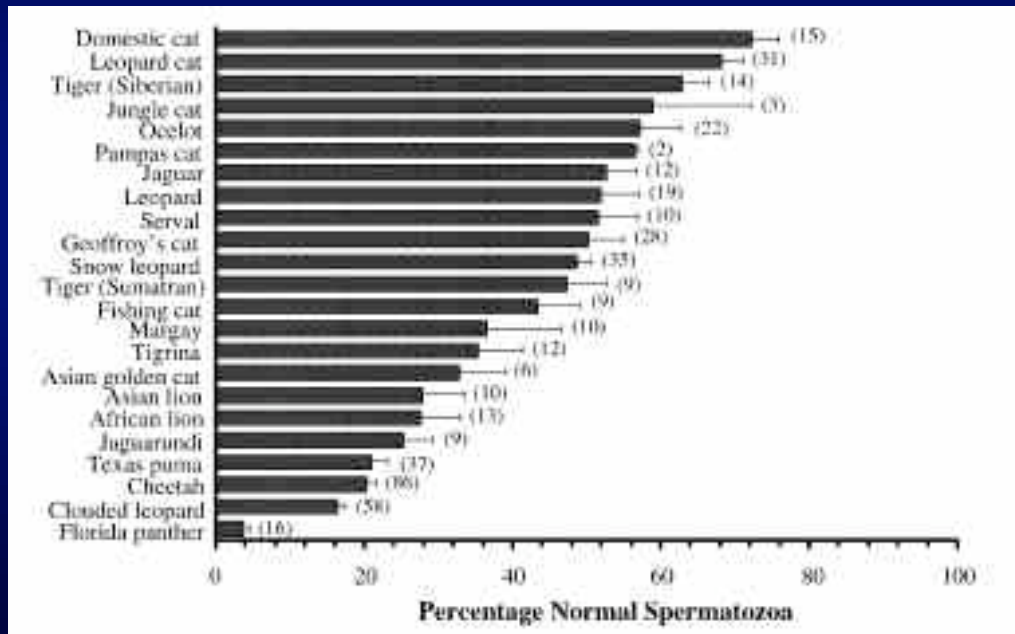
4.2. Conservation de la semence

Conservation de la semence

- Conservation à température ambiante
 - Réfrigération à + 4°C
 - Congélation dans l'azote liquide
 - Sperme éjaculés
 - Sperme épидидymaire
 - Techniques décrites:
 - Chez le chat domestique
 - Chez plusieurs félins sauvages
- difficultés liées à la mauvaise qualité de la semence chez les félins

4.3. La tératospermie chez les félinés

Les félins ont fréquemment une semence tératospermique



La tératospermie chez les félins

- Induit-elle une baisse de la fertilité ?
- Quelle est son origine ?
 - Baisse de la diversité génétique ?
 - Cas des lions asiatiques / panthères de Floride
 - Cas des lignées de chats consanguines
 - Origine hormonale ?
 - Nutrition inadaptée ?
 - Stress ?
- Existe-t-il des mécanismes adaptatifs face à la tératospermie ?
 - Meilleurs rendements de la spermatogenèse et de la spermiogenèse :
 - Diminution de l'apoptose cellulaire après la méiose
 - Chez le chat (*Pukazhenti et al. 2006*):
 - hypertrophie testiculaire et augmentation du volume des tubes séminifères
 - Rôle des coïts répétés lors de l'accouplement ?



5. Les techniques d'insémination artificielle

IA chez les félins

- Chat domestique:
 - Premières études il y a 20 ans
 - Puis... plus rien
 - Reprise d'intérêt après l'an 2000
- Félidés sauvages:
 - Guépard, tigre, puma, ocelot, panthère des neiges, chats sauvages
 - IA jamais tentée chez le lion !
- Rôle du nombre de spermatozoïdes inséminés
- IA réfrigérée jamais réalisée

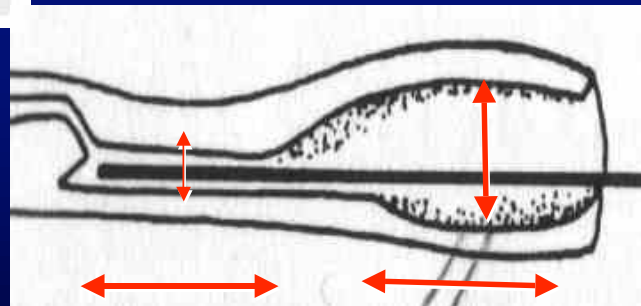
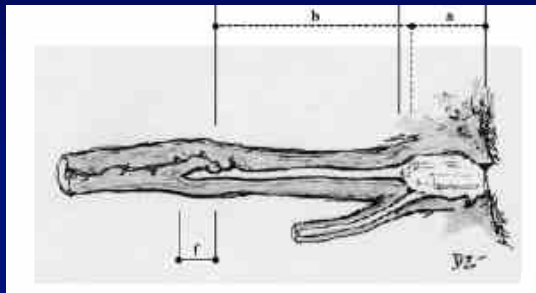


5.1. IA intra-vaginale

Chez le chat domestique



Anatomie du vagin de la chatte



25mm

20 mm



Résultats

- Semence fraîche:
 - *Sojka et al.* 1970: 54% (14/26) avec des doses de 50 à 100 x 10⁶ spermatozoïdes
 - En utilisant des doses plus élevées (80 x 10⁶ spermatozoïdes), *Tanaka et al.* (2000), ont obtenu 78% de gestations (7/9)
 - *Baudon* (2003) a obtenu 4 gestations sur 9 chattes inséminées par voie intra-vaginale, avec seulement 4 à 9 x 10⁶ spermatozoïdes.
- En semence congelée, une seule publication mentionne une réussite de 11% (6/56) après insémination artificielle intra-vaginale (*Platz et al.* 1978).

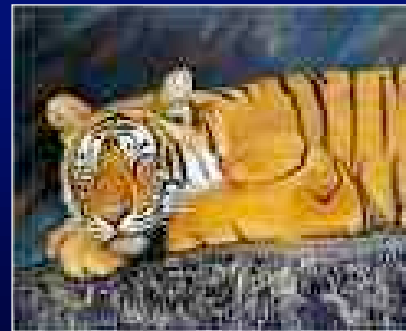


Chez les félidés sauvages



Chez les félidés sauvages

- Des naissances ont été obtenues par IA intravaginale en semence fraîche:
 - chez le léopard de Perse et le tigre
 - en déposant de très fortes doses de spermatozoïdes (500×10^6) (*Chagas et al.* 2000)
- Néanmoins:
 - le rendement des IA intra-vaginales est très mauvais : 23/23 échecs chez le guépard par exemple (*Racine* 2006).



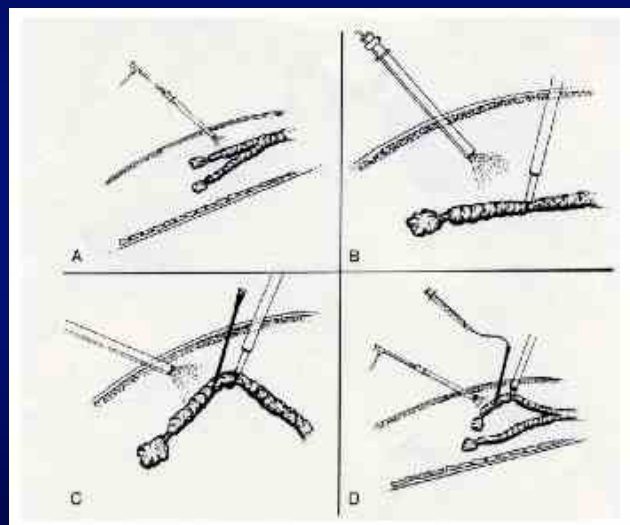
5.2. IA intra-utérine

Chez le chat domestique



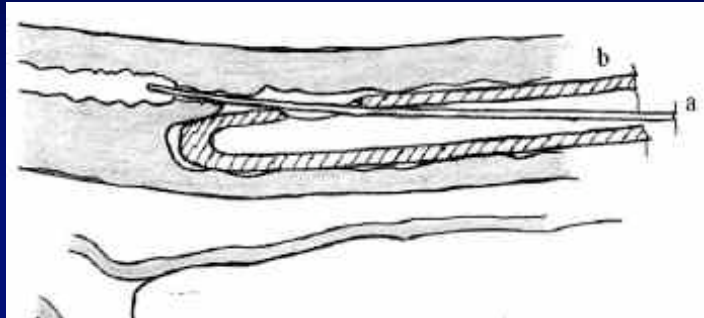
Chat domestique

- IA par laparotomie
- IA par laparoscopie

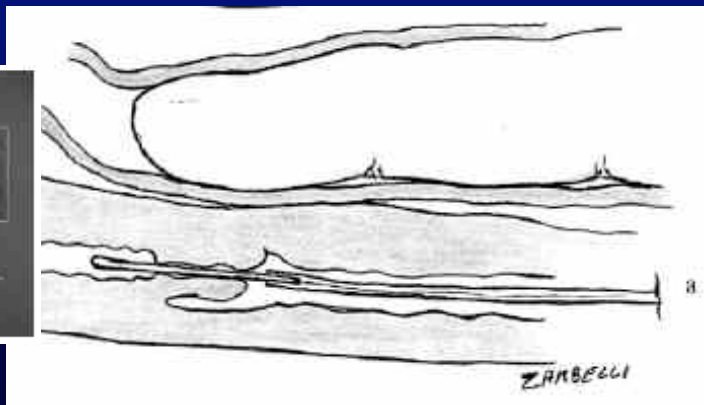


IA intra-utérine par voie transcervicale

Chatdarong et al. 2001



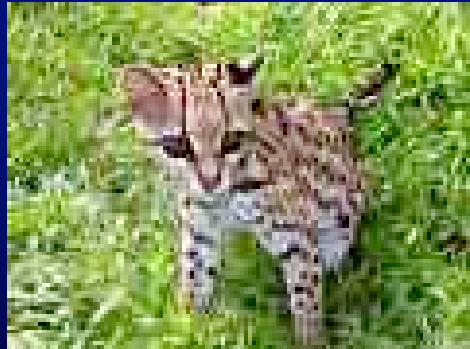
Zambelli et Cunto 2006



Résultats

- L'IA intra-utérine permet:
 - d'utiliser des doses inséminantes 5 à 10 fois moindres que lors d'IA intra-vaginale
- Semence fraîche:
 - Les taux de réussite sont très variables
 - Ils s'échelonnent entre 13 et 80% en inséminant des doses de spermatozoïdes variant entre 2 et presque 20 x 10⁶ spermatozoïdes.
- Semence congelée:
 - *Tsutsui et al. (2000)* ont obtenu des gestations dans 57% des cas (8/14) après dépôt dans une seule corne utérine, correspondant à l'ovaire montrant le plus de follicules, de 50 x 10⁶ spermatozoïdes
 - *Tsutsui et al. (2003)* ont même utilisé avec succès en IA du sperme épидидymaire congelé.
 - *Zambelli et al. (2006)* notent qu'en insémination intra-utérine, il faut en moyenne déposer un nombre de spermatozoïdes 5 fois plus élevé en semence congelée qu'en semence fraîche pour obtenir des résultats similaires.

Chez les félidés sauvages



IA sous laparotomie



IA sous laparoscopie



- IA semence fraîche: naissances chez 8 espèces:
 - Puma
 - Ocelot
 - Guépard
 - Tigre
 - Panthère longibande
 - Chat léopard du Bengale
 - Oncille
 - Panthère des neiges
- IA semence congelée:
 - Ocelot
 - Guépard
 - Léopard

IA sous endoscopie vaginale (CRESAM 2006)



5.3. IA intra-tubaire

5.3. IA intra-tubaire

- *Tsutsui et al. 2001:*
 - Dépôt de 4×10^6 spermatozoïdes dans l'infundibulum
 - 3 gestations sur 7 chattes inséminées



Conclusion

- L'IA est encore peu développée chez les félinés, malgré de nombreuses indications
- Nouvelles techniques d'IA transcervicales moins invasives
- Taux de réussite encore assez faibles:
 - Induction de chaleurs aux gonadotropines inadéquates ?
 - Influence néfaste de la tératospermie ?
- Des études complémentaires sur la physiologie de la reproduction sont à conduire

Merci de votre attention !

