

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

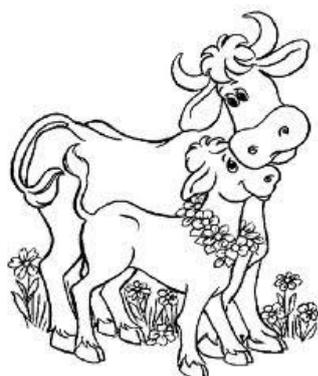
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

Magistère en Reproduction Et Nutrition Des Bovins

Thème

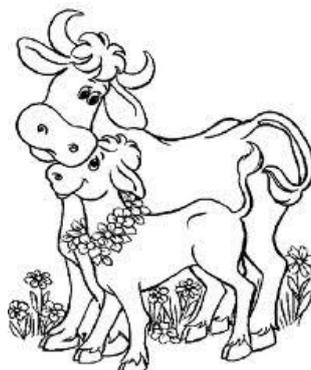
DIAGNOSTIC PRECOCE DE GESTATION ET DU SEXE DU FŒTUS CHEZ LES BOVINS

*En vue de l'obtention du Diplôme de Magistère en
Médecine Vétérinaire*



ADNANE MOUNIR

18 Janvier 2011



Soutenu devant le jury :

Président de jury : Pr. TEMMIM-KESSACI. S (Professeure ENSV)

Promoteur : Pr. KAIDI. R (Professeur. Université de Blida)

Examineur : Pr. LAFRI. M (Professeur. Université de Blida)

Examineur : Dr. KHELEF. Dj (Maitre de Conférences. ENSV)

Examineur : Dr. LAMARA. A (Maitre de Conférences. ENSV)

**DIAGNOSTIC PRECOCE DE
GESTATION ET DU SEXE
DU FŒTUS CHEZ LES
BOVINS**

Remerciement

A Madame TEMMIM-KESSACI Soraya

De l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger

Qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse.

Sincère remerciement.

A Monsieur KAIDI Rachid

Du département des sciences vétérinaires de l'université de Blida

Qu'a encadré mon étude et m'a fait le très grand honneur de juger mon travail.

Pour la confiance et la patience dont vous m'avez fait preuve, ainsi pour votre grande disponibilité, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour votre enseignement et de ma profonde reconnaissance.

A Monsieur KHELEF Djamel

De l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger

Qu'a bien voulu accepter de faire partie de mon jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur LAFRI Mohamed

Du département des sciences vétérinaire de l'université de Blida

Qui m'a fait l'honneur de prendre part à ce jury.

Sincères remerciements.

A Monsieur LAMARA Ali

De l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger

Pour sa participation bienveillante à ce jury

Remerciement respectueux

Merci à tous ceux qui m'ont aidé et soutenu pendant la réalisation de ma thèse, et en particulier les éleveurs de la région de Mitidja, Mr. Khelouf du commissariat à l'énergie nucléaire, Mr et Mme Khlili du centre de la recherche nucléaire, et Dr. Ami de l'université de Blida.

Dédicaces

Merci à ma famille à qui je dois cette réussite professionnelle,

A mes parents

*Pour avoir fait ce que je suis,
Sans votre soutien à tous niveaux, je n'y serais jamais arrivé,*

A maman

*Pour tous tes conseils avisés...
Et pour avoir fourni la matière première*

A papa

*Pour m'avoir donné cette vocation et l'amour de la science.
Ta vie est un modèle*

Ce travail vous est dédié, en témoignage de mon affection

A mes frères et mes sœurs

*Pour avoir contribué à ma réussite,
Pour m'avoir soutenue et avoir cru en moi,*

A tous mes amis

PLAN

Résumé	17
Introduction	20

PREMIÈRE PARTIE PRINCIPES DE L'ÉCHOGRAPHIE

A. BASES PHYSIQUES DE L'ÉCHOGRAPHIE	23
1. Caractéristiques des ultrasons	23
2. Production des ultrasons	24
3. Formation des échos	25
4. Effets subits par le faisceau d'ultrasons	27
5. Conclusion	28
B. CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHOGRAPHE	29
1. Les méthodes échographiques	29
2. Les sondes	31
C. INTERPRÉTATION DES IMAGES	32
1. Les différents types d'images	32
2. Les artéfacts	34

DEUXIÈME PARTIE DIAGNOSTIC DE LA GESTATION

I. CRITÈRE DE QUALITÉ D'UNE MÉTHODE	39
1. Exactitude et fiabilité	39
2. Précocité	41
3. Autres critères	41
II. MÉTHODES CLINIQUES	41
A. PALPATION TRANSRECTALE DE L'UTÉRUS	41
1. Diagnostic de gestation entre 1 et 2 mois	42
2. Diagnostic de gestation à 3 mois	44
3. Diagnostic de gestation à 4 mois	46
4. Diagnostic de gestation entre 5-7 mois	47
5. Diagnostic de gestation à 7-9 mois	47
6. Exactitude et fiabilité	48

7. Commodité	49
8. Innocuité	49

B. SUCCUSSION ABDOMINALE	50
---------------------------------	-----------

C. ÉCHOGRAPHIE (ULTRASONOGRAPHIE)	50
--	-----------

1. Mise en place de l'examen échographique	50
2. Suivi de la gestation	52
3. Intérêts et limites de l'échographie	56
4. Exactitude des résultats	60
III. MÉTHODES DE LABORATOIRE	61

A. DOSAGE DE LA PROGESTÉRONE	61
-------------------------------------	-----------

1. Rappel sur la variation de la concentration de progestérone au cours du cycle œstrale et au cours de la gestation	61
2. Principe des dosages de la progestérone	62
3. Les tests utilisés et leur mise en œuvre	64
4. Date optimale pour réaliser le test	66
5. Exactitude des résultats	68

B. DOSAGE DU SULFATE D'ŒSTRONE	72
---------------------------------------	-----------

1. Rôle du sulfate d'œstrone	72
2. Principe de dosage	73
3. Mise en évidence du test	73
4. Exactitude et fiabilité	74

C. DOSAGE DES PROTÉINES SPÉCIFIQUES DE LA GESTATION	74
--	-----------

1. Dosage de la PSPB	75
2. Dosage de la PSP60	79
3. Dosage de la bPAG	80

TROISIÈME PARTIE DIAGNOSTIC DU SEXE ET DE L'ÂGE

A. DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES ORGANES GÉNITAUX	83
---	-----------

1. Organes génitaux internes	83
2. Organes génitaux externes	83

B. ESTIMATION DE L'ÂGE DU FŒTUS	86
--	-----------

C. SUIVI ÉCHOGRAPHIQUE DE FŒTUS BOVINS EN DÉBUT DE GESTATION	87
1. Stade indifférencie	87
2. Stade différencie	89

QUATRIEME PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes	98
I.1. Matériel biologique (animaux)	98
I.1.1. ETUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION	98
I.1.2. ETUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE	98
I.2. Matériel non biologique	98
I.3. Protocole	99
I.3.1. ETUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION	99
I.3.1.1. Dosage de la progestérone	99
I.3.1.1.1. Principe de dosage	100
I.3.1.1.2. Mode opératoire	102
I.3.1.1.3. Interprétation	103
I.3.1.2. Échographie	104
I.3.1.3. Palpation transrectale	105
I.3.2. ETUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE	107
I.4. Analyse statistique	107
II. Résultats	109
II.1. ETUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION	109
II.1.1. Résultats du dosage de la progestérone plasmatique	109
II.1.2. Résultats de l'examen échographique	111
II.1.3. Résultats de la palpation transrectale	119
II.2. ETUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE	123
III. Discussion	128
III.1. ETUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION	128
III.1.1. Fiabilité, exactitude et précocité	128
III.1.1.1. Progestérone	128
III.1.1.2. Echographie	130
III.1.1.3. Palpation transrectale	132
III.1.2. Commodité	133
III.1.2.1. Dosage de la progestérone plasmatique à 23JAI	133
III.1.2.2. Echographie à 45-50 JAI	133

III.1.2.3. Palpation transrectale entre 60-90 JAI	134
III.1.3. Innocuité	134
III.1.3.1. Dosage de la progestérone plasmatique à 23JAI	134
III.1.3.2. Echographie à 45-50 JAI	134
III.1.3.3. Palpation transrectale entre 60-90 JAI	134
III.1.4. Conclusion	135
III.2. ETUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE	136
III.2.1. Intérêts du sexage précoce	136
III.2.2. Conditions optimales de réalisation du sexage	136
III.2.3. Taux de réussite	137
III.2.4. Taux d'exactitude	137
III.2.5. Influence du sexe du fœtus	137
III.2.6. Difficultés du sexage précoce	137
III.2.7. Conclusion	137
IV. Conclusion générale	139
V. Perspectives	140

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Tableaux

Tableau 1 : vitesse du son dans les différents tissus (ROYNON E et al., 1979)	23
Tableau 2 : Impédance acoustique de différents milieux (CHETBOUL V et al., 1999)	27
Tableau 3 : Le coefficient d'absorption à 1 MHz (CARNIEL P, 1987)	28
Tableau 4 : Profondeur limite de l'examen échographique (CARNIEL P, 1987)	28
Tableau 5 : Tissus et substances organiques classées par ordre d'augmentation de leur échogénicité (NYLANDT.J et MATTON J, 1995)	34
Tableau 6 : détermination du stade de la gestation en fonction de la taille de la vésicule amniotique (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983)	44
Tableau 7 : le jour de la première détection du conceptus chez la vache à l'aide de l'échographie (CURRAN et al., 1986)	57
Tableau 8: Durée des chaleurs dans l'espèce bovine (BONNES G et al., 1988)	61
Tableau 9 : dosage de la progestérone dans le sang (GARNIER F, 1985)	68
Tableau 10 : dosage de la progestérone dans le lait (GARNIER F, 1985)	68
Tableau 11: comparaison entre différentes études des exactitudes et fiabilités du dosage de la PSPB	78
Tableau 12 : un résumé de méthodes de diagnostic de gestation déjà détaillées dans ce chapitre (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	81
Tableau 13 : Devenir embryologique des différents éléments de l'appareil génital externe chez les bovins	86
Tableau 14 : Estimation de l'âge du fœtus (cm) au début de la gestation	87
Tableau 15 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde	110
Tableau 16 : concentration (moyenne, écart-type, rang, n) de la progestéronémie (nmol/ml) chez les vaches gestantes et non gestantes (selon les résultats de l'examen échographique à 90 JAI)	111
Tableau 17 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par échographie transrectale réalisé entre 45-50 JAI, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde	112

Tableau 18 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par palpation transrectale, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde	120
Tableau 19: résultats du diagnostic de gestation par palpation transrectale	121
tableau 20 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang, échographie et palpation transrectale, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde	123
Tableau 21: résultats du diagnostic du sexe par échographie (5Mhz) chez les bovins	123
Tableau 22 : la répartition des cas du sexe non déterminés en fonction de l'âge de la vache et du fœtus	123
Tableau 23: Diagnostic du sexe du fœtus bovin par échographie entre 50 et 69 jours (fiabilité déterminée par examen échographique entre 70-95 JAI)	127

Figures	
---------	--

Figure 1 : effet piézo-électrique direct (TAINTURIER. B, 2001)	24
Figure2 : effet piézo-électrique inverse (TAINTURIER. B, 2001)	24
Figure 3 : représentation du faisceau ultrasonore (MORETTI J.L, 1982)	25
Figure 4 : réflexion spéculaire et réfraction (LEGRAND J.J et CARLIER B., 1981)	26
Figure 5 : réflexion spéculaire et réfraction (ROYNON E et al., 1976)	26
Figure 6 : analyse des échos en mode A (JUILLIEN C, 2003)	29
Figure 7 : analyse des échos en mode B (a : simple ; b : avec balayage) (JUILLIEN C, 2003)	30
Figure 8 : analyse des échos en mode TM (JUILLIEN C, 2003)	30
Figure 9 : Types de sondes (A = sectorielle and B = linéaire) DesCôteaux et al., 2006	31
Figure 10 : formation des images canalaires (LORIOT N et al., 1995)	32
Figure 11 : artéfact de réverbération (TAINTURIER B, 2001)	34
Figure 12 : Artéfact en miroir produit par la tête d'un fœtus âgé de 67 jours (TAINTURIER B, 2001)	35
Figure 13 : cône d'ombre produit par le squelette d'un fœtus âgé de 97 jours (TAINTURIER B, 2001)	35
Figure 14 : renforcement postérieur des échos produit par une vésicule embryonnaire de jument	36
Figure 15 : vésicule embryonnaire de jument (14 jours de gestation) produisant des échos spéculaires aux pôles dorsal et ventral (TAINTURIER B, 2001)	37
Figure 16 : image due à la réflexion spéculaire (GINTHERO.J, 1986)	37
Figure 17 : examen du tractus génital par la voie transrectale pour le diagnostic de gestation (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002)	42
Figure 18 : absence de l'asymétrie utérine (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002)	43
Figure 19 : mise en évidence de l'asymétrie utérine ; 60 ^e jour de gestation (ROYAL L et al., 1981)	43
Figure 20 : utérus bovin à 10 semaines de gestation (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002)	45
Figure 21 : détection de gestation par palpation rectale (ARTHUR at al., 1982)	46
Figure 22 : palpation transrectale du fœtus vers la fin de gestation (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002)	47
Figure 23. Image échographique d'une vésicule embryonnaire chez une vache; le 17 ^e jour après insémination (Ginther O.J et Pierson R.A, 1987)	53
Figure 24 : Image échographique d'une vésicule embryonnaire chez une vache; le 23 ^e jour après insémination (Ginther O.J et Pierson R.A, 1987)	53

Figure 25 : Image échographique d'une vésicule embryonnaire chez une vache; le 25 ^e jour après insémination (Lamb GC, 2001)	54
Figure 26. Images échographiques d'un embryon chez une vache; le 30 ^e jour après insémination (Ginther O.J et Pierson R.A, 1987 ; Lamb GC, 2001)	54
Figure 27 : Image échographique d'un fœtus chez une vache; le 31 ^e jour après insémination (flèche noire) entouré du liquide amniotique (flèche blanche) (KASTELLIC et al., 1988)	54
Figure 28. Images échographiques d'un fœtus chez une vache; le 35 ^e et le 36 ^e jour après insémination (Ginther O.J et Pierson R.A, 1987 ; Lamb GC, 2001)	55
Figure 29 : image échographique d'un fœtus chez une vache; le 41 ^e jour après insémination (Boyd, J.S, 1991)	55
Figure 30 : fœtus dans le sac amniotique, environ le 42 ^e jour après insémination (Lamb GC, 2001 ; DesCôteaux et al., 2006)	55
Figure 31 : image échographique d'un fœtus chez une vache; le 44 ^e jour après insémination (Boyd, J.S, 1991)	56
Figure 32. Images échographiques d'un fœtus chez une vache; le 48 ^e et le 50 ^e jour après insémination (Ginther O.J et Pierson R.A, 1987 ; Lamb GC, 2001)	56
Figures 33 : Figure 33 : Dans l'image (a) : deux vésicules embryonnaires (en noir) à J15. Dans l'image (b) : deux embryons à J37 après insémination (WOLFGANG K, 2004)	59
Figure 34 : diagnostic précoce de gestation par dosage de progestérone (période de prélèvement par rapport au cycle œstral)	63
Figure 35 : La concentration de la progestérone dans le lait avant et après première insémination (jour 0) après vêlage chez les vaches dont l'insémination a été fécondante(●) ou non fécondante (○). Chaque point est la moyenne de 40 observations (BULMAN et LAMMING, 1978)	65
Figure 36 : principe du dosage de la progestérone par méthode ELISA (Groves et al., 1990)	67
Figure 37: représentation schématique du faux positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	70
Figure 38: représentation schématique du vrai positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	70
Figure 39: Représentation schématique du vrai positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez la vache qui avait perdu son embryon après le 1 ^{er} dosage (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	70
Figure 40: Représentation schématique du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, dans le cas où le 2 ^e dosage ne peut pas mettre en évidence la mortalité embryonnaire (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	71

Figure 41: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	71
Figure 42: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez une vache avec inactivité ovarienne ou kystes folliculaires (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	71
Figure 43: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez une vache avec kystes folliculaires lutéinisés (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004)	72
Figure 44: évolution de la concentration de sulfate d'œstrone dans le lait (HOLDSWORTH R.J et al., 1982)	73
Figure 45 : concentration (+erreur standard) de la PSPB dans le sérum de 5 vaches laitière depuis la fécondation et jusqu'à 21 jours après insémination (SASSER R.G et al., 1986)	76
Figure 46 : concentration de PSPB dans le sérum et dans le plasma de vaches allaitantes au cours du post partum (HUMBLOT et al, 1990)	76
Figure 47: concentrations plasmatiques de PSPB dans l'espèce bovine (HUMBLOT P et al., 1988b)	77
Figure 48 : concentrations plasmatiques de PSP60 dans l'espèce bovine ; durant la gestation jusqu'après la mise-bas (MIALON M.M et al., 1993)	80
Figure 49: Organes génitaux externes au stade indifférencié (4 semaines) (LANGMAN J et SADLER T.W, 1996)	84
Figure50 : Organes génitaux externes au stade indifférencié (6 semaines) (LANGMAN J et SADLER T.W, 1996)	84
Figure51 : migration du tubercule génitale en direction du cordon ombilical chez le fœtus male (TAINTURIER B, 2001)	85
Figure 52: migration du tubercule génitale en direction de la queue chez le fœtus femelle (TAINTURIER B, 2001)	86
Figure 53: Schématisation de la croissance de la vésicule embryonnaire (Barone 1990)	88
Figure 54 : Développement des organes génitaux externes : différenciation chez des fœtus de l'espèce bovine (Barone 1978)	89
Figure55 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 55 jours (TAINTURIER B, 2001)	90
Figure 56: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 58 jours (TAINTURIER B, 2001)	90
Figure57 : coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 52 jours (TAINTURIER B, 2001)	91
Figure 58: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 58 jours (TAINTURIER B, 2001)	91
Figure 59: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 61 jours (TAINTURIER B, 2001)	91

Figure60: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 63 jours (TAINTURIER B, 2001)	92
Figure61 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 65 jours (TAINTURIER B, 2001)	92
Figure 62: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 70 jours (TAINTURIER B, 2001)	93
Figure 63: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 69 jours (TAINTURIER B, 2001)	93
Figure 64: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 78 jours (TAINTURIER B, 2001)	94
Figure 65: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 78 jours (TAINTURIER B, 2001)	94
Figure 66 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 82 jours (TAINTURIER B, 2001)	95
Figure 67 : coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 80 jours (TAINTURIER B, 2001)	95
Figure 68: principe de la technique RIA (www.immunotech.cz)	101
Figure 69: Tubes revêtus d'anticorps	102
Figure 70: Dans chaque tube on rajoute 500µl du traceur progestérone marquée à 125I	103
Figure 71 : La courbe standard	104
Figure 72 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction de leur concentration de progestérone plasmatique à J23	109
Figure 73 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction des résultats de l'examen échographique à 45-50 JAI et à 90 JAI	111
Figure 74 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction des résultats de la palpation transrectale à 60-90 JAI	119
Figure 75: représentation graphiques des différents résultats des 3 méthodes de diagnostic de gestation	122
Figure 76: Diagnostic du sexe du fœtus bovin par échographie entre 50 et 69 jours (fiabilité déterminée par examen échographique entre 70-95 JAI)	127
Figure 77. Mortalité embryonnaire chez des vaches laitières de race Holstein (adapté à partir Vasconcelos et al., 1997)	131

Images :

Image 1 : l'échographe utilisé dans notre étude expérimentale (CHISON 600VET®)	98
Image 2 : technique du prélèvement sanguin au niveau de la veine coccygienne	99
Image 3 : le système vacutainer (tubes sous vides) utilisé pour le prélèvement sanguin	99
Image 4 : centrifugeuse réglée à 3000 tours par minute pendant 20 minutes	99
Image 5: aspiration du plasma dans des eppendofrs à l'aide de pipette de pasteur	99
Image 6 : compteur des rayons gamma (lecteur RIA)	100
Image 7 : L'échographe est placé 1 mètre loin du manipulateur	106
Image 8: vésicule embryonnaire (liquide anéchogène)	106
Image 9 : tache échogène (embryon) au sein des liquides embryonnaires (anéchogène)	106
Image 10 : palpation transrectale pour évaluer la position de l'appareil génital	106
Image 11: Cotylédons à 54 jours de gestation	113
Image 12: cordon ombilical à 58 jours de gestation	113
Image 13: corps du fœtus à 64 jours de gestation	113
Image 14: cage thoracique du fœtus à 58 jours de gestation	114
Image 15: tête d'un fœtus à 68 jours de gestation	114
Image 16 :Gestation gémellaire (2 vésicules embryonnaires échogènes) à 31 jours de gestation	114
Image 17: Petits follicules en croissance	116
Image 18 : Corps jaune massif en régression et follicule en croissance (diœstrus)	116
Image 19 : Cornes utérines fermées (en dehors de l'œstrus)	116
Image 20 : Cornes utérines avec du liquide œstral (œstrus)	117
Image 21 : corps jaune cavitaire de 31,6mm de diamètre externe et de 9,8mm de diamètre interne	117
Image 22 : kyste folliculaire lutéinisé de 29,2mm de diamètre interne	117
Image 23 : kyste folliculaire de 35,6mm de diamètre interne	118
Image 24 : Pyromètre (lumière utérine avec des flocons de pus)	118
Image 25 : Mortalité embryonnaire tardive (résorption de la vésicule embryonnaire)	118
Image 26 : tumeur ovarienne de plus de 10cm	119

Image 27 : fœtus à un stade indifférencié de 48 jours	124
Image 28 : fœtus male de 54 jours	124
Image 29 : fœtus male de 56 jours	124
Image 30 : fœtus male de 57 jours	125
Image 31 : fœtus male de 95 jours	125
Image 32 : fœtus femelle de 56 jours	125
Image 33 : fœtus femelle de 75 jours	126
Image 34 : fœtus femelle de 80 jours	126

Abréviations :

Ac : anticorps

Ag : antigène

Ag* : antigène radioactif

bPAG : bovine Pregnancy Associated Glycoprotein

bPSPB : bovine Pregnancy Specific Protein B

CJ : corps jaune

CMV : complexe minéralo-vitaminiques

Cpm : count per million

ELISA: Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay

I¹²⁵ : iode 125

JAI : jour après insémination

K Da: kilo-Dalton

Mhz : megahertz

Mm: millimètre

ng/ml : nano-gramme par millilitre

P4 : progestérone

pq/ml: picogramme/millilitre

PSP60 : pregnancy serum protein ok 60 kilo-Dalton

RIA : radio-immuno-assay

Résumé :

Nous avons réalisés deux études expérimentales au niveau de la région de Mitidja (wilaya de Blida) entre septembre 2009 et juillet 2010. Une étude consacrée au diagnostic précoce de gestation et une autre étude consacrée au diagnostic précoce du sexe du fœtus ;

- Étude 1 : consiste à diagnostiquer la gestation chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde. Chaque vache est diagnostiquée par dosage de la progestérone plasmatique par méthode RIA à J23 suivi par un examen échographique (sonde linéaire de 5MHz) à J45-50 suivi par palpation transrectale à J60-90 et puis un examen échographique à J90. Au cours de cette étude nous avons utilisé aussi l'échographie pour la détection de la cyclicité de la vache et les éventuelles pathologies gynécologiques.
- Étude 2 : consiste à diagnostiquer le sexe du fœtus chez 80 vaches laitière, de races Prim'Holstein et Montbéliarde, à 3 dates différentes, le premier examen (T1) entre 50 et 69 jours après insémination (JAI), pour la détermination précoce du sexe du fœtus. Le deuxième examen (T2) entre 70 et 95 JAI, pour la confirmation du sexage précoce du fœtus et la mise en évidence d'une éventuelle mortalité embryonnaire. Le troisième examen (T3) entre 115 et 140 JAI, pour la confirmation définitive du sexe et de la viabilité du fœtus.

À travers cette étude, il a été montré que le diagnostic de gestation par palpation transrectale est considéré comme un moyen très simple à mettre en œuvre, et avec une bonne exactitude totale (95,5%) par rapport au dosage de la progestérone (68,5%). La pogestéronémie est par contre un bon indicateur de l'activité ovarienne et de non gestation. Le diagnostic de gestation par dosage de la progestérone plasmatique, du point de vue économique, n'est pas du tout rentable. En revanche, le diagnostic de gestation par échographie est intéressant à mettre en œuvre s'il est précoce (après le 40^{ème} JAI) car il présente plusieurs avantages : suivi de la cyclicité de la vache (follicules, corps jaune, involution utérine), un diagnostic précoce de gestation (97,8% d'exactitude totale), une visualisation du conceptus (viabilité), détermination du sexe du fœtus et une détection efficace des problèmes gynécologiques (métrite, mortalité embryonnaire, structures kystiques).

Notre étude a permis de définir un taux de réussite de 85% et un taux d'exactitude de 90 % pour le diagnostic précoce du sexe, et un taux de réussite du sexage tardif supérieur à 96% chez l'ensemble des vaches et atteint 100% chez les génisses. Le sexe du fœtus n'influence pas l'exactitude du sexage précoce chez la vache laitière. Le taux d'exactitude pour le fœtus male était de 90% alors qu'il était de 89% pour le fœtus femelle. Le taux de mortalité embryonnaire enregistré entre le 50^e et le 95^e jour de gestation était de 0%.

Mots clés : diagnostic, gestation, sexe, palpation transrectale, échographie, progestérone, bovins.

Summary:

We carried out two experimental studies at the Mitidja region (Wilaya of Blida) between September 2009 and July 2010. A study on early pregnancy diagnosis and another study on the early fetal sex determination;

- Study 1: for the pregnancy diagnosis of 89 dairy cows. Each cow was diagnosed by plasma progesterone determination using RIA method at D23 (day) followed by uterus ultrasonography exploration (using 5MHz linear probe) at D45-50 followed by transrectal palpation at D60-90 and finally ultrasonographic examination at D90. In this study we used also the ultrasound for detecting the cyclicity of the cows and any gynecological problems.
- Study 2: for fetal sex determination in 80 dairy cows at three different times, the first examination (T1) between 50 and 69 days after insemination (DAI), for early fetal sex determination. The second examination (T2) between 70 and 95 DAI, for confirmation of early fetal sex determination and also for detecting eventual embryonic mortality. The third examination (T3) between 115 and 140 DAI, for the final confirmation of sex and viability of the fetus.

Through this study, it was shown that pregnancy diagnosis by transrectal palpation is considered a very simple method to implement, and with good overall accuracy (95.5%) compared to plasma progesterone assay (68.5%). This last point is economically unprofitable. In contrast, pregnancy diagnosis using ultrasonography is interesting to realize early (after the 40th DAI) as it has several advantages: monitoring the cyclicity of the cow (follicles, corpora lutea, and uterine involution), Early pregnancy diagnosis (97.8% overall accuracy), a visualization of the conceptus (viability), fetal sex determination and effective detection of gynecological problems (metritis, embryonic mortality, cystic structures).

In our study we identified a success rate of 85% and an accuracy rate of 90% for the early fetal sex determination and a success rate of late fetal sex determination more than 96% of all cows and reaches 100 % in heifers. Fetus sex does not affect the accuracy of early sexing in dairy cows. The accuracy rate for male fetus was 90% whereas it was 89% for female fetuses. The embryonic mortality rate recorded between the 50th and 95th day of gestation was 0%.

Keywords: diagnosis, pregnancy, sex, transrectal palpation, ultrasonography, progesterone, cows.

الملخص:

لقد قمنا بدراستين تجريبيتين على مستوى منطقة متيجة (ولاية البليدة) بين الفترة الممتدة من سبتمبر 2009 الى جويلية 2011. الدراسة الاولى خاصة بالتشخيص المبكر للحمل , اما الدراسة الثانية فتعنى بالتشخيص المبكر لجنس الجنين؛

• دراسة 1 : هي لتشخيص الحمل لكل بقرة من بين 89 بقرة حلوب بواسطة فحص كمية البروجسترون في البلازما في اليوم 23 تعد التلقيح باستعمال تقنية RIA، يليها فحص آخر بالموجات فوق الصوتية (5 ميغاهرتز) بين اليوم 45 و 50 تعد التلقيح ، تليها لمس الرحم عن طريق الشرج بين اليوم 60 و اليوم 90 تعد التلقيح، وفي الأخير فحص بالأشعة فوق الصوتية في اليوم 90 تعد التلقيح. في هذه الدراسة استعملنا أيضا الفحص بالموجات فوق الصوتية للكشف عن الدورة التناسلية عند البقر و البحث عن أية امراض في الجهاز التناسلي.

• الدراسة 2 : هو تشخيص جنس الجنين عند 80 بقرة حلوب وذلك في ثلاثة تواريخ مختلفة ، الفحص الأول (T1) بين 50-69 يوما بعد التلقيح لتحديد جنس الجنين في وقت مبكر .الاختبار الثاني (T2) بين 70-95 يوما بعد التلقيح لتأكيد جنس الجنين، والبحث على وفيات المحتملة للأجنة . الاختبار الثالث (T3) بين 115-140 يوما بعد التلقيح للتأكيد النهائي لجنس و حياة الجنين .

من خلال هذه الدراسة يظهر بأن تشخيص الحمل عن طريق لمس الرحم عبر فتحة الشرج عملية بسيطة جدا من حيث التنفيذ، و تتميز بدقة عالية (95.5%) مقارنة مع فحص كمية البروجسترون (68.5%). هذا الأخير من الناحية الاقتصادية يعتبر وسيلة غير مربحة إطلاقا. و في المقابل، تشخيص الحمل عن طريق الموجات فوق الصوتية يعتبر جد مهم لإمكانية تنفيذه في وقت مبكر (بعد اليوم 40) كما يتميز بالعديد من المزايا: تتبع الدورة التناسلية عند البقر (جراب، جسيم اصفر، ارتداد الرحم)، التشخيص المبكر للحمل (بدقة تصل إلى 97.8%) ، رأيا مباشرة للجنين (لتشخيص الحياة)، تحديد جنس الجنين و تشخيص مشاكل وأمراض الجهاز التناسلي عند البقر (التهاب الرحم، الوفيات الجنينية ، والتكوينات الكيسية).

وقد اظهرت الدراسة ان نسبة نجاح التشخيص المبكر لجنس الجنين هي 85 % ومعدل دقة هو 90 % في حين ان نسبة نجاح التشخيص في وقت متأخر هي اكثر من 96 % عند مجموع الأبقار وتصل إلى 100 % عند الأبقار التي لم تلد بعد. جنس الجنين لا يؤثر على دقة لتشخيصه في وقت مبكر. حيث ان معدل الدقة عن الجنين ذكر هي 90 % في حين هي 89 % عند الأجنة الإناث. وكان معدل وفيات الأجنة المسجل بين 50 و 95 يوما من الحمل 0 %.

الكلمات المفتاحية: تشخيص، حمل، جنس، لمس الرحم، موجات فوق صوتية، بروجسترون، أبقار.

Introduction :

Le diagnostic précoce de gravidité revêt une grande importance économique en reproduction animale. En effet, il permet de déceler au plus tôt les inséminations artificielles (IA) ou les saillies infructueuses, de détecter les mortalités ou même les anomalies embryonnaires, de repérer les cas d'infertilité et, le cas échéant, de veiller à minimiser les pertes de l'exploitation par le biais de réformes appropriées au sein des troupeaux (KASTELIC et al. 1988 ; W. PITALA et al., 2003).

De nombreuses méthodes de diagnostic de gravidité ont été mises au point chez les bovins dont les principales sont les méthodes de laboratoire et les méthodes cliniques. Les méthodes de laboratoire consistent dans l'utilisation des dosages radio-immunologiques (RIA) ou immuno-enzymatiques (EIA) pour la détection de différentes hormones et protéines synthétisées par le placenta et sécrétées dans la circulation sanguine maternelle et/ou dans le lait. Chez la vache, les principales molécules susceptibles de conduire à un diagnostic de gravidité sont : le sulfate d'œstrone, détectable dans le sérum, le plasma (DOBSON H et al., 1993) ou le lait (HOLDSWORTH R.J et al., 1982), la progestérone (LAING J.A et al 1979, LAITINEN J et al., 1985, PIETERSE M.M et al.,1990), détectable dans le plasma ou le lait, et les protéines spécifiques ou associées à la gravidité, aussi appelées PSPB (HUMBLOT P et al., 1988), PSP-60 (MULLER E et al., 1986) ou PAG (PERENYI Z et al., 2002, ZOLI A.P et al., 1992, SZENCI O et al., 1998), détectables dans le sérum ou dans le plasma maternel à partir des 28e-30e jours de la gravidité.

En ce qui concerne les méthodes cliniques, peuvent être citées la palpation manuelle de l'utérus, réalisée entre les 5e et 9^{ème} semaines de la gravidité (ABBIT B et al., 1978, VAILLANCOURT D et al., 1979), et l'échographie, aussi appelée ultrasonographie en mode-B (CHAFFAUX S et al., 1988, CURRAN S et al., 1986, CHASTANT-MAILLARD S et al., 2002). A l'aide de l'échographie, le diagnostic de gestation est possible dès le 17^{ème} jour post insémination (P.J.H. BALL et al., 2004).

Chez la vache, outre le constat de gestation, l'échographie permet de déterminer le sexe du fœtus. Soit tardivement (entre 70 jours et 120 jours) en recherchant le scrotum et les testicules pour le mâle, ou les quatre bourgeons mammaires pour la femelle (MÜLLER et WITTKOWSKI, 1986). Un sexage précoce est réalisable (entre 55 jours et 65 jours de gestation) en recherchant la position du tubercule génital : ébauche du pénis chez le mâle et du clitoris chez la femelle (CURRAN et al. 1989)

Connaître le sexe du veau à naître 7 mois à l'avance est utile pour l'éleveur. Il peut tout d'abord gérer sa reproduction en fonction de nombre de femelles conçues pour atteindre ses objectifs de taux de renouvellement. Il peut aussi vendre des animaux gestants avec une valeur ajoutée en certifiant le sexe du fœtus. Lorsqu'un sexe est désiré plus que l'autre, l'éleveur peut renforcer sa surveillance au vêlage, comme c'est le cas lors des gestations gémellaires constituées d'un mâle et d'une femelle, risquant de conduire à la naissance d'un veau femelle freemartin, ou aider le vétérinaire dans sa décision obstétricale en cas de vêlage à risque. Un éleveur devant vendre des mâles à une unité de sélection pourra s'assurer de leur existence suite à une opération de collecte d'embryons, et réagir en conséquence. Enfin, la curiosité naturelle incite certains à pratiquer le sexage par échographie (ROYAL L et al., 1981 ; RAJAMAHENDRAN R et al., 1994 ; H. DE PRÉAUMONT ; LEBASTARD D, 1997 ; QUINTON H, 2004).

Avec ces méthodes de diagnostic les résultats varient d'une étude à une autre et d'un auteur à un autre, en plus, chaque méthode est recommandée à un stade de gestation et un objectif bien déterminés. En Algérie, le problème de l'allongement de l'intervalle vêlage - vêlage met les résultats des méthodes de diagnostic de gestation appliquées en Algérie en doute. Donc quelle est la méthode la plus faisable et la plus fiable pour le diagnostic précoce de gestation ?

En Algérie aucune étude n'a été faite sur le diagnostic précoce du sexe du fœtus dont l'importance économique est capitale. Donc à partir de quelle date le sexage du fœtus est-il possible chez les bovins laitiers ?

Dans cette étude nous voulons atteindre deux principaux objectifs; le premier c'est l'application de trois méthodes pour le diagnostic précoce de gestation; le dosage de la progestérone plasmatique, l'échographie et la palpation transrectale toute en vérifiant leurs précocité, fiabilité et exactitude. Le deuxième, c'est le suivi du développement fœtal et le choix de la meilleure date pour le diagnostic précoce du sexe du fœtus chez les bovins.

PREMIÈRE PARTIE PRINCIPES DE L'ÉCHOGRAPHIE

A. BASES PHYSIQUES DE L'ÉCHOGRAPHIE

Le mot « échographie » provient de deux racines grecques : echo (un écho) et graphie (écrire). Il se définit donc comme étant « un écrit par l'écho » (WIKIPEDIA, 2009).

L'échographie ou échotomographie est une technique d'imagerie médicale basée sur l'utilisation des ultrasons, et plus précisément de leurs échos, permettant de visualiser les contours et la structure des organes. L'échographie s'apparente aux méthodes de détection par sonar utilisées en navigation (LEGRAND J.J et CARLIER B., 1981).

1. Caractéristiques des ultrasons :

a) Fréquence ;

La fréquence des ondes sonores perçues par l'oreille humaine va de 16 à 20 MHz (mégahertz). Les ultrasons utilisés dans le diagnostic médical ont des fréquences comprises entre 1 et 12 MHz. Ils sont donc inaudibles pour l'homme. Mais la fréquence des ultrasons peut être modulée : augmenter la fréquence permet d'avoir un signal plus précis (et donc une image plus fine) mais l'ultrason est alors rapidement amorti dans l'organisme examiné et ne permet plus d'examiner les structures profondes. En pratique l'échographiste a, à sa disposition, plusieurs sondes avec des fréquences différentes (VALON F et LEGRAND J.J., 1981 ; BUCZINSKI. S, 2008 ; WIKIPEDIA, 2009).

C'est pourquoi, il est conseillé de réserver les sondes de 7 - 7,5 MHz pour les diagnostics de gestations précoces (la vésicule embryonnaire étant de petite taille, il est nécessaire de voir le maximum de détail) ; la sonde de 5 MHz pour les diagnostics de gestations de routine ; et la sonde de 3 – 3,5 MHz pour les gestations très avancées (l'utérus à tendance à plonger dans l'abdomen, donc on a besoin de voir sur une épaisseur importante (BOYD J.S, 1995).

b) Vitesse :

La vitesse de propagation est variable en fonction du milieu traversé par les ultrasons (cf. Tableau 1). Cette vitesse est constante pour un même milieu. Ainsi, en mesurant le temps mis par l'onde sonore pour aller d'un point à un autre, on peut facilement calculer la distance séparant deux points. Les vitesses du son dans les différents tissus mous étant toutes très voisines, l'échographe est étalonné sur 1540 m/s (vitesse moyenne dans les tissus mous) (ROYNON E et al., 1979).

Tableau 1 : vitesse du son dans les différents tissus (ROYNON E et al., 1979)

Tissus	Vitesse de propagation
Air	331 m/s
Graisse	1450 m/s
Eau	1495 m/s
Tissus mous	1540 m/s (moyenne)
Rein	1561 m/s
Muscle	1585 m/s
Os	4080 m/s

2. Production des ultrasons

a) L'effet piézo-électrique :

Lorsqu'un cristal de quartz est soumis à une pression mécanique, des charges électriques apparaissent à sa surface. La différence de potentiel ainsi créée est proportionnelle à l'intensité de la compression. C'est l'effet piézo-électrique direct (cf. Figure 1)(Encarta ® 2008)

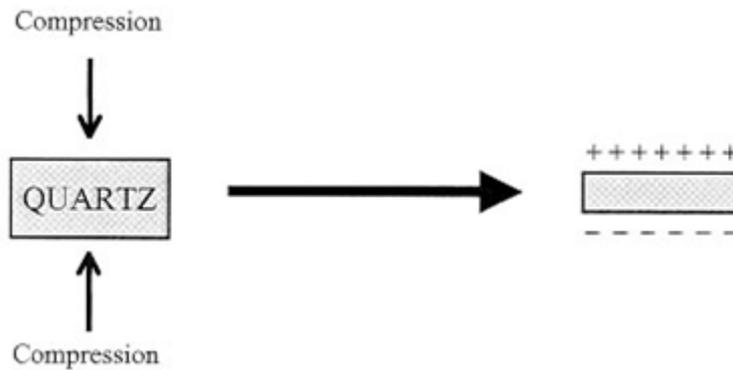


Figure 1 : effet piézo-électrique direct (TAINTURIER. B, 2001).

Le phénomène inverse existe. En effet, lorsqu'une lame de quartz est soumise à un courant électrique, elle se comprime ou s'étire selon le sens du courant. C'est l'effet piézoélectrique inverse (cf. Figure 2) (Encarta ® 2008).



Figure2 : effet piézo-électrique inverse (TAINTURIER. B, 2001).

La production des ultrasons est basée sur l'effet piézo-électrique. En effet, en soumettant les cristaux de la sonde à une tension alternative de haute fréquence, on obtient une oscillation mécanique de ces cristaux. La vibration des cristaux de la sonde est à l'origine des ultrasons. Cette faculté de transformer un type d'énergie en un autre type d'énergie s'appelle la transduction. L'élément piézo-électrique est pour cette raison souvent nommé "transducteur" (MAI W, 1999).

Donc le principe de l'échographie repose principalement sur l'émission d'ultrasons à partir d'un émetteur, puis la réception de ces mêmes ultrasons, après que ces derniers ont pénétré, puis ont été réfléchis (échos) à l'issue de leur passage dans des milieux donnés (tissus à examiner). A partir des ultrasons réceptionnés, l'appareil échographique va générer une image en noir et blanc qui va permettre de représenter plus ou moins fidèlement les tissus ou milieux acoustiques traversés (BUCZINSKI. S, 2008).

b) Le faisceau d'ultrasons

On définit classiquement deux zones distinctes au sein du faisceau d'ultrasons (MORETTI J.L, 1982) :

- le champ proche (appelé "zone de Fresnel") où le faisceau est considéré comme parallèle,
- le champ lointain (appelé "zone de Fraunhofer") où le faisceau diverge.

Le faisceau d'ultrasons est donc représenté par une première partie rectiligne, puis une seconde partie divergente (cf. Figure 3)

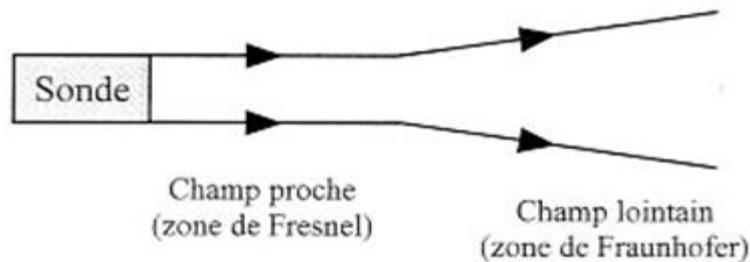


Figure 3 : représentation du faisceau ultrasonore (MORETTI J.L, 1982).

L'utilisation des ultrasons est meilleure lorsque l'objet examiné est situé dans le champ proche: les interfaces sont davantage perpendiculaires aux rayons ultrasonores, en raison du meilleur parallélisme du faisceau. De plus, l'intensité est plus élevée au sein de cette zone. Or la longueur du champ proche est d'autant plus grande que la fréquence est élevée. Ainsi, il semblerait que l'on ait intérêt à augmenter la fréquence des ultrasons. Toutefois, le problème n'est pas aussi simple qu'il n'y paraît. Une fréquence élevée s'accompagne en effet d'un pouvoir de pénétration faible (MORETTI J.L, 1982).

3. Formation des échos

a) Réflexion spéculaire

Lorsqu'un faisceau d'ultrasons franchit une interface entre deux milieux d'impédance acoustique différente, une partie des ultrasons est réfléchi alors que l'autre partie franchit l'interface et sera réfractée dans le second milieu (cf. Figure 4). C'est la partie réfléchi du faisceau ultrasonore qui, en retournant au transducteur, ou sonde, permettra la formation de l'image ultrasonore (la réflexion spéculaire est donc à l'origine des échos). Cependant, même si la réflexion du son est importante pour permettre la formation d'une image, la transmission derrière une interface est nécessaire pour permettre aux structures plus profondes de réfléchir le son disponible et d'être imagées. Or l'intensité du faisceau réfléchi est d'autant plus grande que la différence d'impédance entre les deux tissus traversés par le faisceau est grande (HERRING D.S et BJORNTON G, 1985 ; PENNING D et CUVILLIEZ S, 1985 ; MILES K.G, 1989; BEGON D et DELISLE F, 1995).

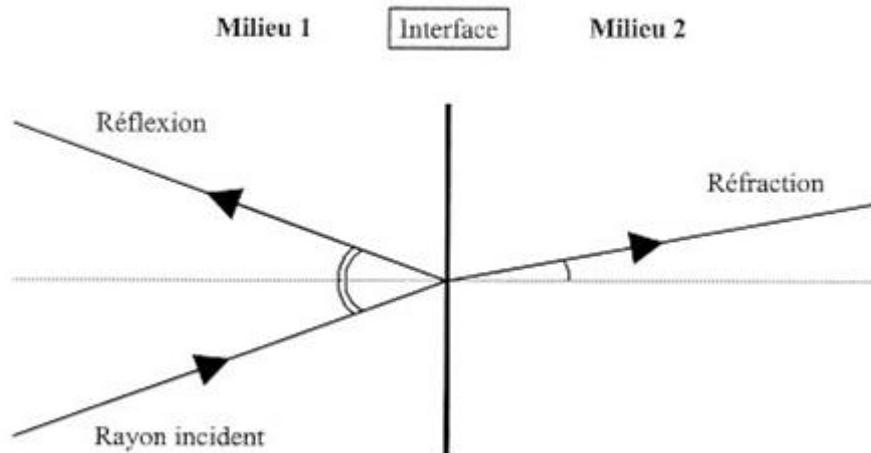


Figure 4 : réflexion spéculaire et réfraction (LEGRAND J.J et CARLIER B., 1981).

b) Réflexion non spéculaire

Dans certains cas, les ultrasons sont réfléchis de façon différente. En effet, lorsque les dimensions de l'interface rencontrée sont plus petites que celles du faisceau, l'onde ultrasonore est absorbée puis émise dans toutes les directions (cf. Figure 5). On retrouve le même phénomène en optique, lorsqu'un faisceau lumineux traverse une atmosphère poussiéreuse. Ce type de réflexion intervient pour des interfaces de moins de 2-3 mm, qui est la taille approximative du faisceau dans la zone de focalisation. On parle alors de réflexion non spéculaire, ou "dispersion acoustique" (GINTHERO.J, 1986).

La réflexion non spéculaire permet la visualisation de l'échostructure interne des organes. Elle apparaît en effet en présence de petites structures (cellules, petits vaisseaux sanguins,...). La réflexion non spéculaire intervient ainsi dans les images de parenchymes. Par exemple, l'image caractéristique de la paroi utérine – plus ou moins hétérogène – est due à la réflexion non spéculaire (LEGRAND J.J et CARLIER B., 1981).

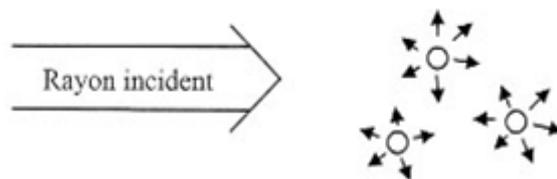


Figure 5 : réflexion spéculaire et réfraction (ROYNON E et al., 1976)

c) L'impédance acoustique

Chaque tissu du corps a une impédance (Z) qui lui est propre (cf. tableau 2) : $Z = \rho \cdot c$, où ρ est la densité du milieu et c la vitesse de l'onde ultrasonore. L'impédance est le paramètre qui définit la capacité du tissu à laisser passer une partie du faisceau d'ultrasons. Donc l'impédance acoustique

correspond à la résistance que le milieu oppose au cheminement des ultrasons (CHETBOUL V et al., 1999 ; BUCZINSKI. S, 2008).

Tableau 2 : Impédance acoustique de différents milieux (CHETBOUL V et al., 1999).

Milieu	Impédance acoustique Z (g.cm ⁻² .s ⁻¹)
Air	0.0004x10 ⁵
Graisse	1.38x10 ⁵
Sang	1.61x10 ⁵
Rein	1.62x10 ⁵
Muscle	1.70x10 ⁵
Os	7.8x10 ⁵

Il ne faut pas non plus oublier que les ultrasons sont aussi absorbés, et ce d'autant plus dans des milieux à très faible cohésion moléculaire, comme l'air, ou très forte cohésion moléculaire, comme l'os (par un défaut de conductivité ou par inertie trop importante) (BARTHEZ P , 1991 ; JAUDONJ.P et al., 1991).

En conclusion, l'air comme l'os sont des barrières infranchissables pour les ultrasons. Il faut donc, lors d'un examen échographique, tâcher de les éliminer du champ de l'image.

4. Effets subits par le faisceau d'ultrasons

1. Atténuation

Dans un milieu homogène, l'énergie du faisceau d'ultrasons diminue au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la source. Cette déperdition d'énergie se fait principalement par la réflexion des ultrasons, par l'absorption de l'énergie par les tissus (sous forme de déperdition de chaleur) et par la divergence du faisceau. L'atténuation de l'onde ultrasonore dépend de 3 paramètres (LEGRAND J.J et CARLIER B., 1981):

- le milieu de propagation,
- la distance parcourue,
- la fréquence d'émission.

- **Le milieu de propagation**

Pour chaque milieu, on définit un coefficient d'absorption. Plus ce coefficient sera élevé, et plus les ultrasons seront absorbés (cf. tableau 3). L'atténuation est beaucoup plus importante dans l'os et l'air que dans les tissus mous. En revanche, elle est très faible dans les liquides ; c'est pour cette raison qu'ils sont utilisés comme fenêtres acoustiques facilitant l'étude des tissus plus profonds (LORIOT N et al., 1995).

Tableau 3 : Le coefficient d'absorption à 1 MHz (CARNIEL P, 1987).

Milieu	Coefficient d'absorption (dB.cm ⁻¹ .MHz ⁻¹)
Eau	0.002
Sang	0.18
Foie	0.95
Rein	1.0
Os	20.0
Poumon	40.0

- **La distance parcourue**

L'intensité d'une onde décroît exponentiellement avec la distance parcourue. De ce fait, deux interfaces identiques, mais situées à des profondeurs différentes, ne donnent pas des échos d'amplitudes égales, car les chemins parcourus par l'onde sont différents. Cet inconvénient est corrigé approximativement par une amplification du signal en profondeur (LORIOT N et al., 1995).

- **La fréquence d'émission**

L'atténuation de l'intensité ultrasonore au cours du trajet de l'onde est d'autant plus importante que la fréquence de l'onde est élevée. Ce phénomène est donc un critère important dans le choix du matériel. Si l'organe étudié est profond, il faut utiliser une sonde à fréquence basse : 3,5 à 5 MHz. Si au contraire on examine un organe superficiel, on utilise des fréquences élevées : 7,5 à 10 MHz. En pratique, lors d'examens de grands animaux, la sonde linéaire de 5 MHz est la plus polyvalente (LORIOT N et al., 1995).

2. Pouvoir de pénétration

L'atténuation du faisceau d'ultrasons limite la profondeur de pénétration du faisceau. Or celle-ci est proportionnelle à la fréquence de la sonde. Plus la fréquence sera élevée, moins le faisceau pénétrera dans les tissus (cf. tableau 4).

Tableau 4 : Profondeur limite de l'examen échographique (CARNIEL P, 1987).

Fréquence de la sonde	Profondeur d'exploration
2.5 MHz	29
3.5 MHz	22
5 MHz	14
7.5 MHz	7

B. CARACTÉRISTIQUES DE L'ÉCHOGRAPHE

1. Les méthodes échographiques :

Pour un milieu donné, la vitesse est constante, en mesurant le temps séparant la réception de deux signaux sonores, on peut connaître la distance séparant les points responsables de la formation de ces signaux, et celle de chaque point à la sonde réceptrice. Ceci constitue le principe de base de l'image échotomographique qui représente une coupe des tissus placés sous la sonde. Selon les modalités d'analyse des échos captés par le transducteur, on distingue le mode A, le mode B et le mode TM (CARNIEL P, 1987 ; LEGRAND J.J et CARLIER B, 1981 ; NYLANDT.J et MATTON J, 1995).

a) Mode A (amplitude)

À un instant t , les échos formés lorsque les ultrasons rencontrent les interfaces sont enregistrées et représentées par des déflexions de la ligne de base (cf. Figure6). La hauteur de chaque pic est proportionnelle à l'intensité de l'écho ; sa position est fonction de la profondeur à laquelle il s'est formé. Ce mode est actuellement très peu utilisé, excepté en ophtalmologie (CARNIEL P, 1987).

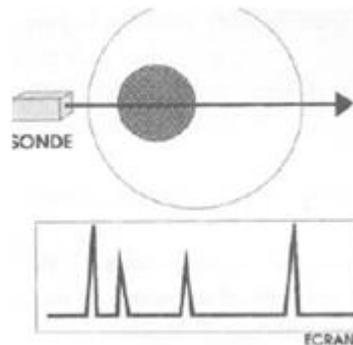


Figure 6 : analyse des échos en mode A (JUILLIEN C, 2003).

b) Mode B (brillance)

L'image échographique obtenue, à un instant t , est formée d'une multitude de points plus ou moins brillants, allant du blanc (très forte réflexion ou hyper échogénicité) au noir complet (anéchogénicité) en passant par toutes les gammes de gris. C'est le mode le plus utilisé actuellement. Employé de façon statique, ce mode présente peu d'intérêt puisque l'image ultrasonore est une image unidimensionnelle de l'objet. Associé à un système de balayage électronique, réalisé par la sonde elle-même, il permet une image en deux dimensions des structures anatomiques étudiées (cf. Figure 7). L'image obtenue est celle d'un plan de coupe. Le principe de son obtention est la juxtaposition d'une multitude d'images de mode B, par trois moyens :

- soit par excitation de proche en proche de nombreux cristaux disposés cote à cote : c'est le type « multiscan » linéaire.
- soit par oscillation mécanique d'un seul cristal ou rotation d'un petit nombre de cristaux, c'est le type sectoriel mécanique.
- soit par décalage électronique de l'activation de nombreux cristaux : on parle de sectoriel électronique.

Les images des coupes de l'objet ainsi étudié se succèdent rapidement sur le moniteur de télévision de sorte que les mouvements des organes sont alors observés en temps réel (échographie bidimensionnelle en temps réel). Ce mode est utilisé en échographie obstétricale, cardiaque et abdominale (BEGON D et DELISLE F, 1995 ; CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991).

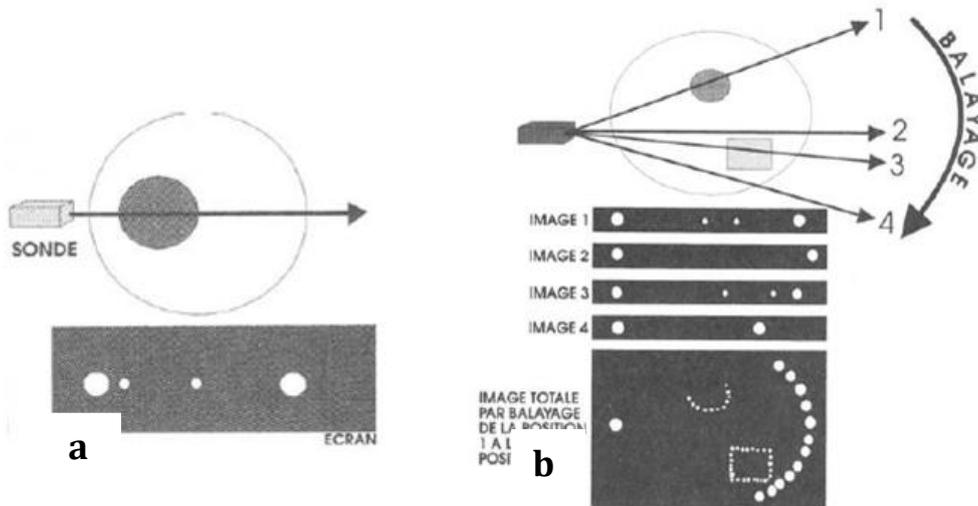


Figure 7 : analyse des échos en mode B (a : simple ; b : avec balayage) (JUILLIEN C, 2003).

c) mode TM (temps mouvement)

Les échos sont représentés par des points brillants et on étudie leur variation en fonction du temps (cf. Figure 8). Ce mode est utilisé surtout en échographie pour étudier les mouvements des parois cardiaques et des valves et mesurer précisément les diverses structures cardiaques. Il est aussi intéressant en obstétrique (étude des mouvement fœtaux) (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; BEGON D et DELISLE F, 1995).

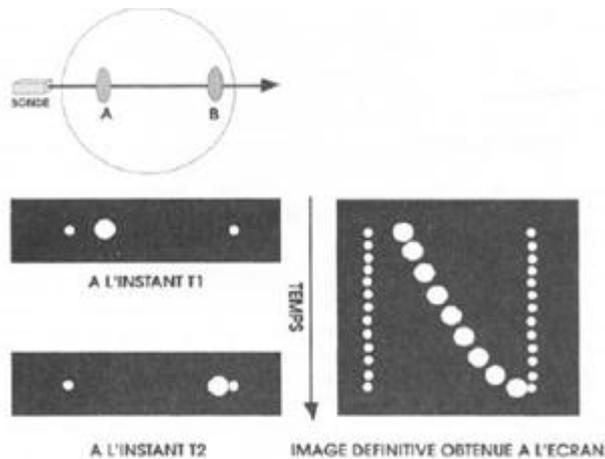


Figure 8 : analyse des échos en mode TM (JUILLIEN C, 2003)

2. Les sondes :

a) Sonde barrette ou linéaire :

Encore appelée sonde multicristaux ou multisonde, cette sonde effectue un balayage permanent sur une longueur de 10 cm ou plus. L'image sur l'écran est rectangulaire (cf. figure 9). Il n'y a pas de perte d'information sur les premiers centimètres qui sont très importants pour l'échographie des organes très proches de la surface cutanée. L'imagerie est fine, de bonne résolution. Les sondes linéaires, très utilisées chez les ruminants, ont l'avantage d'être facile à manipuler (PARISTON P, 1992 ; BEGON D et DELISLE F, 1995).

b) Sonde sectorielle ou rotative :

Cette sonde balaie un secteur de l'espace. Elle est généralement mécanique, soit formée d'un seul cristal animé d'un mouvement oscillant, soit de trois cristaux animés de mouvements rotatifs. La surface de contact est faible quelle que soit la fréquence de la sonde ce qui permet, par une petite voie d'abord, une large exploration des tissus sous-jacents. Elle est donc très intéressante pour les petits animaux. L'image est triangulaire, en part de tarte, entraînant une perte d'information sur les côtés (cf. figure 9), compensée par le déplacement de la sonde, et il y a perte d'information sur les premiers centimètres formant un cône noir (PARISTON P, 1992 ; BEGON D et DELISLE F, 1995).

Bien que la sonde sectorielle s'avère plus maniable, la sonde linéaire offre dans le cadre des échographies de gestation, des images plus faciles d'interprétation.

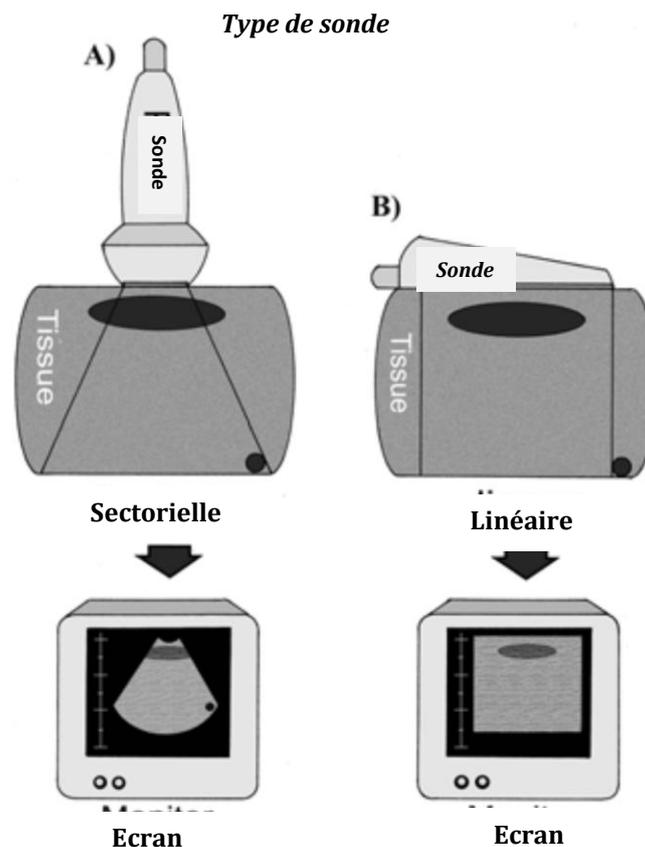


Figure 9 : Types de sondes (A = sectorielle and B = linéaire) (DesCôteaux et al., 2006)

C. INTERPRÉTATION DES IMAGES

1. Les différents types d'images :

a) Images de contours, paroi et cloison

Elles sont représentées par une ligne échogène continue quelle que soit l'incidence des ultrasons. Ces parois sont visibles même si les deux milieux qu'elles séparent ont des impédances acoustiques voisines. Les parois traversées en incidence perpendiculaire sont très échogènes tandis que les parois tangentes au faisceau ne sont pas toujours visibles sur l'écran. L'image échographique des vaisseaux est caractérisée en coupe transversale par un disque noir plus ou moins bordé de blanc selon les caractéristiques structurales de la paroi, et en coupe longitudinale par une image canalaire noire bordée de blanc (cf. figure 10) (LORIOT N et al., 1995).

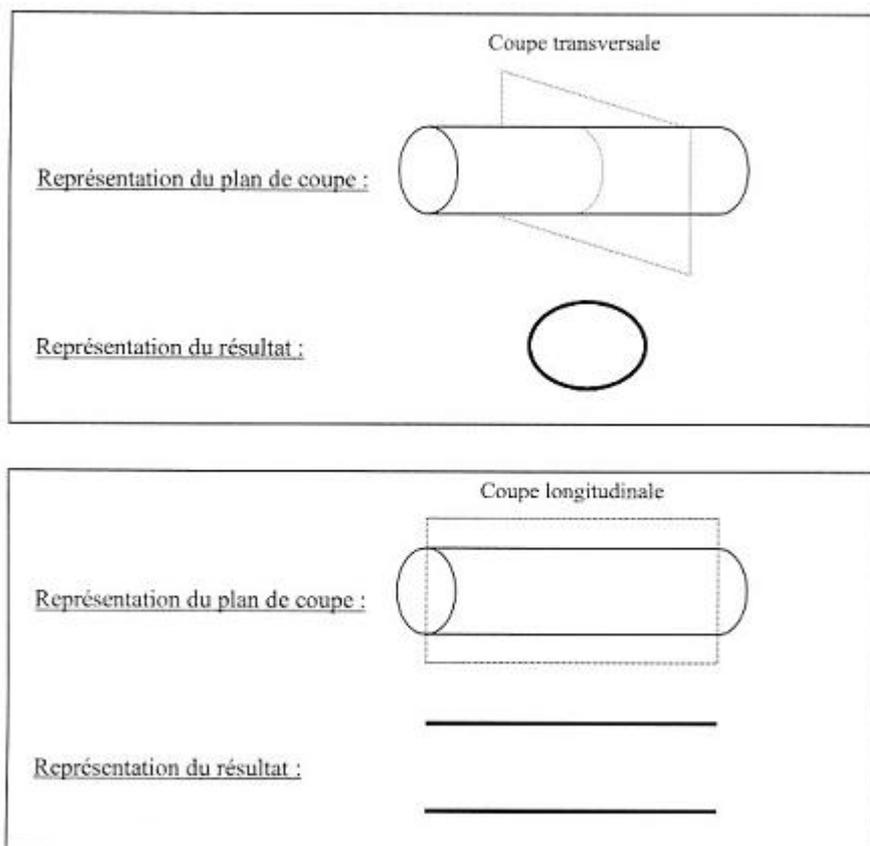


Figure 10 : formation des images canales (LORIOT N et al., 1995).

b) Images de tissus

Elles sont dues principalement aux réflexions non spéculaires. L'échogénicité est fonction de la structure du tissu.

- **Les tissus mous**

Il s'agit des muscles et des divers parenchymes organiques (foie, rein, etc.). On obtient sur l'écran une image de texture granuleuse, alternant des taches blanches, grises et noires. Donc l'image échographique d'un organe parenchymateux est composée d'une part d'une image d'interface très échogène résultant de la réflexion des ultrasons et représentant le contour de

l'organe, et d'autre part d'une image tissulaire, scintillante, résultant de la diffusion de ultrasons et représentant le parenchyme de l'organe (LORIOT N et al., 1995).

- **Les tissus gras**

Le tissu adipeux présente deux types d'échostructure différents. Il peut être :

- transparent: c'est le cas du tissu adipeux sous-cutané et de la graisse péri-rénale.
- échogène: c'est le cas du mésentère et du sinus rénal.

Ces variations sont imputables à la teneur de la graisse en fibres de collagène, ceci expliquant par ailleurs les variations individuelles d'échogénicité. Donc en générale, les tissus adieux donnent des images de mauvaises qualités car l'onde ultrasonore est très atténuée et très diffractée. Les animaux obèses et ceux dont la peau est épaisse sont donc difficiles à échographier (LORIOT N et al., 1995 ; ENGLANDG.C.W et ALLEN E, 1999).

- **Les tissus osseux**

L'os est un tissu à forte cohésion moléculaire avec une impédance acoustique élevée. La différence d'impédance acoustique entre l'os et les tissus avoisinants est telle qu'il y a une réflexion très importante au niveau de son interface. Il n'y a donc pas d'image derrière un tissu osseux, et sa description se limite à celle de sa surface (LORIOT N et al., 1995).

c) **Les images de liquides**

- **Liquides homogènes**

Les ultrasons traversant des liquides purs ne rencontrent aucune interface. Ils apparaissent donc à l'écran sous la forme de zones vides d'échos, c'est-à-dire anéchogènes, L'urine et le liquide amniotique sont des liquides homogènes (JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995).

- **Liquides non homogènes**

Dans les liquides présentant des particules solides tissulaires ou liquides en suspension, les ultrasons rencontrent une multitude de petites interfaces. Le pus est un exemple de liquide non homogène (JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995).

d) **Les images de gaz**

Dotés d'une impédance acoustique très faible, ils sont eux aussi générateurs d'interfaces n'autorisant pas la réfraction des ultrasons. Ils revêtent un aspect semblable à celui des tissus solides. Sur l'écran on observe une images d'interface hyperéchogène suivie d'un cône d'ombre (JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995).

Le tableau suivant (cf. tableau 5) représente par ordre croissant les différentes tissus et substances organiques en fonction de leur échogénicité.

Tableau 5 : Tissus et substances organiques classées par ordre d'augmentation de leur échogénicité
(NYLANDT.J et MATTON J, 1995)

Tissus et substances organiques classées par ordre d'augmentation de leur échogénicité
Bile, Urine
Médulla rénale
Muscle
Cortex rénal
Foie
Rate
Prostate
Sinus rénale
Parois de vaisseaux
Os, Gaz

2. Les artéfacts :

Ce sont des altérations morphologiques virtuelles des structures analysées, due à des phénomènes inhérents à la technologie mise en œuvre et sans aucune implication anatomomorphologiques. Ils peuvent être à l'origine d'erreurs d'interprétation (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995). Ce sont :

a) la réverbération

Il s'agit de va et vient des ultrasons entre deux interfaces. Les échos retardés dans leur cheminement arrivent plus tardivement à la sonde. Cet écho de répétition se manifeste par une succession de courbes hyperéchogènes parallèles (cf. figure 11). Seul le premier écho correspond à la structure réelle (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995 ; NYLANDT.J et MATTON J, 1995).

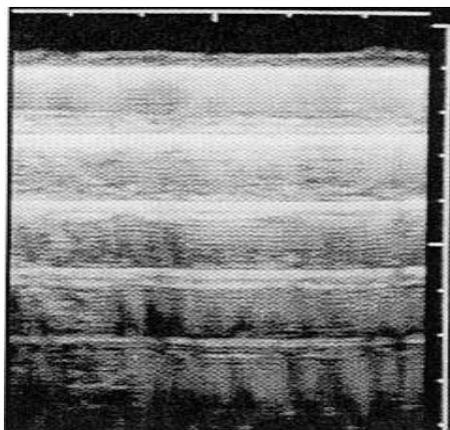


Figure 11 : artéfact de réverbération (TAINTURIER B, 2001)

b) l'artéfact en miroir

On l'observe sur les coupes abdominales para-sagittales hautes, lorsqu'on échographie la face diaphragmatique du foie, c'est l'apparition sur l'écran de deux images identiques, symétriques par rapport à une ligne très échogène (qui représente le diaphragme) (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995 ; NYLANDT.J et MATTON J, 1995).

Toutefois, cet artéfact est très rare lors de l'examen de l'appareil génital des bovins. Il peut exceptionnellement être observé lorsque le fœtus est localisé au-dessus de la symphyse pubienne de la vache. Dans ce cas, le pubis joue le rôle d'un miroir qui réfléchit une grande partie des ultrasons (cf. Figure 12).

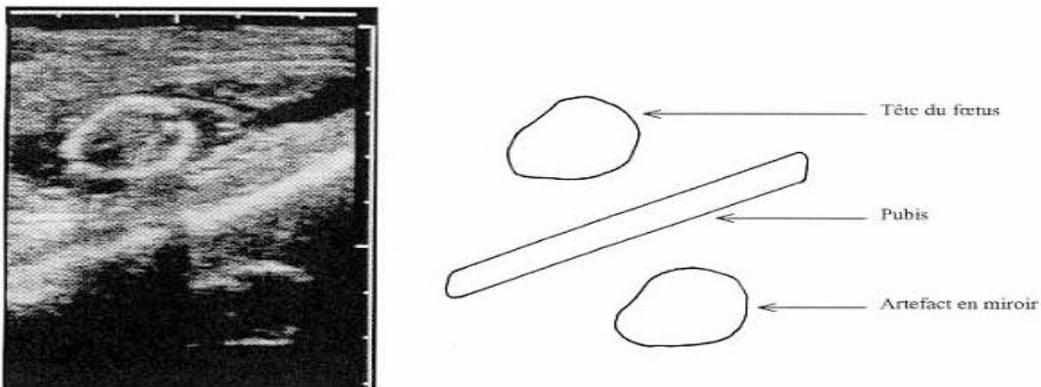


Figure 12 : Artéfact en miroir produit par la tête d'un fœtus âgé de 67 jours (TAINTURIER B, 2001)

c) le cône d'ombre

Triangle noir à pointe vers le haut, il correspond à une perte d'information sur une donnée de l'écran, liée à la réflexion totale des ultrasons au niveau d'une interface avec de l'air, de l'os (cf. figure 13) ou des calculs, due à la différence d'impédance entre deux milieux est trop grande (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995 ; NYLANDT.J et MATTON J, 1995).

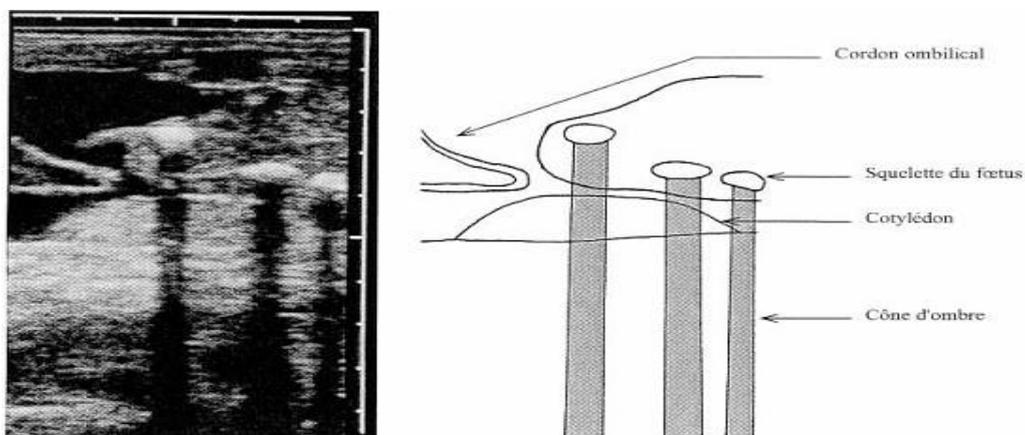


Figure 13 : cône d'ombre produit par le squelette d'un fœtus âgé de 97 jours (TAINTURIER B, 2001)

d) Le renforcement postérieur des échos

Les ultrasons n'étant pratiquement pas atténués lors de la traversée en milieu liquide, l'échogénicité est très supérieure immédiatement en dessous, par rapport aux tissus mous environnants situés à la même profondeur. Il en résulte une aire échodense, encore appelée zone de facilitation, juste en dessous des structures liquidiennes (PIERSONR.A et al., 1988 ; JAUDON J.-P et al., 1991).

Ce phénomène facilite la mise en évidence du fœtus au sein des liquides fœtaux. Dans le cas des vésicules embryonnaires, lors de diagnostic de gestation, le renforcement postérieur se traduit par une aire échodense située juste en dessous de la vésicule embryonnaire. Cette aire échodense facilite la localisation de la vésicule embryonnaire (cf. figure 14), surtout lors de diagnostic précoce de gestation (.SIGOGNAULT A, 1992).

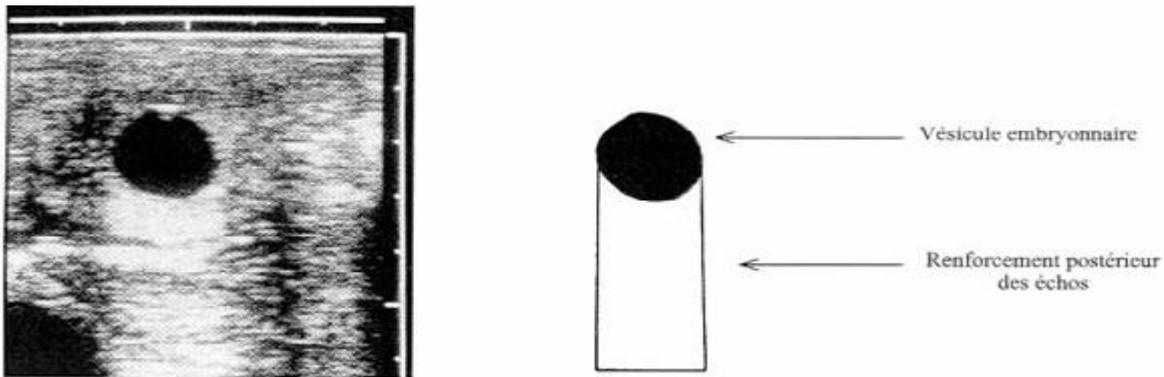


Figure 14 : renforcement postérieur des échos produit par une vésicule embryonnaire de jument (14 jours de gestation) (TAINTURIER B, 2001)

e) l'artéfact en queue de comète

Ils concernent l'échographie digestive et pulmonaire, c'est un trait vertical que l'on rencontre lorsque le faisceau ultrasonore rencontre une bulle d'air ou une petite surface minéralisée. C'est un phénomène de réverbération, l'appareil interprète de délai successif entre les réverbérations comme un éloignement et inscrit alors une série rapprochée de pseudo-interfaces en « queue de comète ». C'est en fait un artefact caractéristique de l'échographie digestive, mais il est rare lors de l'examen de l'appareil génital (CARNIEL P, 1987 ; JAUDON J.-P et al., 1991 ; LORIOT N et al., 1995).

f) Artefact dû à la réflexion spéculaire

Les collections liquidiennes de petite taille (vésicule embryonnaire, kyste utérin, etc.) peuvent présenter une image caractéristique : on observe deux échos très brillants, l'un en partie supérieure de la collection liquidienne, et l'autre en partie inférieure (cf. Figure 15)

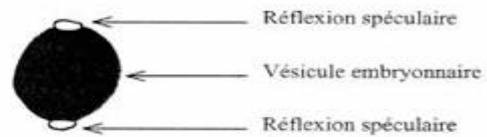
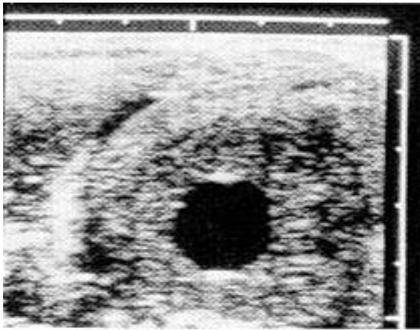


Figure 15 : vésicule embryonnaire de jument (14 jours de gestation) produisant des échos spéculaires aux pôles dorsal et ventral (TAINTURIER B, 2001)

Ce phénomène s'explique par la réflexion spéculaire. En effet, la collection liquidienne a une forme sphérique. Lorsque les ultrasons atteignent la sphère dans sa partie supérieure ou inférieure, ils sont perpendiculaires à l'interface. Ils sont alors réfléchis par l'interface et donnent naissance à un écho très intense qui est capté par la sonde (cf. Figure 16)

Au contraire, lorsque les ultrasons atteignent les bords de la sphère, les échos ne retournent pas vers la sonde car l'interface n'est pas perpendiculaire aux ultrasons : ces échos sont perdus. On n'observe alors que l'apposition de deux structures adjacentes : la vésicule anéchogène d'une part, et le parenchyme utérin d'autre part (GINTHERO.J, 1986; PIERSONR.A et al., 1988).

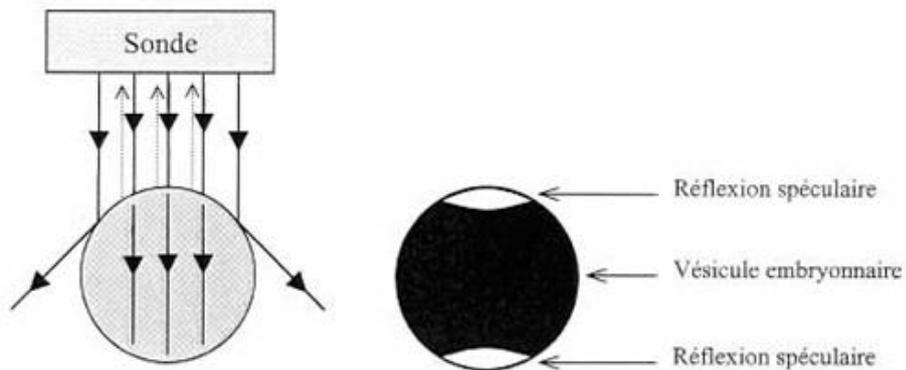


Figure 16 : image due à la réflexion spéculaire (GINTHERO.J, 1986)

DEUXIÈME PARTIE DIAGNOSTIC DE LA GESTATION

I. CRITÈRE DE QUALITÉ D'UNE MÉTHODE

Une insémination artificielle, chez la vache, a environ 50 % de chance de réussir. Lorsque l'insémination échoue, la vache revient théoriquement en chaleurs 21 jours plus tard. Cependant, en pratique, une faible proportion de vaches revient effectivement en chaleurs (environ 20 à 30 % des vaches inséminées, selon les troupeaux). C'est pourquoi, pour maîtriser la reproduction de son élevage, un éleveur ne peut se contenter d'observer les retours en chaleurs de ses vaches. En plus, il y a 8% des vaches dont l'insémination était fécondante reviennent en chaleurs ! (COSSON J.L, 1996 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

De nombreuses méthodes de diagnostic de gravidité ont été mises au point chez les bovins dont les principales sont les méthodes de laboratoire et les méthodes cliniques. Les méthodes de laboratoire consistent dans l'utilisation des dosages radio-immunologiques (RIA) ou immuno-enzymatiques (EIA) pour la détection de différentes hormones et protéines synthétisées par le placenta et sécrétées dans la circulation sanguine maternelle et/ou dans le lait : le sulfate d'œstrone, la progésterone et les protéines spécifiques ou associées à la gravidité (PSPB, PSP-60, PAG).

En ce qui concerne les méthodes cliniques, peuvent être citées la palpation manuelle de l'utérus, et l'échographie, aussi appelée ultrasonographie en mode-B.

Pour pouvoir comparer les différentes méthodes de diagnostic de gestation, nous allons avoir recours à différentes critères.

1. Exactitude et fiabilité :

L'exactitude est définie comme l'aptitude à détecter les femelles gravides ou vides. La fiabilité est définie comme la probabilité qu'une femelle déclarée gravide puisse mettre bas ou qu'une femelle déclarée non gravide soit vide (BISSON B, 1992 ; Pitala W et al., 2003).

Pour les calculer on prend en compte les variables suivantes (Karen A et al., 2006):

- (a) le diagnostic de gravidité s'est révélé exact (vrai positif) ;
- (b) le diagnostic de gravidité s'est révélé inexact (faux positif) ;
- (c) le diagnostic de non-gravidité s'est révélé exact (vrai négatif);
- (d) le diagnostic de non-gravidité s'est révélé inexact (faux négatif).

L'exactitude positive d'une méthode de diagnostic de gestation, est défini comme étant la probabilité qu'une vache soit diagnostiquée gestante, sachant qu'elle est effectivement gestante. Cette notion peut être traduite selon la formule :

$$\text{Exactitude positive} = \frac{\text{Nombre de diagnostics positifs exacts (a)}}{\text{Nombre de vaches réellement gestantes (a + d)}}$$

De la même façon, pour l'exactitude négative :

$$\text{Exactitude négative} = \frac{\text{Nombre de diagnostics négatifs exacts (c)}}{\text{Nombre de vaches réellement vides (c + b)}}$$

La fiabilité positive, quant à elle, représente la probabilité pour qu'une vache soit effectivement gestante, sachant qu'elle est diagnostiquée gestante, soit :

$$\text{Fiabilité positive} = \frac{\text{Nombre de diagnostics positifs exacts (a)}}{\text{Nombre de vaches gestantes pour le test (a + b)}}$$

Et pour la fiabilité négative :

$$\text{Fiabilité négative} = \frac{\text{Nombre de diagnostics négatifs exacts (c)}}{\text{Nombre de vaches vide pour le test (c + d)}}$$

L'exactitude positive est encore désignée sous le nom de sensibilité, définie comme étant la probabilité pour une vache gestante d'avoir un résultat positif au test. De même, l'exactitude négative est encore appelée spécificité, qui correspond, à la probabilité pour une vache non gestante d'avoir un résultat négatif à l'examen (LAPLANCHE et al., 1987).

Donc l'exactitude peut se traduire de la façon suivante :

$$\text{Exactitude Positive} = \text{Sensibilité} = \frac{\text{Vrais positifs (a)}}{\text{Vrais positifs + Faux négatifs (a + d)}}$$

$$\text{Exactitude Négative} = \text{Spécificité} = \frac{\text{Vrais négatifs (c)}}{\text{Vrais négatifs + Faux positifs (c + b)}}$$

Quant aux fiabilités positive et négative, elles sont dénommées, respectivement, valeur prédictive positive et négative.

$$\text{Fiabilité Positive} = \text{Valeur Prédictive Positive} = \frac{\text{Vrais positifs (a)}}{\text{Vrais positifs + Faux Positifs (a + b)}}$$

$$\text{Fiabilité Négative} = \text{Valeur Prédictive Négative} = \frac{\text{Vrais négatifs (c)}}{\text{Vrais négatifs + Faux négatifs (c + d)}}$$

Ainsi, lorsqu'on veut évaluer une nouvelle méthode de diagnostic de gestation ; on la compare à une autre méthode, dite de référence. C'est en effet, cette méthode de référence qui permet de déceler les vrais positifs des faux positifs ; et les vrais négatifs des faux négatifs. Par exemple, la méthode de référence de choix pour la fiabilité est la mise-bas ou l'avortement, le cas échéant (LAPLANCHE et al., 1987).

L'exactitude concerne mieux, la valeur d'une méthode (sensibilité et spécificité). Mais plus la méthode de référence sera proche dans le temps de la méthode à tester, plus l'exactitude calculée reflétera rigoureusement cette dernière, car elle ne sera pas modifiée, et corrélée à d'éventuelles interruptions de gestation (qui augmentent le nombre de faux positifs) (BISSON B, 1992).

Mais en réalité, ce qui intéresse l'utilisateur d'une méthode, c'est de connaître le pourcentage de chance qu'une vache, pour laquelle il y a un résultat positif, mette bas (ou ne pas mettre bas pour un résultat négatif) : c'est ce qu'exprime la fiabilité. Plus le test de référence est proche de la mise bas, moins l'interruption de gestation est grande ; et par conséquent, plus la fiabilité obtenue

sera proche de la réalité (c'est pourquoi, la mise-bas ou l'avortement est le test de référence idéal pour la fiabilité).

Nous comprenons alors que la fiabilité et l'exactitude d'une méthode testée, peuvent être différentes selon la méthode de référence choisie.

Par exemple, si l'objectif du diagnostic était de détecter l'échec de l'insémination, la méthode d'investigation est intéressante si son exactitude négative (spécificité) est proche de 100%, pour remettre les vaches non gestantes à la reproduction en toute sécurité, évitant ainsi, une interruption de gestation.

Alors que, si l'objectif était de détecter la réussite de l'insémination, cette méthode d'investigation est intéressante si son exactitude positive (sensibilité) est proche de 100%, pour assurer les conditions favorables à la poursuite de la gestation.

2. Précocité :

Pour l'éleveur, il est important de savoir le plus tôt possible après l'insémination, si une vache était gestante ou non, afin de la ré-inséminer voire la réformer, le cas échéant. Il est en effet impératif pour l'éleveur de remettre une femelle à la reproduction dans les meilleurs délais, une fois l'échec constaté, pour bien maîtriser l'intervalle vêlage - vêlage.

3. Autres critères :

On s'intéresse également à la facilité de mise en œuvre de chaque méthode, ainsi qu'à sa rentabilité économique. En plus de son innocuité tant pour l'animal examiné, que pour le conceptus.

La méthode est plus recommandée, si elle porte d'autres intérêts tels que le diagnostic des pathologies de la reproduction (ovaires lisses, kystes folliculaires, infections utérines, maladies congénitales), ou donne des informations supplémentaires sur le déroulement de la gestation (gémellité, détermination du sexe, de l'âge et de la viabilité du fœtus).

II. MÉTHODES CLINIQUES

A. PALPATION TRANSRECTALE DE L'UTÉRUS

Cette technique est basée sur la possibilité de sentir les modifications qui subit l'utérus contenant un fœtus (exemple : gonflement dans l'une des cornes utérines) par l'introduction d'un bras à travers le rectum de la vache (cf. figure 17). Cette manipulation peut être dangereuse et traumatique pour la vache et le fœtus, et doit être donc faite uniquement par une personne expérimentée. Chez une vache non gestante ou lorsque la gestation est précoce les cornes utérines ont approximativement la même taille et diamètre. En revanche, il est possible de détecter la différence de taille entre les deux cornes à partir du 40^e jour de gestation. Cette différenciation est plus facile chez une génisse que chez une vache (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

Lors de l'examen du tractus génital, le vétérinaire palpe (DALICHAMPT C, 1989 ; Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002):

- les ovaires: il cherche le bon développement du corps jaune (CJ).

- l'utérus: il évalue l'asymétrie des cornes, la fluctuation de l'utérus, la perception de la vésicule amniotique, le glissement des membranes annexielles, la mise en évidence du fœtus, le développement des cotylédons.
- les ligaments larges: il recherche les pulsations des artères utérines

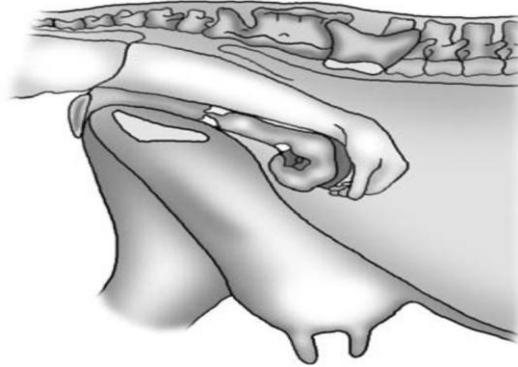


Figure 17 : examen du tractus génital par la voie transrectale pour le diagnostic de gestation
(Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

1. Diagnostic de gestation entre 1 et 2 mois :

Avant chaque manipulation, il est impératif de s'assurer de la contention correcte de l'animal et l'utilisation de gants de protection. On procède d'abord à une vidange du rectum, puis la main progresse sur le plancher du rectum en palpant le tractus génital sous-jacent.

a) Corps jaune gestatif

Dans les conditions normales, les ovaires de femelles vides cyclées ne présentent pas de CJ palpable à 21-24 jours après l'insémination. Par contre, chez les femelles gestantes, un des ovaires au moins présente un CJ (gestatif) palpable à cette date.

Le CJ siège sur l'ovaire du côté de la corne gravide. Ce CJ de gestation est nettement en relief et facilement palpable pendant le premier tiers de gestation. En plus les ovaires s'hypertrophient graduellement, allant jusqu'à doubler leur volume initial. Le CJ gestatif atteint sa taille maximale durant ce stade de gestation (SAGET Y, 1971 ; Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

Le CJ gestatif est indifférenciable du CJ dioestral, même si ce dernier serait plus petit que le CJ gestatif. Mais ce dernier critère ne peut être utilisé de façon fiable étant donné qu'il existe une telle variation individuelle de taille et de poids (ARTHUR et al., 1982).

b) Asymétrie des cornes

Pour mettre en évidence l'utérus, il faut d'abord repérer le bassin (ilium et bord du pubis) : une fois localisé, on balaie l'entrée du bassin avec la main ouverte pour trouver le col utérin (cf. figure 18). Sinon, on recommence le balayage mais à une profondeur différente. Le col n'est pas toujours situé dans le plan de la symétrie de l'animal.

On peut utiliser la technique de la rétraction de l'utérus qui permet un examen complet et rapide des deux cornes. On saisit l'extrémité crâniale du col, on le tire doucement en arrière et en

l'amenant sur le côté du bassin par un mouvement de torsion (cf. figure 17). On peut aussi plonger la main en avant et en bas du pubis, et ramener l'utérus dans l'angle formé par le bras et la main, sur le bassin (GUERIN P).

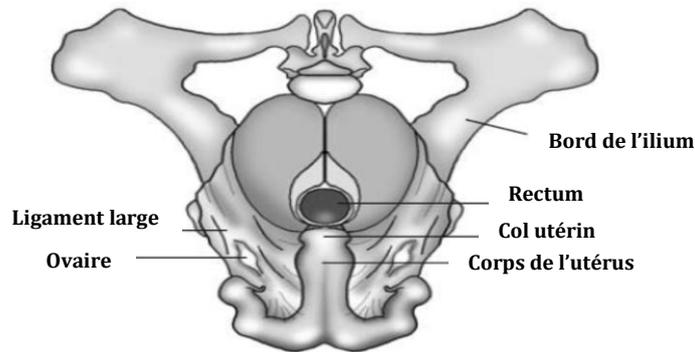


Figure 18 : absence de l'asymétrie utérine (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

À partir des 6-8 semaines de gestation, la disparité de taille des cornes devienne très nette (cf. figure 19). La corne gravide devienne 6 fois plus grande que la corne non gravide vers la fin de ce stade (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).



Figure 19 : mise en évidence de l'asymétrie utérine ; 60è jour de gestation (ROYAL L et al., 1981).

c) Palpation des artères utérines

Les artères utérines sont situées dans le ligament large. Leur diamètre commence à s'accroître vers le 40-50è jour après fécondation du côté de la corne gravide l

d) Palpation de la vésicule amniotique

Cette technique a été décrite par PISSL et RUTLER en 1923 (ARTHUR et al., 1982). La vésicule amniotique se présente sous la forme d'une structure ovoïde très mobile, qui flotte au sein du liquide allantoïdien. La consistance plus ferme de la vésicule amniotique (liquide sous tension) permet de l'identifier par rapport à la vésicule allantoïdienne. Théoriquement, la vésicule amniotique peut être palpée entre le 30è et le 65è jour de gestation. En pratique, il est difficile de la palper avant le 35è - 40è jour. Après le 65è jour, la vésicule amniotique devient trop répressible, trop molle pour être identifiée (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983).

Pour la mettre en évidence, il faut trouver la bifurcation des deux cornes. Il faut les dérouler et doucement les palper sur toute leur longueur entre le pouce et le majeur. Il suffit alors de la saisir (ARTHUR et al., 1982).

La longueur approximative de la vésicule amniotique est mesurée en la comparant à la largeur des doigts (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983). On estime ainsi le stade de la gestation (cf. tableau 6):

Tableau 6 : Détermination du stade de la gestation en fonction de la taille de la vésicule amniotique (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983).

Stade de gestation	Diamètre de la cavité amniotique
<u>±</u> 40 jours	1.5 cm (1 doigt)
45 jours	3.5 cm (2 doigt)
50 jours	5.5 cm (3 doigt)
55 jours	7.5 cm (4 doigt)
60 jours	9.5 cm (5 doigt)
65 jours	10.5 cm (largeur de la main)

e) Glissement des membranes annexielles

Cette technique, connue sous le terme anglo-saxo « membrane-slip », a été décrite par ABELEIN en 1928 (ARTHUR et al., 1982).

Entre les cotylédons, il n'existe pas d'attache utéro-placentaire. A ces endroits, les membranes chorio-allantoïdiennes peuvent donc être glissées entre les doigts. Pour faire glisser ces membranes, on pince avec ménagement la paroi utérine entre le pouce et l'index. On sent alors filer sous les doigts les annexes, ce qui produit une sensation caractéristique, comparable à celle obtenue par une ficelle sous tension échappant aux doigts (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002). On compare parfois cette sensation à une "chemise sous une manche de veste".

Ce glissement est théoriquement décelable à partir du 30^e jour de gestation et jusqu'à la fin de la gestation, mais il est optimal entre le 40^e et le 90^e jour. Il est déconseillé de l'effectuer avant le 30^e jour, en raison des risques que la technique présente pour le fœtus (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004). Mais une étude portée sur 7500 vaches a permis de conclure que cette technique n'affecte pas d'une façon significative le devenir de la gestation qu'est beaucoup plus due à une manipulation par un opérateur non expérimenté (VAILLANCOURT et al., 1981).

2. Diagnostic de gestation à 3 mois :

a) Corps jaune gestatif :

Le CJ ne devient plus palpable une fois la gestation avancée (au delà du 2^e mois de gestation), car le volume et le poids de l'utérus font plonger les ovaires dans la cavité abdominale. Dans de rares cas, les deux ovaires peuvent être détectés jusqu'au 150^e jour, bien qu'à ce moment-là, ils peuvent être confondus avec les cotylédons (SAGET Y, 1971 ; ARTHUR et al., 1982).

b) Asymétrie des cornes :

A 3 mois de gestation, la dissymétrie entre les cornes est très nette (cf. figure20). Le col utérin est hypertrophié. A ce stade la corne non gravide commence à s'augmenter de volume suite à l'invasion et l'attachement du placenta à travers la lumière utérine. Vers la 12^e semaine de gestation, le diamètre de la corne gravide dépasse le 10cm et elle est facile à détecter. En revanche, l'utérus devient plus lourd et commence à descendre vers la cavité abdominale (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

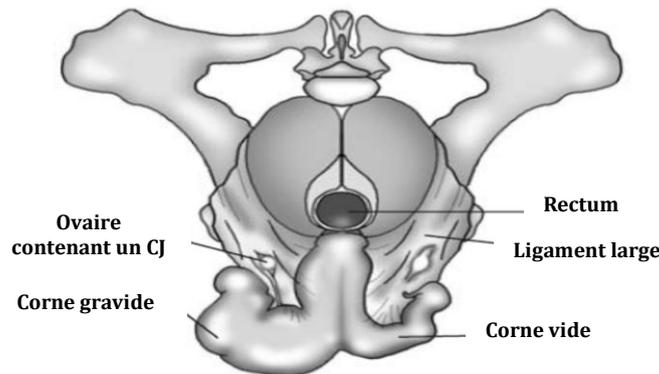


Figure 20 : utérus bovin à 10 semaines de gestation (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

c) Palpation des artères utérines:

L'artère utérine devient palpable vers le 80-90^e jour de gestation. Les pulsations de cette artère vont se modifier au cours du temps. En effet, elle cesse d'être une pulsation habituelle pour devenir un frémissement caractéristique appelé « thrill » (ou signe de « Gefass-Schwirren ») à partir du 80^e jour (ARTHUR et al., 1982 ; PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983).

d) Glissement des membranes annexielles :

A ce stade, il est préférable d'effectuer cette manœuvre sur la corne vide, car la corne gravide est devenue turgescence, et les membranes y sont sous tension, rendant la manipulation plus délicate (GUERIN P).

e) Palpation des cotylédons :

La palpation des cotylédons est réalisable dès le 70^e jour de gestation, et est indiscutable à partir du 75^e jour (la paroi utérine étant plus flasque). Les cotylédons sont d'abord sentir sur le milieu et à la base des cornes. Ainsi, l'utérus donne l'impression d'avoir une surface irrégulière en tôle ondulée (comme un sac rempli de pomme de terre). A 70 jours, ils sont de la taille d'un petit pois (à la base de la corne gestante) (ARTHUR et al., 1982 ; LAING J.A, 1979).

f) Palpation du fœtus:

La détection du fœtus ne devient possible que vers le 65-70^e jour, et ce pour deux raisons. D'une part, il atteint à ce stade, une taille raisonnable (10-12 cm de longueur) ; et d'autre part, la vésicule amniotique devient assez molle pour permettre de palper le fœtus.

A 90 jours, le fœtus mesure 15 cm de longueur ; et il est difficilement préhensible. Avant ce stade, on peut le mettre en évidence en tapotant sur la corne distendue avec les doigts (on a la sensation d'une pièce de bois flottant à sa surface liquide (ARTHUR et al., 1982).

3. Diagnostic de gestation à 4 mois :

a) Palpation de l'utérus :

A 4 mois de gestation, le col utérin est hypertrophié. L'utérus a tendance à plonger vers l'avant, et il est difficile à ramener vers la cavité pelvienne (cf. Figure 21). Le fœtus mesure 25 cm.

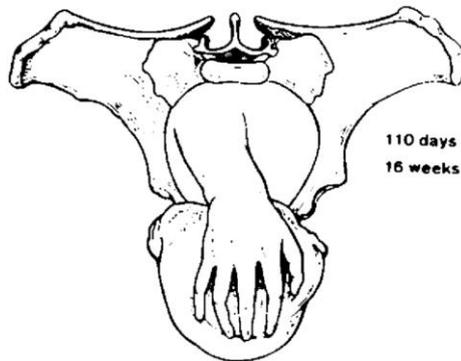


Figure 21 : détection de gestation par palpation rectale à 110 jour (ARTHUR et al., 1982)

b) Palpation des artères utérines :

A 4 mois de gestation, le diamètre de l'artère utérine atteint 5-8 mm. Il est possible de percevoir les pulsations typiques de ces artères en les tenant entre le pouce et l'index, et en les soumettant à une légère pression. Ces vibrations ne sont pas comparables à la pulsation normale de l'artère chez la vache non gestante. Elles sont décelables du côté gravide à partir de 3 mois $\frac{1}{2}$, et du côté non gravide à partir du 5e mois. En cas de gémellité, chaque corne contenant un fœtus, les pulsations se manifestent des deux côtés dès 3 mois $\frac{1}{2}$ (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983).

c) Palpation des cotylédons :

A 4 mois, ils sont palpables dans la membrane dorsale de l'utérus. A ce stade ils mesurent entre 2-4 cm de diamètre. Leur taille augmente au fur et à mesure que la gestation avance. Toutefois, leur taille variant considérablement d'une vache à l'autre, il est difficile d'en déduire le stade de la gestation.

Les cotylédons au début de leur apparitions, sont proches l'un de l'autre, mais au fur et à mesure que le sac allantoïdien devient plus grand, les cotylédons s'éloignent l'un de l'autre. On peut les mettre en évidence, par le déplacement de la main vers l'arrière et vers le bas toute en caressant la paroi utérine. Les cotylédons sont palpables comme une élévation sur la membrane utérine (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983 ; Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

d) Palpation du fœtus :

Le fœtus reste toujours palpable jusque au 5^e mois de gestation (LAING J.A, 1979).

4. Diagnostic de gestation entre 5-7 mois :

a) Palpation de l'utérus :

Entre le 5^e et le 7^e mois de gestation, l'utérus devient inaccessible, étant donné qu'il est très profond dans l'abdomen (ARTHUR et al., 1982).

b) Palpation des artères utérines :

A partir du 5 mois de gestion, le frémissement de l'artère utérine de la corne gravide devient très net (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

c) Palpation des cotylédons :

Dès le 5-7^e mois de gestation, il devient très difficile de palper les cotylédons, étant donné que l'utérus a plongé dans l'abdomen (ARTHUR et al., 1982).

d) Palpation du fœtus :

A ce stade de gestation, le fœtus mesure entre 25 et 40 cm. Mais à partir de 5^e mois, l'utérus du fait de son poids (et celui de son contenu), se trouve progressivement entraîné à l'intérieur de la cavité abdominale ce qui rend très difficile (voir impossible) de palper le conceptus. Mais comme la croissance du veau, au fur et à mesure que la gestation avance, provoque sa progression de la bas en haut, et en arrière du bassin, le veau redevient accessible vers le 7^e mois (LAING J.A, 1979).

5. Diagnostic de gestation à 7-9 mois :

a) Palpation du fœtus :

À partir du 7^e mois de gestation, le fœtus devient suffisamment volumineux pour devenir à nouveau accessible. Il est alors facile de palper la tête ou les membres du fœtus (cf. figure 22). En plus, on peut même mettre en évidence la viabilité du fœtus par une légère pression sur la tête, ou on le serre un de ses membres, ce qui peut provoquer une réaction et un mouvement de reflexe (Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

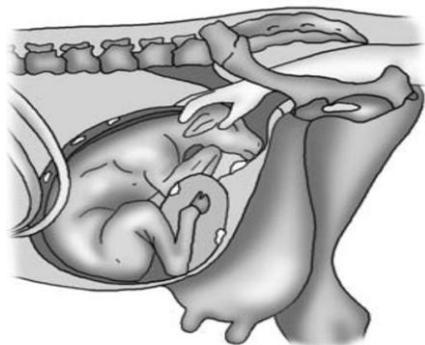


Figure 22 : palpation transrectale du fœtus vers la fin de gestation
(Jackson P.G.G et Cockcroft P.D, 2002).

6. Exactitude et fiabilité

a) Présence d'un CJ :

Tout d'abord, étant donné qu'il n'existe pas de différence significative entre le CJ cyclique et le CJ gestatif, il est nécessaire de connaître la date de l'insémination, pour suspecter une gestation (ARTHUR et al., 1982).

De même, si l'absence de CJ est un bon indicateur d'absence de gestation, il faut prendre en considération l'existence de faux négatifs : examen peu minutieux, mauvaise enregistrement des dates de saillies ou d'inséminations artificielles.

b) Artère utérine :

Tout d'abord, il ne faut pas confondre cette artère utérine avec l'artère iliaque externe. Avec de l'expérience, on arrive à les différencier, car l'artère utérine est la seule à être très mobile, et la seule à être encerclée par les doigts (LAING J.A, 1979 ; ARTHUR et al., 1982).

Bien que la mise en évidence du « trill artériel » nécessite également de l'expérience, car il est nécessaire de ne pas trop comprimer l'artère, sinon ce frémissement n'est pas détecté.

Enfin, il faut noter que la présence d'un « trill » de l'artère utérine n'est pas exclusivement liée à la gestation. Ainsi, il est possible de retrouver un « trill », avec une augmentation du diamètre de l'artère, sur l'une voire les deux artères utérines, en cas de pyromètre, ou de macérations fœtales (LAING J.A, 1979 ; ARTHUR et al., 1982).

c) Asymétrie des cornes :

La dissymétrie des cornes est un signe assez important dans le cadre du diagnostic de gestation. Cependant, à elle seule, ce n'est pas une preuve de gestation. On peut commettre, en effet, des diagnostics faux positifs : involution utérine incomplète, pyomètre, métrite du 3^e degré, vessie pleine, momification et macération fœtales, maladie de la génisse blanche (LAING J.A, 1979 ; ARTHUR et al., 1982 ; MOMONT H, 1990).

d) Fluctuation des liquides des annexes fœtales, palpation de la vésicule amniotique, signe du « membrane-slip » :

Avec ces 3 méthodes, les vaches diagnostiquées gestantes au cours du 3^e mois de gestation mettant bas dans environ 85-90% des cas (BALL L et ABBITT B, 1978).

Ces techniques peuvent être également à l'origine de diagnostics faux positifs : ainsi, les membranes annexielles sont encore décelables, par glissement des membranes, peu après la mort de l'embryon. Ceci n'est pas le cas du sac amniotique qui n'est plus perceptible une fois l'embryon mort. De même la fluctuation n'est pas propre à la gestation. Elle peut-être présente lors d'un pyomètre ou de métrite de 3^e degré (PIETERSE M.C et WILLEMSE A.H, 1983).

Enfin, la mise en évidence de ces 3 méthodes au 42^e et 46^e jour après insémination, a une incidence sur la mortalité embryonnaire (par comparaison avec une palpation transrectale à 90 jours, et le taux de progestérone dans le lait). En plus, la recherche de signe du « membrane slip »

augmenterait de façon significative la mortalité embryonnaire par rapport à la mise en évidence de la fluctuation seule (ABBITT B et al., 1978 ; FRANCO O.J et al., 1987).

e) Palpation des cotylédons :

L'exactitude de la palpation des cotylédons au 75^e jour de gestation est proche de 100%, c'est un signe relativement sûr, surtout s'il était possible de palper plusieurs cotylédons (pour ne pas confondre avec les ovaires). Mais de point de vue économique, la palpation des cotylédons est très tardive et non rentable (GUERIN P).

f) Palpation du fœtus :

Pendant l'intervalle 120-160^e jour, le fœtus peut être palpé dans plus de 50% des cas. Au cours du 5^e mois jusqu'au 7^e mois ; le fœtus n'est plus palpable. Après le 7^e mois, le fœtus est aisément palpable, sauf chez certaines vaches dites « à ventre profond » (ARTHUR et al., 1982).

La viabilité du fœtus peut être estimée à partir du 7^e mois, suite à ses réflexions, mais l'absence de ces réflexions ne signifie pas que le fœtus est mort (DERIVAUX J et ECTORS FF, 1980).

7. Commodité :

La palpation transrectale est un moyen très simple à mettre en œuvre, seulement elle réclame beaucoup de dextérité de la part de l'opérateur, surtout pendant les stades précoces de la gestation. Elle est également fatigante, et n'est donc pas envisageable sur de grands effectifs.

8. Innocuité :

D'une façon générale, la mortalité embryonnaire a lieu entre 14 et 70 jours après l'insémination. Un pic de mortalité est souvent observé entre 28 et 43 jours. La mort de l'embryon peut être provoquée manuellement, en rompant la vésicule amniotique. Une étude réalisée en 1963 par Ball et Carroll a montré qu'il suffisait d'une toute petite pression pour rompre la vésicule amniotique entre 39 et 45 jours de gestation. Au fur et à mesure de l'avancée de la gestation, il devient de plus en plus difficile de rompre la vésicule amniotique. A 69 jours, la vésicule est relativement difficile à rompre, et une tentative de rompre la vésicule amniotique oblige à ce stade à endommager le rectum ou l'utérus (BALL L et CARROLL E.J, 1963 ; BESSOFF H, 1990).

On distingue trois manières de rompre manuellement la vésicule amniotique (BESSOFF H, 1990) :

- En rompant la vésicule amniotique et en écrasant le fœtus, entre 35 et 66 jours de gestation.
- En décapitant le fœtus, entre 66 et 120 jours de gestation.
- En rompant l'amnios sans écraser le fœtus, avant 70 jours de gestation.

A un stade de gestation tardif, pour examiner l'utérus dans sa totalité, il était possible de tirer sur ce dernier. Cependant, une étude a montré que cela augmentait la mortalité embryonnaire (FRANCO et al., 1987).

D'après BELLOWS et al (1975), la palpation de la vésicule amniotique (et la palpation transrectale en générale) entre 35 et 44 jours de gestation, était à l'origine d'atrésie ou de sténose du colon. Cette suspicion semble être confirmée par l'étude de NESS et al (1982).

Il paraît donc prudent d'attendre 45 jours de gestation avant de tenter un diagnostic de gestation par palpation transrectale (BESSOFF H, 1990).

En ce qui concerne le manipulateur, la technique n'est pas dangereuse à condition que la contention de l'animal examiné soit correctement réalisée.

B. SUCCUSSION ABDOMINALE

L'explorateur, placé du côté droit de la vache, prend appui de la main gauche sur l'angle externe de la hanche droite tandis qu'il applique le poing droit sur la partie inférieure de l'abdomen, juste en avant du grasset. Il imprime alors un mouvement brusque à la paroi abdominale de manière à refouler l'utérus et son contenu, puis il attend de manière à percevoir le choc « en retour » lié à la remise en place de l'organe. Cette méthode n'est positive qu'à partir du 6^e mois, mais son importance réside dans le fait qu'à ce stade-là, l'utérus et le fœtus sont très difficilement perceptible directement par palpation transrectale. Donc la succussion abdominale permet de mettre en évidence indirectement le fœtus (DERIVAUX J et ECTORS FF, 1980 ; ARTHUR et al., 1982).

Cette technique donne lieu à de nombreuses causes d'erreur dans le sens négatif surtout si la vache présente une adiposité très marquée. L'erreur positive pourrait survenir lors de tumeur abdominale (DERIVAUX J et ECTORS FF, 1980).

C. ÉCHOGRAPHIE (ULTRASONOGRAPHIE)

Le diagnostic de gestation par échographie repose sur la détection en premier lieu de la vésicule embryonnaire, liquidienne et anéchogène, puis plus tardivement de l'embryon lui-même, tache échogène au sein des liquides fœtaux (MERCIER PARISOT P et al., 1991).

1. Mise en place de l'examen échographique

a) La contention des animaux

Dans les stabulations entravées, il faut attacher les femelles aux cornadis, afin d'éviter d'éventuels déplacements latéraux au cours de l'examen. L'inconvénient de ce type d'attachement est que l'échographe doit être mobile. Cela rend l'examen plus laborieux, et surtout augmente les risques de malencontreux accidents que pourraient subir l'appareil échographique.

Si l'étable se dispose d'un couloir de contention les animaux sont introduits un à un, mais la meilleure façon c'est d'introduire la vache dans un « travail » ce qui limite ses mouvements.

b) Le choix du moment de l'examen :

En générale le diagnostic de gestation par échographie, est possible dès le 25^{ème} jour après insémination (Hanzen et Delsaux, 1987). Une évaluation de cette méthode a montré une excellente

sensibilité (diagnostiquer la vache comme gestante, quand elle est vraiment pleine) : plus de 95% au 26^{ème} jour après insémination (Filteau et DesCôteaux, 1998). Le choix du moment de l'examen échographique est basé sur les résultats de la valeur prédictive des non gestantes (fiabilité négative). C'est-à-dire que l'échographe détecte les vaches non gestantes, quand elles sont vraiment vides et qu'elles ne vèleront pas. L'utilisation de l'échographie au 28^{ème} jour après insémination donne une valeur prédictive très élevée : 95% pour le test négatif. Cette valeur augmente jusqu'à 98 voire 100% si l'examen serait fait après le jour 30 et jour 31 après insémination, respectivement (Filteau et DesCôteaux, 1998). Cette excellente caractéristique permet aux vétérinaires, de mieux planifier la synchronisation pour les vaches non gestantes le plus tôt possible pour faire recours à une nouvelle insémination en vue d'obtenir une vache gestante dans l'intervalle le plus court possible.

Il est à noter qu'il y a une différence dans le diagnostic précoce de gestation entre les génisses et les vaches. En effet les génisses sont diagnostiquées comme gestantes ou non plus précocement que les vaches. Cette différence est probablement due à la conformation et à la position anatomique de l'utérus. Certains auteurs parlent d'une relation négative entre l'âge de la vache et l'exactitude du diagnostic échographique de la gestation, par voie transrectale, au 4^{ème} semaine après insémination (CHAFFAUX et al., 1986; HANZEN et DELSAUX, 1987). Alors que, d'autres auteurs sont contre cette idée (BADTRAM et al., 1991).

c) **Déroulement de l'examen :**

Autre la voie transrectale, l'examen échographique peut être utilisé par voie vaginale (VERRIELE M, 1985), mais cette dernière est peu pratiquée.

L'examen échographique est préférable dans un local sombre pour éviter les rayons de soleil, car la lecture de l'écran cathodique est alors difficile (KAHN W, 1994).

L'opérateur muni d'un gant protecteur lubrifié, vide totalement le rectum de ses fèces ; car celle-ci (ainsi que les bulles de gaz qu'elles contiennent) empêchent la propagation des ultrasons (ce qui se traduit à l'écran, par l'apparition de bandes sombres) (TAINTURIER D et al., 1998).

L'opérateur palpe ensuite les différentes parties de l'appareil génital. Cette étape est primordiale : elle permet d'apprécier la position anatomique des différents éléments de celui-ci, d'avoir éventuellement une idée de l'état de gestation, voire de détecter des anomalies. Il faut tout d'abord repérer le col puis les cornes utérines. Si ces dernières plongent dans la cavité abdominale, on essaye de les regrouper dans la filière pelvienne. Pour faciliter l'examen, il est conseillé de regrouper les cornes utérines dans le creux de la main (BOYD J.S, 1995).

Dans un deuxième temps, la sonde est introduite dans le rectum. Dans le cas d'une sonde linéaire, il est conseillé de la tenir avec le pouce dans le creux de la main, les autres doigts regroupant l'appareil génital sous la sonde. La sonde doit être fermement plaquée contre le plancher du rectum. Dès lors, on essaie de visualiser les différentes structures en la faisant progresser dans le rectum (BOISSON B, 1992).

d) Les différentes structures visualisées

Tout d'abord, l'opérateur doit apercevoir la vessie, qui est anéchogène. Il faut bien différencier cette dernière du tractus génitale, par la forme en « poire » caractéristique de la vessie. En plus, il est conseillé d'utiliser la vessie comme repère pour atteindre l'embryon à l'intérieur de sa vésicule, entre le 19^e et le 25^e jour de gestation. Mais la mise en évidence de l'embryon entre le 30^e-45^e jour est difficile si la vessie est pleine, d'où l'importance de son vidange (BOYD J.S, 1995).

En faisant progresser la sonde, l'opérateur peut apercevoir le col de l'utérus. Il se distingue par des plis circulaires, et le canal cervical apparaît comme un fort écho linéaire central. La section de la paroi utérine apparaît en ton gris, avec une structure granuleuse variable. On voit souvent au centre, la muqueuse endométriale, étroitement accolée formant une ligne claire. Le corps et les cornes de l'utérus se voient immédiatement en avant sur la ligne médiale. Si la sonde est linéaire, les cornes utérines peuvent être coupées longitudinalement ou transversalement en inclinant d'un côté puis de l'autre la sonde (CHAFFAUX S et al., 1988 ; KAHN W, 1994) .

Les cornes utérines doivent être examinées systématiquement l'une après l'autre, et sur toute leur longueur.

L'étape suivante consiste à rechercher la vésicule embryonnaire liquidienne (donc anéchogène), de forme oblongue à circulaire, aux contours nets. Si la gestation est encore plus avancée, il est possible de mettre en évidence l'embryon sous la forme d'une tache échogène baignant dans la vésicule embryonnaire (CHAFFAUX S et al., 1988) .

2. Suivi de la gestation

On considère le jour 0 comme le jour de la fécondation.

- **0-5^e jour** : à l'aide d'une sonde de 5-7 MHz, on peut mettre en évidence un liquide dans la corne ipsilatérale du CJ : c'est le lait utérin qui attend l'embryon. Ce lait utérin peut persister d'ailleurs jusqu'au 6-7^e jour chez certaines vaches (BOYD J.S et al., 1988).
- **9^e jour** : la vésicule embryonnaire est détectée dans la corne ipsilatérale au CJ. Mais on peut la confondre avec de simple fluide intra-utérine (BOYD J.S et al., 1988 ; KASTELIC J.P et al., 1988).
- **11-12^e jour** : à l'aide d'une sonde de 5 MHz, on peut mettre en présence la vésicule embryonnaire chez la génisse. À ce stade, la vésicule embryonnaire mesure 2,5 mm en moyenne, et a une forme le plus souvent sphérique (2/3 des cas) qu'oblongue (1/3 des cas) (CURRAN S et al., 1986; PIERSON R.A et al., 1984).
- **13^e jour** : à l'aide d'une sonde de 7.5 MHz, on peut identifier une structure échogène de 2mm de long et de forme de virgule : c'est l'embryon (BOYD J.S et al., 1990).
- **15^e jour** : le diamètre de la vésicule embryonnaire est toujours de 2mm de large, mais elle occupe toute la longueur de la corne utérine ipsilatérale au CJ (CURRAN S et al., 1986).
- **16^e jour** : la vésicule embryonnaire atteint la corne utérine controlatérale (cf. figure 23) (CURRAN S et al., 1986).

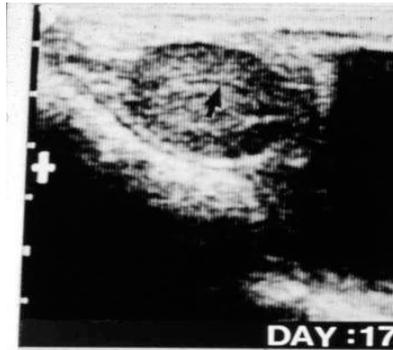


Figure 23. Image échographique d'une vésicule embryonnaire (flèche noire) chez une vache; le 17^{ème} jour après insémination (GINTHER O.J et PIERSON R.A, 1987)

- **19-20^{ème} jour** : à l'aide d'une sonde de 5 MHz, on peut mettre en évidence une protubérance de 2.9 ± 0.4 mm de long dans la vésicule embryonnaire à 19.7 jours, c'est l'embryon (CURRAN S et al., 1986).
- **20-21^{ème} jour** : à ce stade, l'embryon est détectable, il mesure environ 3.8 ± 0.3 mm de long (CURRAN S et al., 1986).
- **21-22^{ème} jour** : le battement cardiaque est décelable. Il se caractérise par un point qui clignote à l'écran. L'embryon mesure 6 mm (CURRAN S et al., 1986).
- **23^{ème} jour** : la colonne vertébrale de l'embryon et l'allantoïde sont repérables (cf. figure 24) (CURRAN S et al., 1986).

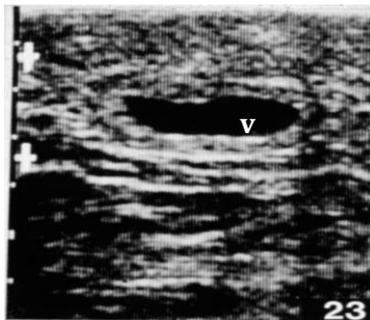


Figure 24 : Image échographique d'une vésicule embryonnaire (v) chez une vache; le 23^{ème} jour après insémination (GINTHER O.J et PIERSON R.A, 1987)

- **25-26^{ème} jour** : l'embryon prend une forme en « C » (cf. figure 25) (CURRAN S et al., 1986).

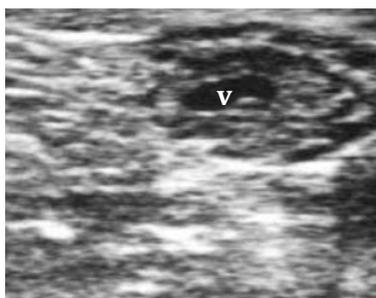


Figure 25 : Image échographique d'une vésicule embryonnaire (v) chez une vache; le 25^{ème} jour après insémination (LAMB GC, 2001)

- **27^e jour** : l'allantoïde est bien différenciable des autres structures à partir de ce stade, avec une sonde de 5 MHz (CURRAN S et al., 1986).
- **28^e jour** : la taille de l'embryon est de 9.5mm. Le diamètre de la vésicule est de 20mm environ, avec une sonde de 3.5 MHz (BOYD J.S et al., 1988 ; CHAFFAUX S et al., 1982).
- **29^e jour** : l'amnios est visible, ce qui permet de distinguer les membres postérieurs et les cavités orbitaires. À ce stade l'embryon mesure 14 mm de long (CURRAN S et al., 1986).
- **30^e jour** : les membres antérieurs peuvent être distingués du corps (cf. figure 26) (CURRAN S et al., 1986).

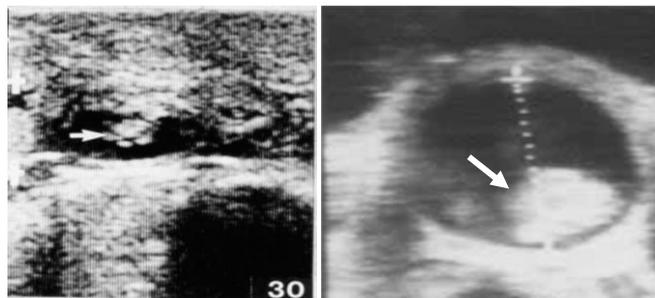


Figure 26. Images échographiques d'un embryon chez une vache (flèche blanche); le 30^e jour après insémination (GINTHER O.J et PIERSON R.A, 1987 ; LAMB GC, 2001)

- **31^e jour** : l'embryon atteint 15 mm de longueur (cf. figure 27)(CURRAN S et al., 1986).

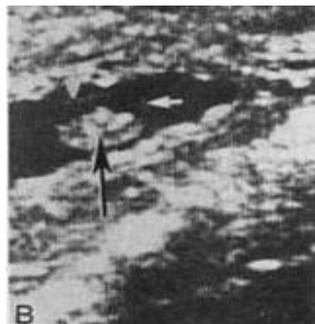


Figure 27 : Image échographique d'un fœtus chez une vache; le 31^e jour après insémination (flèche noire) entouré du liquide amniotique (flèche blanche) (KASTELLIC et al., 1988)

- **32^e jour** : l'embryon prend une forme en « L » (CURRAN S et al., 1986).
- **34^e jour** : l'embryon mesure 16.5mm. Les ébauches des membres antérieurs et postérieurs sont bien visibles (CURRAN S et al., 1986).
- **35^e jour** : les ébauches de cotylédons sont décelées. La vésicule mesure 30mm environ (cf. figure 28), avec une sonde de 3.5 MHz (CURRAN S et al., 1986 ; CHAFFAUX S et al., 1982).

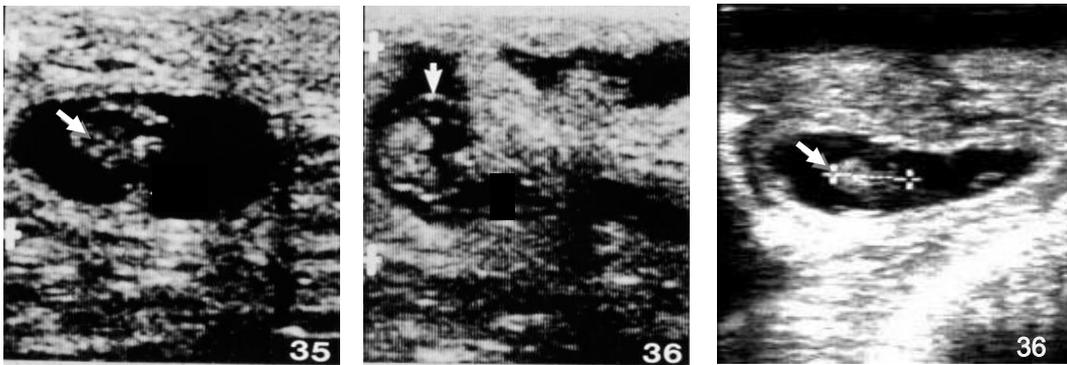


Figure 28. Images échographiques d'un fœtus (flèche blanche) chez une vache; le 35^e et le 36^e jour après insémination (GINTHER O.J et PIERSON R.A, 1987 ; LAMB GC, 2001)

- 38^e jour : l'embryon mesure 21mm (CURRAN S et al., 1986).
- 40^e jour : l'embryon mesure 22mm (cf. figure 29) ; la fente entre les onglon est visible (CURRAN S et al., 1986).



Figure 29 : image échographique d'un fœtus (flèche blanche) chez une vache; le 41^e jour après insémination (BOYD, J.S, 1991).

- 42^e jour : l'embryon mesure 23mm (cf. figure 30) (CURRAN S et al., 1986).



Figure 30 : fœtus (flèche blanches) dans le sac amniotique (flèche rouge), environ le 42^e jour après insémination (LAMB GC, 2001 ; DESCOTEAUX et al., 2006)

- 44^e jour : les mouvements du fœtus apparaissent (cf. figure 31) (CURRAN S et al., 1986).



Figure 31 : image échographique d'un fœtus chez une vache; le 44è jour après insémination (BOYD, J.S, 1991).

- **50è jour** : la vésicule mesure 42mm de diamètre avec une sonde de 3.5 MHz (cf. figure 32) (CHAFFAUX S et al., 1982).

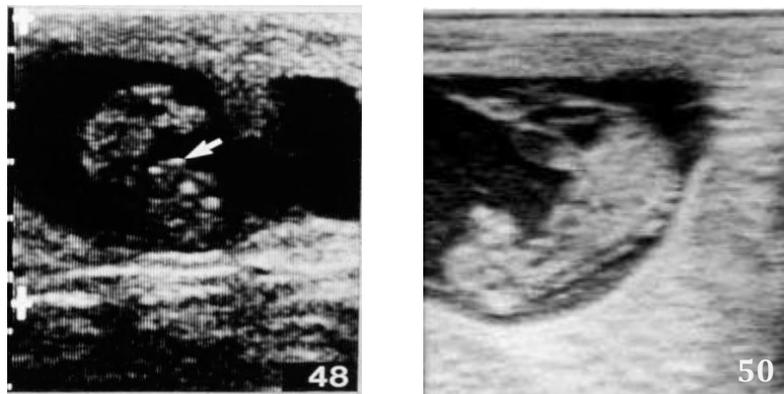


Figure 32. Images échographiques d'un fœtus chez une vache; le 48è et le 50è jour après insémination (GINTHER O.J et PIERSON R.A, 1987 ; LAMB GC, 2001)

- **51è jour** : le cordon ombilical est bien visible et son attache à la paroi utérine peut être mis en évidence (CURRAN S et al., 1986).
- **52è jour** : les côtes apparaissent (CURRAN S et al., 1986).
- **57è jour** : l'embryon mesure 53mm de long (CURRAN S et al., 1986).
- **60è jour** : l'embryon mesure 69mm de long (CURRAN S et al., 1986).

On résume les principaux événements dans le diagnostic de gestation dans le tableau suivant (cf. tableau 7).

3. Intérêts et limites de l'échographie

Selon différentes études, l'exactitude positive (sensibilité) se situe en général entre 94-100%. Quant à l'exactitude négative (spécificité), elle varie entre 70 et 100%, le plus souvent (LOUSSOUARN C., 1999).

Tableau 7 : le jour de la première détection du conceptus chez la vache à l'aide de l'échographie (CURRAN et al., 1986).

	1 ^{er} jour de détection	
Embryon	20.3	19-24
Battement cardiaque	20.9	19-24
Allantoïde	23.2	22-25
Cordon ombilical	29.1	26-33
Ébauches de membres antérieurs	29.1	28-31
Amnios	29.5	28-33
Orbite de l'œil	30.2	29-33
Ébauches de membres postérieurs	31.2	30-33
Ébauches de cotylédons	35.2	33-38
Fente entre les onglons	44.6	42-49
Mouvements du fœtus	44.8	42-50
Cotes	52.8	51-55

Entre le 14^e et le 25^e jour après insémination, le faux positif est élevée, car à ce stade la vésicule embryonnaire peut être confondue avec une accumulation de fluide intra-utérin (pathologique ou non), surtout si le cycle de la vache examinée est aux alentours de l'ovulation (lorsque on ignore la date d'insémination) (PIERSON et GINTHER, 1987 ; HANZEN C et LAURENT Y, 1991) .

Enfin, alors qu'on aurait besoin d'une image de qualité parfaite, il faut souligner le fait que cela n'est pas possible chez les bovins, car la vidange complète du rectum étant impossible, le contact entre la sonde et la muqueuse rectale est médiocre.

a) Influence de l'âge de la vache :

Le diagnostic de la gestation par l'échographie est plus difficile chez les vaches âgées, et le nombre de faux négatifs est affecté par l'âge de la vache. Aussi que l'exactitude de la gestation est inversement proportionnelle à l'âge de la vache ($r = 0.967$) (HUGHES E.A et DAVIES D.A.R, 1989 ; RAJAMAHENDRAN R et al., 1994). Alors que certains auteurs ne sont pas de cette avis (BADTRAM GA et al., 1991 ; HANZEN C et LAURENT Y, 1991).

Par exemple, au-delà de 7 ans, le diagnostic peut être difficile, chez certains animaux, même à 35 jours. A ce stade, HUGHES et DAVIES (1989) obtiennent une exactitude de 60 % sur des vaches de 8 ans et plus. Ils n'obtiennent une exactitude de 100 % qu'à 42 jours de gestation (6 semaines) (MIALOT J.P et al., 1991).

En outre, l'échographie est mal adaptée aux femelles âgées sur le plan technique. En effet, l'utérus de ces dernières bascule souvent dans l'abdomen, sans compter que les cornes utérines sont très longue et ptôsées (CHAFFAUX S et al., 1988). L'examen du tractus génital devient alors très difficile, ce qui déprécie l'exactitude positive et la fiabilité négative.

b) Influence de l'opérateur :

Le diagnostic de gestation par échographie présente le désavantage de nécessiter une certaine dextérité, comparé par exemple à une simple prise de sang en vue d'un dosage de progestérone. C'est pourquoi, il paraît évident que la fiabilité et l'exactitude soient variables selon l'opérateur (HANZEN C et DESLSAUX B, 1987 ; RAJAMAHENDRAN R et al., 1994).

Cependant dans certaines études, faisant intervenir plusieurs opérateurs, les auteurs ne notent pas de différence entre les opérateurs (BADTRAM GA et al., 1991).

Donc, il semble que cette variation de l'exactitude et de la fiabilité entre 2 opérateurs, s'estompe dès que ceux-ci ont un minimum d'expérience.

c) Influence de la sonde :

La fiabilité et l'exactitude semble varier du type de sonde utilisée (sectorielle ou linéaire) et de la fréquence des ultrasons. Par exemple, les sondes de 3 à 3.5 MHz ne fournissent un degré d'exactitude convenable qu'à partir du 45^e jour après insémination. Il est préconisé plutôt l'utilisation des sondes de 5 et 7.5 MHz (KASTELIC J.P, et al., 1989 ; RAJAMAHENDRAN R et al., 1994).

Cependant, SZENCI et al. (1995), estiment que l'on peut pratiquer un diagnostic précoce de gestation par échographie, avec une sonde sectorielle de 5 MHz dès le 27^e jour (sensibilité = 97.4% ; spécificité = 91.7%) ; et avec une sonde linéaire de 7.5 MHz dès le 34^e jour (sensibilité = 96.6% ; spécificité = 100).

d) Influence de la position de l'utérus :

Comme en a vu dans l'influence de l'âge, la position de l'utérus dans la filière pelvienne peut influencer l'incidence des faux négatifs, notamment entre 24 et 33 jours après insémination, quand l'utérus est loin du bord pelvien), en plus il est déconseillé de tirer sur l'utérus car cela provoquerait des mortalités embryonnaires (HANZEN C, DELSAUX B, 1987 ; SZENCI et al., 1995).

e) Influence de la mortalité embryonnaire :

SZENCI et al. (1995), considèrent que la forte proportion de faux positifs au cours de leurs études expérimentales serait principalement liée à la mortalité embryonnaire.

f) Innocuité :

Pour l'animal, l'échographie est relativement peu invasive, et semble dépourvue de quelconques effets néfastes puisqu'il n'y a pas d'effets biologiques décelés sur des tissus aux fréquences et intensités utilisées en échographie médicale (PELZER S, 1985).

Pour l'embryon, COULTHARD (1994), a noté au cours de suivis échographiques de transferts d'embryon que le taux de la mise-bas s'est avéré très élevé. Une autre équipe de recherche (MEE et al., 1994), rejoint les conclusions de ce dernier, en soulignant l'augmentation anormale de mortalités embryonnaires chez des femelles échographiées entre 25-45 jours après insémination.

Cependant, BAXTER et WARD (1997) ont montré que le diagnostic de gestation par échographie, pratiqué entre 30 et 40 jours de gestation, n'a aucune influence sur la mortalité embryonnaire. De même, BALL et LOGUE (1994) ne notent pas de différence de ce taux entre des animaux échographiés entre 28 et 42 jours avec ceux qui ne sont pas échographiés pendant cette période.

L'échographe est sans danger pour le manipulateur, du moins si la contention des animaux examinés est correctement réalisée.

g) Autres intérêts :

• **Viabilité du fœtus :**

L'un des atouts majeurs de cette méthode est qu'elle permet de visualiser directement le conceptus, et non pas de mettre en évidence un simple signal de gestation (dosage hormonal). Elle permet ainsi, de contrôler directement la viabilité du conceptus.

Pour cela, il suffit de contrôler l'existence de battements cardiaques (apparaissant vers le 21-22^e jours). En plus la mortalité embryonnaire est souvent accompagnée d'une diminution du volume liquidien de la vésicule, et d'une augmentation de l'échogénicité de la masse embryonnaire (CURRAN S et al., 1986).

• **Gestation gémellaire :**

En visualisant le conceptus, l'échographie permet de dénombrer les fœtus chez une vache gestante (cf. figure 33)

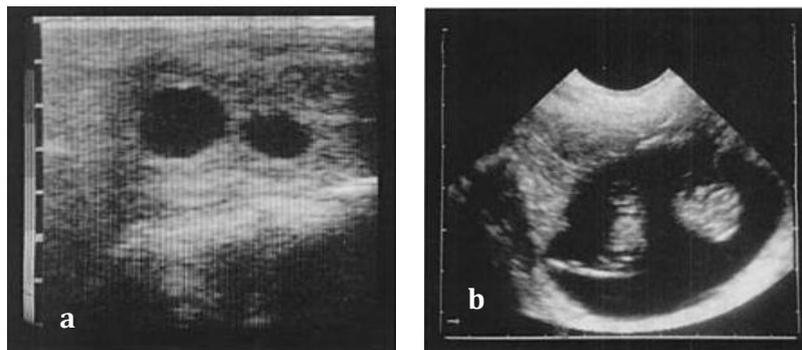


Figure 33 : Dans l'image (a) : deux vésicules embryonnaires (en noir) à J15. Dans l'image (b) : deux embryons à J37 après insémination (WOLFGANG K, 2004).

• **Age du fœtus :**

L'échographie est intéressante dans la détermination de l'âge du fœtus, et ce, de façon plus précise que la palpation transrectale (HANZEN C, DELSAUX B, 1987 ; HUGHES E.A et DAVIES D.A.R, 1989).

- **Détermination du sexe du fœtus :**

Dans ce domaine, l'échographie est en plein essor. La connaissance du sexe permet à l'éleveur une meilleure conduite du troupeau (surtout en troupeaux laitiers pour mieux gérer le repeuplement des femelles)

4. Exactitude des résultats

a) Faux positifs :

Plusieurs facteurs pathologiques ou non peuvent influencer l'exactitude des résultats, les plus rependus sont :

- **Sécrétions œstrales**

Le diagnostic de gestation peut être faussement positif en présence de sécrétions dans l'utérus, qui peuvent être confondues avec la vésicule embryonnaire. Ces sécrétions peuvent être de nature œstrale, ou inflammatoire lors de métrite (HANZEN C et LAURENT Y, 1991 ; MERCIER PARISOT P, et ., 1991).

- **Métrites purulentes**

Lors d'infection utérine, le liquide contenu dans la corne présente un piqueté blanchâtre comme des flocons de neige.

- **Mortalité fœtale**

Lors de mortalité fœtale, la pression des liquides fœtaux à l'intérieur des enveloppes placentaires diminue, et les coupes de cornes paraissent peu dilatées (MERCIER PARISOT P, et ., 1991).

- **Hydrosalpinx**

L'hydrosalpinx se traduit par des coupes dilatées par l'abondance du liquide exsudé. L'image échographique est très voisine de celle observée en début de gestation. L'absence de fœtus, et la position très distale de ce renflement qui inclut parfois l'ovaire, permettent le diagnostic différentiel (MERCIER PARISOT P, et ., 1991).

- **Follicule ovarien**

La vésicule embryonnaire peut être confondue avec un follicule ovarien. Cette erreur est courante lorsque le diagnostic de gestation est effectué avant J35. En effet, si la sonde est mal orientée, le faisceau d'ultrasons peut couper l'ovaire. Le follicule à une forme sphérique, son diamètre moyen dépasse rarement 15 mm. Le liquide folliculaire est anéchogène. Le follicule peut ainsi être confondu avec une jeune vésicule embryonnaire, mais il n'est pas entouré d'une paroi (DECANTE F, 1990).

b) Faux négatifs :

Un faux diagnostic négatif peut être dû à une position excentrée de l'appareil génital dans la filière pelvienne. La corne gravide n'est alors pas détectée. Il peut également être causé par un allongement des cornes loin dans l'abdomen (vache âgée). Une gestation précoce se développant dans une position distale de l'appareil génital est alors plus difficilement observée si l'animal est très contracté (MERCIER PARISOT P, et ., 1991).

En plus lors du diagnostic précoce, le pourcentage le plus élevé des faux négatifs est due aux mortalités embryonnaires (SZENCI et al., 1995) .

III. Méthodes de laboratoire

La mise en évidence de la gestation peut passer par le dosage de certaines molécules. Ces dernières peuvent être divisées en 2 catégories : les substances spécifiques de la gestation (bPSPB, bPAG, PSP60), et les substances non caractéristiques de celle-ci (Progestérone).

Les premières sont directement sécrétées par le conceptus, ce qui signifie qu'un dosage qualitatif est suffisant pour diagnostiquer une gestation. Par contre les secondes sont sécrétées par la mère, mais toujours pendant une plus longue période pendant la gestation ; d'où la nécessité d'un dosage quantitatif à un moment bien déterminé.

A. DOSAGE DE LA PROGESTÉRONE

1. Rappel sur la variation de la concentration de progestérone au cours du cycle œstrale et au cours de la gestation

a) Définition du cycle œstral :

Le cycle œstral est la période délimitée par deux œstrus consécutifs. Sa durée est très variable d'un individu à un autre (cf. tableau 8), mais dans les conditions physiologiques elle reste identique pour chaque animal (BONNES G et al., 1988)

Tableau 8: Durée des chaleurs dans l'espèce bovine (BONNES G et al., 1988)

	Durée moyenne	Extrêmes
Vache	21 jours	18-25 jours
Génisse	20 jours	14-25 jours

b) Œstrus –ovulation

L'œstrus correspond à la période d'acceptation du mâle ; elle est encore appelée période des chaleurs. La vache manifeste ces chaleurs par différents signes, dont le plus caractéristique est l'acceptation du chevauchement par une congénère. Le jour où apparaissent pour la première fois ces signes est considéré comme le premier jour du cycle œstral (J0). Les chaleurs ont une durée relativement courte chez la vache (environ 15 heures, avec des extrêmes allant de 6 à 24 heures), ce qui complique leur détection (DOBOSON H et al., 1973 ; LEMON M et THIMONIER J, 1973).

Pendant la durée de l'œstrus, la progestéronémie est très basse (< 0.1-0.5 ng/ml). Au niveau de l'ovaire, a lieu la maturation de plusieurs follicules pendant cette période (WISHART D.F et al., 1975).

Dans les 6-12 heures qui suivent la fin de l'œstrus, survient l'ovulation : c'est le début du cycle sexuel. C'est un processus spontané chez la vache. Les génisses ont tendance à ovuler plus prématurément que les multipares.

L'expulsion de l'ovule entraîne une légère hémorragie. Le sang va alors envahir la cavité folliculaire (DOBOSON H et al., 1973).

c) Métoestrus :

Cette période fait immédiatement suite aux chaleurs. Elle dure 4 jours environ, s'étalant de J2 à J6. Elle correspond à la formation du CJ. Ce dernier est formé de la coagulation du sang dans cette cavité, ainsi que la prolifération cellulaire. Ces cellules lutéales dérivent de la granulosa et de la thèque interne du follicule (HANSEL W et al. 1973 ; HARTIGAN P.J, 2004).

Les cellules provenant de la granulosa se transforment en cellules lutéales fonctionnelles vers le 4^e jour du cycle, mais ne subissent pas de division ultérieure. Ainsi, c'est à partir de ce 4^e jour que la progestéronémie commence à s'accroître (HARTIGAN P.J, 2004).

Les petites cellules lutéales, issues de la thèque interne, vont, elles, se multiplier par la suite, pour se transformer en grandes cellules lutéales, qui sont les principales responsables de la croissance du CJ, après le 4^e jour. C'est la lutéogénèse ou phase de croissance (HARTIGAN P.J, 2004).

d) Dioestrus :

Le dioestrus correspond à la période d'activité du CJ, et donc, sa durée (10-11 jours) est directement liée à la durée de vie du CJ; elle s'étend donc de J6 à J17. Cette phase de maintien du CJ est encore dénommée la lutéotrophie (STABENFELDF G.H, 1974).

La progestéronémie va continuer à augmenter (proportionnellement à la taille du CJ) jusqu'à atteindre et se maintenir à 4-10 ng/ml entre J10-J17 selon les auteurs. S'il n'y a pas de fécondation, le corps jaune va régresser, ce qui correspond à la lutéolyse. La progestéronémie va alors s'effondrer (vers J18 après ovulation) (HARTIGAN P.J, 2004).

e) Proœstrus :

C'est la phase précédant l'œstrus. Elle se situe entre J17 et J19. Elle est caractérisée par une reprise marquée de l'activité de la fonction de reproduction. Il y a une croissance folliculaire et une régression du CJ. La progestéronémie reste à un seuil très bas (HARTIGAN P.J, 2004).

2. Principe des dosages de la progestérone :

Une vache gestante est caractérisée par la disparition de toute cyclicité œstrale. Le taux de progestérone dans le sang reste élevé durant toute la gestation, et n'est plus soumis aux variations œstrus - anoestrus. Ce taux constant de progestérone est assuré par la persistante du corps jaune gestatif (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

Lorsque la vache est gestante, le taux de progestérone augmente généralement 10 jours après l'ovulation et se maintient à ce niveau durant toute la période de gestation, alors que chez les non gestantes le taux de progestérone chute au 17^e jour du cycle (cf. figure 34) (HUMBLOT P et THIBIER M, 1984).

Le diagnostic va donc consister à doser l'hormone à jour fixe, c'est-à-dire à un moment où il y a une différence de concentration selon que la femelle est vide ou gestante. Ce moment, c'est entre le 21^e et le 24^e jour de gestation après l'insémination (cf. figure 34). À cette date, les femelles vides reviennent en effet en chaleur et leur taux de progestérone chute rapidement. (HUMBLOT P et THIBIER M, 1984 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004) :

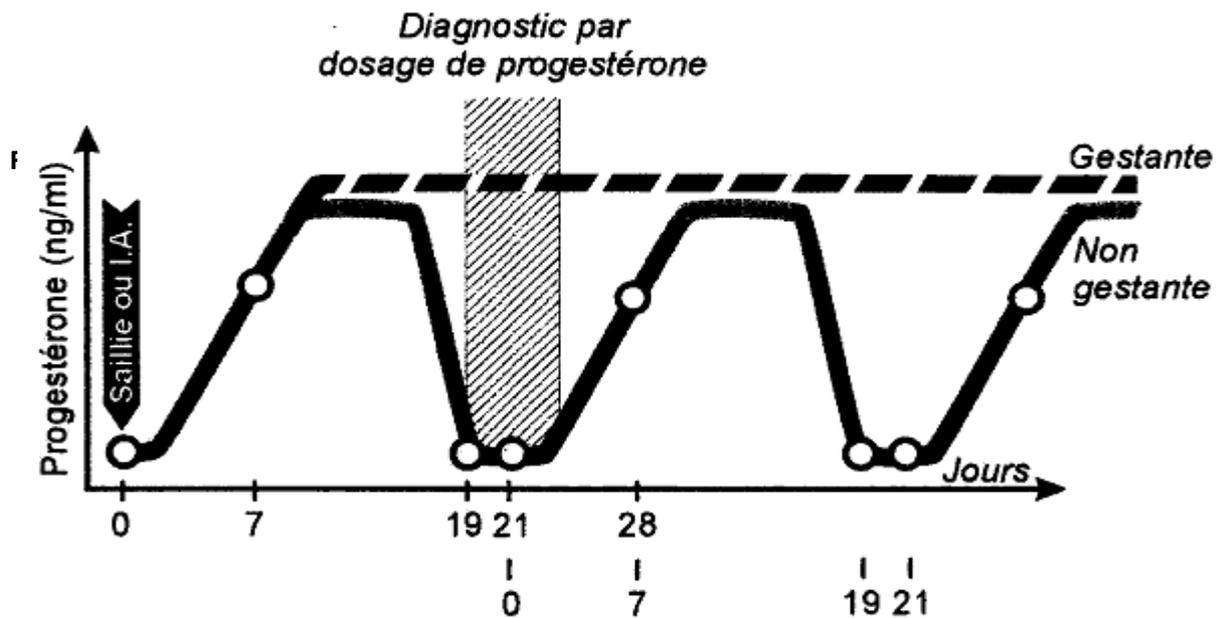


Figure 34 : diagnostic précoce de gestation par dosage de progestérone (période de prélèvement par rapport au cycle œstral) (HUMBLOT P et THIBIER M, 1984).

a) Principe du dosage de progestérone dans le sang

C'est dans le sang que la progestérone a été recherchée en premier. Sa concentration y est remarquablement stable physiologiquement sur des périodes de temps brèves (quelques heures) en raison de la présence de protéines plasmatiques de mise en réserve. Par contre, le dosage dans ce milieu offre des inconvénients : il est techniquement complexe (la présence des protéines de mise en réserve nécessitant une extraction) et la concentration devient très instable dans le sang total après le prélèvement (concentration de départ divisée par deux au bout de 8 heures, puis multipliée par 1,5 au bout de 48 heures). Ces modifications sont liées à la présence des globules rouges et consistent en une conversion réversible en 20- α -hydroxyprogestérone (GARNIER F, 1985).

La température joue un rôle dans la dégradation de la progestérone. Ainsi plus la température est élevée, plus la dégradation de la progestérone, dans le sang totale, est rapide (VAHDAT F et al, 1981).

L'hormone n'est plus dégradée après centrifugation : la concentration de la progestérone dans le plasma ou le sérum reste stable au cours du temps (VAHDAT F et al, 1981 ; CHOI H.S et al., 1989).

Pour que les conditions de prélèvement et de conservation avant analyses, soient excellentes, deux possibilités sont envisageables :

- Une fois le sang est prélevé (dans un tube avec anticoagulants), il est conseillé de le centrifuger dans l'heure qui suit, ou si ce dernier a été réfrigéré, dans les heures qui suivent. En plus il est conseillé de doser la progestérone dans le plasma plutôt que dans le sérum, car il semble que le volume variable du liquide récupéré peut entraîner une variation de la concentration en progestérone. C'est pourquoi il est préférable de prélever le sang sur des tubes contenant des anticoagulants.

Le choix de l'anticoagulant ne modifie pas les résultats de dosage, car la dégradation de la progestérone étant similaire entre les tubes héparinés et ceux contenant de l'E.D.T.A (Acide Éthylène Diamine Tétracétique) (THIBIER M, 1983. VAHDAT F et al, 1981).

- Il est possible aussi, d'utiliser des tubes contenant un conservateur, l'azide de sodium à la concentration de 5 mg/ml dans chaque tube contenant un anticoagulant. Ce qui assure une conservation de 90% de la progestérone pendant 4 jours, si le prélèvement est stocké à +4°C. la centrifugation peut alors être différée de 7 jours (au maximum).

Dans ce cas, il faut signaler que l'addition de ce conservateur seul, sans anticoagulant n'est pas suffisant (THIBIER M, 1983. VAHDAT F et al, 1981).

b) Principe du dosage de la progestérone dans le lait

Il existe un parallélisme entre la concentration de progestérone dans le plasma et le lait d'un même animal, avec cependant un retard de 24 à 48 heures pour la chronologie de variation dans le lait par rapport au plasma, ainsi qu'une concentration plus élevée dans le lait ; cette concentration passe de 2 ng/ml sitôt l'ovulation à 20 ng/ml le 17^{ème} jour du cycle (cf. figure 35). Le dosage dans ce milieu présente un avantage : il est direct en raison de l'absence des protéines de mise en réserve. Par contre, il offre l'inconvénient de présenter de grosses fluctuations, liées en fait aux variations de taux butyreux (la progestérone est en effet très liposoluble), et de la concentration de matières azotées, d'où l'influence de la race, le moment de la traite (La concentration est en effet plus élevée lors de la traite du soir que du matin), elle varie même au cours d'une même traite.

Mais en générales l'influence de la race, de la saison, le moment du prélèvement et même de mammite n'ont aucune incidences significative sur l'exactitude et la fiabilité de cette méthode de diagnostic de gestation (THIBIER M, 1980 ; GARNIER F, 1985 ; SOLTNER D, 2001 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

3. Les tests utilisés et leur mise en œuvre

Le dosage de la progestérone dans le sang ou le lait chez la vache a d'abord été réalisé par radio-immunologie (RIA), technique très fiable, mais nécessitant un équipement coûteux. Le développement de nombreux tests rapides (immuno-enzymatiques : méthode ELISA), utilisables sur

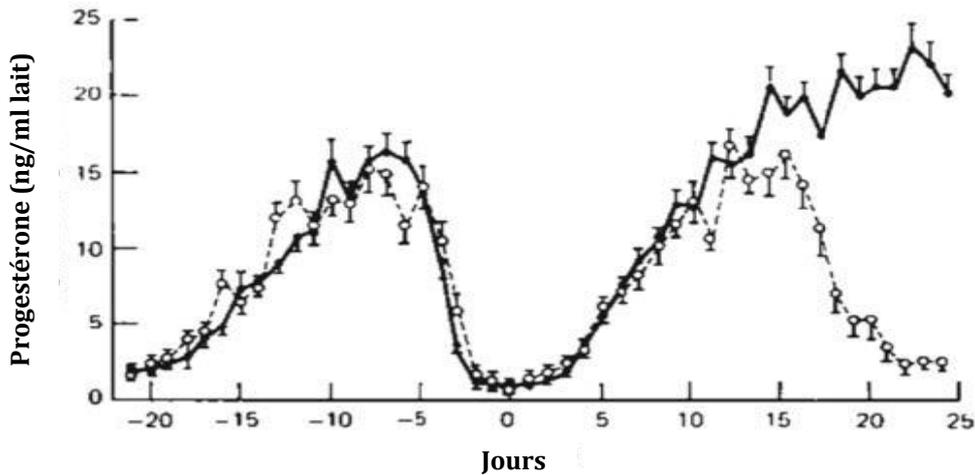


Figure 35 : La concentration de la progestérone dans le lait avant et après première insémination (jour 0) après vêlage chez les vaches dont l'insémination a été fécondante(●) ou non fécondante (○). Chaque point est la moyenne de 40 observations (BULMAN et LAMMING, 1978).

le terrain, permet désormais d'apprécier facilement le taux de progestérone dans un échantillon de lait ou de sang.

a) La radio-immunologie :

Cette technique repose sur le principe de la relation Antigène-Anticorps (Ag-AC). En effet, l'injection de progestérone bovine chez un lapin entraîne l'élaboration des anticorps (Ac) spécifiques de cette hormone (THIBIER M et al., 1973).

Selon une quantité connue, ces Ac sont déposés dans un tube auquel on rajoute le prélèvement à dosé (lait ou plasma). On s'arrange pour que la quantité soit très importante de sorte qu'il reste toujours des Ac libres quelle que soit la concentration en progestérone du prélèvement. Ceci permet de saturer les Ac restés libres avec la progestérone marquée (H^3 ou I^{125}). L'excès d'hormone radioactive libre est ensuite séparé des complexes Ag-Ac selon divers procédés (migration électrique, absorption sur un substrat solide comme le charbon dextran ou aspération).

L'étape suivante consiste à compter la radioactivité de la fraction Ag-Ac, de la fraction progestérone marquée restée libre ou celle restée liée. Ce comptage est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre à scintillation liquide. Le nombre de désignations par minute ainsi mesuré est alors reporté sur une courbe étalon qui permet de déterminer le taux de progestérone du prélèvement testé (THIBIER M et al., 1973 ; EL AMIRI B, 2008).

Ce test de dosage ne peut malheureusement que s'effectuer dans des laboratoires spécialisés ; car d'une part, il requiert du matériel sophistiqué ; d'autre part, il fait appel à la manipulation d'éléments radioactifs.

Pourtant la radio-immunologie demeure la méthode de référence vis-à-vis du dosage de progestérone puisqu'elle est sensible, spécifique, reproductible, et fiable, et qu'elle permet un dosage quantitatif (THIBIER M et al., 1973 ; EL AMIRI B, 2008).

b) La méthode immuno-enzymatique :

La méthode immuno-enzymatique (encore appelée ELISA = Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay) repose sur le principe de la fixation d'une enzyme sur un AC ou Ag. Par exemple, dans le cas d'une technique ELISA par compétition, on utilise des cupules sensibilisées par des anticorps anti-progestérone (cf. figure 36). En déposant l'échantillon de lait/sang dans la cupule, la progestérone contenue dans le lait/sang se fixe aux anticorps, et se dépose donc au fond de la cupule.

On introduit ensuite un conjugué progestérone-enzyme qui vient se fixer sur les sites anticorps libres. Plus le lait est pauvre en progestérone, et plus la quantité d'enzyme fixée aux anticorps est importante. L'introduction du substrat de l'enzyme et d'un chromogène permet de mettre en évidence le taux de progestérone par une réaction colorimétrique (GROVES et al., 1990 ; SOLTNER D, 2001).

Les kits de dosage rapide disponibles sur le marché utilisent différents supports: bandelettes (Kit BOVITEST®, Clonatec-Santel), cupules (Kit RPT®: Rapide Progestérone Test, Rhone-Mérieux), tubes ou bâtonnets. Ils sont faciles d'utilisation, et le résultat est connu en quelques minutes (5 à 15 minutes selon les tests). Comparés aux tests réalisés en laboratoire qui nécessitent plusieurs heures voir des jours. Donc les kits apportent un gain de temps considérable.

Il faut noter que, les kits rapides peuvent être réalisés à partir de lait ou de sang.

4. Date optimale pour réaliser le test

a) Dosage dans le sang :

Chez la vache à cycle normal, le taux de progestérone chute le 17^e jour du cycle, alors que chez la vache à cycle long cette hormone chute le 19^e jour. Ensuite elle augmente vers le 25^e jour du cycle. Donc de point de vue économique, il est préférable de réaliser le dosage de la progestérone après l'observation du non-retour en chaleurs le 21^e et le 22^e jour du cycle. Comme ça le dosage est recommandé entre le 23^e et le 24^e jour.

Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine jugulaire ou coccygienne dans des tubes héparinés, ensuite centrifuger à 1500-3000 tours par minute pendant 20 min. Plasma et sérum seront ensuite conservés à -20°C jusqu'au jour d'analyse. Enfin pour les décongeler, il faut mettre les prélèvements dans un bain-marie à 35 °C pendant 10 minutes (J.E. ROMANO, 2004 ; Marcos G et al., 2008). La lecture des résultats se fait selon le tableau suivant :

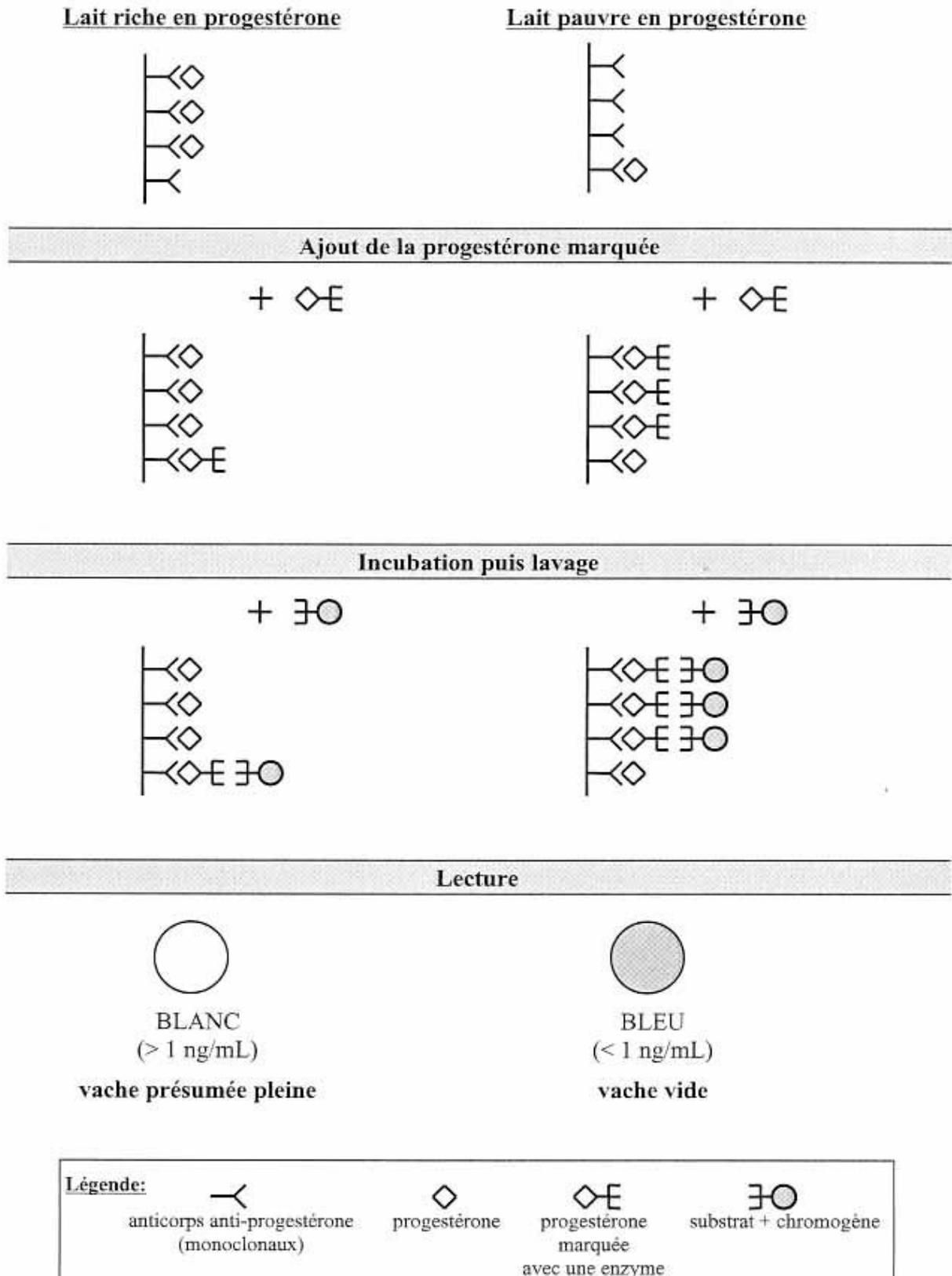


Figure36 : principe du dosage de la progestérone par méthode ELISA (GROVES et al., 1990).

Tableau 9 : dosage de la progestérone dans le sang (GARNIER F, 1985):

Taux de progestérone	Conclusion
< 1 ng/ml	Non gestation
1 à 2 ng/ml	Douteux
> 2 ng/ml	Gestation possible (corps jaune fonctionnel)

Puisque la progestérone est surtout un diagnostic de non gestation, dans le cas d'un résultat positive (> 2 ng/ml) entre le 23^e et le 24^e jour du cycle, il est recommandé de refaire le diagnostic dans le cycle suivant. Alors que la valeur critique pour retenir le diagnostic de gestation au 17^e jour serait de 9 ng/ml (ELLENDORFF et al, 1976 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

b) Dosage dans le lait :

Les fluctuations liées au taux butyreux peuvent être minimisées en effectuant le recueil de l'échantillon dans les conditions les plus codifiées possibles. En général, le prélèvement de lait a lieu lors de la traite du matin et en début de traite, de façon à obtenir un taux butyreux le plus faible possible. Avant le prélèvement, on prendra soin d'éliminer les premiers jets de façon à bien obtenir du lait de mélange citernal, en plus il est conseillé d'utiliser du lait de mélange des quatre quartiers. Mais il est surtout recommandé d'ajouter à chaque échantillon un conservateur tel que l'acide borique afin de prévenir la dégradation de la progestérone dans le lait (GINTHER O.J, 1986 ; TAINURIER D et al., 1988).

Il est possible de faire le dosage le 18^e ou le 19^e jour après insémination, pour savoir s'il y a eu ou non une fécondation (cf. tableau 10). En cas d'échec (taux de progestérone faible) on surveille la réapparition des chaleurs. En cas de taux élevé il est recommandé de renouveler le test à 23-24 jours. Donc économiquement parlant cette date n'est pas le meilleur choix, c'est pour ça on recommande la date de 23 ou 24 après insémination. Dans ce cas, la gestation doit être à nouveau confirmé par échographie ou par palpation rectale à 60-90 jours, car dans 15 à 20% des cas, il y a mort embryonnaire (SOLTNER D, 2001).

Tableau 10 : dosage de la progestérone dans le lait (GARNIER F, 1985):

Taux de progestérone	Conclusion
< 3 ng/ml	Non gestation
3 à 8 ng/ml	Douteux
> 8 ng/ml	Gestation possible (corps jaune fonctionnel)

5. Exactitude des résultats

Les tableaux 9 et 10 Montrent que, lorsque la concentration de la progestérone est basale (< 1 ng/ml dans le sang et < 3 ng/ml dans le lait), la vache est considérée comme non gestante avec certitude (faux négatif faible). Alors que lorsque cette concentration est élevée (> 2 ng/ml dans le

sang et > 8 ng/ml dans le lait) la vache est probablement gestante (faux positif élevé). Donc la progestérone n'est pas spécifique à la gestation (secrétée par le CJ cyclique et le CJ gestatif).

Un résultat positif permet de conclure que la vache est gestante avec une fiabilité de 75 à 85 %. Un résultat négatif permet d'affirmer que la vache est vide avec une fiabilité proche de 100 % (95 à 98 % de fiabilité) (HUMBLLOT P et THIBIER M, 1984 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

Plusieurs facteurs affectent la certitude des résultats positifs, ce qui augmente les faux positifs (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004) :

- La vache est probablement non gestante mais la durée de vie du CJ est prolongée pour quelques raisons, tels que les infections utérines (métrite 3^{ème} degré, pyromètre).
- La vache aurait été inséminée à un moment non opportun (durant la phase lutéale). Donc au moment du dosage, la vache est probablement dans la phase lutéale du cycle suivant et la progestérone est normalement élevée (cf. figure 37). De ce fait, un prélèvement au moment de l'insémination peut aider à confirmer s'il était le bon moment pour inséminer, en plus il renforce la certitude du diagnostic de gestation dans le cycle suivant (si le taux de progestérone était élevé) (cf. figure 38).
- Le diagnostic peut être exacte (vache gestante), mais la vache peut être sujette à une résorption embryonnaire dans les jours qui suivent. (cf. figure 39). Parfois même un autre dosage le 42^e jour après insémination ne peut pas mettre en évidence cette mortalité embryonnaire, surtout dans le cas où un autre cycle est déclenché et le test a été fait durant la phase lutéale (cf. figure 40).
- Un autre problème de reproduction, tels qu'un kyste folliculaire lutéinisé, peut donner un taux élevé de progestérone le jour du diagnostic.
- En fin, un cycle plus court ou plus long que la durée normale peut-être responsable d'un taux de progestérone anormalement élevé lors du test.

Pour résumé, 75 à 85% du diagnostic positif de gestation entre le 21^e et le 24^e jour après insémination semble qu'il est certain, c'est-à-dire que la vache donnera naissance à un veau viable. Alors que 15 à 25% des vaches avec un taux de progestérone élevé entre le 21^e et le 24^e jour, ne vèlera pas par la suite, c'est-à-dire un faux positif.

En revanche, un taux faible de progestérone entre le 21^e et le 24^e jour après insémination indiquant que la vache est non gestante, il semble qu'il est juste dans 100% des cas. La vache parfois ne peut pas maintenir la gestation et elle retourne normalement en chaleur (cf. figure 41), ou peut-être elle a les ovaires lisses (inactivité ovarienne), ou même des kystes folliculaires (cf. figure 42), donc aucune progestérone n'est produite. Un autre type de kystes folliculaires peut produire une quantité très faible de progestérone, donc le taux de la progestérone sera faible le jour de son dosage (cf. figure 43) (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

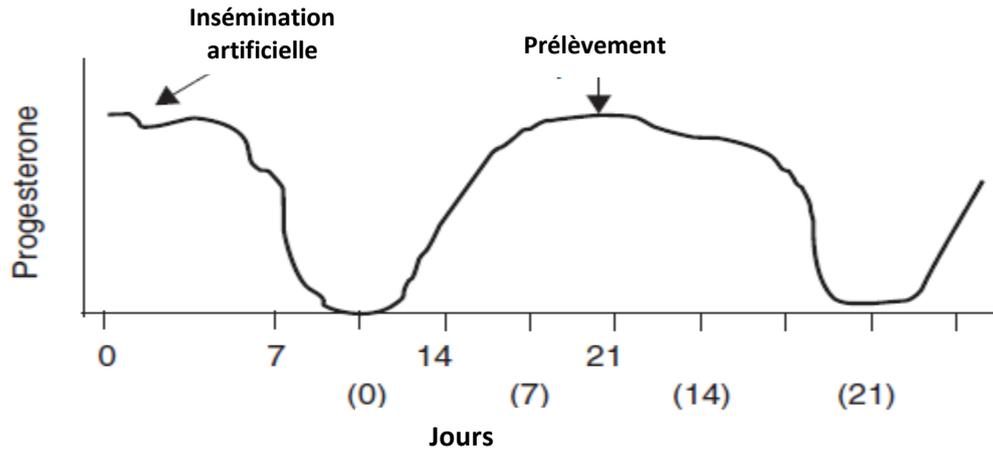


Figure 37: Représentation schématique du faux positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

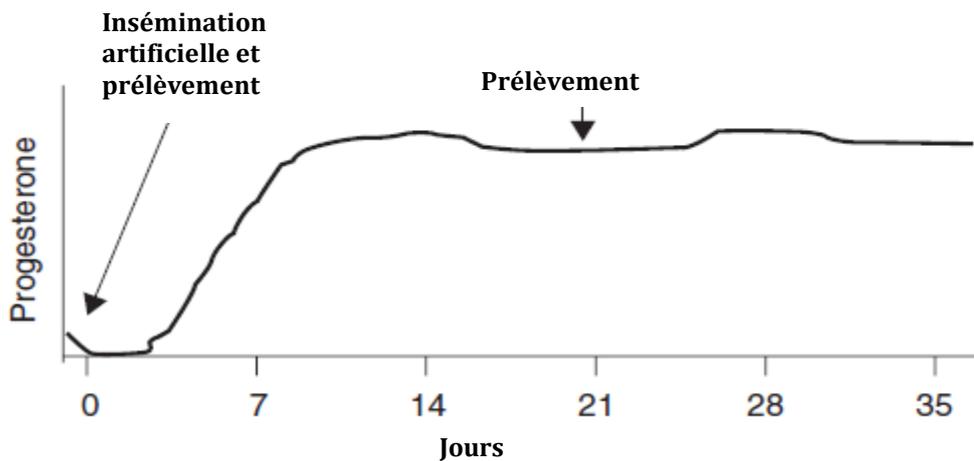


Figure 38: représentation schématique du vrai positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

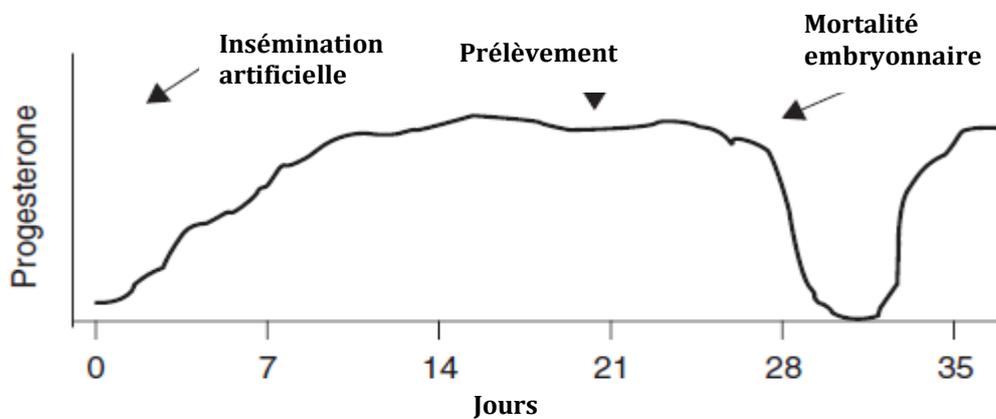


Figure 39: Représentation schématique du vrai positif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez la vache qui avait perdu son embryon après le 1^{er} dosage (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

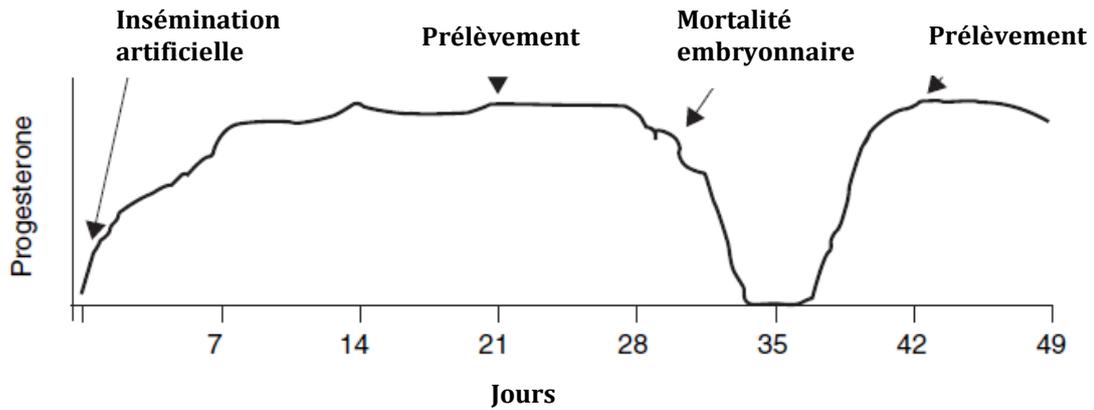


Figure 40: Représentation schématique du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, dans le cas où le 2^{ème} dosage ne peut pas mettre en évidence la mortalité embryonnaire (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

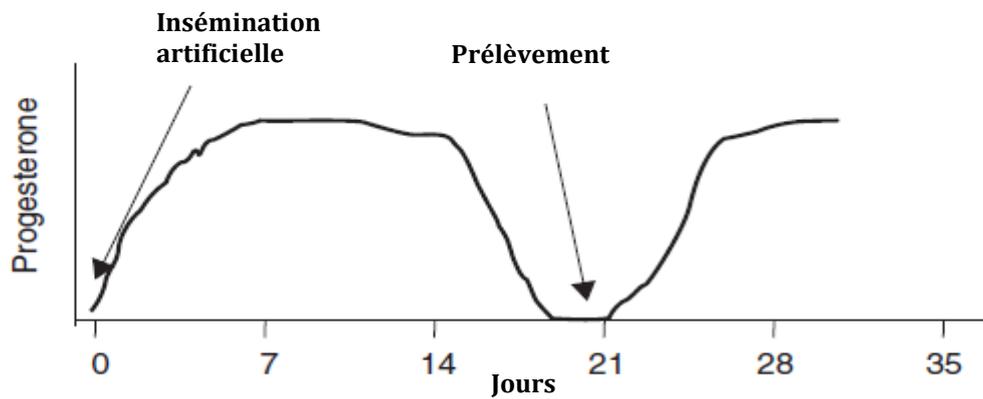


Figure 41: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

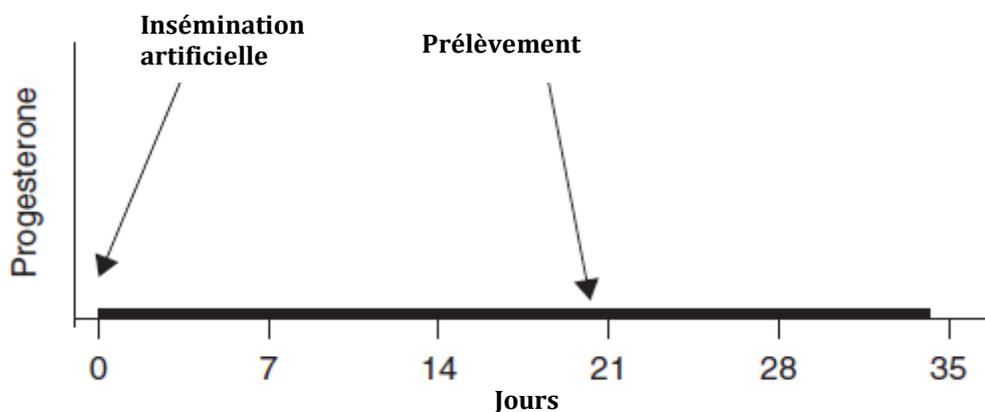


Figure 42: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez une vache avec inactivité ovarienne ou kystes folliculaires (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

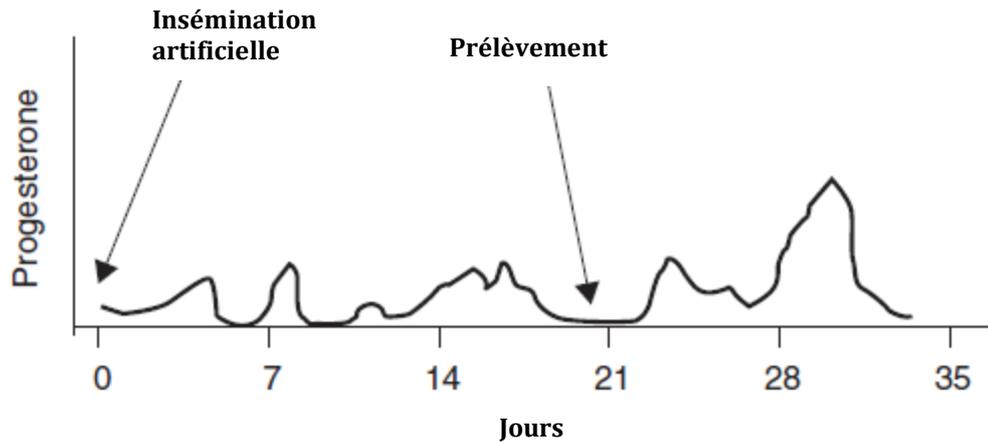


Figure 43: Représentation schématique du vrai négatif dans le diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le lait, chez une vache avec kystes folliculaires lutéinisés (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

B. DOSAGE DU SULFATE D'ŒSTRONE

L'identification des substances produites aussi bien par le conceptus que par la mère pourrait avoir des avantages indiscutables dans le diagnostic de la gestation chez les bovins.

1. Rôle du sulfate d'œstrone :

Le placenta est un lieu de synthèses d'œstrogènes comme l'œstrone, les œstradiols a et b. la fonction de ces œstrogènes placentaires restent l'objet d'hypothèses et de spéculations divers. La synthèse d'œstrogènes peut commencer dès le stade blastocytaire (GADSDY et al., 1980), mais la quantité de molécules secrétées et leur rôle au moment de l'implantation varient selon les espèces. Contrairement à la femme, la truie et la jument, la synthèse d'œstrogènes chez la vache est apparemment faible pendant la première moitié de la gravidité (SOUSA N.M et al., 2002).

L'action des œstrogènes est surtout étudiée chez l'espèce porcine. Chez cette espèce, les œstrogènes agissent comme des anti-lutéolyse qui empêchent la régression des corps jaunes et induisent le maintien de la gestation (FLINT et al., 1983).

L'effet lutéotrope des œstrogènes serait dû essentiellement à une séquestration de la PGF-2 α dans l'utérus et de ce fait à une réduction de la sécrétion de PGF-2 α dans la circulation maternelle (FRANK et al., 1978). En outre, ces œstrogènes embryonnaires seraient responsables d'une stimulation de la production de progestérone par l'ovaire (CONLEY et Ford, 1989). Les œstrogènes d'origine trophoblastique favoriseraient aussi la vascularisation locale au moment de l'implantation et stimuleraient la synthèse et la sécrétion de macromolécules histotrophiques par les glandes utérines (BAZER et al., 1979).

2. Principe de dosage :

Chez la vache, les concentrations de sulfate d'œstrone dans le plasma comme dans le lait augmentent entre le 70^e et le 90^e jour de gestation, et persistent à un niveau élevé jusqu'à la mise bas (cf. Figure 44) (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

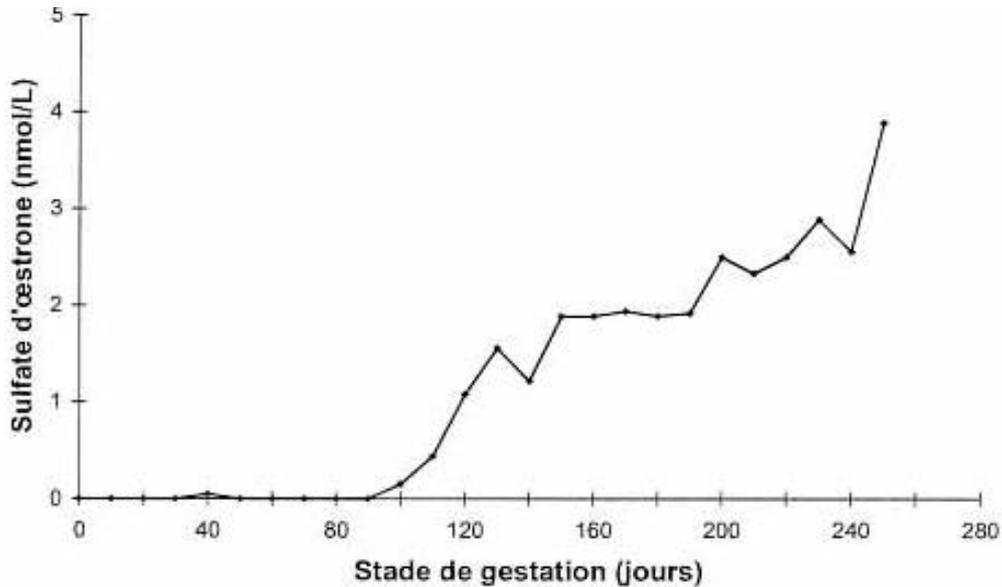


Figure 44: évolution de la concentration de sulfate d'œstrone dans le lait de la vache (HOLDSWORTH R.J et al., 1982).

3. Mise en évidence du test :

Le dosage peut être réalisé par radio-immunologie ou par méthode ELISA.

a) Dosage dans le lait

Le sulfate d'œstrone est éliminé dans le lait dans des quantités détectables après 100 jours de gestation (KOURLETAKI-BELIBASAKI S et al., 1995). Le taux de sulfate d'œstrone est toutefois faible jusqu'au 110^e jour. Il s'élève nettement, mais de façon irrégulière, entre le 110^e et le 115^e jour de gestation (cf. Figure 44) (TAINTURIER D et al., 1986)

Le sulfate d'œstrone contenu dans le lait reflète celui du plasma et il a été démontré qu'une concentration positive du sulfate d'œstrone dosé au 15^e semaine (\approx 105^e jour) de gestation donne une certitude de 100% pour le diagnostic de gestation (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

Au-delà de 120 jours de gestation, le taux de sulfate d'œstrone présente une grande variabilité d'un individu à l'autre. Chez une même vache, le taux varie également d'une semaine sur l'autre.

Toutefois, ce taux reste supérieur à 120 pg/ml (picogramme) chez 98 % des vaches de plus de 120 jours de gestation. Ce taux est supérieur à celui observé chez les vaches non gestantes, chez lesquelles les concentrations de sulfate d'œstrone n'excèdent pas 110 pg/ml (HENDERSON K.M et al., 1994).

La date seuil à partir de laquelle ce test est fiable est donc 105 jours après l'insémination

b) Dosage dans le sang :

Le sulfate d'œstrone peut être dosé directement dans le plasma, soit par radio-immunologie soit par méthode ELISA. Le dosage dans le plasma peut être réalisé au même moment que dans le lait, mais il est beaucoup plus contraignant (prises de sang). Son emploi sera donc limité aux génisses et aux vaches allaitantes.

Le dosage du sulfate d'œstrone dans le plasma est fiable à partir de 120 jours de gestation (TAINTURIER D et al., 1987)

4. Exactitude et fiabilité :

L'exactitude du test par dosage du sulfate d'œstrone, dans le plasma ou le lait, est comprise entre 95 et 100 % lorsque le dosage est réalisé après du 105^e jour de gestation (MC CAUGHEY W.J et al., 1982 ; POWER M.J et al., 1985 ; TAINURIER D et al., 1987 ; BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

C. DOSAGE DES PROTEINES SPÉCIFIQUES DE LA GESTATION

Depuis le stade blastocytaire et jusqu'à la parturition, les cellules trophoblastiques bovines synthétisent et sécrètent un grand nombre et une grande quantité de molécules, dont quelques unes seulement sont parfaitement connues.

A l'heure actuelle, certaines de ces protéines semblent très intéressantes : elles sont mieux identifiées et surtout, se retrouvent dans le sang maternel, ce qui permet de les utiliser comme méthode de diagnostic de gestation chez les bovins. Ce sont la protéine B ou PSPB (Pregnancy Specific Protein B) (HUMBLOT P, 1992), la protéine sérique de gestation ou PSG60 (CAMOUS et al., 1988) et la protéine bovine associée à la gestation ou bPAG (bovine Pregnancy Associated Glycoprotein) (ZOLI A.P et al., 1992).

Le dosage des protéines embryonnaires est réalisé par radio-immunologie, comme c'est le cas avec la progestérone. Même s'il existe d'autres techniques de dosage de ces molécules, c'est cette méthode qui est utilisée en général (ALAPHILIPPE A.J.C, 1994).

1. Dosage de la PSPB

La PSPB (Pregnancy specific protein B) a été isolée initialement à partir de membranes placentaires chez la vache. Il a été montré que cette protéine est le premier signal embryonnaire détectable dans la circulation périphérique maternelle. Le développement d'un système de dosage radio-immunologique spécifique a permis d'étudier les profils de cette protéine pendant la gestation dans plusieurs espèces de ruminants (brebis, chèvre, biche,...) et plus particulièrement chez la vache dans les cas de mortalité embryonnaire ou d'avortement (HUMBLOT P, 1992).

Le(s) rôle(s) de la PSPB pendant la gestation reste(nt) mal connu(s), cependant certaines propriétés immunosuppressives ont été mises en évidence par DUNBAR et al (1990).

a) Evolution du taux de PSPB :**• Au cours de la gestation :**

Chez les bovins, les concentrations sériques ou plasmatiques de PSPB augmentent entre le 20^e et le 30^e jour de gestation, mais le moment auquel la PSPB est détectable pour la première fois varie beaucoup d'un individu à l'autre (HUMBLOT P, 1991).

Avant 30 jours de gestation, les concentrations sériques demeurent inférieures à 1 ng/ml. Le taux de PSPB atteint 2 ng/ml au 30^e jour, 3 ± 0.6 ng/ml au 42^e jour, et 4 ng/ml au 70^e jour de gestation. Durant la période 30^e-70^e jour après insémination, la concentration sérique de la PSPB reste pratiquement stationnaire (cf. figure 45). Par contre, commence ensuite une croissance, d'abord lente, puis rapide au-delà du 150^e jour de gestation (19 ± 3 ng/ml à J150 ; 73 ng/ml à J262) jusqu'à la parturition avec parfois des concentrations supérieures à 700 ng/ml (HUMBLOT P et al., 1988b).

Ainsi, à J15, on détecte la PSPB chez seulement 20% des animaux gestants. A J24, on la détecte chez 60-80%. Il faut attendre J30, pour la détecter chez 100% des femelles gestantes. C'est pourquoi on considère que toute femelle au 30^e jour de gestation, présente une concentration sérique de PSPB détectable (SASSER R.G et al., 1986 ; HUMBLOT P, 1988 ; HUMBLOT P et al., 1988c).

• Au cours du post-partum :

Chez les bovins, l'existence de concentrations de protéine très élevées (500-800ng/ml) au moment de la parturition associée à la longue demi-vie (7 j) de la molécule (RUDER et SASSER, 1986), et à une éventuelle sécrétion par des tissus placentaires résiduels localisés au niveau des caroncules de l'utérus après la parturition (RUDER C.A et SASSER R.G, 1986) provoquent le maintien de concentrations sériques ou plasmatiques détectables pendant environ 100j chez la vache laitière (HUMBLOT et al., 1988a) comme chez la vache allaitante (HUMBLOT et al, 1990).

Ainsi, au cours du post-partum, on note des concentrations de PSPB très élevées et persistant longtemps (jusqu'à 70-90 jours) (HUMBLOT P, 1991). Les concentrations chutent de 22 ng/ml au 40^e jour à 1,2 ng/ml entre 71 et 80 jours post-partum, et diminuent encore jusqu'au 100^e jour après vêlage (cf. figure 46) (HUMBLOT P, 1988).

• A la suite d'une mortalité embryonnaire :

En cas de mortalité embryonnaire précoce avant le 16^e jour de gestation (c'est-à-dire lorsque la sécrétion de progestérone n'est pas maintenue au-delà de 21 jours), il est tout à fait exceptionnel de retrouver des concentrations de PSPB détectables vers le 30^e jour de gestation présumée (cf. figure 47). En effet, chez les vaches laitières comme chez les vaches allaitantes, ce taux est de l'ordre de 2 ou 3 % (HUMBLOT P, 1992).

En cas de mortalité embryonnaire tardive (lorsque les animaux présentent une concentration de progestérone élevée 21-24 jours après l'insémination et sont ultérieurement non gestants), la proportion des animaux chez lesquels la PSPB est détectable est relativement faible (cf. figure 47).

Cette proportion varie de 20 à 30 % des cas lorsque le dosage est réalisé au 30^e jour de gestation (HUMBLOT P, 1992).

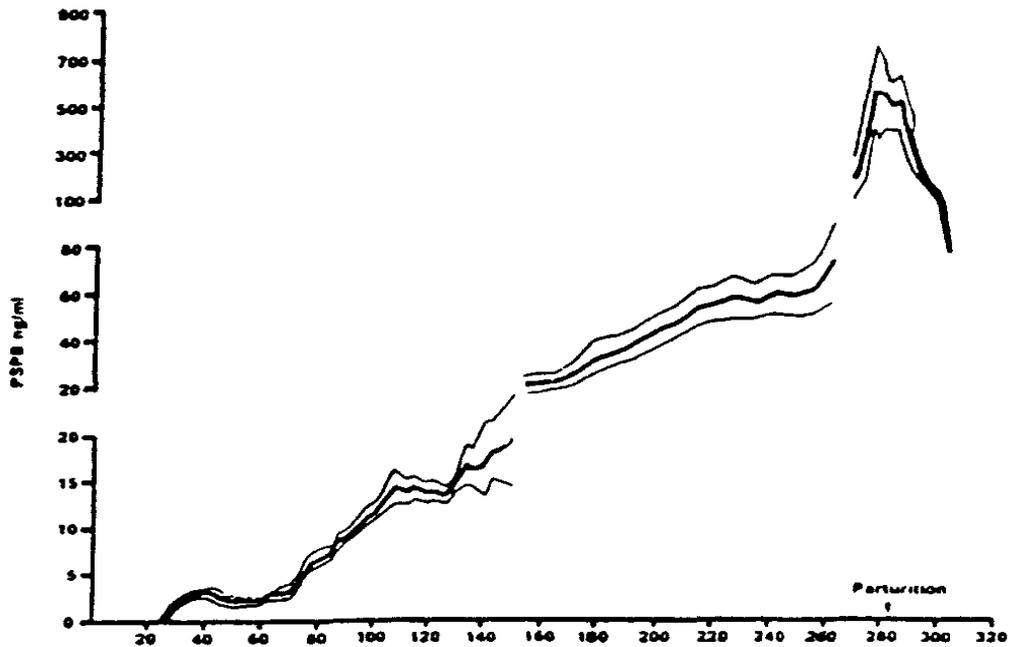


Figure 45 : concentration (\pm erreur standard) de la PSPB dans le sérum de 5 vaches laitière depuis la fécondation et jusqu'à 21 jours après vêlage (SASSER R.G et al., 1986).

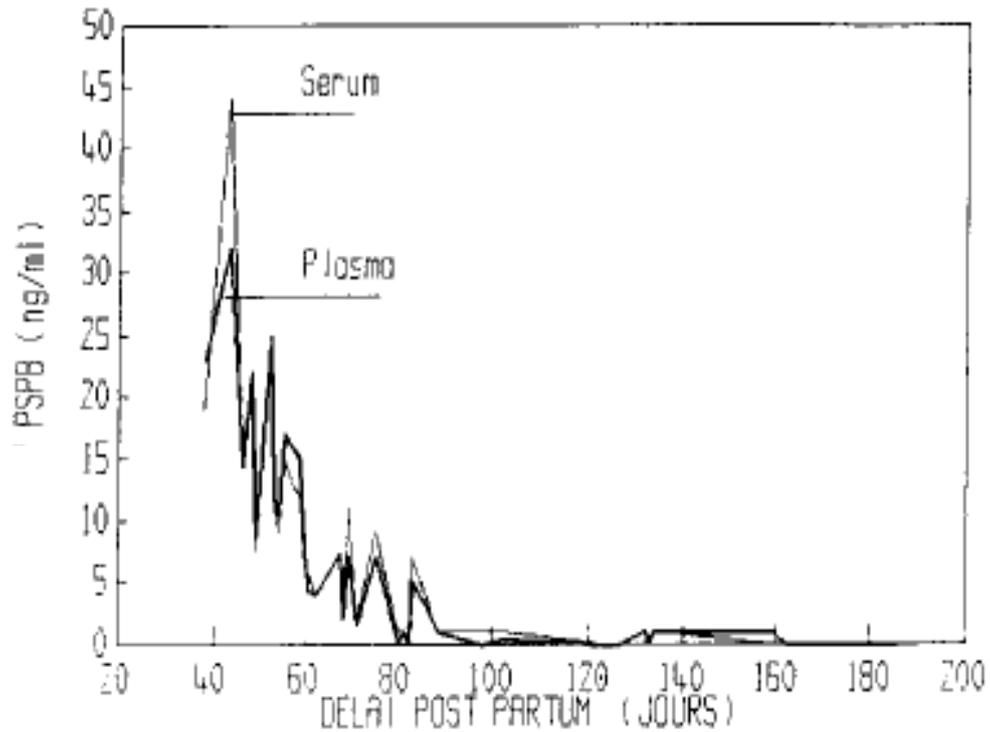


Figure 46 : concentration de PSPB dans le sérum et dans le plasma de vaches allaitantes au cours du post-partum (HUMBLOT et al, 1990).

De plus, si l'on induit un avortement autour du 40^e jour de gestation à l'aide de prostaglandines F2 α , on remarque que l'élimination de PSPB est rapide. En effet, les concentrations à 40 jours voisines de 2 ng/ml deviennent non détectables près de 10 jours après l'injection de prostaglandines (HUMBLOT P, 1991).

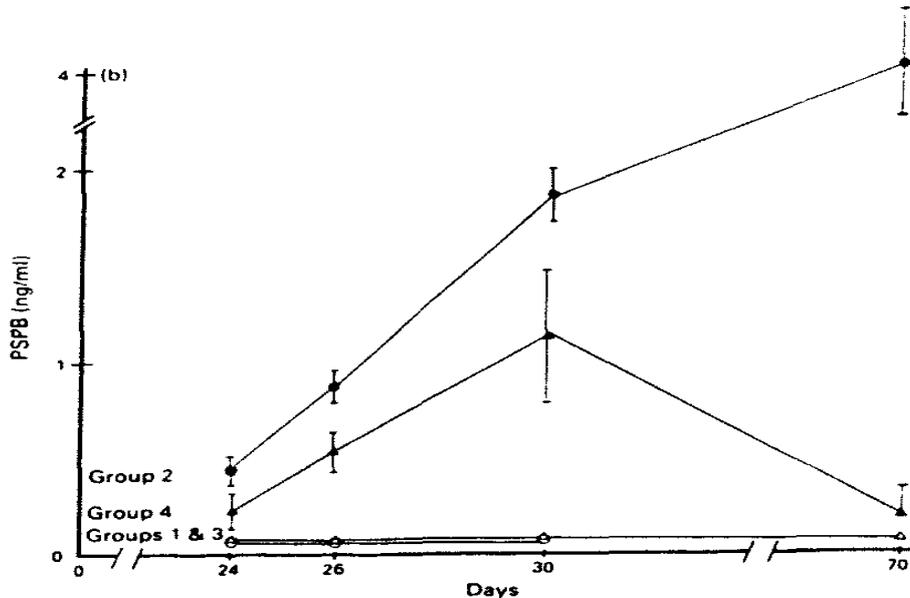


Figure 47: concentrations plasmatiques de PSPB dans l'espèce bovine (HUMBLOT P et al., 1988b).

Groupe1= femelles ayant présenté une mortalité embryonnaire précoce ou non fécondation. Groupe2= femelles gestantes. Groupe3 et groupe4= femelles ayant présenté une mortalité embryonnaire tardive sans (groupe 3) ou avec (groupe 4) sécrétion de PSPB.

b) Exactitude et fiabilité :

Les exactitudes positive et négative, se situent en générale, respectivement, entre 87.9-100% et 86.3-100% (cf. tableau 11).

Alors que la fiabilité positive (et négative) se situe entre 88-98.9% (et respectivement, entre 89.1-100%) (cf. tableau 11).

Elle est donc à la fois fiable et exacte, pour détecter tant les gestantes que les non gravides.

• Influence de la mortalité embryonnaire :

La mortalité embryonnaire précoce n'est pas un facteur influençant l'exactitude ou la fiabilité du dosage de PSPB. D'autant plus que si les niveaux de PSPB sont détectables dans certains cas, ils sont significativement plus faibles que ceux des femelles gestantes, pour le même jour de prélèvement (HUMBLOT P et al., 1988b).

Par contre, en cas de mortalité embryonnaire tardive, la PSPB reste détectable durant une longue période. Mais la validité du dosage de PSPB reste tout de même moins affectée par les mortalités embryonnaires tardives par rapport au dosage de progestérone (MAURER R.R et al., 1985 ; HUMBLOT P et al., 1988c).

Tableau 11: comparaison entre différentes études des exactitudes et fiabilités du dosage de la PSPB

Date de prélèvement en J après insémination	Sérum / plasma	Méthode de référence	Nb d'examen	Exactitude positive	Exactitude négative	Fiabilité positive	Fiabilité négative
J26 ⁽¹⁾	Plasma	REC, PTR 70 +/- 9è J après insémination	-	87.9%	100%	88%	89.1%
J30-J35 ⁽²⁾	Plasma	Idem	175	100%	90.2%	90.2%	100%
- ⁽²⁾	Sérum	-	102	-	-	98.8%	100%
J28 ⁽³⁾	Plasma	-	90	-	-	88.7%	96.4%
> J23 ⁽⁴⁾	Sérum	Autopsie après prélèvement	378	99%	94.7%	95%	98.9%
>J 30 ⁽⁵⁾	-	-	1461	99%	86.3%	92.9%	98%

REC= retour en chaleur

PTR= palpation transrectale

⁽¹⁾ HUMBLOT P et al., 1988c⁽²⁾ SASSER R.G et al., 1986⁽³⁾ HUMBLOT P et al., 1988d⁽⁴⁾ MAURER R.R et al., 1985⁽⁵⁾ HUMBLOT P, 1988

- **Influence de la gestation précédente :**

Nous avons vu que la PSPB était retrouvée en quantité résiduelle dans le sang de la femelle, après la parturition, pendant une durée variable (HUMBLOT P, 1991). Il devient alors évident que cette concentration résiduelle augmente le nombre de faux positifs.

Ainsi pour obtenir une fiabilité positive de 90%, il convient de réaliser le dosage chez les vaches inséminées plus de 70 jours post-partum, et 30 jours après insémination. Ceci implique que chez des vaches inséminées précocement, le dosage ne soit pas fait à moins de 100 jours post-partum (HUMBLOT et al., 1988d). Alors que SASSER et coll (1991), signale que le prélèvement peut être effectué si la saillie a eu lieu 50 jours post-partum, et à 30 jours de gestation au moins.

c) Innocuité :

Le dosage de la PSPB est une simple technique, qui ne nécessitant qu'une simple prise de sang, donc il faut juste utiliser des aiguilles à usage unique, et de respecter l'asepsie.

d) Autres intérêts :

- **Indicateur de la mortalité embryonnaire**

Comme nous l'avons déjà remarqué, toute anomalie de l'augmentation de la concentration en PSPB au cours de la gestation indiquait une mortalité embryonnaire. Cependant, il faut noter qu'à

30-35 jours après fécondation, il est impossible de différencier les cas de mortalité embryonnaire tardive des femelles encore gestantes, étant donné qu'à cette période, la différence de concentration n'est pas significative (HUMBLOT et al., 1988b).

- **Gestation gémellaire :**

Le dosage de la PSPB pourrait être utilisé pour diagnostiquer les portées gémellaires (PATEL et al., 1995 ; VASQUES M.J et al., 1995).

En effet il existe une différence significative des taux de PSPB dans le sang maternel en cas de portées gémellaires par rapport aux portées uniques ; et ce, dès le 50^e jour jusqu'aux dix derniers jours de gestation (PATEL et al., 1995), ou au moins pour le 40^e et le 240^e jours de gestation (VASQUES et al., 1995).

- **Détermination de l'âge :**

Il est possible de prévoir le stade de gestation en se basant sur la concentration de PSPB (SASSER et al., 1986): une valeur inférieure à 5 ng/ml indiquerait un fœtus âgé de moins de 80 jours ; alors qu'une valeur supérieure à 10 ng/ml signalerait que le fœtus est âgé de plus de 80 jours.

2. Dosage de la PSP60 :

La PSP60 (Pregnant Serum Protein (60 KDa)), fut isolée par CAMOUS et al (1988) à partir des cotylédons fœtaux. La PSP (et la bPAG) correspondent en fait à une des 5 formes de PSPB. Ainsi, la PSP60 possède des caractéristiques biochimiques différentes de la PSPB, mais elle est de parenté immunologique très proche (CAMOUS et al., 1988).

La PSP60 (comme la PSPB et la bPAG) est produite par les cellules binucléées du trophoblaste, et plus exactement du trophoctoderme (BUTLER J.E et al., 1982 ; CAMOUS S., 1988).

a) Dosage de la PSP60 :

La PSP60 est détectable dans le sang maternel à partir du 30^e jour de gestation. Cette protéine placentaire est présente continuellement tout au long de la gestation. Du fait de la longue demi-vie (8,4 jour chez les charolaises), la PSP60 persiste à un taux élevé pendant 7 semaines post-partum (cf. figure 48) ((CAMOUS et al., 1988 ; CHAUVIN C et al., 1995).

b) Fiabilité et exactitude :

Chez la génisse, la valeur prédictive positive (fiabilité positive) varie de 90% à 28 jours de gestation, à 100% à 90 jours de gestation. Chez la vache, elle varie de 84% à 28 jours de gestation (à condition que le dosage doive être réalisé plus de 115 jours post-partum), à 99% à 90 jours de gestation. Alors que, la valeur prédictive négative (fiabilité négative) est supérieure à 90% (MIALON M.M et al., 1994).

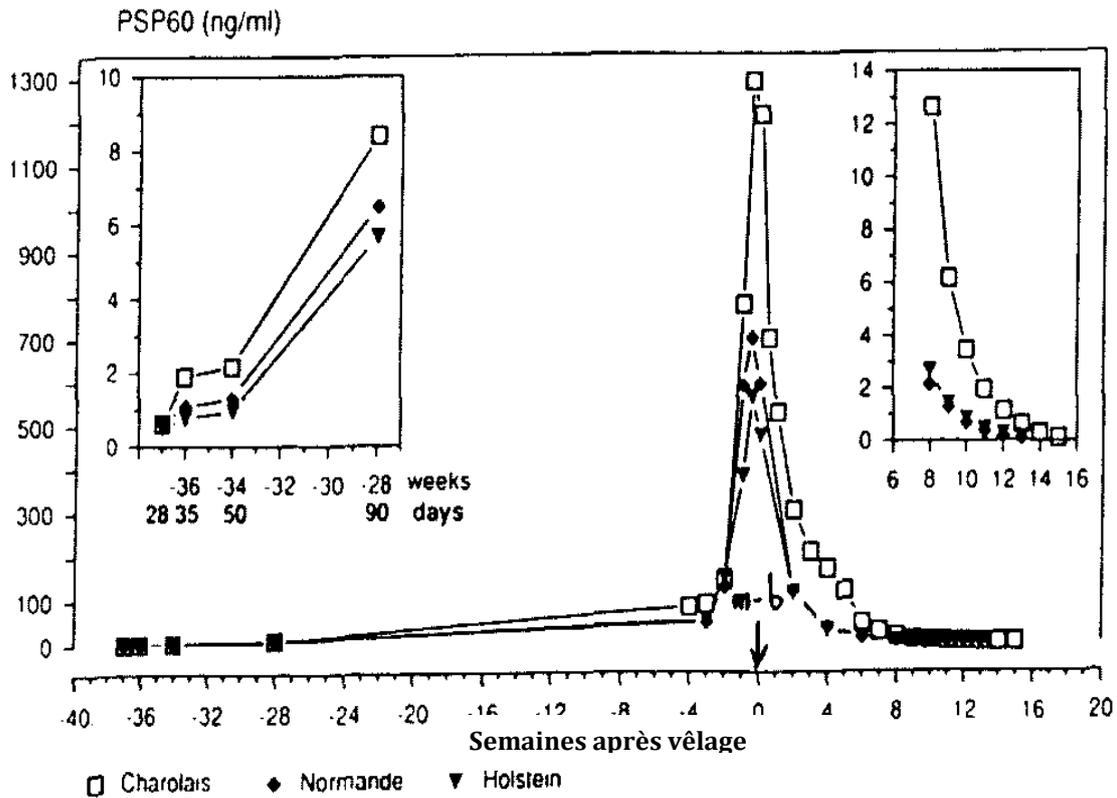


Figure 48 : concentrations plasmatiques de PSP60 dans l'espèce bovine ; durant la gestation jusqu'à après la mise-bas (MIALON M.M et al., 1993).

[Le graphique dans le coin supérieur gauche montre que la PSP60 Persiste plus ou moins longtemps après la mise-bas (m-b) selon la race considérée].

3. Dosage de la bPAG :

La bPAG (bovine Pregnancy Associated Glycoprotein), fut isolé par BECKERS et al (1988) à partir d'extraits placentaires.

Les caractéristiques de cette protéine placentaire semblent comparables à la PSPB et à la PSP60. Par exemple, la bPAG demeure présente dans le sang maternel pendant les 2 ou 3 mois qui suivent la mise bas (ZOLI A.P et al., 1992).

En réalisant un dosage de bPAG au 35^e jour de gestation présumée, la valeur prédictive positive de cette méthode est de l'ordre de 90%, et sa valeur prédictive négative avoisine les 100% (ZOLI A.P et al., 1992).

PRVANOVIC N et al.(2009) suite à une recherche menée sur 73 vaches dont 21 ont présenté une mortalité embryonnaire entre le 17^e et le 24^e jour après insémination, ont constaté que, le dosage de la bPAG permet de mettre en évidence la viabilité du fœtus 24 jours après l'insémination.

Tableau 12 : un résumé de méthodes de diagnostic de gestation utilisées chez la vache laitière (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004).

Test	Stade de gestation	Exactitude	Avantages	Inconvénients	Commentaires
Progestérone dans le lait	3 semaines	Positive : 85% Négative : 100%	Précoce Non invasif	Faux positifs et avortement tardif	Bon test pour les non gestantes
bPAG / PSPB	4 semaines+	Assez bonne	Relativement précoce	Nécessité d'un prélèvement sanguin Peut persister après avortement	Peut être utilisé chez la génisse dont la palpation transrectale est difficile
Echographie	4 semaines+	100%	Exactitude Relativement précoce	Cout de l'équipement	Peut détecter des problèmes de reproduction Fortement recommandé
Palpation transrectale	6 semaines+	100%	Exactitude élevée	Domage possible pour la mère ou le fœtus	Dépend de l'opérateur Diagnostic précoce peut être dangereux
Sulfate d'œstrone	15 semaines+	≈100%	Exactitude élevée Non invasif	Possible uniquement après 16-17 semaines	Test de confirmation utile

TROISIÈME PARTIE
DIAGNOSTIC DU SEXE ET DE L'ÂGE DU
FOETUS

A. DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE DES ORGANES GENITAUX

L'appareil génital est composé des gonades ou glandes génitales produisant les gamètes et les hormones sexuelles, et du tractus génital (voies génitales et organes génitaux externes) véhiculant les gamètes et permettant l'accouplement et la nidation. L'appareil génital se différencie selon une chronologie précise, qui passe par une phase initiale de développement identique dans les deux sexes (stade indifférencié), avant l'établissement du dimorphisme sexuel (MAGRE S et VIGIER B, 2001).

1. Organes génitaux internes

Les gonades sont d'origine mésodermique, elles se forment sur la face médioventrale des mésonéphros, reins embryonnaires transitoires chez les mammifères, dégénéralent pour laisser place aux reins définitifs : les métanéphros (MAGRE S et VIGIER B, 2001).

a) Organes génitaux internes masculins

Les voies génitales mâles proviennent de canal de Wolff. La différenciation du testicule fœtal est le premier événement morphologique de la différenciation sexuelle (vers le 40^e jour après fécondation). Elle est caractérisée par la formation des cordons séminifères, cordons épithéliaux composés des cellules germinales (les spermatogonies), et des cellules somatiques (les cellules de Sertoli) (VIGIER B et al., 1976 ; MAGRE S et VIGIER B, 2001).

b) Organes génitaux internes féminins

Les voies génitales femelles (utérus, oviductes et vagin) proviennent des canaux de Müller. Les ovaires se forment à partir de la crête gonadale qui provient du mésonéphros (reins transitoires) (BARONE R, 1978).

Au cours du développement fœtal, l'ovaire conserve un aspect indifférencié pendant les premiers stades de l'organogenèse testiculaire. Il est donc tout d'abord reconnu par défaut jusqu'à l'entrée en méiose des cellules germinales (vers le 70^e jour après insémination), événement précoce de la différenciation ovarienne (VIGIER B et al., 1976 ; MAGRE S et VIGIER B, 2001).

2. Organes génitaux externes

a) Stade indifférencié :

Au stade indifférencié, les ébauches des organes génitaux externes se constituent autour de la membrane cloacale, là où confluent les voies uro-génitales et la partie terminale de l'intestin (LARSEN W.J, 1996)

Au début du développement, chez l'homme, des cellules du mésoderme, provenant de la ligne primitive, migrent autour de la membrane cloacale. Une paire de renflements se développe alors de part et d'autre de la membrane cloacale, et donne les plis cloacaux (LANGMAN J et SADLER T.W, 1996).

Durant les semaines suivantes, les plis cloacaux se rejoignent en avant de la membrane cloacale, pour constituer un renflement médian appelé le tubercule génital. C'est lui qui est à l'origine du pénis chez le male, et du clitoris chez la femelle (cf. figure 49).

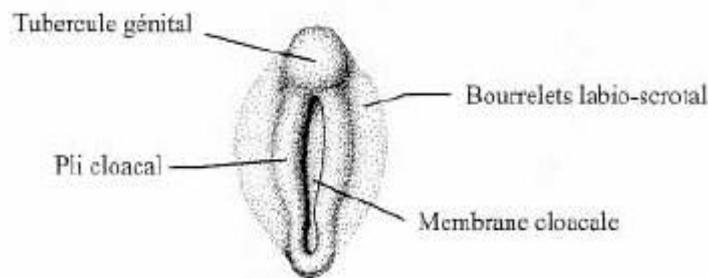


Figure 49: Organes génitaux externes au stade indifférencié (4 semaines)

(LANGMAN J et SADLER T.W, 1996)

Plus tard, le périnée se forme. Il divise la membrane cloacale en deux parties distinctes : la membrane uro-génitale, antérieure, et la membrane anale, postérieure. La membrane uro-génitale obstrue le sinus uro-génital, là où confluent les voies urinaires et génitales. Le pli cloacal situé de chaque côté de la membrane uro-génitale porte le nom de pli uro-génital, et la portion située de chaque côté de la membrane anale est appelée le pli anal (cf. figure 50) (LANGMAN J et SADLER T.W, 1996).

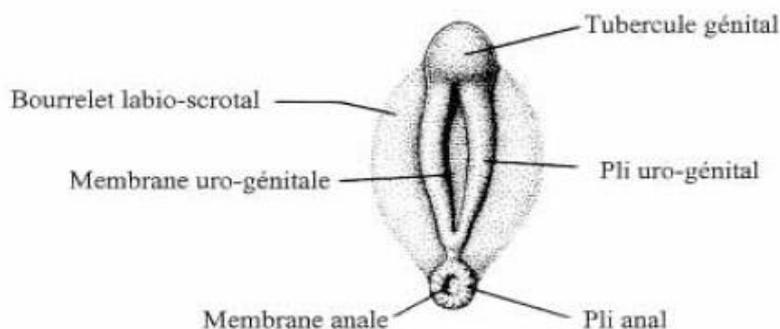


Figure 50 : Organes génitaux externes au stade indifférencié (6 semaines)

(LANGMAN J et SADLER T.W, 1996)

Pendant ce temps, une nouvelle paire de renflements apparaît de part et d'autre des plis uro-génitaux : ce sont les bourrelets labio-scrotaux. Ces bourrelets sont à l'origine du scrotum chez le garçon, et des lèvres vulvaires chez la fille (chez l'homme), mais uniquement à l'origine du scrotum chez les bovins, c'est pour cela qu'il est préférable de parler de bourrelets scrotaux (LARSEN W.J, 1996).

b) Organes génitaux externes males :

• Formation du pénis

Le tubercule génital s'allonge pour former le pénis. En s'allongeant, le tubercule génital entraîne avec lui les plis uro-génitaux qui forment les berges du sillon uro-génital. Le sillon uro-génital prolonge le sinus uro-génital sur presque toute la longueur de la face ventrale du tubercule génital. Les deux plis uro-génitaux fusionnent ensuite dans le plan médian, et forment le canal de l'urètre pénien (LARSEN W.J, 1996).

Le tubercule génital migre crânialement pour s'arrêter en arrière du cordon ombilical (cf. Figure 51). Cette migration est spécifique d'un certain nombre d'espèces de Mammifères, notamment les bovins (BARONE R, 1978 ; LARSEN W.J, 1996).

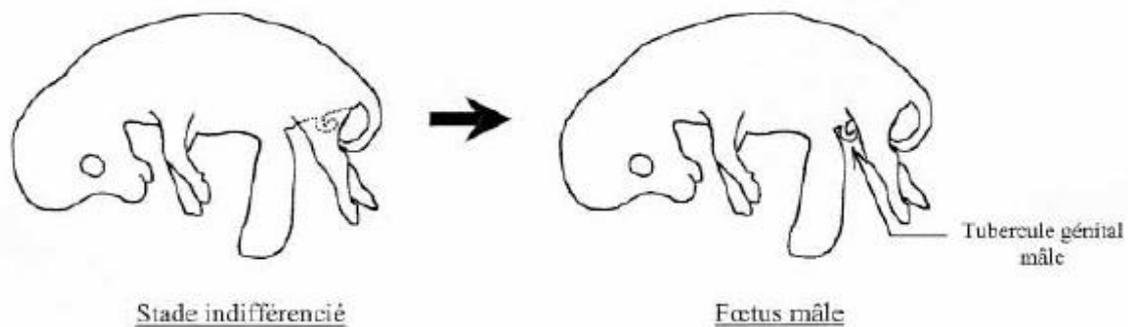


Figure 51 : migration du tubercule génitale en direction du cordon ombilical chez le fœtus male
(TAINTURIER B, 2001)

• Formation du scrotum

Les bourrelets labio-scrotaux (ou bourrelets scrotaux) migrent légèrement en direction caudale. Ils fusionnent dans le plan médian, et donnent le scrotum (LANGMAN J et SADLER T.W, 1996).

c) Organes génitaux externes femelles :

Le périnée primitif ne s'allonge pas, les plis uro-génitaux et les bourrelets labio-scrotaux ne fusionnent pas dans le plan médian. Le tubercule génital migre caudalement en direction de la base de la queue et devient le clitoris (cf. figure 52), et le sinus uro-génital donne le vestibule du vagin et les plis uro-génitaux donnent les lèvres vulvaires (BARONE R, 1978 ; LANGMAN J et SADLER T.W, 1996).

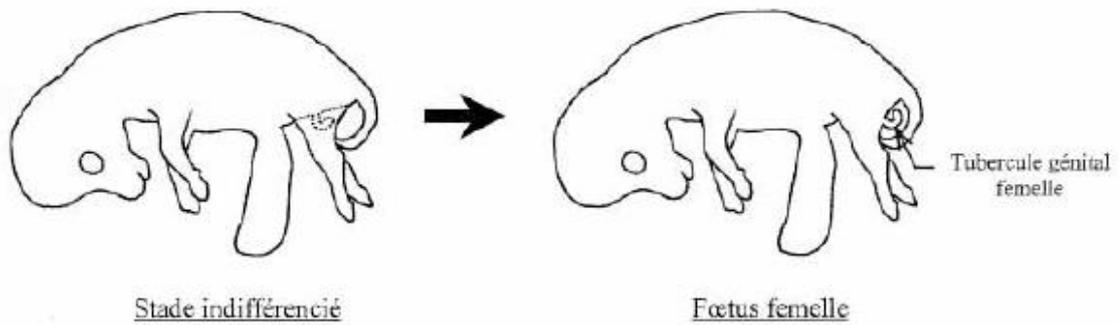


Figure 52: migration du tubercule génitale en direction de la queue chez le fœtus femelle
(TAINTURIER B, 2001)

En résumé, le devenir embryologique des différents éléments de l'appareil génital externe chez les bovins est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Devenir embryologique des différents éléments de l'appareil génital externe chez les bovins

	Taureau	vache
Tubercule génitale	Gland et corps du pénis	Clitoris
sinus uro-génital	Urètre pénien	Vestibule du vagin
Plis uro-génitale	Partie du pénis entourant l'urètre pénien	Lèvre vulvaires
Bourrelets scrotaux	Scrotum	-

B. ESTIMATION DE L'ÂGE DU FŒTUS

Entre le jour de la formation de zygote et un mois de gestation, la taille de la vésicule embryonnaire donne une estimation sur l'âge du fœtus (CURRAN et al. 1986a, BARONE 1990).

De nombreux auteurs ont cherché à mettre en relation une mesure échographique objective, chiffrée, avec l'âge du fœtus. La mesure la plus utilisée est la longueur tête-croupe : il existe en effet une excellente corrélation entre cette longueur et l'âge ($r = + 0.98$) (HANZEN et DELSAUX 1987). Cette corrélation peut s'exprimer de façon pratique en équation. HUGUES et DAVIES (1989) la présentent sous la forme :

$$A = G \times \ln (L) + C$$

Avec A = âge en semaines, G = coefficient de croissance, L = longueur en cm, C = constante. L'analyse des résultats, sur des vaches Frisonnes, donne l'équation suivante :

$$A = 2.85 \times \ln (L) + 4.08$$

Il suffit alors de mesurer la longueur du fœtus et l'insérer dans l'équation pour avoir une estimation de son âge (cf. Tableau 14).

Tableau 14 : Estimation de l'âge du fœtus (cm) au début de la gestation.

Stade de gestation	Longueurs du fœtus	Stade de gestation	Longueurs du fœtus
35 *	1,4	80*	11,7
40*	2,1	85*	13,3
45*	2,9	90*	15,0
50*	3,9	120**	20-32
55*	4,9	150**	30-45
60*	6,1	180**	40-60
65*	7,3	210**	55-75
70*	8,7	240**	60-85
75*	10,1	270**	70-100

* LEBASTARD D, 1997

** MIALOT J.P et al., 1991

C. SUIVI ÉCHOGRAPHIQUE DE FŒTUS BOVINS EN DÉBUT DE GESTATION

Rares sont les études qui ont été déjà faites sur le diagnostic du sexe chez la vache, mais une étude réalisée par TAINURIER B (2001) représente un excellent suivi échographique du fœtus bovin en début de gestation en vue de la détermination du sexe.

Dans ce chapitre, on va se baser sur les résultats et les images échographiques obtenues dans l'étude de TAINURIER B (2001).

1. Stade indifférencie :

L'embryon bovin arrive dans la cavité utérine le 4ème jour post-fécondation, au stade morula et mesure alors un dixième de millimètre. Au 8ème jour c'est un blastocyste sphéroïde de 0,2 mm environ. Au 9ème jour, il perd sa forme sphéroïde et sa croissance s'effectue en longueur : le diamètre de la vésicule embryonnaire reste constant, à 2 mm en moyenne, entre le 12ème et le 20ème jour. La corne ipsilatérale au corps jaune est totalement envahie vers le 17ème jour, et entre le 20ème et le 32ème jour pour la corne controlatérale : c'est la phase d'élongation qui aboutit à un cordon de plus d'un mètre de longueur (CURRAN et al. 1986a, BARONE 1990).

Au moment de l'implantation, vers le 35ème jour, les extrémités du cordon que constitue alors le conceptus se sont flétries et sa longueur n'excède pas 30 cm, avec une largeur de 5-6 cm. Ces étapes sont schématisées dans la figure 53.

Le 45è jour de gestation, le tubercule génital est difficile à distinguer. Il paraît unilobé en coupe échographique, et il se confond facilement avec les membres postérieurs et la queue. A cette date, le tubercule génital est situé entre les membres postérieurs, à mi-distance entre le cordon ombilical et la queue. Il s'agit de sa position initiale : il n'a pas commencé sa migration en direction du cordon ombilical ou de la queue (TAINURIER, 2001).

A partir du 48e jour, le tubercule génital est bien visible à l'échographie et il prend un aspect bilobé. Il se distingue facilement des membres postérieurs et de la queue. Chez un fœtus ultérieurement confirmé comme femelle, Il semble commencer à migrer en direction de la queue.

Cependant, il n'est que très légèrement décalé vers l'arrière, et sa position reste inchangée jusqu'au 50^e jour.

Alors que chez un fœtus ultérieurement confirmé comme male, la position du tubercule génital entre le 48^e et le 50^e jour de gestation change légèrement d'un jour à l'autre. Le 48^e jour, le tubercule génital est légèrement décalé vers l'arrière. Le 49^e jour, il retrouve sa position initiale. Le 50^e jour, il est légèrement décalé vers l'avant (TAINTURIER, 2001).

Donc, on peut dire que, la migration proprement dite du tubercule génital ne semble commencer qu'à partir du 50^e jour.

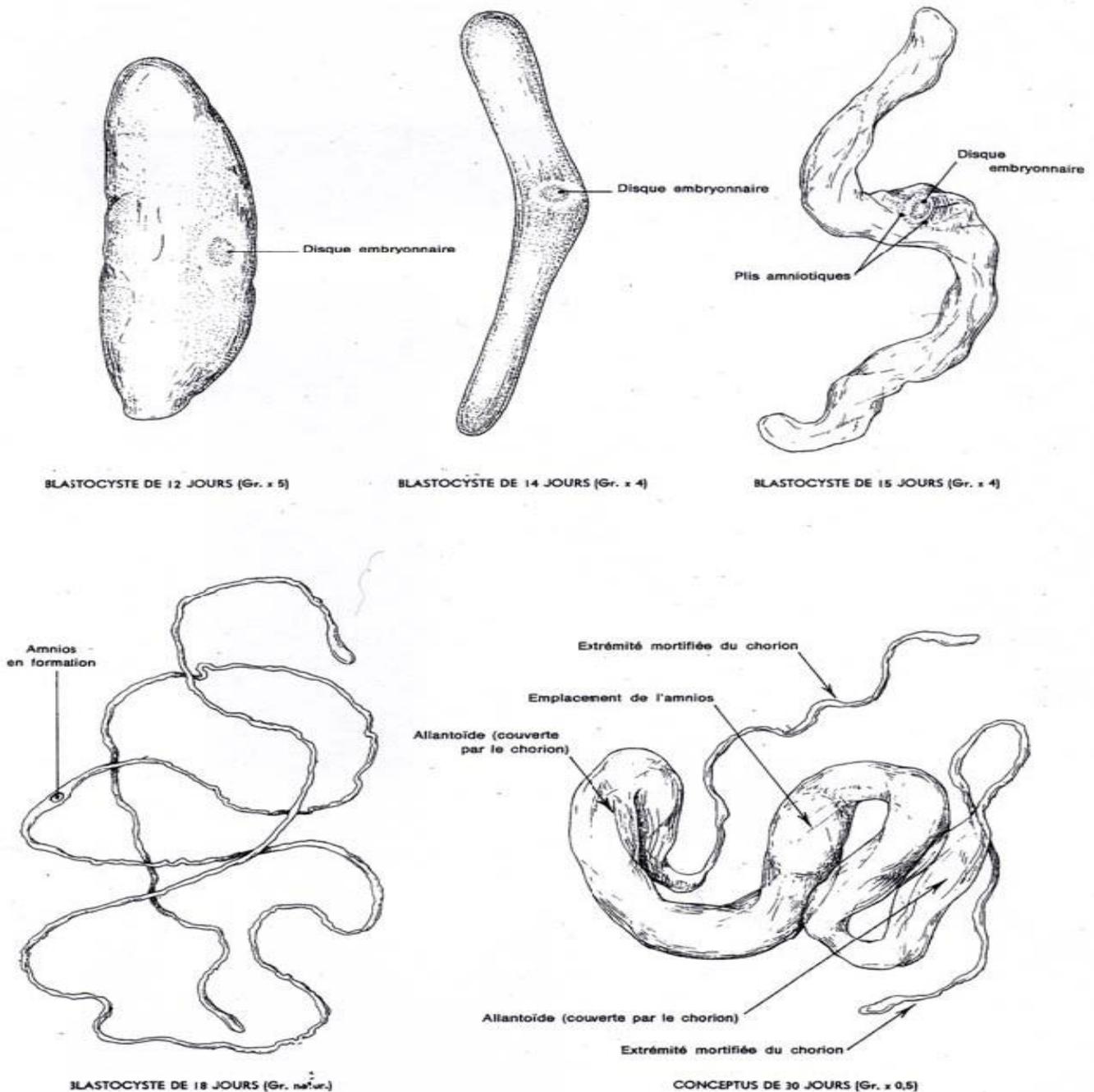
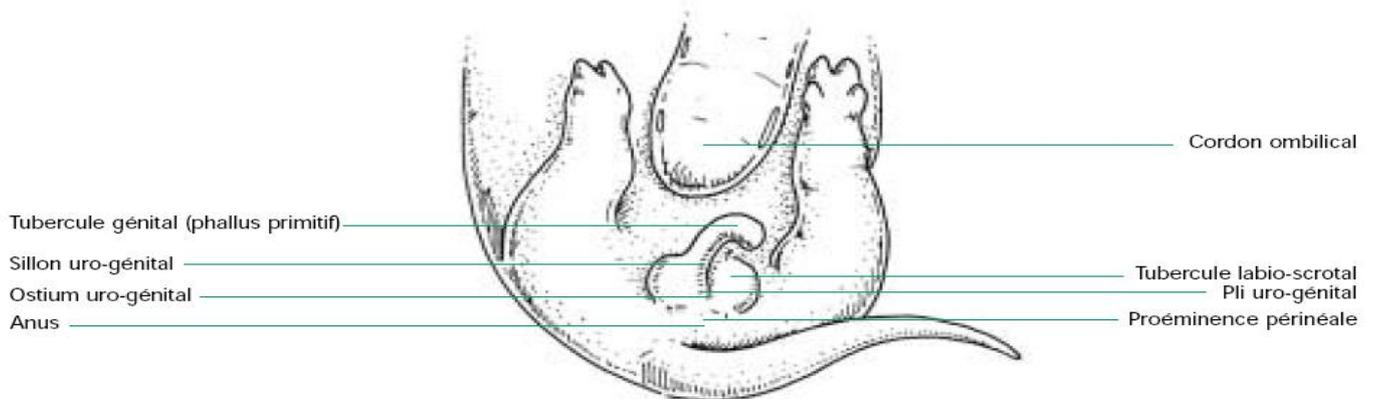


Figure 53: Schématisation de la croissance de la vésicule embryonnaire (BARONE 1990).

2. Stade différencié :

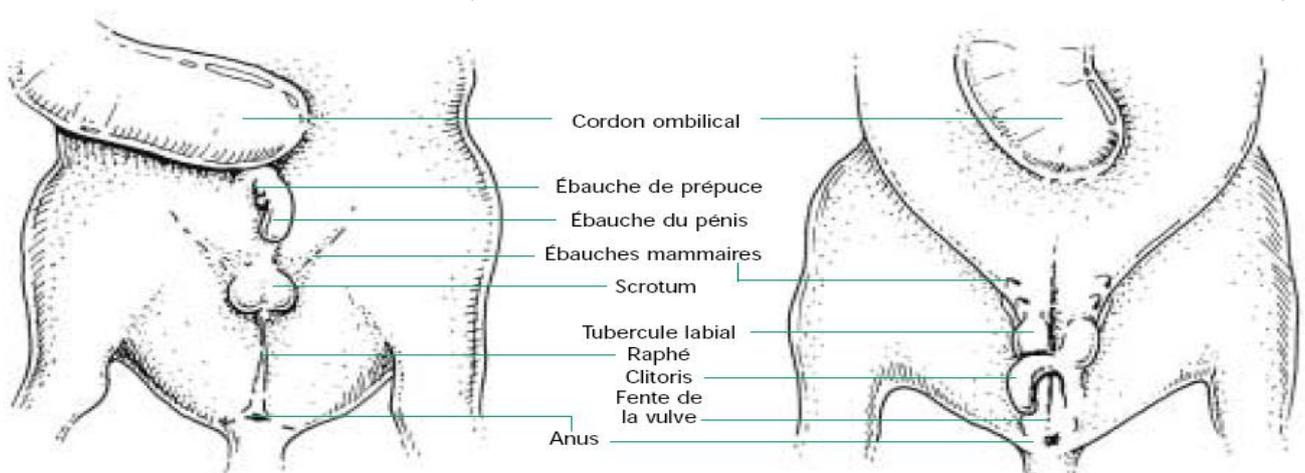
Le sexage repose sur la recherche des organes génitaux externes fœtaux. La figure 54 représente l'évolution anatomique de ces organes au cours du développement et montre qu'en fonction du stade de gestation, les structures recherchées ne seront pas les mêmes.

Stade indifférencié (embryon de 24 millimètres) 42 jours



Fœtus mâle de 56 millimètres 58 jours

Fœtus femelle de 52 millimètres 56 jours



Fœtus mâle de 107 millimètres 78 jours

Fœtus femelle de 125 millimètres 83 jours

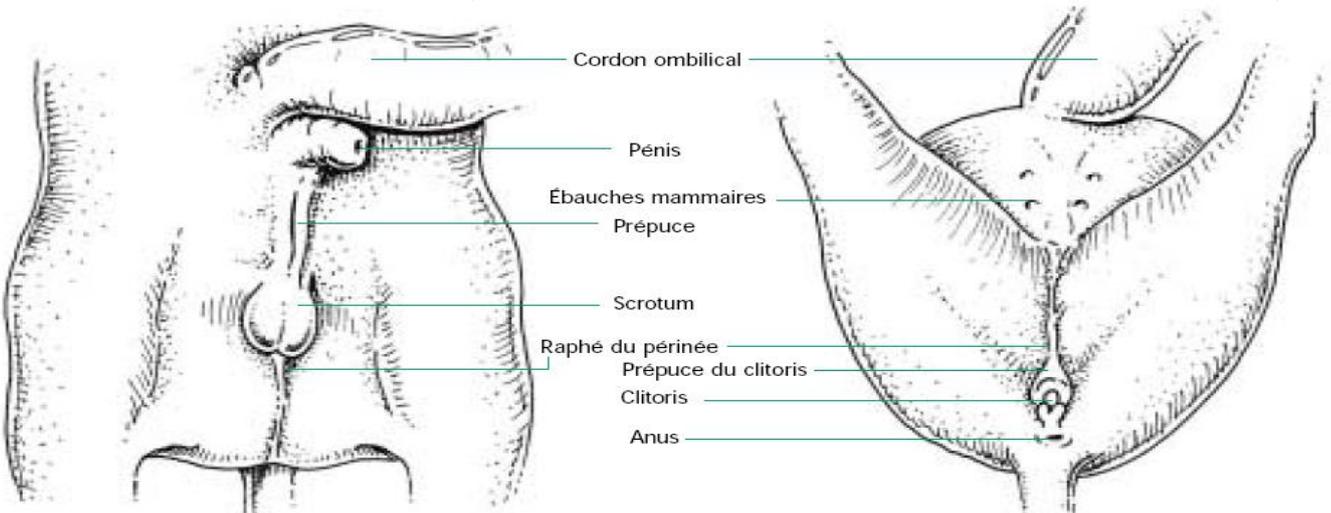


Figure 54 : Développement des organes génitaux externes : différenciation chez des fœtus de l'espèce bovine (BARONE 1978).

a) Entre le 50^e et le 60^e jour de gestation :

• Fœtus male :

- Le 55^e jour de gestation, le tubercule génital se situe à mi-distance entre sa position initiale (entre les membres postérieurs) et le cordon ombilical (cf. figure 55)

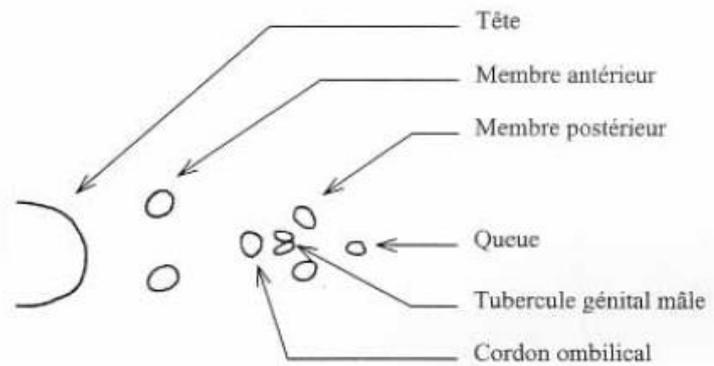


Figure 55 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 55 jours (TAINTURIER B, 2001)

- Les bourrelets scrotaux apparaissent le 57^e jour (cf. figure 56). Ils ont l'aspect de deux points échogènes situés entre les membres postérieurs, de part et d'autre du corps du pénis.

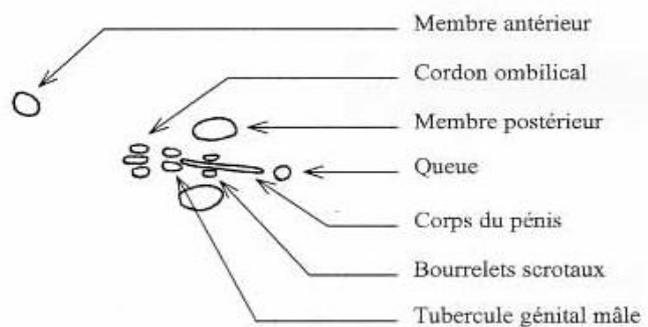


Figure 56: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 58 jours (TAINTURIER B, 2001)

• Fœtus femelle :

- Le tubercule génital entame sa migration en direction de la queue le 50^e jour de gestation. Toutefois, il n'est nettement décalé vers l'arrière que le 52^e jour (cf. figure 57).

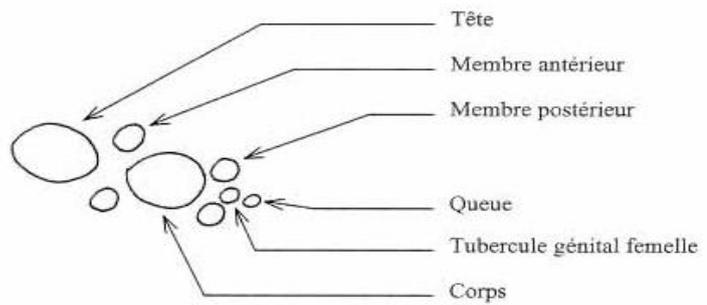
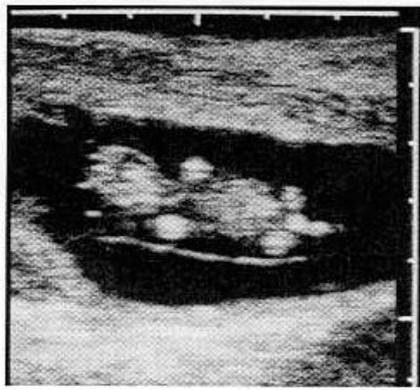


Figure 57 : coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 52 jours (TAINTURIER B, 2001)

- Le 58e jour, le tubercule génital semble avoir atteint sa position définitive sous la base de la queue (cf. figure 58).

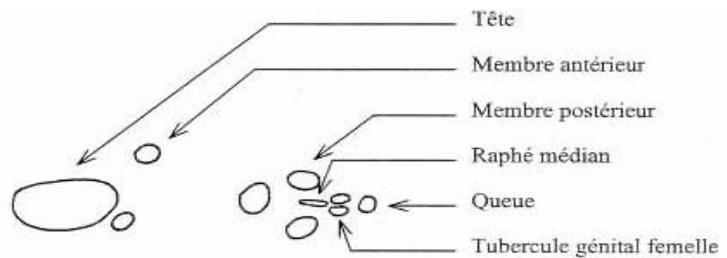
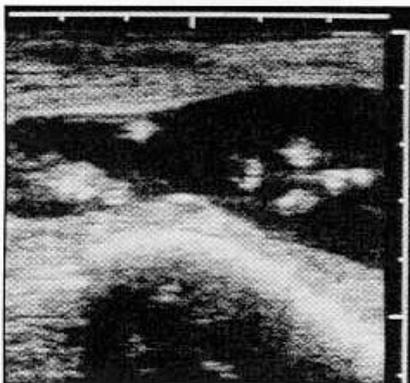


Figure 58: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 58 jours (TAINTURIER B, 2001)

b) Entre le 60^e et le 65^e jour de gestation :

• **Fœtus male :**

- Du 60^e au 65^e jour, le tubercule génital conserve son aspect hyperéchogène et bilobé (cf. figure 59). Le tubercule génital a atteint sa position définitive en arrière du cordon ombilical. Il peut être localisé indifféremment sur des coupes frontales ou transversales.

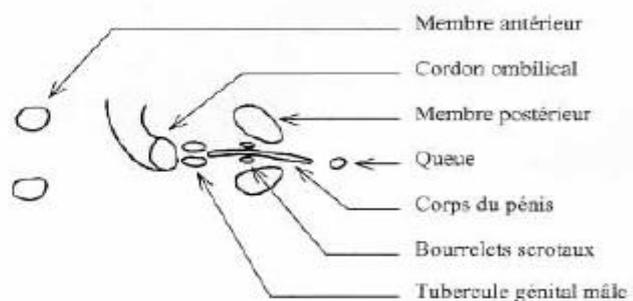


Figure 59: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 61 jours (TAINTURIER B, 2001)

- **Fœtus femelle :**

- Entre le 60e et le 65e jour, le tubercule génital a atteint sa position définitive. Il est situé sous la base de la queue (cf. figure 60). Il peut être facilement localisé sur des coupes frontales ou transversales. Le diagnostic du sexe est facile pendant cette période. Le raphé médian apparaît autour du 60e jour de gestation.

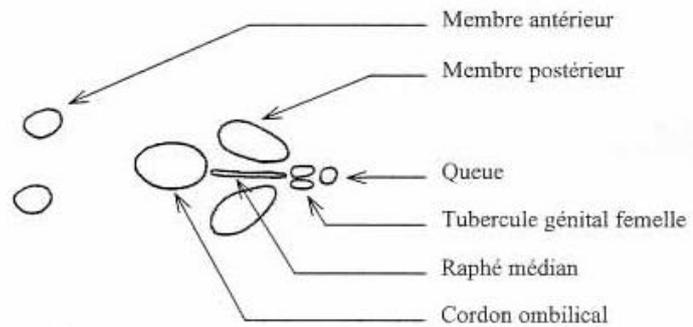
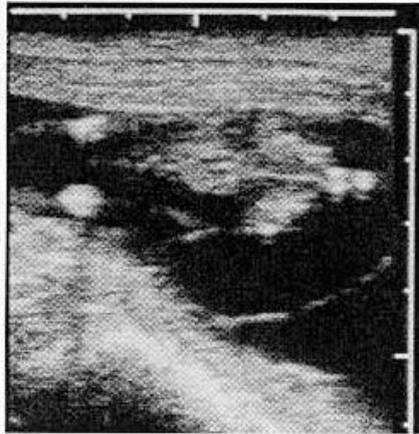


Figure 60 : coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 63 jours (TAINTURIER B, 2001)

c) Entre le 65e et le 75e jour de gestation :

- **Fœtus male :**

- A partir du 65e jour, le tubercule génital est plus difficile à observer (cf. figure 61). Le fœtus est en effet entraîné par son poids, et il a tendance à plonger crânialement et profondément dans la cavité pelvienne. Ainsi, le fœtus est plus difficilement accessible, et l'examen échographique devient plus long et plus difficile. Sur certaines coupes échographiques, le tubercule génital n'est même plus visible. Entre le 65e et le 70e jour, il est difficile de réaliser des coupes frontales du fœtus. La position relative du tubercule génital est donc recherchée en priorité sur des coupes transversales.

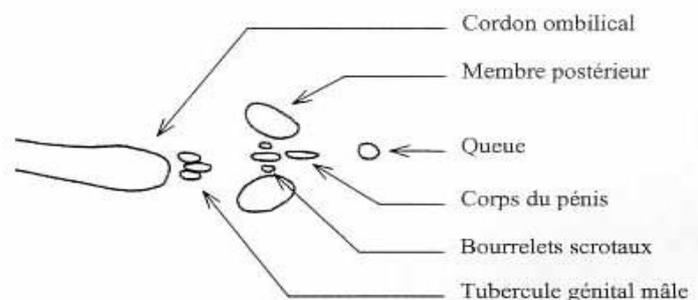


Figure 61 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 65 jours (TAINTURIER B, 2001)

- Le tubercule génital devient hypoéchogène à partir du 70e jour de gestation, Aussi le cas pour le corps du pénis (cf. figure 62). Il est encore possible de l'observer entre le 70e et le 75e jour de

gestation. A ce stade, il est presque impossible de déterminer le sexe du fœtus en recherchant le tubercule génital. On considérera que le tubercule génital disparaît dès le 70e jour de gestation.

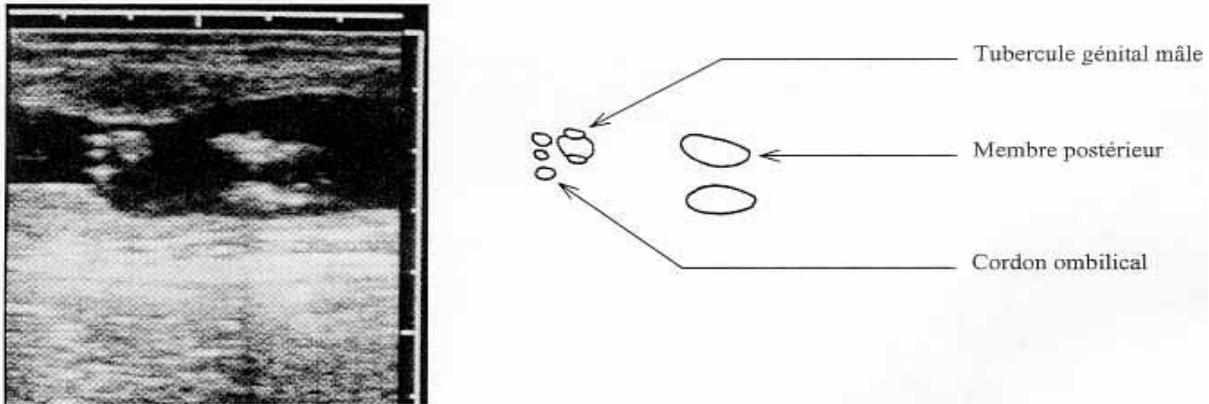


Figure 62 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 70 jours (TAINTURIER B, 2001)

- **Fœtus femelle :**

- Entre le 65e et le 75e jour, le tubercule génital est assez difficile à visualiser. Il peut être localisé sur des coupes frontales et transversales (cf. figure 63)

- Le raphé médian est visible entre le 65e et le 75e jour de gestation. (cf. figure 63)

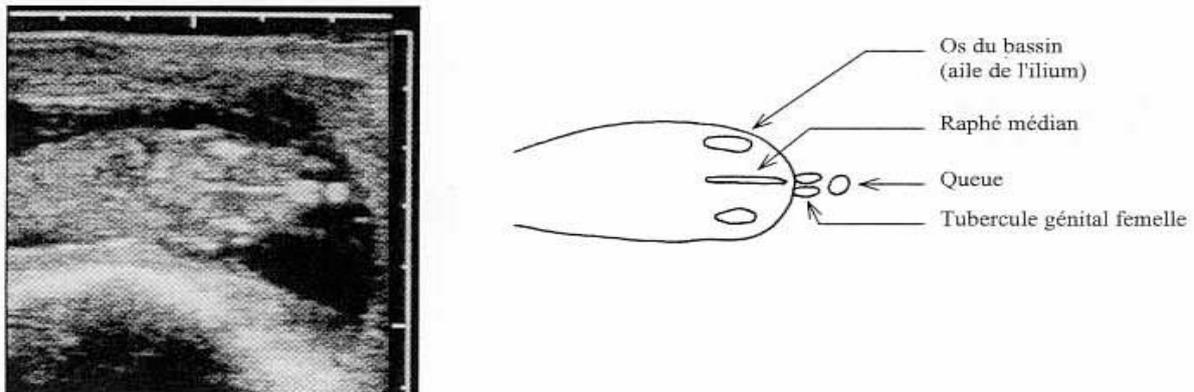


Figure 63: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 69 jours (TAINTURIER B, 2001)

d) Entre le 75e et le 80e jour de gestation :

- **Fœtus male :**

- A partir du 75e jour de gestation, le corps du pénis commence à disparaître. Il prend la forme d'une ligne discontinue. Cependant l'extrémité du pénis est visible à partir de cette date (cf. figure 64). L'image de l'extrémité du pénis est proche de celle du tubercule génital. Elle se présente comme une structure de forme circulaire, de quelques millimètres de diamètre, située juste en arrière du cordon ombilical. L'image se compose de trois parties : un élément central hypoéchogène, assez volumineux, et deux éléments latéraux hyperéchogènes. L'élément central peut être assimilé au gland, et les éléments latéraux au prépuce. Les éléments échogènes latéraux peuvent également résulter d'artefacts échographiques.

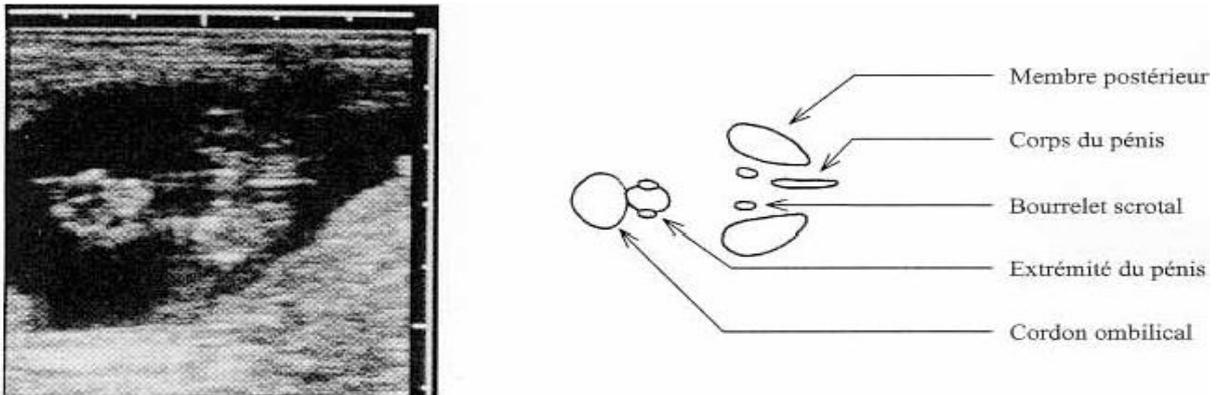


Figure 64: coupe frontale d'un fœtus male âgé de 78 jours (TAINTURIER B, 2001)

- **Fœtus femelle :**

- Entre le 75e et le 80e jour de gestation, le tubercule génital est assez facile à visualiser. Il semble plus facile à visualiser pendant cette période que pendant la période précédente.

- Le raphé médian est toujours visible entre le 75e et le 80e jour de gestation.

- Les bourgeons mammaires apparaissent autour du 75e jour de gestation. Ils sont alors difficiles à visualiser : ils sont petits et hypoéchogènes (cf. figure 65). Ils conservent cet aspect jusqu'au 80e jour de gestation.

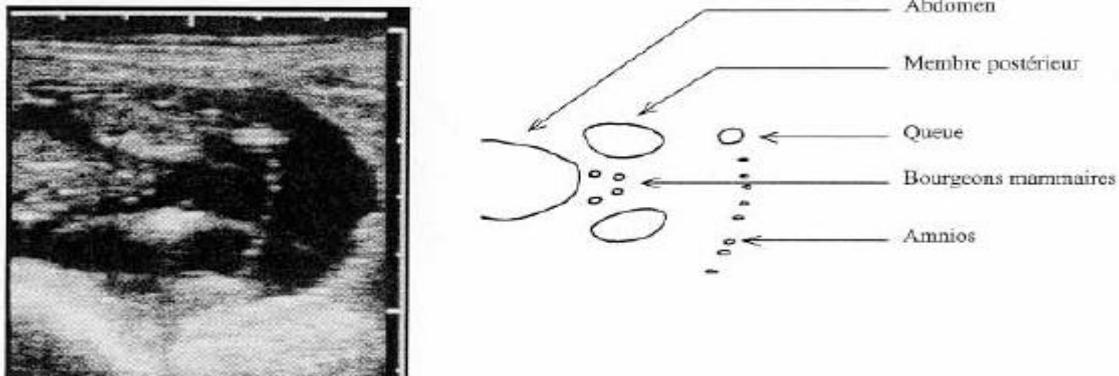


Figure 65: coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 78 jours (TAINTURIER B, 2001)

e) **Entre le 80e et le 90e jour de gestation :**

- **Fœtus male :**

Le corps du pénis disparaît vers le 80e jour de gestation. Il ne persiste qu'une courte ligne échogène en regard du scrotum, qui semble davantage correspondre au septum scrotal. Alors que l'extrémité du pénis est assez bien visible en général (cf. figure 66). Il arrive toutefois que le pénis soit totalement invisible, aussi bien en coupe frontale qu'en coupe transversale.

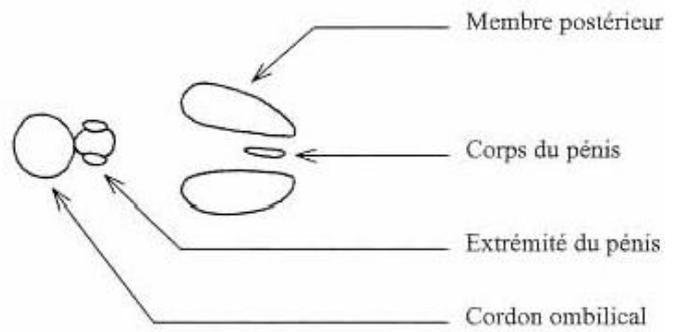


Figure 66 : coupe frontale d'un fœtus male âgé de 82 jours (TAINTURIER B, 2001)

- **Fœtus femelle :**

- Entre le 80e et le 90e jour de gestation, le tubercule génital est parfois trilobé. Il est difficile à visualiser en coupe frontale. En effet, il est difficile de le distinguer des structures osseuses hyperéchogènes qui l'entourent : les vertèbres coccygiennes et lombo-sacrées, et les pointes ischiales du bassin.

- Le raphé médian est peu visible entre le 80e et le 90e jour de gestation.

- A partir du 80e jour de gestation, le fœtus est peu plongeant et les bourgeons mammaires sont hyperéchogènes. Ils sont faciles à visualiser sur des coupes frontales (cf. figure 67). Le diagnostic du sexe est facile à partir des bourgeons mammaires entre le 80e et le 90e jour de gestation

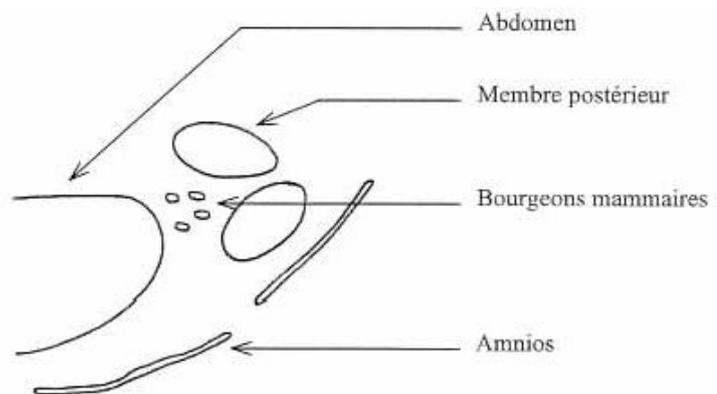


Figure 67 : coupe frontale d'un fœtus femelle âgé de 80 jours (TAINTURIER B, 2001)

QUATRIEME PARTIE ETUDE EXPERIMENTALE

Introduction :

Du fait qu'il existe plusieurs méthodes et techniques pour le diagnostic de gestation, et que leurs résultats varient d'une étude à une autre et d'un auteur à un autre, en plus que, chaque méthode est recommandée à un stade de gestation et un objectif bien déterminés. Nous avons utilisé dans notre étude les principales méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins à savoir le dosage de la progestérone plasmatique, l'examen échographique et la palpation transrectale. L'objectif c'est pour évaluer la sensibilité, la spécificité, la fiabilité positive et la fiabilité négative de chaque méthode et de faire la comparaison entre ces trois méthodes pour trouver celle qui est plus fiable, plus faisable et surtout plus rentable en vue du diagnostic précoce de gestation chez les bovins laitier en Algérie.

Pour mieux produire il faut mieux gérer son cheptel. Pour le faire, le repeuplement du cheptel et le remplacement des vaches âgées (qui produisent moins) par des vaches plus jeunes en pic de production (qui produisent plus) est un élément très important à étudier par l'éleveur et le gestionnaire d'élevage. Mais est-ce que toutes les vaches peuvent être utilisées pour ce repeuplement ? bien sûr que non.

Il faut s'assurer que ces vaches de repeuplement ont un potentiel de production élevée. C'est pour cela qu'il faut utiliser les filles des vaches de son propre élevage, dont le niveau de production est bien connu. Pour cela le diagnostic précoce du sexe du fœtus est nécessaire.

Pour la gestion efficace de la reproduction et la production de la vache laitière en Algérie nous avons réalisé deux études en parallèles dont les principaux objectifs sont;

- le premier c'est l'application de trois méthodes pour le diagnostic précoce de gestation ;
 - le dosage de la progestérone plasmatique
 - l'échographie
 - la palpation transrectale

Toute en vérifiant leurs précocités, fiabilités et exactitudes.

- Le deuxième, c'est le suivi du développement fœtal et le choix de la meilleure date pour le diagnostic précoce du sexe du fœtus chez les bovins.

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES :

I.1. Matériel biologique :

I.1.1. ÉTUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION

Cette expérimentation s'est déroulée de septembre 2009 à juillet 2010, dans des élevages de bovins laitiers situés dans la région de Mitidja (wilaya de Blida). 89 vaches laitières, de races Prim'Holstein et Montbéliarde étaient concernées par cette étude. Les vaches sont réformées, en générale, au bout de la 6^{ème} lactation. Les animaux sont en stabulation entravée avec une aire d'exercice. L'hiver, l'alimentation est composée d'une partie de foin, d'une partie du concentré, du complexe minéralo-vitaminiques (CMV), et parfois du pain mouillé. Au printemps, les animaux reçoivent une grande partie d'herbe jeune, du concentré et du CMV.

Pour l'induction et la synchronisation des chaleurs, le protocole utilisé est celui du Crestar® (3 mg de Norgestomet ; Intervet, France) par voie sous-cutanée sous le pavillon de l'oreille et injection intramusculaire (IM) de 2 ml de solution huileuse de valérate d'oestradiol (3,8 mg ; Intervet). Cet implant est laissé en place pendant 10 jours, ensuite il est retiré, et la vache est inséminé 48h après, par insémination artificielle.

Dans cette étude nous voulons appliquer trois méthodes de diagnostic précoce de gestation ; le dosage de la progestérone plasmatique, l'échographie et la palpation transrectale toute en vérifiant leurs précocités, fiabilités et exactitudes.

I.1.2. ÉTUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE :

Cette étude a été réalisée dans la même région et dans les mêmes conditions d'élevage. 80 vaches gestantes (Prim'Holstein et Montbéliarde) appartenant à deux élevages (autres que les élevages de l'étude 1) ont été suivi pour le sexage du fœtus.

Le choix de ces vaches a été réalisé en fonction des commodités de travail. Nous avons en commun un intérêt avec l'éleveur pour éviter les examens et prélèvements répétés sur le même animal. Et en même temps nous voulions éviter toute interaction entre les deux protocoles.

I.2. Matériel non biologique: (voir annexes)



Image 1 : l'échographe utilisé dans notre étude expérimentale (CHISON 600VET®)

I.3. Protocole :

I.3.1. ÉTUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION

I.3.1.1. Dosage de la progestérone

Le protocole suivi est celui de MARCOS G et al (2008). Les prises de sang sont effectuées au niveau de la veine coccygienne, dans des tubes sous vides (5ml) contenant de l'héparine (Vacutainer®; Becton Dickinson, Belliver Industrial Estate, Polymouth. PL6 7BP. Royaume-Uni) 23 jours après l'insémination. Les tubes sont ensuite centrifugés sur place par une centrifugeuse portative, à 3000 tours/min pendant 20 minutes. Les plasmas sont récupérés dans des eppendorfs à l'aide de pipettes de pasteurs (à usage unique). Ensuite les plasmas sont congelés à -20°C, jusqu'au jour de l'analyse où ils sont décongelés dans un bain mari à 37°C pendant 10 minutes (cf. Images 2 - 6).

Les prélèvements sont ensuite analysés au niveau du centre des recherches nucléaire, Draria. Algérie. La progestérone est dosée à partir du plasma, selon la méthode radio-immunologique (RIA). La progestérone marquée est une progestérone couplée à l'iodée (I^{125}). La radioactivité de la fraction liée est comptée à l'aide d'un calculateur de rayons gamma modèle « Perkin Elmer, Automatic Gamma Counter 2470. Perkin Elmer life and Analytic Sciences, Wallac Oy, P.O. Box 10, Fin- 20101 Turku, Finland » (cf. image 6).



Image 2 : technique du prélèvement sanguin au niveau de la veine coccygienne



Image 3 : le système vacutainer® (tubes sous vides) utilisé pour le prélèvement sanguin



Image 4 : centrifugeuse réglée à 3000 tours par minute pendant 20 minutes



Image 5: aspiration du plasma dans des eppendorfs à l'aide de pipette de pasteur



Image 6 : compteur des rayons gamma (lecteur RIA)

Perkin Elmer®

Le kit utilisé dans notre étude est fabriqué par IMMUNOTECH® « IMMUNOTECH SAS- 130 av. de Lattre de Tassigny – B.P. 177 – 13276 Marseille Cedex 9 France » (voire appendices).

I.3.1.1.1. Principe de dosage :

Le dosage radioimmunologique de la progestérone est un dosage par compétition. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps avec un traceur progestérone marquée à l'iode 125. Durant l'incubation, des molécules de progestérone marquées (Ag^*) et non marquées (Ag) entrent en compétition vis-à-vis d'un nombre limité de sites de liaison spécifique à la progestérone (Ac : anticorps) (cf. figure 68). Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe. Une fois l'équilibre atteint, le pourcentage des formes liées (Ag^*-Ac) est inversement proportionnel à la concentration de la substance que l'on veut doser (Ag).

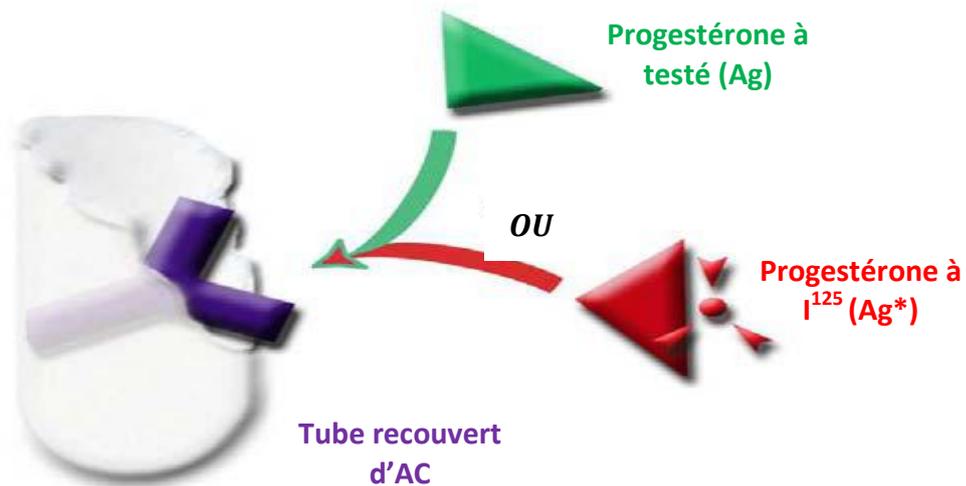
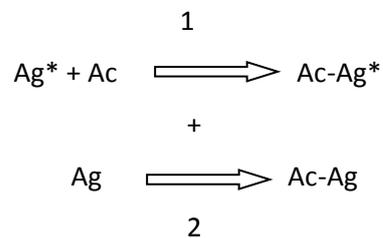


Figure 68: principe de la technique RIA (www.immunotech.cz)

Si on met en présence, Ag, Ag* et Ac; les deux équilibres suivants entrent en compétition:



Si on ajoute au milieu d'incubation des quantités croissantes de Ag, alors que les quantités de Ag* et Ac sont maintenues fixes, la réaction se déplace dans le sens de formation de Ag—Ac. De ce fait, la concentration de Ag*-Ac diminue.

Pour l'équilibre 1

$$K1 = \frac{[\text{Ag}^*\text{-Ac}]}{[\text{Ag}^*] \cdot [\text{Ac}]}$$

$$[\text{Ac}] = \frac{[\text{Ag}^*\text{-Ac}]}{[\text{Ag}^*] \cdot K1}$$

Pour l'équilibre 2

$$K2 = \frac{[\text{Ag-Ac}]}{[\text{Ag}] \cdot [\text{Ac}]}$$

$$[\text{Ac}] = \frac{[\text{Ag-Ac}]}{[\text{Ag}] \cdot K2}$$

Et

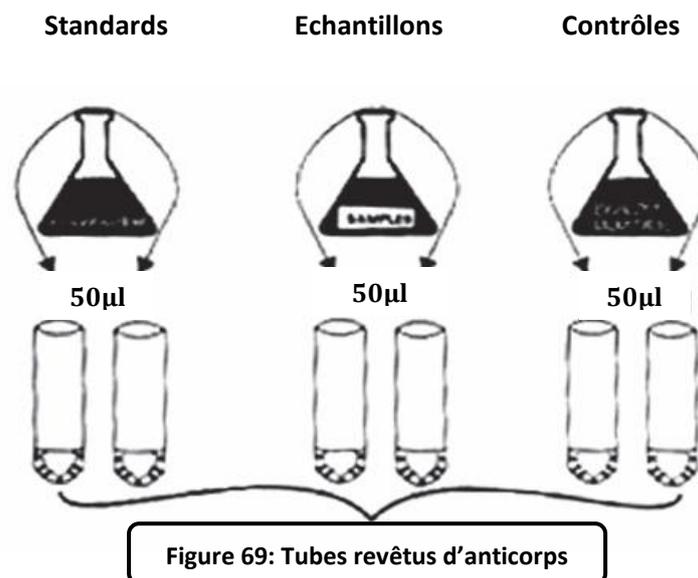
$$\frac{[\text{Ag-Ac}]}{[\text{Ag}^*\text{-Ac}]} = \dots$$

$$[Ag] = \frac{[Ag-Ac] \cdot [Ag^*] \cdot K1}{[Ag^*-Ac] \cdot K2}$$

La concentration de l'antigène à doser [Ag] est bel et bien inversement proportionnel à la radioactivité du complexe [Ag*-Ac].

I.2.1.1.2. Mode opératoire :

- D'abord il faut s'assurer que les échantillons et les composants du kit sont à température ambiante avant le démarrage du dosage. Ensuite, on procède à l'identification de chaque tube de dosage et prévoir des essais en double pour chaque étalon, contrôle et échantillon inconnu.
- On commence par pipeter 50µl de chaque standard, control de qualité et les échantillons inconnus dans son tube respectif (cf. figure 69).



- On rajoute immédiatement 500µl du traceur (progestérone marquée à I¹²⁵) dans chaque tube de dosage (cf. figure 70).

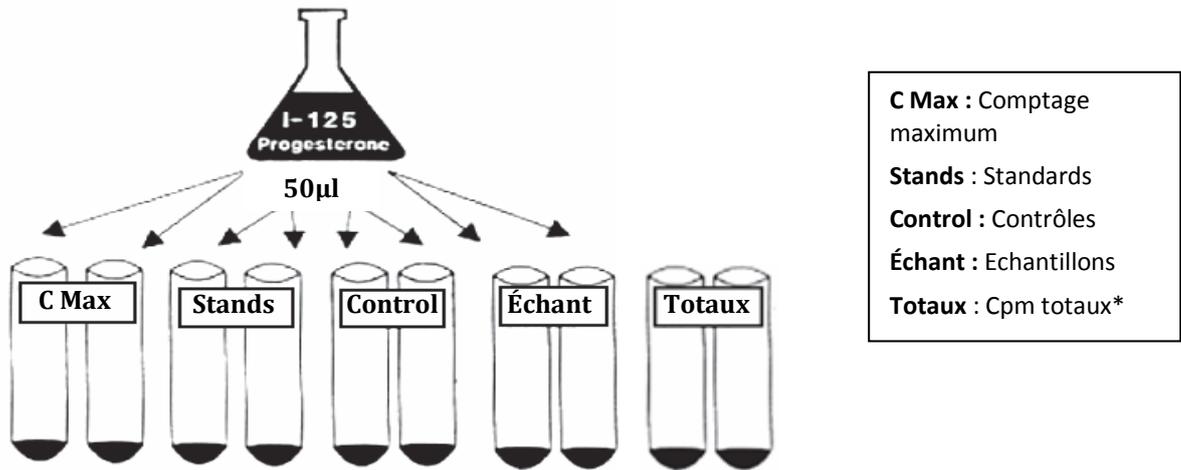


Figure 70: Dans chaque tube on rajoute 500µl du traceur progestérone marquée à I^{125} .

* Pour obtenir les « Cpm totaux », on ajoute 500µl de traceur dans deux tubes supplémentaires.

- d) On agite le mélange à l'aide d'un vortex.
- e) Ensuite, on incube le mélange pendant une heure à 18-25°C avec agitation.
- f) Après incubation, on aspire soigneusement le contenu de chaque tube, sauf les deux tubes de « Cpm totaux ».
- g) Après avoir bien aspiré les tubes. On prend les tubes dans la salle de comptage (compteur mis en marche au préalable) et on compte la radioactivité liée de chaque tube pendant 60 secondes.
- h) Après avoir mesuré la dose de radioactivité de chaque tube en Cpm, on estime :
 - le pourcentage de liaisons maximum = le % de liaisons (Ag^*-Ac)

$$B_{max} = (\text{moy Cpm du standard } O / \text{moy Cpm totaux}) \times 100$$

- Le pourcentage de liaisons de chaque standard, contrôle et échantillon par rapport au standard O = % de liaisons $Ag-Ac$

$$B/B_0 (\%) = (\text{moy Cpm du standard, contrôle ou échantillon} / \text{moy Cpm du standard } O) \times 100$$

- i) Pour la courbe standard (cf. figure 71), les résultats obtenus ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamma standard (mode « Spline ») avec en ordonnée le rapport B/B_0 (%) et en abscisse les concentrations en progestérone des calibrateurs (ng/ml).

1.3.1.1.3. Interprétation :

Le dosage est considéré positif, c'est-à-dire que la vache est présumée gestante, si la valeur de la progestéronémie est supérieure ou égale à 2 ng/ml. Par contre, elle est dite vide, si cette valeur est inférieure à 2 ng/ml.

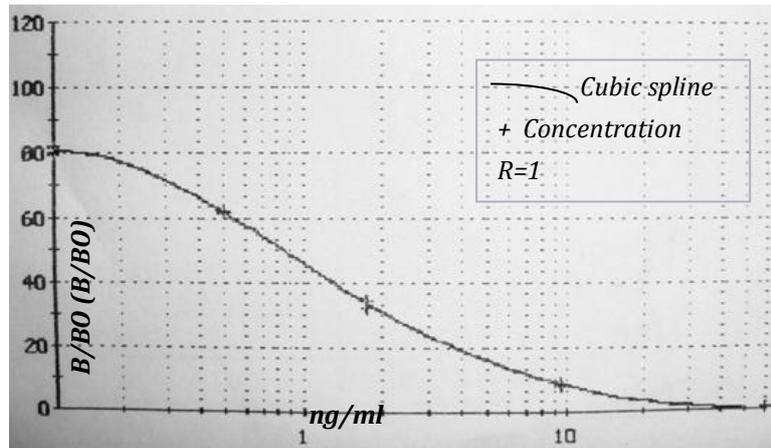


Figure 71 : La courbe standard

Pour les caractéristiques de la trousse RIA « IMMUNOTECH », veuillez consulter les appendices.

I.3.1.2. Échographie

Les animaux sont conduits dans une étable sombre, et contentionnées une par une. L'échographe utilisé est un CHISON 600VET (Chison Medical Imaging CO., LTD. China), avec une sonde linéaire de 5MHz, déposé sur un chariot ou sur une botte de foin dans une brouette à 1 mètre loin du manipulateur (cf. image 7). C'est par la voie transrectale que l'échographie est réalisée dans cette étude. Chaque vache a été diagnostiquée à 45-50 jours et ensuite à 90 jours après insémination. Ce deuxième examen a été réalisé pour la confirmation définitive de gestation.

L'examen échographique a été utilisé aussi pour la détection de la cyclicité de la vache et pour la mise en évidence d'une éventuelle mortalité embryonnaire ou tout autre problème gynécologique.

L'examen échographique est précédé d'un examen par palpation transrectale succinct en vue d'évaluer la position de l'appareil génital, et en aucun cas, pour avoir une idée préalable de l'état gestatif de la vache (cf. image 8).

La vache est considérée gestante, s'il y a une détection en premier lieu de la vésicule embryonnaire, liquidienne et anéchogène plus ou moins noire (cf. image 9), puis plus tardivement de l'embryon lui-même, tache échogène plus ou moins blanche au sein des liquides fœtaux (cf. image 10) (MERCIER PARISOT et al., 1991 ; LOUSSOUARN C, 1999).

Il faut signaler également que si la vésicule embryonnaire est présente, et que par contre, il n'y a pas d'embryon visible, alors qu'on était en droit de s'attendre à le voir pour le stade de gestation considéré, la vache est quand même jugée gestante (LOUSSOUARN C, 1999).

Dans notre étude, pour la comparaison des résultats des 3 méthodes de diagnostic de gestation, nous considérons les résultats de l'échographie réalisée à 90 jours après insémination comme une référence.

I.3.1.3. Palpation transrectale

Il est impératif de s'assurer de la contention correcte de l'animal et l'utilisation de gants de protection bien lubrifiés. On procède à une vidange du rectum, puis la main progresse sur le plancher du rectum en palpant le tractus génital sous-jacent (cf. image 10). L'examen est réalisé entre les 60-90^{ème} jours après insémination. Lors de l'examen, on palpe les ovaires et l'utérus, et la vache est considérée gestante s'il y a, au niveau de l'un des deux ovaires, un corps jaune (CJ), associé à une asymétrie des cornes et/ou perception de la vésicule amniotique et/ou glissement des membranes annexielles et/ou mise en évidence du fœtus et/ou cotylédons.

Il est à noter que, lors de l'examen par palpation transrectale, les résultats préalables de l'examen échographique pour une vache donnée ne sont pas prises en considération, donc on considère que cet examen, par palpation transrectale, est le premier examen à réaliser chez cette vache pour le diagnostic de gestation.



Image 7 : L'échographe est placé 1 mètre loin du manipulateur



Image 8 : palpation transrectale pour évaluer la position de l'appareil génital



Image 9: vésicule embryonnaire (v) (liquide anéchogène)

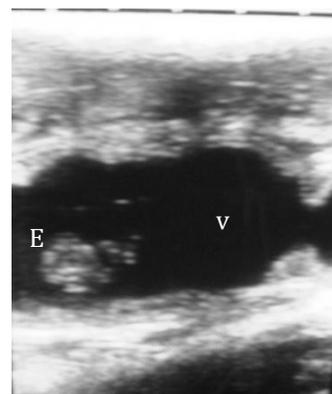


Image 10: tache échogène (E : embryon) au sein des liquides embryonnaires (v) (anéchogène)

I.3.2. ÉTUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE

Les examens échographiques ont été portés sur 80 vaches, inséminées après synchronisation, de races Prim'Holstein et Montbéliard, dont la date d'insémination était connue. L'appareil utilisé était un échographe de marque CHISON 600VET (Chison Medical Imaging CO., LTD. China) équipé d'une sonde linéaire émettant des ultrasons d'une fréquence de 5 MHz (cf. images 1 et 7).

Chaque vache est diagnostiquée par un examen échographique dans 3 dates différentes : Le premier examen (T1) entre 50-69 jours après insémination (JAI), pour le diagnostic de la gestation et pour la détermination précoce du sexe du fœtus. Le deuxième examen (T2) entre 70-95 JAI, pour la confirmation du sexage précoce du fœtus. Le troisième examen (T3) entre 115-140 JAI, pour la confirmation définitive de sexe et de viabilité du fœtus.

Pour le diagnostic précoce du sexe (entre 50 jours et 69 jours de gestation) on recherche la position du tubercule génital : ébauche du pénis chez le mâle et du clitoris chez la femelle. Cette ébauche est initialement localisée entre les membres postérieurs, et elle migre en direction du cordon ombilical chez le fœtus mâle, et en direction de la queue chez le fœtus femelle (cf. figures 50,51).

Pour la confirmation du sexage précoce ou pour le sexage tardif (entre 70 jours et 140 jours) on recherche le scrotum et les testicules pour le mâle, ou les quatre bourgeons mammaires pour la femelle (cf. images 29, 34).

I.4. Analyse statistique

1.4.1. ÉTUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION

Les différences sont considérées comme significatives au seuil de probabilité de 5 p. 100 ($P < 0,05$). Les résultats ont été analysés au moyen du logiciel Microsoft Excel® 2010 et des macros d'AnaStats®.fr

Lorsqu'on veut évaluer une nouvelle méthode de diagnostic de gestation ; on la compare à une autre méthode, dite de référence. C'est en effet, cette méthode de référence qui permet de déceler les vrais positifs des faux positifs ; et les vrais négatifs des faux négatifs. Dans cette étude, la méthode de référence de choix pour la fiabilité est l'examen échographique à 90 jours de gestation.

Les critères de qualité calculés pour les méthodes utilisées pour le diagnostic de gravidité chez les vaches laitières sont l'exactitude et la fiabilité.

L'exactitude a été définie comme l'aptitude à détecter les femelles gravides ou vides. La fiabilité a été définie comme la probabilité qu'une femelle déclarée gravide puisse mettre bas ou qu'une femelle déclarée non gravide soit vide. Les calculs ont pris en compte les variables suivantes (KAREN a et al., 2006) :

- (a) le diagnostic de gravidité s'est révélé exact (vrai positif) ;
- (b) le diagnostic de gravidité s'est révélé inexact (faux positif) ;
- (c) le diagnostic de non-gravidité s'est révélé exact (vrai négatif);
- (d) le diagnostic de non-gravidité s'est révélé inexact (faux négatif).

$$\text{Exactitude Positive} = \text{Sensibilité} = \frac{\text{Vrais positifs (a)}}{\text{Vrais positifs} + \text{Faux négatifs (a + d)}}$$

$$\text{Exactitude Négative} = \text{Spécificité} = \frac{\text{Vrais négatifs (c)}}{\text{Vrais négatifs} + \text{Faux positifs (c + b)}}$$

Exactitude totale

$$= \frac{\text{Vrais positifs} + \text{Vrai négatifs (a + c)}}{\text{Vrais positifs} + \text{Faux Positifs} + \text{Vrais négatifs} + \text{Faux négatifs (a + b + c + d)}}$$

$$\text{Fiabilité Positive} = \text{Valeur Prédictive Positive} = \frac{\text{Vrais positifs (a)}}{\text{Vrais positifs} + \text{Faux Positifs (a + b)}}$$

$$\text{Fiabilité Négative} = \text{Valeur Prédictive Négative} = \frac{\text{Vrais négatifs (c)}}{\text{Vrais négatifs} + \text{Faux négatifs (c + d)}}$$

Un test de Khi deux a été utilisé pour évaluer la différence statistique entre la sensibilité et la spécificité de la progestéronémie à 23 JAI, l'échographie à 45-50 JAI et la palpation transrectale à 60-90 JAI. En plus un test de Student (t) a été utilisé pour expertiser la différence statistique de la concentration de la progestérone entre les vaches gravides et les vaches vides.

II. RÉSULTATS :

II.1. ÉTUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION

L'examen échographique de référence réalisé à 90 JAI a révélé que 51 vaches étaient gravides, alors que 38 vaches sont restées non gravides. Le pourcentage de gravidité était de 57% (43% génisses, 24% unipares et 33% multipares).

II.1.1. Résultats du dosage de la progestérone plasmatique :

Nous avons trouvé que 65 vaches avaient une progestéronémie > 2ng/ml, 44 vaches avec une progestéronémie > 4 ng/ml et 15 vaches avec une progestéronémie > 7 ng/ml (cf. figure 72)

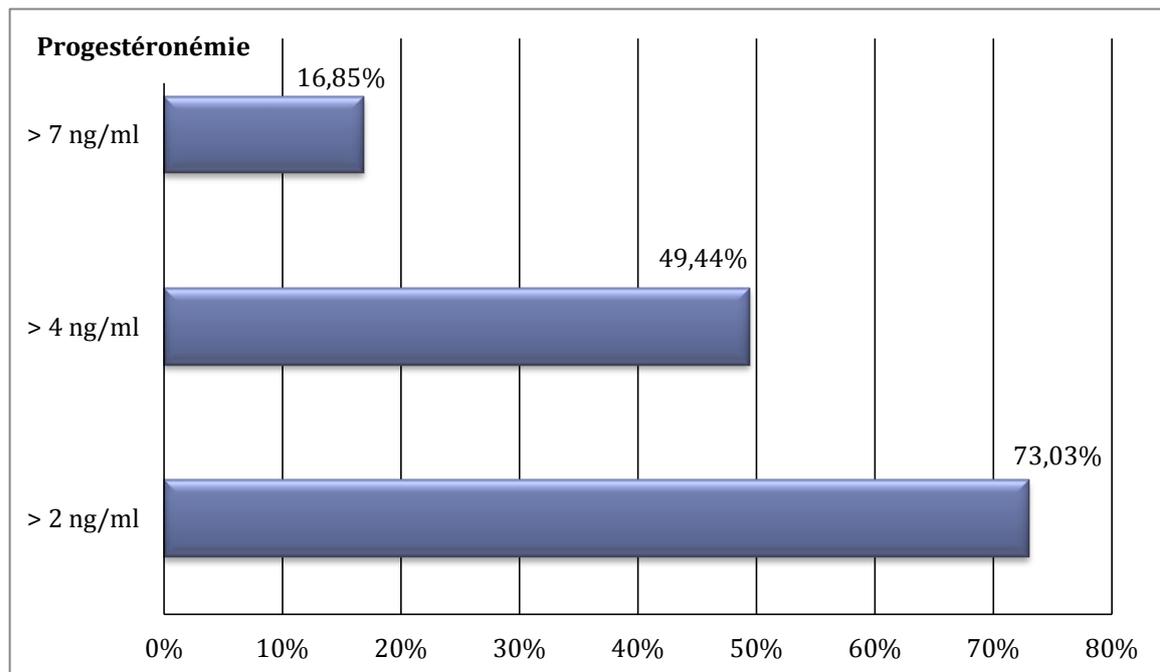


Figure 72 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction de leur concentration de progestérone plasmatique à J23.

II.1.1.1. Exactitude et fiabilité de la progestéronémie à J23

Parmi les 89 femelles dont le sang a été prélevé à 23 jours après insémination, 44 femelles étaient gravides et ont été confirmées gestante par l'examen échographique à J90, 21 femelles ont été confirmées non gravides. Ces chiffres ont été utilisés pour calculer l'exactitude et la fiabilité de diagnostics de gravidité par dosage de la progestérone pratiquée au 23^{ème} jour (voir annexe tableau 2).

Les résultats du diagnostic de gravidité par le dosage de la progestérone à 23 jours après insémination sont consignés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde .

Dosage de la progestérone	Seuil de décision (ng/ml)		
	>7	>4	>2
Diagnostic de gravidité exact (a)	14	32	44
Diagnostic de gravidité inexact (b)	1	12	21
Diagnostic de non-gravidité exact (c)	37	26	17
Diagnostic de non-gravidité inexact (d)	37	19	7
Exactitude du diagnostic de gravidité positive (sensibilité)	27,5%	62,7%	86,3%
Exactitude du diagnostic de gravidité négative (spécificité)	97,4%	68,4%	44,7%
Exactitude total	57,3%	65,2%	68,5%
Fiabilité du diagnostic de gravidité positive	93,3%	72,7%	67,7%
Fiabilité du diagnostic de gravidité négative	50,0%	57,8%	70,8%

Un total de 27% des vaches gestantes avaient une progestéronémie >7ng/ml, 35% étaient entre 4 et 7 ng/ml, 24% étaient entre 2 et 4 ng/ml et 14% <2 ng/ml.

Un total de 55% des vaches vides (non gestantes) avaient une progestéronémie dépassant 2 ng/ml [2, 8[ng/ml, alors que 45% avaient une progestéronémie <2 ng/ml [0, 2[ng/ml, et 5% étaient entre 1 et 2 ng/ml.

La sensibilité du dosage de la progestéronémie par la méthode RIA diminue de 86,3% à 27,5% quand le seuil de décision augmente de 2ng/ml à 7ng/ml, alors que la spécificité augmente de 44,7% à 97,4% pour les seuils déjà cités respectivement. En revanche l'exactitude totale diminue de 68,5% à 57,3% quand le seuil de décision augmente de 2ng/ml à 7ng/ml (cf. tableau 15).

La fiabilité positive augmente de 67,7% à 93,3% en augmentant le seuil de décision de 2 à 7ng/ml. En revanche la fiabilité négative augmente de 50% à 70,8% en diminuant de seuil de décision de 7 à 2 ng/ml.

Les concentrations de la progestérone dans le sang chez l'ensemble des vaches gestantes et non gestantes sont présentées dans le tableau 16. La progestéronémie chez les vaches gestantes est plus élevée que chez les vaches non gestantes ($P < 0.0001$).

Tableau 16 : concentration (moyenne, écart-type, rang, n) de la progestéronémie (ng/ml) chez les vaches gestantes et non gestantes (selon les résultats de l'examen échographique à 90 JAI).

Progestéronémie (ng/ml)	gestantes	Non gestantes
Moyenne	5,188	2,885*
Ecart-type	2,744	2,337
Rang	0,166 - 10,794	0,129 - 8,119
n	51	38

* différence significative dans la concentration de la progestéronémie entre les vaches gestantes et les vaches non gestantes à $P < 0.0001$

II.1.2. résultats de l'examen échographique :

A 45-50 JAI nous avons constaté que chez 49 vaches l'examen échographique était positif, alors qu'il était négatif chez 40 vaches. Alors qu'à 90 JAI il y avait 51 vaches avec résultats positifs et 38 vaches avec résultats négatifs (cf. figure 73).

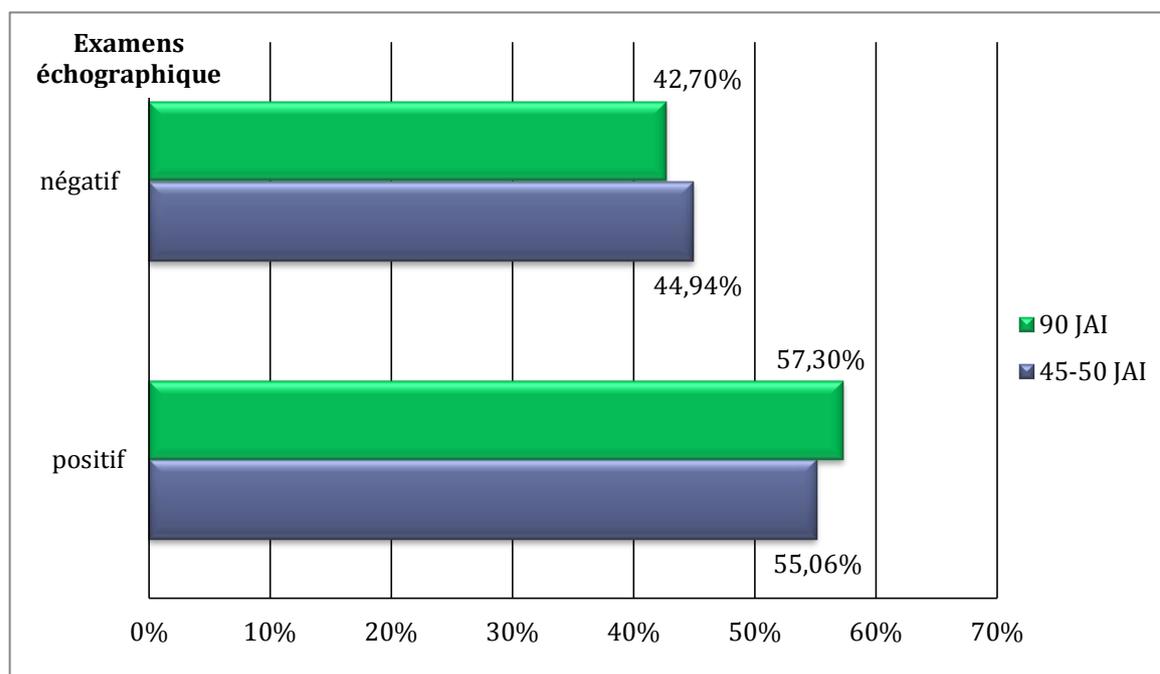


Figure 73 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction des résultats de l'examen échographique à 45-50 JAI et à 90 JAI.

II.1.2.1. Exactitude et fiabilité de l'examen échographique entre 45-50^{ème} jours

Parmi les 89 femelles examinées par échographie entre 45-50^{ème} jours après insémination, 49 vaches étaient gravides et ont été confirmées gestante par l'examen échographique à J90, 2 vaches étaient vides et confirmées gestantes à J90 par échographie. En revanche aucun faux positif n'a été enregistré.

Le diagnostic de gravidité a été établi sur la base de la reconnaissance des images correspondant aux liquides contenus dans les vésicules embryonnaires et/ou embryons. L'observation d'une zone anéchogène plus ou moins circulaire dans l'utérus (vésicule embryonnaire) a été faite à partir du 45^{ème} jour post insémination. L'embryon ou le fœtus, tache échogène au sein de la zone anéchogène, a été à lui aussi détecté à partir du 45^{ème} jour de la gravidité (cf. images 9,10).

Les résultats de diagnostics de gravidité sont consignés dans le tableau 17. Les exactitudes du diagnostic de gravidité positif et négatif, ainsi que l'exactitude globale sont très élevées, 96.1%, 100%, 97.8% respectivement. De même, la fiabilité du diagnostic de gravidité positif et négatif sont 100% et 97.8% respectivement. Ces résultats ont été confirmés par l'examen échographique à 90 JAI.

L'échographie a permis de visualiser directement le conceptus (cf. images 12-15), ce qui a admis de contrôler directement sa viabilité (battements cardiaques et mouvements du corps et des membres).

Les cotylédons (cf. image 11), le cordon ombilical (cf. image 12), le tronc (cf. images 13, 14), la tête (cf. image 15) et les membres sont nettement différenciable à l'aide de l'échographie.

En plus, il était possible de diagnostiquer des gestations gémellaires chez quelques vaches (cf. image 16) où l'exploration rectale n'a pas permis de le faire.

Tableau 17 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par échographie transrectale réalisé entre 45-50 JAI, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde .

Examen échographique	45-50 JAI
Diagnostic de gravidité exact (a)	49
Diagnostic de gravidité inexact (b)	0
Diagnostic de non-gravidité exact (c)	38
Diagnostic de non-gravidité inexact (d)	2
Exactitude du diagnostic de gravidité positive (sensibilité)	96,1%
Exactitude du diagnostic de gravidité négative (spécificité)	100,0%
Exactitude total	97,8%
Fiabilité du diagnostic de gravidité positive	100,0%
Fiabilité du diagnostic de gravidité négative	95,0%

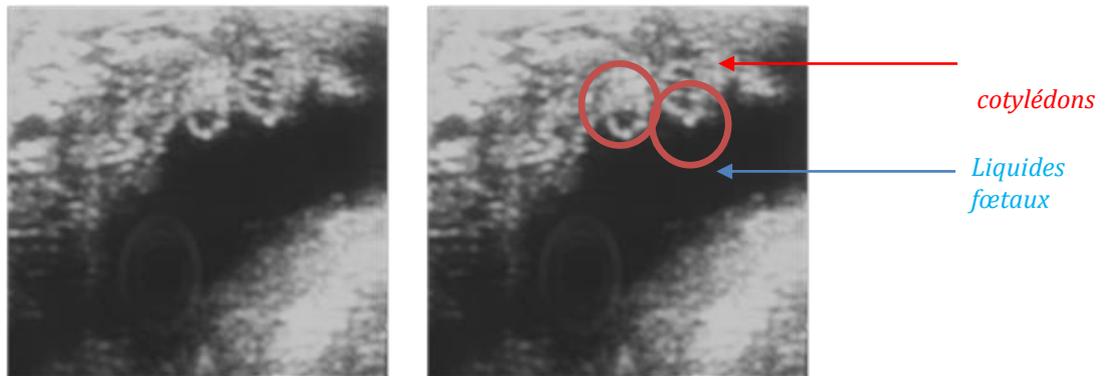


Image 11: Cotylédons à 54 jours de gestation

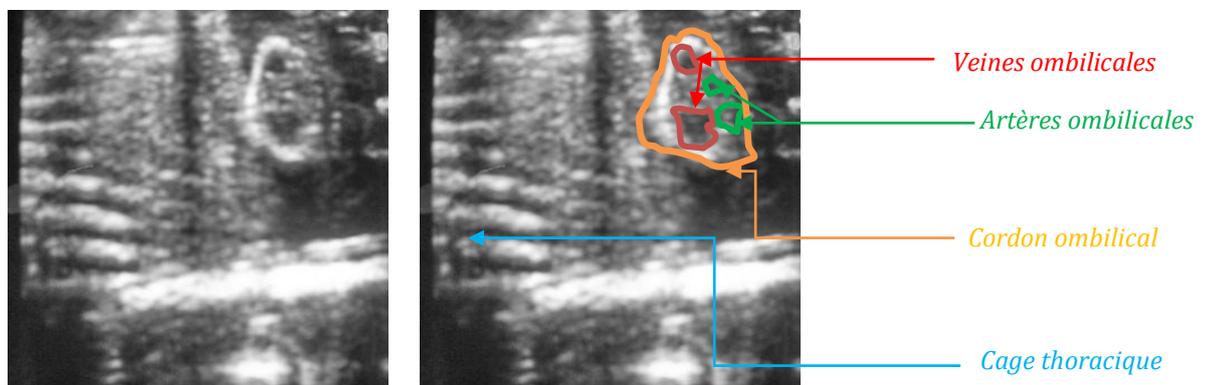


Image 12: cordon ombilical à 58 jours de gestation

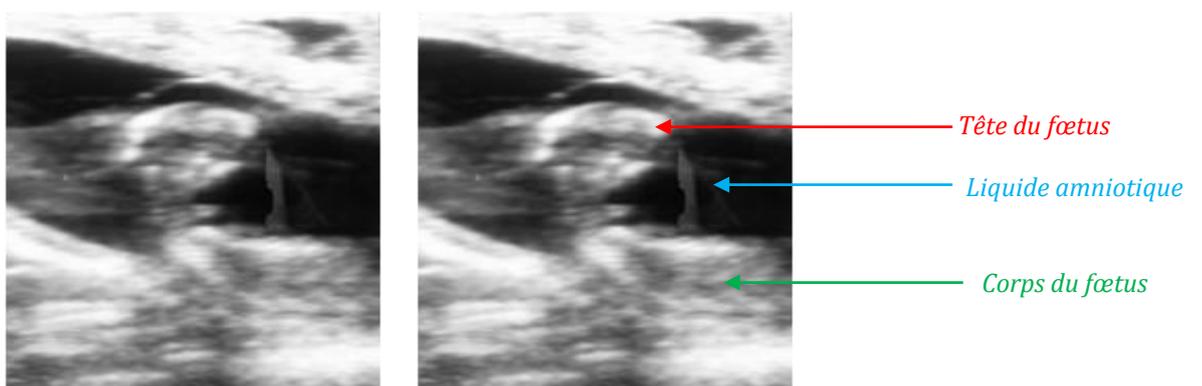


Image 13: corps du fœtus à 64 jours de gestation

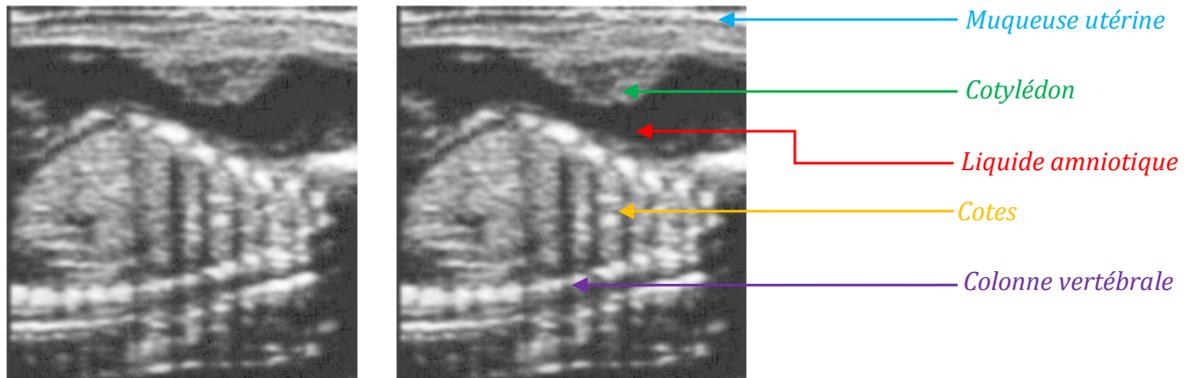


Image 14: cage thoracique du fœtus à 58 jours de gestation

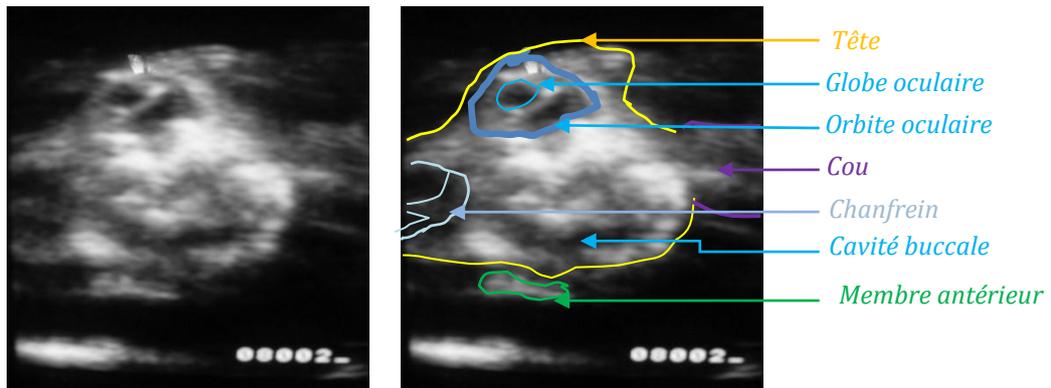


Image 15: tête d'un fœtus à 68 jours de gestation



Image 16: Gestation gémellaire (2 vésicules embryonnaires échogènes) à 31 jours de gestation.

Autres intérêts de l'examen échographique :

L'examen échographique a permis aussi de mettre en évidence des follicules en croissance (cf. image 17) et des corps jaunes cycliques ou gestatifs (cf. image 18), mais il était impossible de différencier ces corps jaunes entre eux sur le plan morphologique.

L'aspect des cornes utérines sous échographie a montré qu'au moment de l'œstrus la lumière utérine donne une image un peu anéchogène du fait de la présence abondante des sécrétions utérine à cette période du cycle, contrairement aux autres phases du cycle œstrale (cf. images 19, 20).

Il était possible de mettre en évidence 5 cas de corps jaunes cavitaires et 6 cas des kystes folliculaires. En plus il était même possible de les différencier en se basant sur l'épaisseur de leurs parois et la taille de leurs cavités (cf. images 21, 21, 23), il y avait :

- 5 corps jaunes cavitaires, chez des vaches gestantes, dont les parois étaient remarquablement épaisses (de 17,3 à 22 mm d'épaisseur) et les cavités étaient très réduites (de 10 à 18,5 mm de diamètre).
- 3 kystes folliculaires non lutéinisés chez des vaches non gestantes dont les parois étaient très minces (de 1 à 3 mm d'épaisseur) et les cavités liquidiennes étaient de tailles très importantes (de 30 à 35.6 mm de diamètre).
- 3 cas de kyste lutéinisés chez des vaches non gestantes dont les parois étaient épaisses (de 7 à 10 mm d'épaisseur) et les cavités liquidiennes étaient de 22.1 à 29.3 mm de diamètre.

L'exploration rectale par échographie a prouvé aussi son importance dans le diagnostic des métrites (cf. image 24). Nous avons trouvé 1 cas de métrite et 1 cas de pyomètre chez des vaches non gestantes.

Nous avons aussi pu mettre en évidence 6 cas d'inactivité ovarienne. Tous les cas ont été enregistrés chez des génisses non gestantes.

Deux cas de mortalités embryonnaires ont été enregistrés durant notre étude (cf. image 25). L'image échographique de mortalité embryonnaire ressemble à celle d'une corne utérine au moment de l'œstrus, mais l'antécédent de la vache (gestante ou non) peut nous aider à différencier entre ces deux éventualités d'interprétation.

Nous avons pu même détecter une tumeur ovarienne de plus 10cm chez une vache Montbéliard de 7ans (cf. image 26)

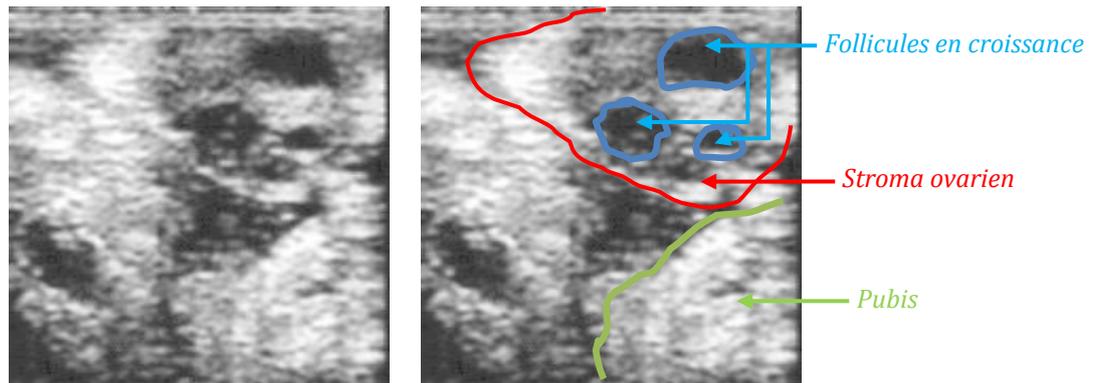


Image 17 : Petits follicules en croissance.

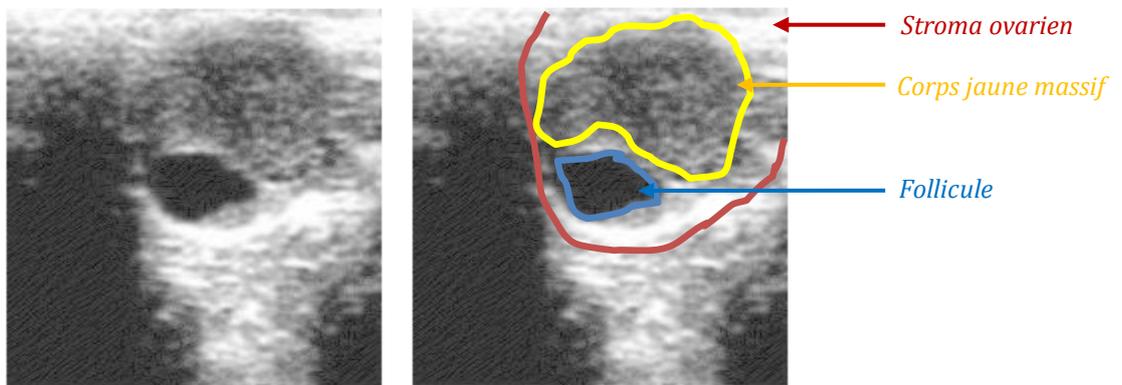


Image 18 : Corps jaune massif en régression et follicule en croissance (diœstrus)

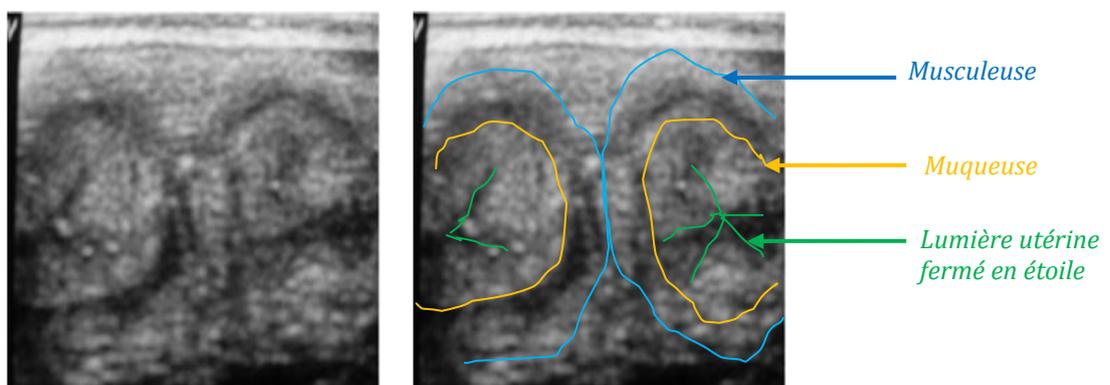


Image 19 : Cornes utérines fermées (en dehors de l'œstrus)

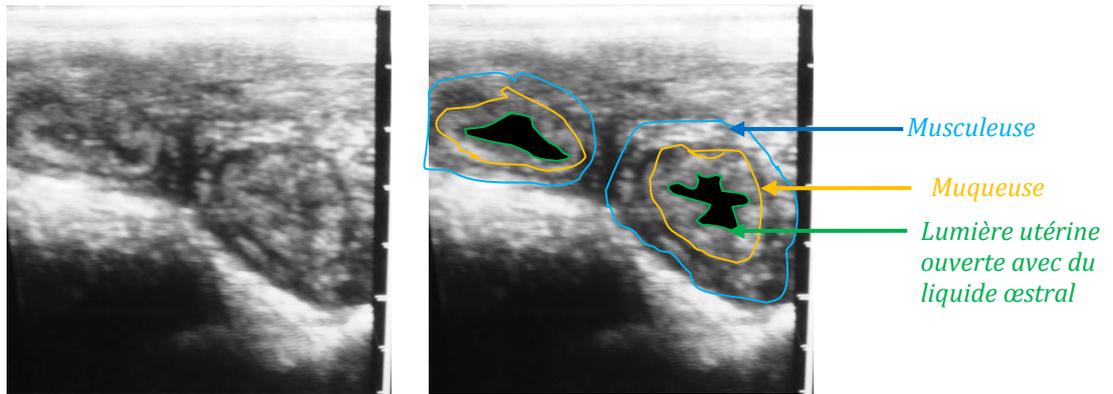


Image 20 : Cornes utérines avec du liquide œstral (œstrus)

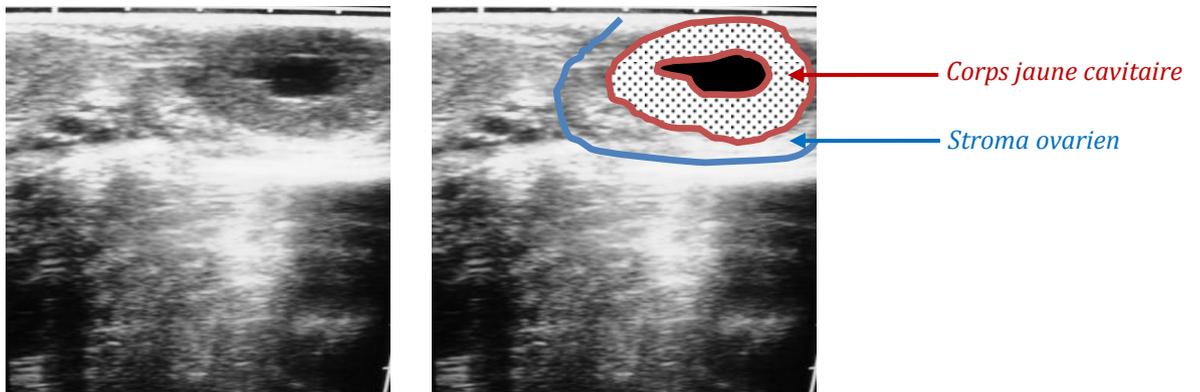


Image 21 : corps jaune cavitaire de 31,6mm de diamètre externe et de 9,8mm de diamètre interne

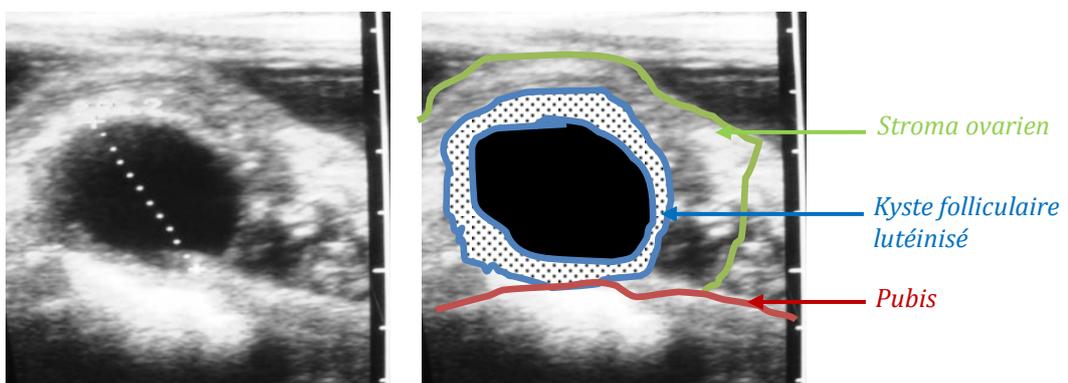


Image 22 : kyste folliculaire lutéinisé de 29,2mm de diamètre interne

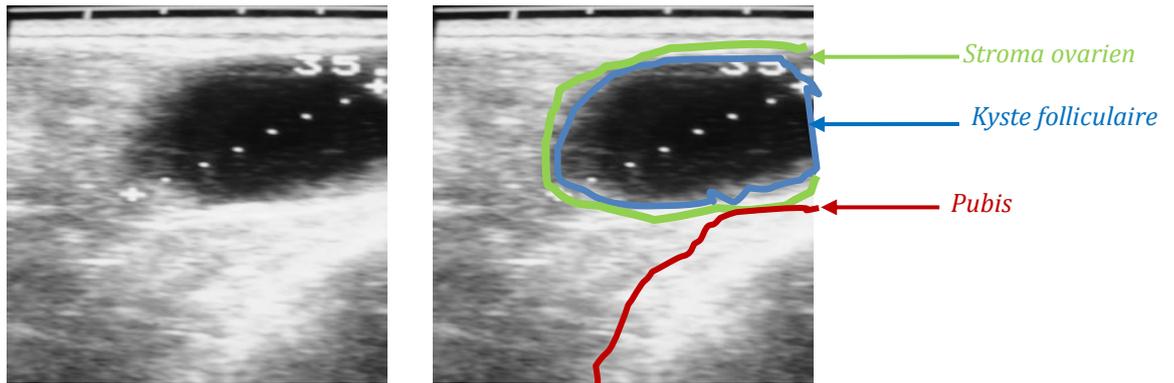


Image 23 : kyste folliculaire de 35,6mm de diametre interne

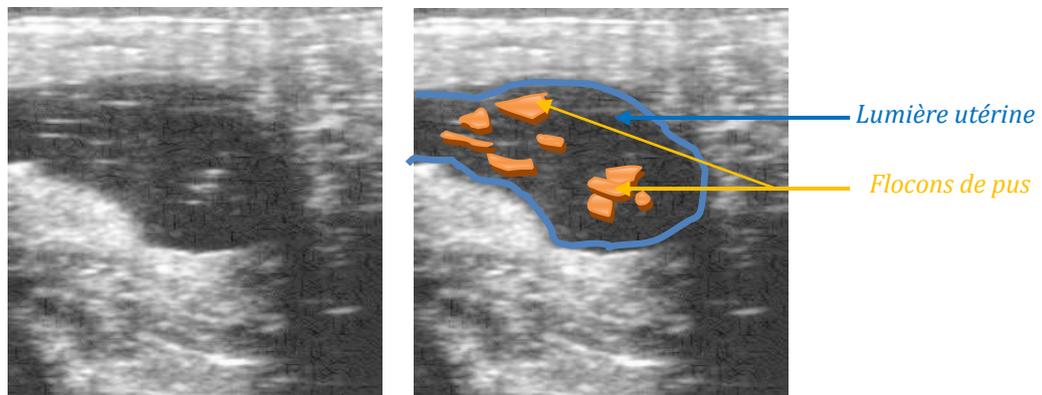


Image 24 : Pyromètre (lumière utérine avec des flocons de pus)

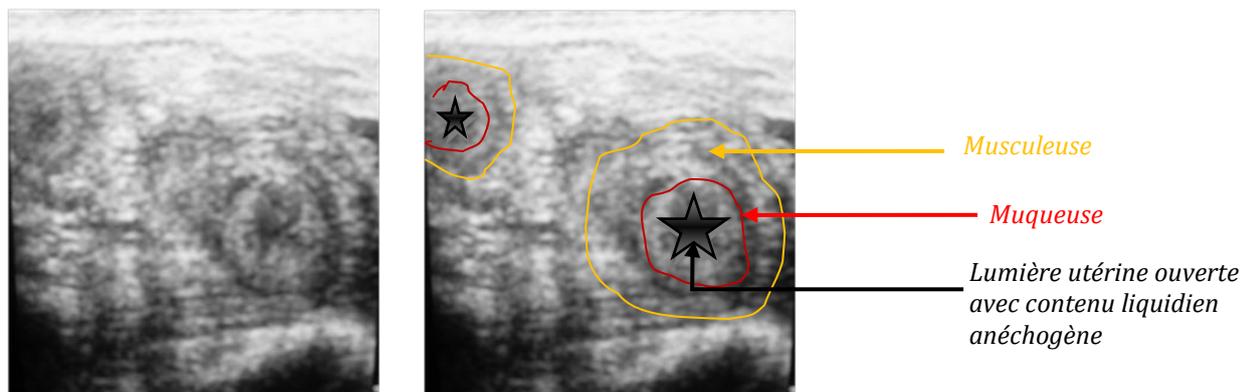


Image 25 : Mortalité embryonnaire tardive (résorption de la vésicule embryonnaire)

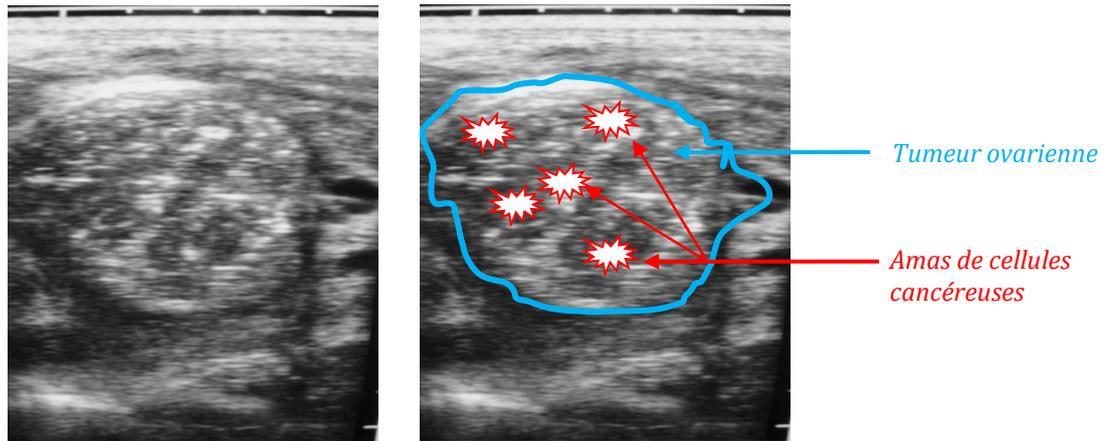


Image 26 : tumeur ovarienne de plus de 10cm

II.1.3. Résultats de la palpation transrectale :

Nous avons constaté que chez 49 vaches la palpation transrectale était positive, alors qu'elle était négative chez 40 vaches (cf. figure 74).

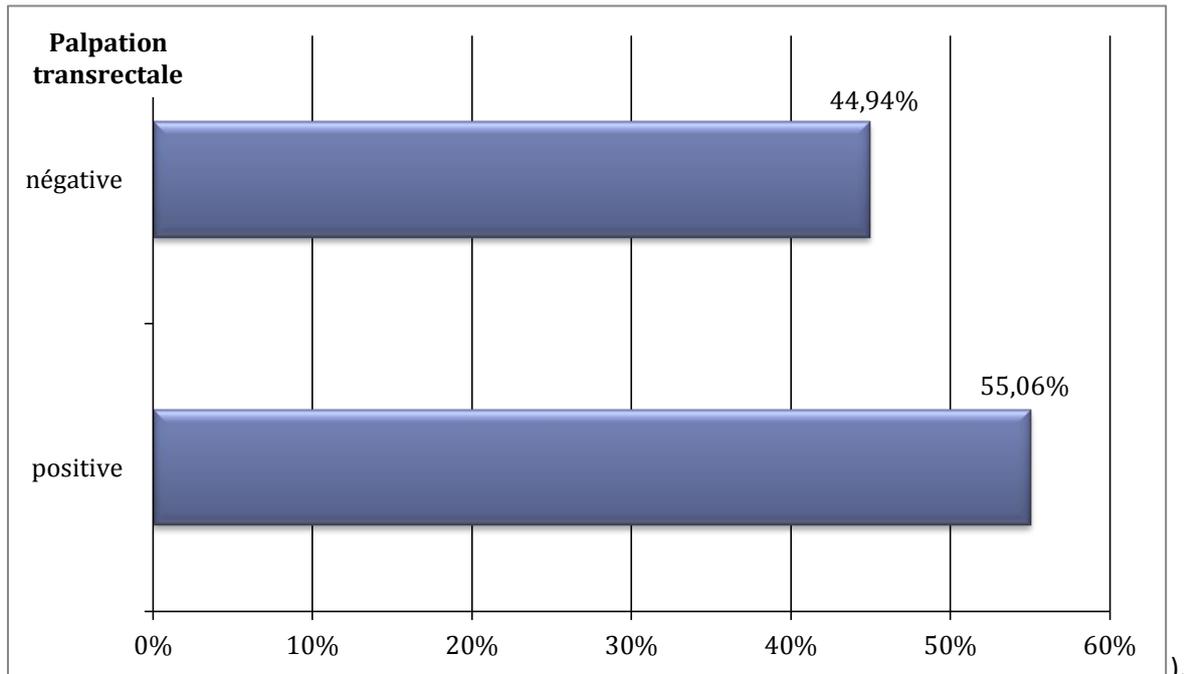


Figure 74 : Représentation graphique de la répartition des vaches en fonction des résultats de la palpation transrectale à 60-90 JAI.

II.1.3.1. Exactitude et fiabilité de la palpation transrectale entre 60-90^{ème} jours

La palpation transrectale chez les vaches gestantes a permis de mettre en évidence les commentaires enregistrés dans le tableau 19.

Pour le diagnostic de la gestation par palpation transrectale, un total de 54% des vaches gestantes étaient diagnostiquées comme gestantes entre 60 et 90JAI. En revanche 1% des vaches vides étaient diagnostiquées comme gestantes entre 60 et 90JAI (cf. tableau 18).

Cette méthode n'autorise pas de différencier entre un corps jaune gestatif et un corps jaune cyclique. La dissymétrie des cornes est nette et facile à mettre en évidence dès le 60^{ème} jour de gestation. Vers 72^{ème} jour de la gestation, les cotylédons sont nettement perceptibles, notamment au milieu de la corne gravide.

La sensibilité de la palpation transrectale est de l'ordre 94.1%, alors que la spécificité de ce test est de l'ordre de 97.4%.

Tableau 18 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par palpation transrectale, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde .

Palpation transrectale	60-90JAI
Diagnostic de gravidité exact (a)	48
Diagnostic de gravidité inexact (b)	1
Diagnostic de non-gravidité exact (c)	37
Diagnostic de non-gravidité inexact (d)	3
Exactitude du diagnostic de gravidité positive	94,1%
Exactitude du diagnostic de gravidité négative	97,4%
Exactitude total	95,5%
Fiabilité du diagnostic de gravidité positive	98,0%
Fiabilité du diagnostic de gravidité négative	92,5%

Tableau 19: résultats du diagnostic de gestation par palpation transrectale

		T1 (60-69 JAI)	T2 (70-90 JAI)
Ovaire	CJ	un des ovaires au moins présente un CJ (gestatif) palpable à cette date (sur l'ovaire du côté de la corne gravide).	Souvent, le CJ ne devient plus palpable vers la fin de ce stade (le poids de l'utérus fait plonger les ovaires dans la cavité abdominale).
	vésicule amniotique	La vésicule amniotique atteint une largeur de 10cm (largeur d'une main) vers la fin de ce stade.	-
	Asymétrie des cornes	La corne gravide devienne 6 fois plus grande que la corne non gravide vers la fin de ce stade.	la corne non gravide commence à s'augmenter de volume.
Utérus	membranes annexielles	Le glissement de ces membranes entre le pouce et l'index est optimal durant cette période.	Il est préférable d'effectuer cette manœuvre sur la corne vide (corne gravide est devenue turgescence, et les membranes y sont sous tension).
	fœtus	Non perceptible	En tapotant sur la corne gravide, on a la sensation d'une pièce de bois flottant à la surface liquide.
	cotylédons	Non perceptible	sont d'abord sentir sur le milieu et à la base des cornes (l'utérus a un aspect d'un sac rempli de pomme de terre).

En se basant sur le taux de gestation détecté par l'échographie à 90 JAI, l'exactitude totale de l'examen échographique réalisé à 45-50 JAI est de l'ordre de 97.8%, ce qui représente l'exactitude totale la plus élevée de ces trois méthodes ($P < 0.05$ avec le dosage de la progestérone à J23) et la différence est non significatif avec la palpation transrectale entre 60 et 90 JAI. (cf. tableau 20 et figure 75).

Concernant le dosage de la progestérone, l'exactitude totale varie selon le seuil retenue pour différencier les vaches vides des vaches gravides (cf. tableau 15). Le seuil 2ng/ml donne la meilleure exactitude totale (68,5% avec $P > 0.05$).

Tableau 20 : Nombres de vrai positif (a), faux positif (b), vrai négatif (c), et faux négatif (d) du diagnostic de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang, échographie et palpation transrectale, calculés à partir des résultats de l'examen échographique à 90 JAI chez 89 vaches laitières de races Prim'Holstein et Montbéliarde .

	Progestérone (2ng/ml)	Échographie (45-50J)	Palpation transrectale (60-90J)
Diagnostic de gravidité exact (a)	44	49	48
Diagnostic de gravidité inexact (b)	21	0	1
Diagnostic de non-gravidité exact (c)	17	38	37
Diagnostic de non-gravidité inexact (d)	7	2	3
Exactitude du diagnostic de gravidité positive (sensibilité)	86,3% ^a	96,1% ^a	94,1% ^a
Exactitude du diagnostic de gravidité négative (spécificité)	44,7% ^a	100,0% ^b	97,4% ^b
Exactitude total	68,5% ^a	97,8% ^b	95,5% ^b
Fiabilité du diagnostic de gravidité positive	67,7% ^a	100,0% ^b	98,0% ^b
Fiabilité du diagnostic de gravidité négative	70,8% ^a	95,0% ^a	92,5% ^a

Au sien de la même ligne les mêmes lettres indiquent une différence non significative. a;b = P<0.05

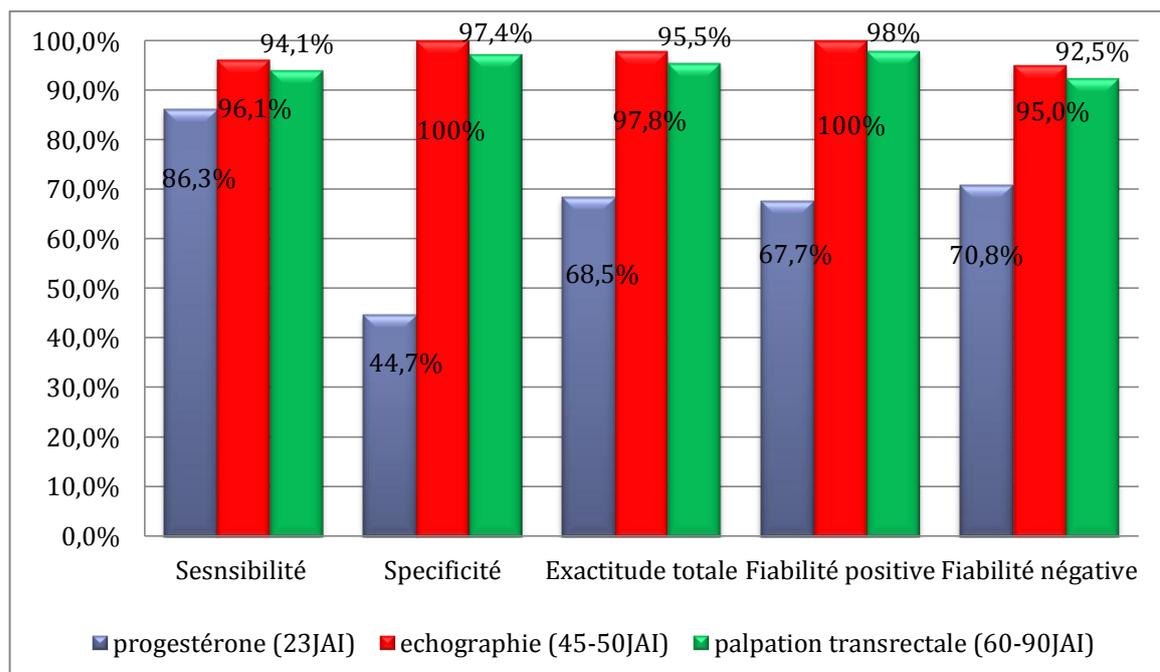


Figure 75 : représentation graphiques des différents résultats des 3 méthodes de diagnostic de gestation.

I.2.2. ÉTUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE

Les résultats du diagnostic du sexe sont consignés dans le tableau 21.

Tableau 21: résultats du diagnostic du sexe par échographie (5Mhz) chez les bovins

	T1 (50-69JAI)	%	T2 (70-95JAI)	%	T3 (115-140JAI)	%
Male	32	40	36	45	17	21
Femelle	36	45	41	51	30	38
Non déterminé	12	15	3	4	33	41

A T1, le sexage n'était pas possible chez 15% des vaches, notamment chez les multipares (67%) (cf. tableau 22). En revanche, la majorité des fœtus ont été sexés entre 57ème et 66ème jour d'âge (cf. images 27, 28, 29, 30, 32).

A T2, le sexage était plus facile mais il nécessite plus de temps pour le faire. La détermination du sexe du fœtus était possible dans plus de 96% dans l'ensemble des élevages et 100% chez les génisses (cf. images 31, 33, 34).

A T3, le sexage était presque impossible du fait que le fœtus plonge dans la cavité abdominale au-delà de champ de détection de la sonde de 5MHz.

Tableau 22 : la répartition des cas du sexe non déterminés en fonction de l'âge de la vache et du fœtus

	T1 (50-69JAI)	%	T2 (70-95JAI)	%	T3 (115-140JAI)	%
Génisses	2	17	0	0	5	15
Unipares	2	17	1	33	3	9
Multipares	8	67	2	67	25	76

Le pourcentage des vaches gestantes avec des fœtus femelles est plus important que celui des vaches avec fœtus males (51% contre 45% respectivement, avec 4% de sexe non déterminé) (cf. tableau 21).

Du fait que le sexe du fœtus était possible de le déterminer dans plus de 96% des cas à T2 (70-95JAI), alors qu'il était impossible de le faire dans 41% des cas à T3 (115-140JAI), on considère que le sexage tardif à T2 est la référence pour évaluer l'exactitude du sexage précoce réalisé à T1 (cf. tableau 21).

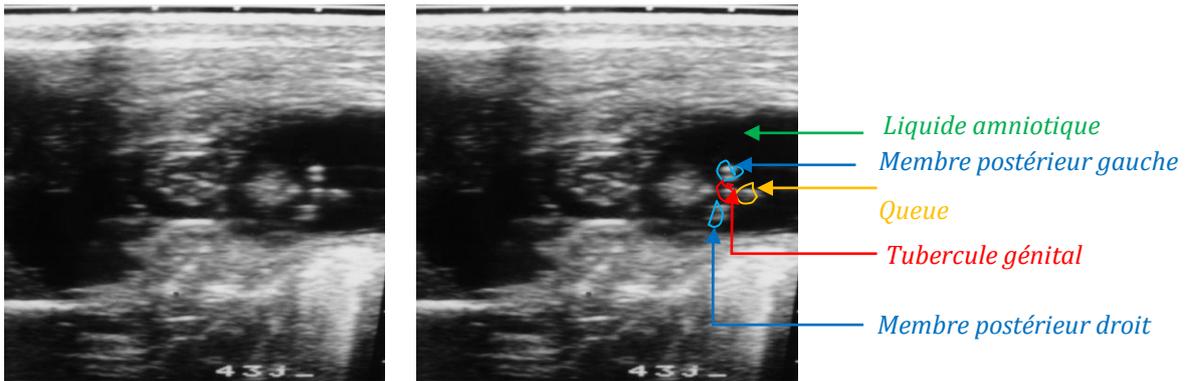


Image 27 : fœtus à un stade indifférencie de 48 jours

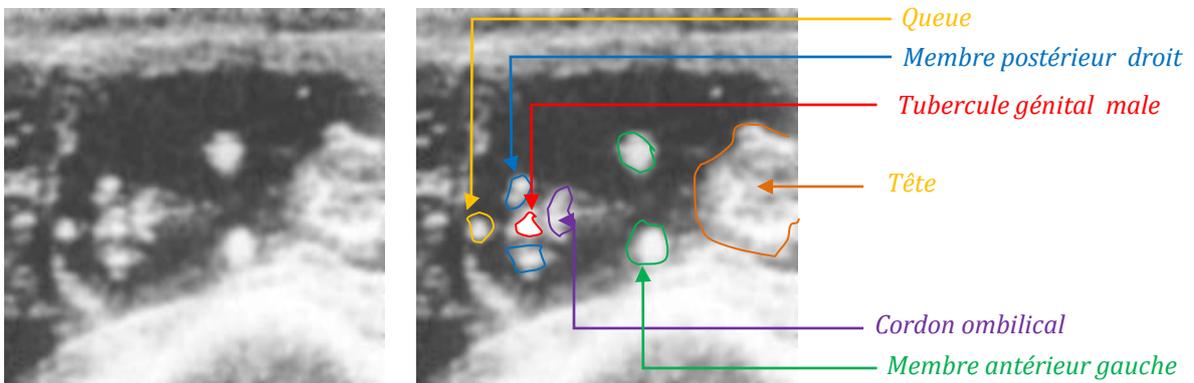


Image 28 : fœtus male de 54 jours

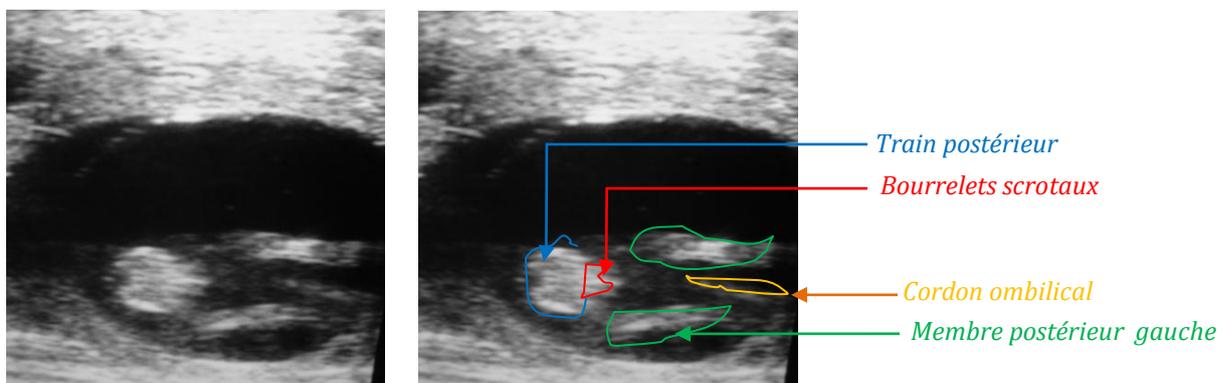


Image 29 : fœtus male de 56 jours

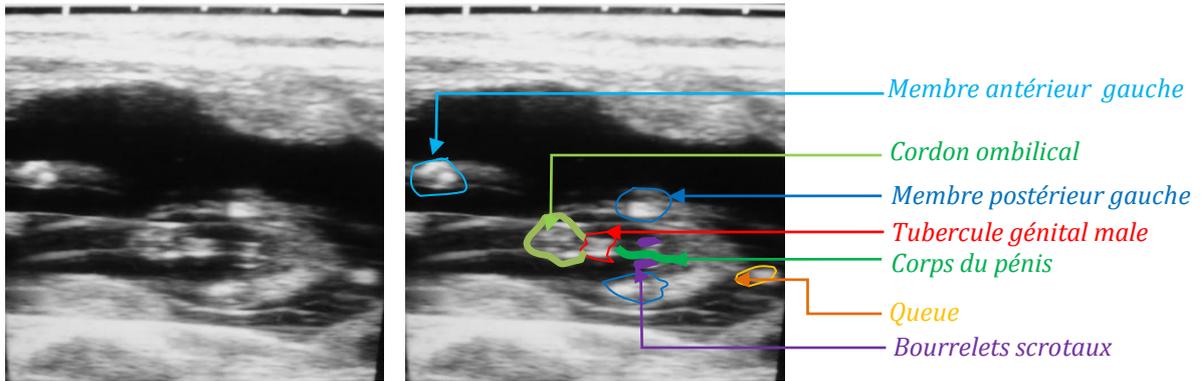


Image 30 : fœtus male de 57 jours

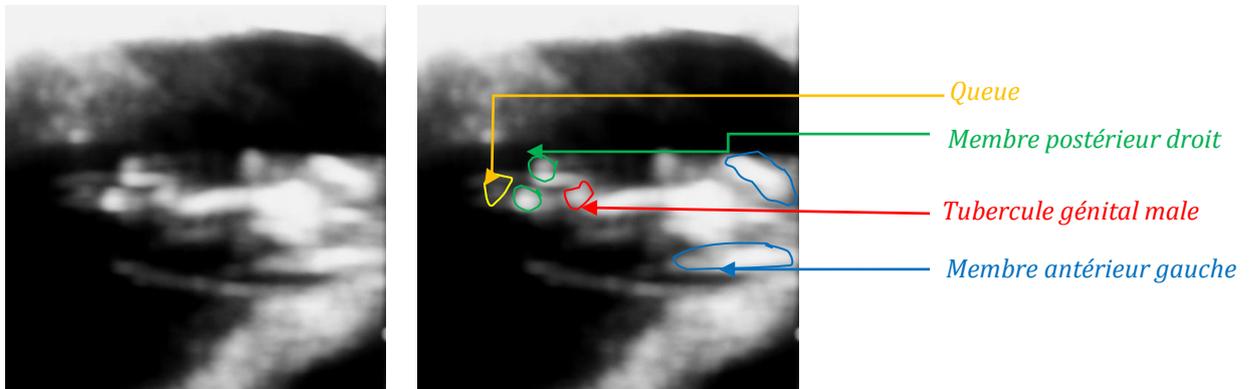


Image 31 : fœtus male de 95 jours

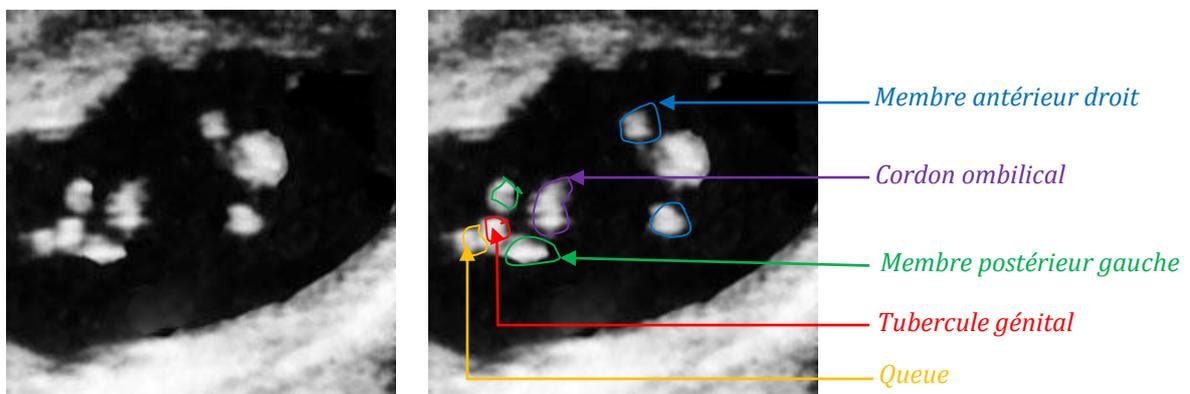


Image 32 : fœtus femelle de 56 jours

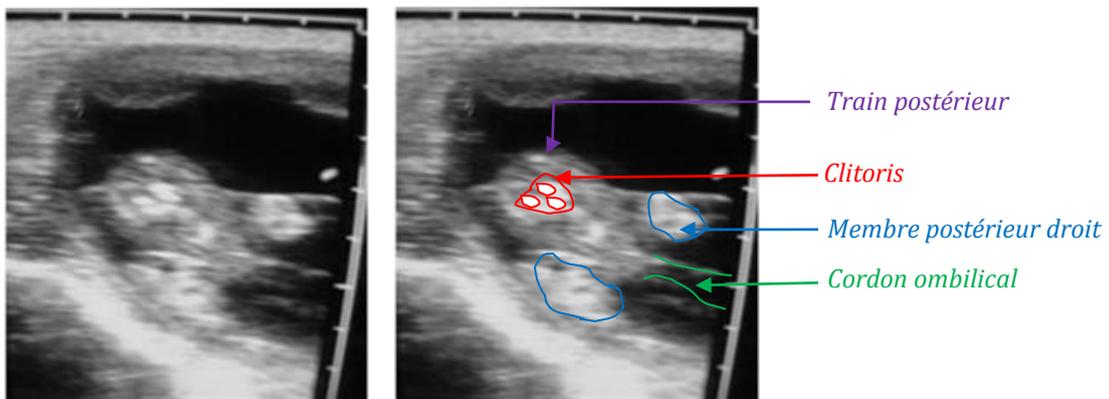


Image 33 : fœtus femelle de 75 jours

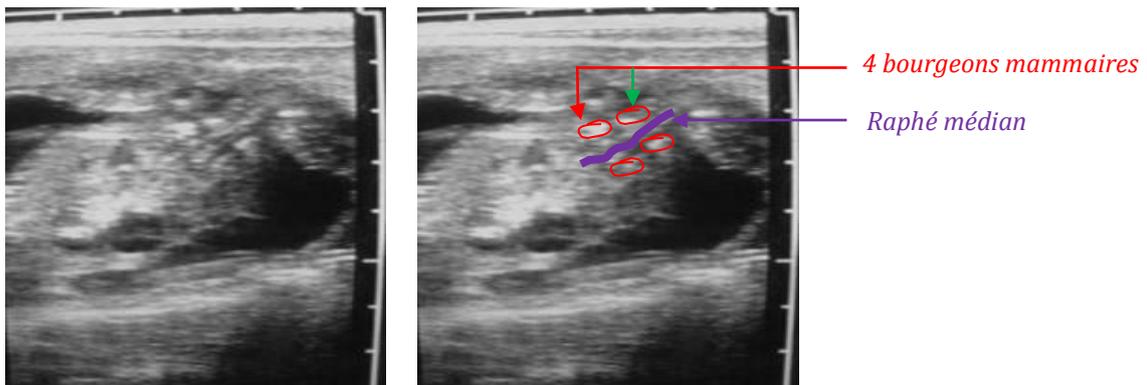


Image 34 : fœtus femelle de 80 jours

Dans l'ensemble de 80 vaches diagnostiquées, chez 3 vaches (4%) il était impossible de déterminer le sexe ni à T1, ni à T2 ni à T3.

Le diagnostic précoce de sexe du fœtus à 50-69 JAI à l'aide d'un échographe doté d'une sonde linéaire de 5MHz, a un taux d'exactitude totale de 90%, cette exactitude est presque identique aussi bien dans le cas du fœtus male que celui du fœtus femelle (90% et 89% respectivement) (cf. tableau 23 et figure 76).

Tableau 23: Diagnostic du sexe du fœtus bovin par échographie entre 50 et 69 jours (fiabilité déterminée par examen échographique entre 70-95 JAI)

	Male	Femelle	Total
Examen (n)	32	36	68
Diagnostic exact (n)	29	32	61
Diagnostic inexact (n)	3	4	7
Exactitude (%)	90	89	90

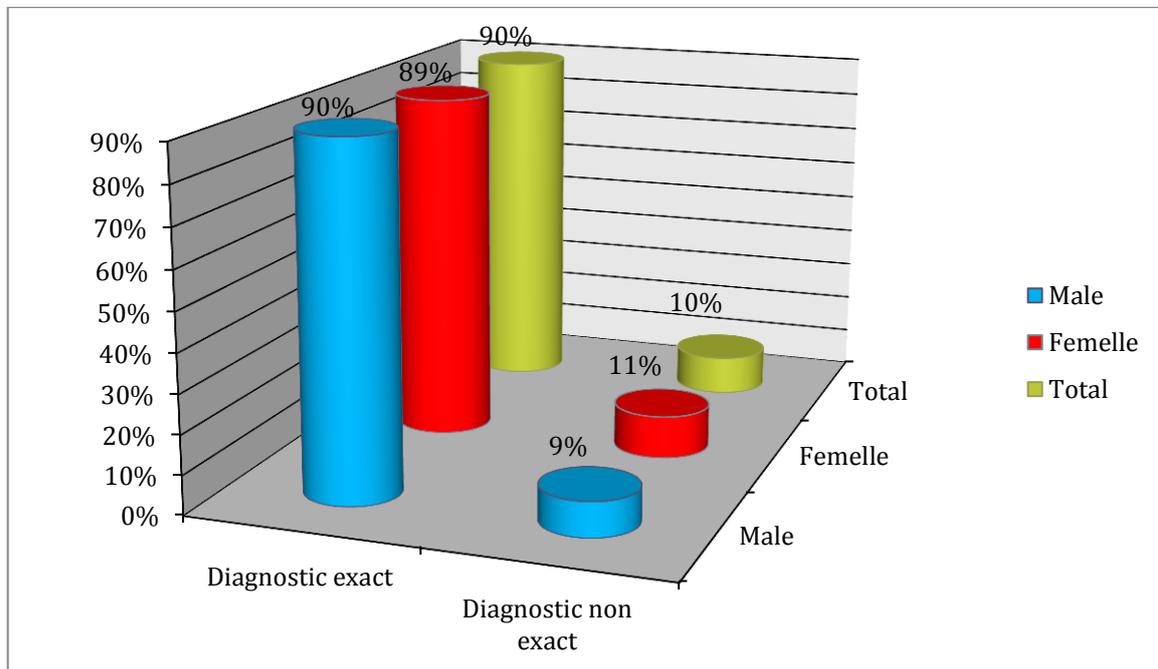


Figure 76: Diagnostic du sexe du fœtus bovin par échographie entre 50 et 69 jours (fiabilité déterminée par examen échographique entre 70-95 JAI)

III. DISCUSSION :

III.1. ÉTUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION

III.1.1. Fiabilité, exactitude et précocité

A chaque fois qu'on utilise les méthodes hormonales pour le diagnostic de la gestation chez la vache laitière, il est toujours difficile de déterminer le seuil de décision (la concentration optimale) pour différencier les vaches vides des vaches gravides (ALTMAN D.G et BLAND J.M, 1994 ; KAREN A et AL., 2007). Dans notre étude nous avons utilisé la moindre différence entre l'exactitude de différents seuils de décision pour déterminer ce seuil de décision.

L'exactitude totale d'un test peut être utilisée pour la sélection d'un seuil (concentration) de décision. Dans cette étude, la concentration de la progéstonémie de 2ng/ml est la meilleure pour le diagnostic de la gestation chez la vache. Cette concentration optimale est supérieure à celles enregistrées dans des études ultérieures de LOUSSOUARN C (1999), qui a adopté le seuil de 1ng/ml comme seuil de décision.

Pour les méthodes cliniques, le problème qui se pose est bien le moment de leurs réalisations. L'examen échographique par voie transrectale réalisé à 45-50 JAI et en particulier la palpation transrectale réalisée entre 60-90 JAI donnent les meilleures exactitudes totales (95,5% et 97,8% respectivement). Cette date d'examen échographique (45-50 JAI) est un peu retardée par rapport aux études antérieures (PIETERSE et al (1990), NATION et al (2003).

III.1.1.1. Progesterone :

Nous observons une exactitude négative très faible par rapport à l'exactitude positive (44,7% contre 86,3% respectivement). Ceci s'explique par le fait que le nombre de faux positifs est très important (24%). Un taux élevé de progesterone est observé en d'autres cas que celui d'une gestation normale (faux positif) (PENNINGTON et al., 1976; KASSAM et al., 1987; ROMANO JE, 2004):

- Corps jaune persistant (métrite 3^{ème} degré, pyomètre)
- Kyste folliculaire lutéinisé
- Cycle œstral irrégulier
- Mortalité embryonnaire/fœtale précoce.

Toutefois, il faut rappeler qu'une insémination mal conduite diminue la fiabilité positive du dosage de la progesterone. Or, dans les exploitations qui ont accueillies notre expérimentation, les éleveurs ne sont pas vraiment passionnés par la détection des chaleurs, impliquant une insémination faite au mauvais moment. Ceci a très certainement contribué à diminuer l'exactitude négative.

Le croisement entre les rangs de progéstonémie des vaches gestantes et non gestantes dans cette étude indiquent qu'il y avait des vaches non gestantes mais dont l'activité œstrale était

perturbée probablement pour les raisons déjà citées. Dans notre étude une concentration de 8,1 ng/ml a été enregistrée chez des vaches non gestantes.

L'exactitude trouvée dans notre étude est 86,3% pour l'exactitude positive et 44,7% pour l'exactitude négative. Nos résultats sont différents avec ceux trouvés par THIBIER et TERQUI (1978) qui après des séries d'études réalisées sur un grand nombre des vaches ont trouvé des valeurs entre 63-79% pour l'exactitude positive et 94-99% pour l'exactitude négative. HANZEN. CH (2009) rapporte une sensibilité légèrement plus faible (85%) et spécificité plus élevées, (95%). SHEMESH et al (1978) et LAING et al (1980) ont trouvé une exactitude positive un peu plus élevée que celle trouvée dans notre étude (plus de 95%).

Bien que la sensibilité et la spécificité sont les critères essentiels pour calculer l'exactitude du diagnostic de la gestation, les valeurs prédictives sont importants pour révéler la probabilité qu'une méthode de diagnostic donne un bon ou un faux diagnostic (ALTMAN D.G et BLAND J.M, 1994).

Lorsqu'on veut réformer une vache, seuls les résultats d'un diagnostic de gestation sont connus, c'est pour cette raison que la valeur prédictive négative de ce diagnostic est surtout nécessaire dans la gestion de l'élevage.

Dans cette étude, la valeur prédictive négative de la progestéronémie varie de 50% (à un seuil de décision de 7ng/ml) à 70,8% (à un seuil de décision de 2ng/ml). Ce qui signifie que si 100 vaches étaient diagnostiquées comme non gestantes par le dosage de la progestérone dans le plasma, 50 à 29 de ces vaches seraient actuellement gestantes.

Sur 51 vaches réellement gestantes nous avons trouvé 7 vaches avec une progestéronémie < 2ng/ml (14%). Parmi ces 7 vaches il y avait 2 vaches avec un taux de progestérone entre 1ng et 2ng/ml qui, selon certains auteurs (GARNIER F, 1985 ; HANZEN CH, 2009), peuvent être classés comme des cas douteux et les vaches doivent être réexaminées pendant le cycle suivant.

D'autre côté, parmi les cas de faux négatif, il y avait 2 cas où le lecteur RIA (compteur de rayons gamma) a donné des résultats erronés pour le taux de la progestérone dans le plasma. Si on prend l'exemple de la vache suivante :

Taux de progestérone plasmatique (voir annexes, deuxième série, Unkown 27). Le premier tube donne le chiffre 7242.86, qui représente normalement une concentration proche de 2 ng/ml (>1.7 ng/ml). Alors que le deuxième tube donne le chiffre 15955.9 qui représente normalement une concentration de 0.15 ng/ml.

Si nous éliminons ces 4 cas de faux négatif, il reste 3 cas (5.8%) dont le dosage de la progestéronémie a permis à tort de classer les vaches comme gestantes. HANZEN CH (2009) a démontré que le changement de la valeur du seuil minimal de 8.8 ng à 3 ng entraîne une diminution de la sensibilité (36 vs 91 %) une augmentation de la spécificité (92 vs 64 %) une augmentation de la valeur prédictive positive (76 vs 65 %) et une diminution de la valeur prédictive négative (67 vs 91 %).

HUMBLLOT P et al (1984) et BALL P.J.H et PETERS A.R (2004) ont montré que certaines vaches peuvent avoir des concentrations plasmatiques en progestérone très basse, et cependant être gravides. Les vaches à cycles court par rapport à la moyenne sont souvent à l'origine de faux négatifs.

Concernant la valeur prédictive positive nos résultats (67,7%) corroborent ceux trouvés par SHEMESH et al (1978) et LAING et al (1980) qui trouvent des valeurs entre 60% et 80%.

Le taux élevé de faux positif (23,6%) et par conséquent la faible spécificité (44,7%) obtenues ici, montrent que le taux de mortalité embryonnaire/fœtale après le 23^e JAI est très élevé dans les exploitations où s'est déroulée notre expérimentation.

SZENCI et al. (1998 et 2000), ont constaté que, le dosage de la progestérone ne permet pas de diagnostiquer une mortalité embryonnaire, à cause de la persistance du CJ dans l'ovaire dans 75% des vaches qui ont présenté une mortalité embryonnaire.

III.1.1.2. Échographie :

L'examen échographique à 45-50 JAI avait une grande exactitude totale (97,8%), sensibilité (96,1%), et spécificité (100%) avec une grande différence ($P < 0.05$) avec le dosage de la progestérone à 23JAI et une faible différence ($P > 0.05$) avec la palpation transrectale réalisée à 60-90JAI. Il avait aussi des valeurs prédictives très élevées, même par rapport au dosage de progestérone à 23JAI.

Ces résultats sont très proches à ceux trouvés par LOUSSOUARN C (1999) après une série d'expériences réalisées sur les mêmes dates que nous avons choisi (45-50JAI). Cet auteur trouve les valeurs suivantes ; sensibilité entre 95-100%, spécificité entre 60-100%, fiabilité positive entre 86,7-100% et fiabilité négative entre 80-100%. Par contre nos résultats sont meilleurs que ceux cités par HANZEN CH (2009) ; 91% pour la sensibilité et 80% pour la spécificité.

Nos résultats corroborent aussi ceux de CHAFFAUX et al (1988) qui ont trouvé que, l'exactitude d'un diagnostic de gestation positif est de 100 % à 35 jours et celle d'un diagnostic de gestation négatif est de 100 % à 45 jours.

HUGHES et DAVIES (1989) ont par ailleurs constaté que l'exactitude globale est inversement proportionnelle à l'âge de l'animal ce qui explique le diagnostic plus précoce chez la génisse que chez la multipare. A partir de 45 jours de gestation, l'exactitude et la fiabilité du diagnostic de gestation sont optimums. L'exactitude totale trouvée dans notre étude est de l'ordre de 97,8%. Cette valeur est élevée à celle trouvée par CHAFFAUX et al (1986) (87% entre 21-60JAI) et celle trouvée par HANZEN et LAURENT (1991) (91% entre 26 et 70 JAI).

Nous avons choisi cette date (45-50 JAI) pour le diagnostic de gestation par échographie, car nous la considérons comme le meilleur moment pour réaliser cet examen, et ceci pour deux raisons. La première c'est que la fixation définitive du conceptus dans l'utérus est complète entre 35-42^{ème} jour de gestation (BALL P.J.H et PETERS A.R, 2004) ce qui permet de diminuer le pourcentage du faux positif due aux mortalités embryonnaires très importante avant la fixation complète du conceptus (cf. figure 77). La deuxième c'est que le conceptus et les différentes parties du corps telles que la tête

et les membres sont nettement identifiables sur l'image échographique, en plus du mouvement du fœtus enregistrés vers les 42-50ème jours (CURRAN s et al, 1989).

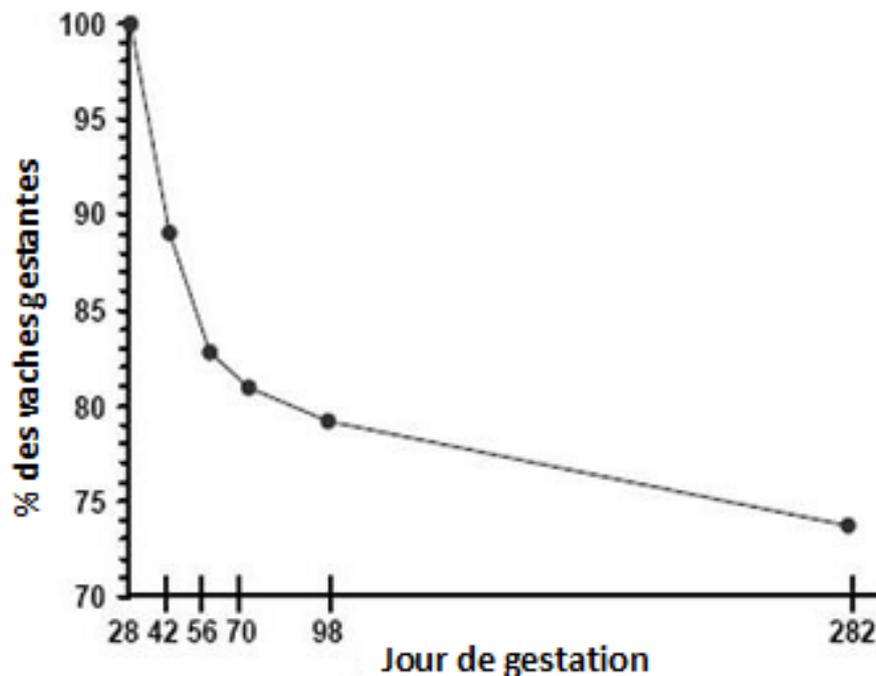


Figure 77. Mortalité embryonnaire chez des vaches laitières de race Holstein diagnostiquées par une échographie par voie transrectale à partir du 28ème jour après insémination. Totale de mortalité embryonnaire à partir du 28^{ème} jour de gestation était 24.7%, alors que presque la moitié (11%) de cette mortalité était avant le 42^{ème} jour de gestation
(adapté à partir Vasconcelos et al., 1997)

D'autres études viennent de confirmées ces constatation. CHEBEL et al. (2003) ont trouvé après une étude réalisée sur 195 vaches laitières, diagnostiquées gestantes à 28 JAI, qu'après un deuxième examen réalisé à 42 JAI, le taux de mortalité embryonnaire est de l'ordre de 17.9%. Aussi CARTMILL et al. (2001b) trouvait que sur 110 vaches diagnostiquées gestantes entre 27-30 JAI, 42.7% ont présentées une mortalité embryonnaire après un deuxième examen réalisé entre 45-50 JAI.

En plus, le taux élevé de faux positif enregistré dans notre étude par le dosage de la progestérone plasmatique réalisé à 23 JAI (23,6%) vient de confirmer ce problème de mortalité embryonnaire très fréquente avant le 35^{ème} jour de gestation.

En revanche, et d'après nos résultats suite à un examen échographique réalisé entre 45-50 JAI, le nombre de faux positif était 0 ce qui signifie que aucun cas de mortalité embryonnaire n'a été enregistré après cette date.

On voit que les résultats sont acceptables dès le 45^{ème} jour de gestation où il était possible de diagnostiquer presque toutes les vaches confirmées ultérieurement gestantes (sauf 2 vaches confirmées vides à J90). On considère que le meilleur moment pour le diagnostic de gestation par échographie est entre 45-50 jours après insémination, et ceci pour les raisons déjà citées.

Concernant les vaches vides, sur certains vaches il été possible de déterminer le stade du cycle œstral, et de ce fait, de choisir le schéma thérapeutique ou le protocole de synchronisation appropriée:

- En phase œstrale (2 vaches) avec cornes uréines légèrement ouvertes (cf. image 20).
- En dehors de la phase œstrale (17 vache) avec des cornes fermées (cf. image 19).
- En phase folliculaire (12 vaches) avec des follicules en croissance (cf. image 17).
- En phase dioestrale (2 vaches) avec un corps jaune en régression et un follicule en croissance (cf. image18).

En fin pour la détection des pathologies de l'appareil génitale de la vache, l'image échographique permet une détection efficace et précoce de métrite, de pyomètre et de l'inactivité ovarienne. Comme cela on intervient plus précocement et très efficacement.

III.1.1.3. Palpation transrectale :

L'examen de la palpation transrectale à 60-90 JAI avait une grande exactitude totale (95,5%), sensibilité (94,1%), et spécificité (97,4%) et une grande différence avec l'exactitude du dosage de la progestérone réalisé à 23JAI, et une faible différence avec l'exactitude de l'examen échographique réalisée à 45-50JAI. Il avait aussi des valeurs prédictives très élevées, même par rapport au dosage de progestérone à 23JAI.

Les informations définitives concernant l'exactitude du diagnostic de gestation par palpation transrectale ne sont pas encore disponibles, toutefois, certains auteurs suggèrent que c'est une technique avec excellente exactitude si elle est appliqué par un vétérinaire expérimenté après le 35^{ème} jour de gestation (ZEMJANIS, 1971; MOMONT, 1990).

Aussi la période comprise entre le 50ème et le 70ème jour de gestation apparaît-elle la plus favorable parce qu'elle réduit les risques de mortalité embryonnaire et permet de confirmer les diagnostics plus précoces effectués (HANZEN CH, 2009).

La fiabilité positive obtenue dans notre étude (98%) montre que si 100 vaches étaient diagnostiquées comme gestantes par la palpation transrectale à 60-90 JAI, seulement 2 de ces vaches seraient actuellement vides. Cette marge d'erreur est très faible, ce qui met cette technique de diagnostic dans la même classe que l'examen échographique réalisé à 45-50 JAI ($P > 0,05$).

La palpation transrectale ne permet pas de différencier entre un corps jaune cyclique et un corps jaune gestatif car il n'existe pas de différence significative entre ces deux structures ni sur le plans morphologique ni sur le plans dimensionnel. Cette remarque est confirmées par plusieurs auteurs (ARTHUR et al., 1982 ; KAHN W 1994) qui s'accordent qu'il est nécessaire de connaître la date de l'insémination, pour suspecter une gestation .

La dissymétrie des cornes est un signe assez facile à mettre en évidence, mais à lui seule n'est pas un critère fiable pour le diagnostic de la gestation, et il y a risque de confusion avec un pyomètre, momification et macération fœtales ou maladie de la génisse blanche comme il a été confirmé par ARTHUR et al (1982) et MOMONT H (1990).

Vers le 75^{ème} jour de gestation, il est facile de palper les cotylédons surtout au niveau de la corne grvide. Cette remarque a été confirmée par plusieurs auteurs TAINURIER B (2001) ; ARTHUR et al., (1982) et par JACKSON P.G.G et COCKCROFT P.D (2002). L'exactitude de la palpation des cotylédons au 75^e jour de gestation est proche de 100%, c'est un signe relativement sur, surtout s'il était possible de palper plusieurs cotylédons (pour ne pas confondre avec les ovaires) (GUERIN P).

III.1.2. Commodité

III.1.2.1. Dosage de la progestérone plasmatique à 23JAI

Les prélèvements d'échantillons pour le dosage de la progestérone dans le sang ne posent pas de problème particulier dans sa mise en œuvre. Il nécessite juste un peu de rigueur de la part du praticien quant à la conservation de ceux-ci. En ce qui concerne, le dosage par radio-immunologie, la distance qui sépare le laboratoire des exploitations est parfois importante. Il est dans ce cas préférable d'utiliser les dosages en coffret.

Par contre, étant donné qu'il est nécessaire de connaître la date d'insémination, le dosage de la progestérone n'est pas utilisable dans les troupeaux en monte naturelle où la détection des chaleurs n'est pas bien respecter. Car les taux élevés de la progestérone dans le lait ou le sang sont considérés beaucoup plus comme indicateurs de l'activité ovarienne que celui de l'état de gestation de la vache (BRITT, 1995).

En revanche, le faible taux de progestérone dans le lait ou le sang de la vache est un meilleur indicateur de non gestation (SHEMESH et al., 1978; LAING et al., 1980).

III.1.2.2. Echographie à 45-50 JAI

L'échographie n'est pas tout le temps évidente à effectuer, du moins sur le terrain. En effet, de nombreux petits détails rendent sa mise en œuvre parfois délicate : réaliser une bonne contention de l'animal, disposé d'un local assez sombre, d'une prise électrique (sauf pour les appareils portatifs qui sont dotés des batteries mais toujours avec une autonomie très faible 1-1,5h)

En plus, le prix élevé des appareils échographiques à usage vétérinaire (entre 450 000 DA et 1 600 000 DA ou plus), et par conséquent le coût d'un examen échographique (au minimum 1000 DA/ vache) peuvent limiter considérablement son utilisation dans le terrain. Cette constatation est confirmée par FRICKE (2002). En revanche, les éleveurs qui possèdent des grands élevages peuvent acheter un échographe et le mettre à la disposition du vétérinaire chargé de la gestion et le suivi de son élevage.

Sans oublier bien sur que l'utilisation d'un échographe nécessite une formation approfondie, généralement proposée par le vendeur de l'appareil.

III.1.2.3. Palpation transrectale entre 60-90 JAI

Cette technique nécessite une bonne connaissance des structures anatomique de l'appareil génitale femelle et les différentes pathologies qui peuvent les confondre avec une gestation. En plus une bonne contention et lubrification des gans sont indispensables.

Les résultats de cette technique sont immédiats. La palpation transrectale est la technique la moins couteuse dans le diagnostic de gestation, ce qui la rende très acceptée par les vétérinaires.

III.1.3. Innocuité

III.1.3.1. Dosage de la progestérone plasmatique à 23JAI

Aucun problème lié au prélèvement sanguin pour le dosage de la progestérone n'a été rapporté dans la littérature. Au cours de notre expérimentation nous n'avons relevé aucun incident faisant suite.

III.1.3.2. Echographie à 45-50 JAI

L'innocuité de l'échographie est toujours sujet à discussion. En revanche, elle est sans aucun risque et non traumatisante pour l'animal (DEZENDRE N, 2006). L'examen échographique par voie rectale n'a aucun effet sur la viabilité de l'embryon/fœtus (KAHN, 1992 ; BAXTER et WARD, 1997).

Le taux 0% de faux positif enregistré dans notre étude montre qu'aucun cas de mortalité embryonnaire, n'a été enregistré entre l'examen échographique à 45-50 JAI et l'examen de confirmation de gestation à 90 JAI.

III.1.3.3. Palpation transrectale entre 60-90 JAI

Concernant le risque iatrogène de la palpation transrectale à un stade précoce de gestation, les résultats sont contradictoires. certaines études suggèrent une relation positive entre la mortalité embryonnaire et la palpation transrectale réalisée à un stade de gestation précoce (WHITE et al., 1989; MC LEOD and WILLIAMS, 1991).

De même, le praticien doit être conscient du risque iatrogène lié à l'examen, risque plus ou moins important en fonction des critères pris en considération (identification de la fluctuation et/ou du glissement des membranes fœtales). Ainsi, entre le 35ème et le 50ème jour de gestation le risque d'interruption de la gestation n'est pas négligeable (4 à 10 %) (HANZEN CH, 2009) .

En revanche, d'autres études assez récentes (THURMOND and PICANSO, 1993; Thompson et al., 1994) persuadent qu'il y a une influence négligeable de la date de 1^{ère} palpation transrectale sur le taux de vêlage (ou la mortalité embryonnaire). En plus, à un stade de gestation précoce, la palpation transrectale ne peut pas nous donner une estimation sur la viabilité du conceptus (premiers mouvements fœtaux détectés vers le 45^{ème} jour), donc un fœtus ou embryon déjà mort ou en état de dégénération peuvent donner un signe positif de gestation, alors que la vache sera

trouvée après quelque jours en chaleur, ou que le vêlage n'aura pas lieu (ROMANO and MAGEE, 2001).

ROMANO (2004) a fait un diagnostic de gestation, à 30 jours après insémination, à l'aide d'un échographe. Ensuite il a divisé les vaches en deux groupes. Sur le premier il a réalisé un examen par palpation transrectale à J34 ou à J41 après insémination, alors que l'autre groupe reste comme témoin (aucune palpation transrectale n'a été réalisée). Cette étude a permis de conclure que la palpation transrectale à 34 ou 41 jours après insémination n'affecte pas le taux de viabilité (mortalité) des fœtus, car ce dernier a la même valeur dans le groupe 1 (avec palpation transrectale) que dans le groupe 2 (sans palpation transrectale).

III.1.4. Conclusion

L'échographie effectuée dès le 45^{ème} jour (45-50 JAI) à l'aide d'une sonde de 5 MHz, apparaît, au vu des résultats de notre étude, plus fiable et plus exact, tant pour la détection des femelles gestantes, que des femelles non gestantes, par rapport au dosage de la progestéronémie à J23 .

Le diagnostic de gestation par dosage de la progestérone est un diagnostic précoce, mais devant être réalisé à jours fixes. De plus, ce diagnostic n'est pas rigoureusement spécifique de la gestation, puisque la progestérone est sécrétée par le corps jaune en l'absence d'embryon. Ce manque de spécificité explique pourquoi un résultat positif ne peut garantir à 100 % que la vache est gestante. Par contre, un faible taux de progestérone exclut toute gestation. Le dosage de progestérone correspond donc plus à un diagnostic précoce de non gestation (95 à 98 % d'exactitude) qu'à un diagnostic de gestation (75 à 85 % d'exactitude) (HUMBLOT P et THIBIER M, 1984).

Par contre sur le plan commodité et coût, la palpation transrectale à 60-90 JAI reste plus valable.

L'échographie est à privilégier dans les élevages où le taux de mortalité embryonnaire/fœtale est très élevé, ou dans le cas de suspicion d'un problème gynécologique, car cette technique a prouvé son importance: suivi de la cyclicité de la vache (follicules, corps jaune, involution utérine), un diagnostic précoce de gestation, une visualisation du conceptus (viabilité), détermination de sexe du fœtus et une détection efficace des problèmes gynécologiques (métrite, mortalité embryonnaire, structures kystiques).

III.2. ÉTUDE 2 : DIAGNOSTIC DU SEXE

III.2.1. Intérêts du sexage précoce

Connaître le sexe du veau à naître 7 mois à l'avance est utile pour l'éleveur. Il peut tout d'abord gérer sa reproduction en fonction de nombre de femelles conçues pour atteindre ses objectifs de taux de renouvellement. Il peut aussi vendre des animaux gestants avec une valeur ajoutée en certifiant le sexe du fœtus. Lorsqu'un sexe est désiré plus que l'autre, l'éleveur peut renforcer sa surveillance au vêlage, comme c'est le cas lors des gestations gémellaires constituées d'un mâle et d'une femelle, risquant de conduire à la naissance d'un veau femelle freemartin, ou aider le vétérinaire dans sa décision obstétricale en cas de vêlage à risque. Un éleveur devant vendre des mâles à une unité de sélection pourra s'assurer de leur existence suite à une opération de collecte d'embryons, et réagir en conséquence. Enfin, la curiosité naturelle incite certains à pratiquer le sexage par échographie (ROYAL L et al., 1981 ; RAJAMAHENDRAN R et al., 1994 ; H. DE PRÉAUMONT ; LEBASTARD D, 1997 ; QUINTON H, 2004).

III.2.2. Conditions optimales de réalisation du sexage.

Concernant le sexage précoce (T1 : 50-69 JAI), il était impossible de le faire avant le 54^{ème} jour de gestation, du fait que la migration du tubercule génitale n'est pas parfaitement différenciable. TAINTURIER B (2001) suite à une étude réalisée sur le terrain a constaté que la migration du tubercule génitale n'est nette que vers le 55^{ème} jour de gestation, donc il n'y a qu'une différence de un jours entre nos résultats et ceux de TAINTURIER B (2001).

Dans notre étude, la meilleure date pour le sexage précoce se situe entre le jour 57 et le jour 66 de gestation. TAINTURIER B (2001) dans son étude a trouvé que la meilleure date est entre le jour 55 et le jour 65 après insémination avec un taux de réussite atteint 81 % et il pense qu'une exactitude supérieure à 95 % peut probablement être atteinte avec de l'expérience.

Pour le sexage tardif (T2 : 70-95 JAI), il était plus facile à T2 par rapport à T1 du fait que la migration du tubercule génitale est définitive à cette date, en plus la descente des testicules dans le scrotum et l'apparition du corps du pénis chez le male et la formation du clitoris et les quatre bourgeons mammaires chez la femelle rendent le sexage plus fiable et plus sure (LEBASTARD D, 1997), c'est pour cette raison qu'on a utilisé cette date, comme référence, pour la confirmation du sexage précoce réalisé à T1. L'étude de TAINTURIER B (2001) confirme ces résultats.

À T3 (115-140 JAI), il était presque impossible de diagnostiquer le sexe du fœtus du fait qu'il se trouve de plus en plus dans la cavité abdominale et que la sonde de 5 MHz n'arrive plus à explorer la région inguinale du fœtus. On pense que à cette date, l'utilisation de la sonde de 3MHz peut donner des résultats meilleurs que la sonde de 5 MHz, mais l'intérêt du sexage à cette période est négligeable par rapport aux dates ultérieures.

III.2.3. Taux de réussite

Dans cette étude, le taux de réussite (cas où le sexage était possible) à T1 (50-69 JAI) est de 85 %, et à T2 (70-95 JAI) est plus de 96%. Ce taux est proche du taux rapportés par la littérature : CURRAN S (1992) obtient un taux de réussite de 96 % sur un ensemble de 102 vaches examinées entre 50 et 101 jours de gestation. STROUD BK (1994) a obtenu un taux de réussite de 97 % en pratique courante, sur plusieurs années. Il observe que la plupart de ses erreurs ont eu lieu durant ses premières années de pratique.

III.2.4. Taux d'exactitude

Le taux d'exactitude totale du sexage obtenu à T1 est de l'ordre de 90% (cf. tableau 23). Cette exactitude est supérieure à celle trouvée par TAINURIER B (2001) qui rapporte une exactitude totale de 81%. MULLER et WITTKOWSKI (1986) obtiennent un taux de d'exactitude de 88 %.

III.2.5. Influence du sexe du fœtus

L'exactitude du sexage trouvée dans notre étude est 90% pour le fœtus male et 89% pour le fœtus femelle. (cf. tableau 23). Nos résultats d'exactitudes sont meilleurs que ceux trouvés par TAINURIER B (2001) qui rapporte une exactitude du sexe male de 76% et celle du sexe femelle de 85%. En revanche, MULLER et WITTKOWSKI (1986) trouvent des résultats légèrement supérieurs que ceux des nôtres (une exactitude de 96% pour le fœtus male et 92% pour le fœtus femelle).

L'exactitude du sexage obtenue dans notre expérimentation montre que le sexe du fœtus n'influence pas l'exactitude du sexage précoce chez les bovins. TAINURIER B (2001) trouve que Le taux d'exactitude est plus élevé chez les fœtus femelles. Par contre MULLER et WITTKOWSKI (1986) trouvent le contraire, l'exactitude est légèrement plus élevée chez les fœtus males, bien que la différence entre l'exactitude du male et celle du femelle n'est pas vraiment significative.

III.2.6. Difficultés du sexage précoce :

Au cours de cette étude, le diagnostic précoce du sexe a souvent été rendu difficile par le rumen de la vache. Le rumen est parfois volumineux et il empêche l'opérateur de contourner correctement l'utérus. On a constaté aussi que plus la vache est nerveuse plus le diagnostic est difficile et prend plus de temps. Les mêmes remarques pour les vaches non habituées par la palpation transrectale.

Plus la gestation avance plus le sexage devient difficile, par le caractère profond du fœtus.

III.2.7. Conclusion

Cette étude de terrain aura permis de mieux connaître la technique de diagnostic précoce du sexe, réalisée entre 50- 69 JAI :

- le taux de réussite est de 85 % (il atteint 96% lorsque le diagnostic est réalisé à 70-95 JAI),

- le diagnostic du sexe précoce est impossible à réaliser dans 15 % des cas,
- le diagnostic précoce du sexe est une technique sans danger pour le fœtus,
- le taux d'exactitude est comparable pour le fœtus male que pour le fœtus femelle (90% et 89% respectivement), donc aucune influence n'a pu être établie pour le sexe du fœtus.

IV. CONCLUSION GÉNÉRALE

A travers la présente étude, il a été montré que le diagnostic de gestation par palpation transrectale est considéré comme un moyen très simple à mettre en œuvre, et avec une bonne exactitude totale (95,5%) par rapport au dosage de la progestérone (68,5%). La progestéronémie est par contre un bon indicateur de l'activité ovarienne et de non gestation de la vache. Le diagnostic de gestation par dosage de la progestérone plasmatique, du point de vue économique, n'est pas du tout rentable.

En revanche, le diagnostic de gestation par échographie est intéressant à mettre en œuvre s'il est précoce (après le 40^{ème} JAI) car il présente plusieurs avantages : suivi de la cyclicité de la vache (follicules, corps jaune, involution utérine), un diagnostic précoce de gestation (97,8% d'exactitude totale), une visualisation du conceptus (viabilité), détermination de sexe du fœtus et une détection efficace des problèmes gynécologiques (métrite, mortalité embryonnaire, structures kystiques).

Deux périodes de sexage ont pu être déterminées : une période de sexage précoce et une période de sexage tardif.

La période de sexage précoce idéale s'étend du 57^e au 66^e jour de gestation. Pendant cette période, le diagnostic du sexe est basé sur la position relative du tubercule génital ébauché du pénis chez le mâle et du clitoris chez la femelle.

Notre étude a permis de définir le taux de réussite et d'exactitude du diagnostic précoce du sexe. Le taux de réussite était de l'ordre de 85% et celui de l'exactitude avait atteint 90 %.

La période de sexage tardif s'étend du 70^e au 95^e jour de gestation. Pendant cette période, le diagnostic du sexe est basé sur la visualisation des différentes structures de l'appareil génital externe du fœtus. Chez le fœtus mâle, le scrotum et le pénis sont recherchés. Chez le fœtus femelle, les bourgeons mammaires et le tubercule génital sont recherchés.

Le taux de réussite du sexage tardif à 70-95 JAI trouvé dans notre étude est supérieur à 96%.

Le sexe du fœtus n'influence pas l'exactitude du sexage précoce chez la vache laitière. Le taux d'exactitude pour le fœtus mâle était de 90% alors qu'il était de 89% pour le fœtus femelle.

Le sexage des fœtus bovins par échographie entre 54 et 69 jours est donc une technique rapide, précoce, fiable et sans danger ni pour la vache ni pour le fœtus.

Le diagnostic de gestation est un élément très important dans la gestion de la reproduction, et le technicien ou le vétérinaire chargé de suivi de l'élevage, doit assurer la combinaison entre la précocité et l'exactitude de ce diagnostic. Pour cette raison, il est préférable de faire plus d'un examen pour chaque vache. Au moins, un dosage précoce de la progestérone dans le lait ou le sang pour détecter le plus tôt possible les vaches à ré-inséminées, qui doivent être suivies par un autre examen de confirmation, soit par palpation transrectale, soit par échographie, au 72^e jour après insémination. Idéalement, un diagnostic intermédiaire avec l'échographie entre le 28^e et le 42^e jour pourrait être fait pour avoir une confirmation précoce et sûre.

V. PERSPECTIVES

D'autres études seraient utiles afin de compléter les résultats de cette thèse. Des dosages de progestérone supplémentaires le jour de l'insémination (J0) et à J15 après insémination seraient intéressants afin de déterminer avec plus de précision si l'insémination aurait été réalisée au moment opportun et aussi pour suivre l'activité ovarienne de la vache.

Une autre étude de terrain, sur un effectif plus important, serait également intéressante afin de préciser la fiabilité du diagnostic précoce du sexe entre 50 et 70 jours de gestation.

En générale, le cout et le bénéfice de chaque méthode de diagnostic de gestation est très difficile à évaluer, du fait que plusieurs facteurs varient d'un élevage à un autre. Cependant, si un diagnostic régulier de gestation serais associé à une bonne détection des chaleurs, le test choisi à un moment bien déterminé réduit efficacement le nombre de diagnostic à faire et par conséquent le cout de ce diagnostic. C'est pour cela nous aurions aimé de pouvoir introduire la détection de chaleur dans le Protocol de suivi.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Référence:

- "Piézo-électrique, effet." Microsoft® Études 2008 [DVD]. Microsoft Corporation, 2007. Microsoft® Encarta® 2008. © 1993-2007 Microsoft Corporation. Tous droits réservés.
- ABBITT B., BALL L., KITTO G.P., SITZMAN C.G., WILGENBURG B., RAIM L.M.: SEIDEL G.E.: Effect of three methods of palpation for pregnancy diagnosis per rectum on embryonic and fetal attrition in cows. *JAVMA*, 1978, 73, 973-977.
- ALAPHILIPPE A.J.C. : PSPB et mortalité embryonnaire chez la vache : étude bibliographique et expérimentale. Th. Méd. Vét. ; Toulouse, 1994, (14)
- ALTMAN D.G ET BLAND J.M, Diagnostic tests. 1: sensitivity and specificity, *BMJ* **308** (6943) (1994), p. 1552.
- ARNSTADT K.I., CLEERE W.F. : Enzyme-immuno assay for determination of progesterone im milk from cows. *J. Rprod. Fert.*, 1981, 62, 173-180.
- ARTHUR G.H., NOAKES D.E., PEARSON H. : Veterinary reproduction and obstetrics (Theriogenicology). 5è Edition, 1982, 55-70.
- AYAD A., SOUSA N.M., HORNICK J.L., TOUATI K., IGUER-OUADA M., BECKERS J.F. endocrinologie de la gestation chez la vache : signaux embryonnaires, hormones et protéines placentaires. *Ann. Méd. Vét.*, 2006, 150, 212-226.
- BADTRAM GA, GAINES JD, THOMAS CB AND BOSUWTK . Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real-time ultrasound scanning of the uterus *Theriogenology* , 1991, 35, (6), 1153-1167
- BALL L ., ABBITT B. : Effect of three methodespfpalpation for pregnancy diagnosis per rectum of embryonic and foetal attrition in the bovine. XèCongréMondiale de Buiatri, México, 1978, Abstract book 41-42.
- BALL L., CARROLL E.J. Induction of fetal death in cattle by manual rupture of the amniotic vesicle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1963, 142, (4), 373-374.
- BALL P.J.H., LOGUE D.D.N. : Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.*, 1994, 134, 532
- BALL. P.J.H., A.R. PETERS. *Pregnancy Diagnosis. Reproduction in Cattle. Third Edition*.2004. blackwellpublishing
- BARONE 1978. In, ÉCHOGRAPHIE EN CLIENTÈLE RURALE ; Le sexage tardif du fœtus chez la vache. Damien Lebastard. *Le Point Vétérinaire / N° 241 / Décembre 2003* .36-39.
- BARONE R. Anatomie Comparée des Mammifères Domestiques. Tome 3 : "Splanchnologie". Fascicule 2. Editions Vigot, Paris, France. 1978. 951 pp.
- BARTHEZ P. : Echographie Abdominale chez les Carnivores Domestiques. *Le Point Vétérinaire*, 1991, 23, (135), 21-31.
- BAXTER S.J., WARD W.R.Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. *Veterinary Record*. 1997, 140, (11) 287-288

- BAZER F.W., ROBERTS R.M., THATCHER W.W. : Action of hormones on the uterus and effect on conceptus development. *J. Anim. Sci.*, 1979, 49 (Suppl 2), 35-45.
- BECKERS J.F., WOUTERS-BALLMAN P., ECTORS F.: Isolation and radioimmunoassay of bovine pregnancy-specific protein. *Theriogenology*, 1988, 29, (1), 219 (abstract).
- BEGON D. ; DELISLE F. : Imagerie Médicale des Carnivores Domestiques : le Choix. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 1995, 171(4/5), 201-211.
- BELLOWS R.A., RUMSEY T.S., KASSON C.W., BOND J., WARWICK E.J., PAHNISH O.F.: effect of organic phosphate systemic insecticides on bovine embryonic survival and development, *Am. J. Vet. Res.*, 1975, 36, 1133-1140.
- BESSOFF H. Risk of iatrogenic abortion by rectal palpation in the cow : a review. Correlation of pregnancy diagnosis methods and embryonic mortality in the dairy cow. *Bovine Practitioner*. 1990, n° 25, 124-126.
- BISSON B. : Diagnostic de gestation chez la vache par dosage d'une protéine bovine trophoblastique ; la protéine bovine associée à la gestation (bPAG : bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein). *Th. Méd. Vét.*, Nantes, 1992, (6).
- BONNES G., DESCLAUDE J., DROGOUL C., GADOUD R., JUSSIAU R., LE LOCH A., MONTMEAS L., ROBIN G. : reproduction des mammifères d'élevage. Collection INRAP, Les Editions FOURCHER, Paris, 1988, 15-23.
- BOYD J.S. : real-time diagnostic ultrasound in bovine reproduction. Chapitre X. In: *Veterinary Ultrasonography*, édition P.J. GODDARD, Aberdeen, 1995, 233-256.
- BOYD J.S., OMRAN S.N., AYLIFFE T.R. : evaluation of real time B-mode ultrasound scanning for detecting early pregnancy in cow. *Vet. Rec.*, 1990, 127, (11), 350-352.
- BOYD J.S., OMRAN S.N., AYLIFFE T.R. : use of a high frequency transducer with real time B mode ultrasound scanning to identify early pregnancy in cow. *Vet. Rec.*, 1988, 123, (1), 8-11.
- Boyd, J.S. (1991) *In Practice*, 13, 109. In *Reproduction in Cattle*. J.H. BALL., A.R. PETERS. Third Edition. 2004. P.J.H. Ball and A.R. Peters
- BRITT JH. The relationship between postpartum estrous cycles, estrous cycle length, and early embryonic death. *Cattle Prac* 1995;9:85-88.
- BUCZINSKI. S. Les principes de l'examen échographique, l'appareillage nécessaire et l'obtention d'images de qualité en médecine bovine. *Bull. Soc. Vét. Prat. de France*, avril /mai/juin 2008, T. 92, n° 2
- BULMAN, D.C. & LAMMING, G.E. (1978) *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 447. Geisert, R.D., Morgan, G.L., Short, E.C., Jr & Zavy, M.T. (1992) *Reproduction Fertility and Development*, 4, 301-305.
- BUTLER J.E., HAMILTON W.C., SASSER R.G., RUDER C.A., HASS G.M., WILLIAMS R.J. : Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific protein. *Boil. Reprod.*, 1982, 26, 925-933.
- CAMOUS S., CHARPIGNY G., GUILLOMOT M., MARTAL J. (1988), Purification of one pregnancy-specific protein by high-performance liquid chromatography (HPLC). In *Proc. Int. Workshop on maternal recognition of pregnancy and maintenance of corpus luteum*, Jerusalem (Abstr 2).

- CARNIEL P. Données de base de l'échographie. Le point vétérinaire, avril-mai 1987, 19, 105, 199-212.
- CARTMILL JA, EL-ZARKOUNY SZ, HENSLEY BA, ROZELL TG, SMITH JF, STEVENSON JS. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. J Dairy Sci 2001b; 84:799-806.
- CHAFFAUX S, REDDY GNS, VALON F AND THIBIER M (1986). Transrectal real-time ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and for monitoring embryonic mortality in dairy cattle Animal Reproduction Science 10 193-200
- CHAFFAUX S., BIANCHI M., BHAT P., HEDGE G.V., REDDY G.N.J., THIBIER M. l'échographie en temps réel par voie transrécitale, interet pour le diagnostic de gestation chez la vache. Rec. Méd. Vét., 1988, 164, (2), 101-108.
- CHAFFAUX S., BIANCI M., BHAT P., HEDGE G.V., REDDY G.N.J. et THIBIER M. (1988)- L'échographie en temps réel par voie transrectale ; intérêt pour le diagnostic de gestation chez la vache. Rec. Méd. Vét., 164, (2), 101-108.
- CHAFFAUX S., VALLON F., MARTINEZ J. : evolution de l'image échographique du produit de conception chez la vache. Bull. acad.Vét. de France, 1982, 55, 213-221.
- CHASTANT-MAILLARD S., BOIN E., CONSTANT F., MIALOT J.P., GRIMARD B., DRUART X., 2002. Images échographiques de la gestation chez la vache. Gestation. In : Actes Journées européennes de la Société française de buiatrie, Paris, France, 29-31 octobre 2002, p. 186-195.
- CHAUVIN C., CAMOUS S., GILLARD P., MAUGRION P., ROBERT C., FOULLEY J.L. PSP60 profile and its variation factors and application to twinningdiagnosis in a beefsucklingherd. Revue de Médecine Vétérinaire. 1999, 150 (2) 143-150
- CHEBEL RC, SANTOS JEP, JUCHEM SO, CERRI RLA, GALVAO KN, THATCHER WW. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on conception rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. Theriogenology 2003; 60:1389-1399.
- CHETBOUL V., POUCHELON J.L., BUREAU-AMAGLIO S., TESSIER D. Echocardiographie et échodoppler du chien et du chat. Masson, Paris. 1999. 169 pp.
- CHOI H.S., MOSTL E., BAMBERG E. : conversion of steroids in bovine blood in vitro. Theriogenology, 1989, 31, (3), 571-580.
- CONLEY A.J., FORD S.P. : Direct luteotrophiceffect of oestradiol-17 beta on pigcorporalutea. J. Reprod. Fertil., 1989, 87, 125-131.
- COSSON J.L. les aspects pathologiques de la maitrise de la reproduction chez les vaches laitières. Bulletin des GTV. 1996, 3, 45-51.
- COULTHARD H., DALTON J.R.F. : Ultrasound diagnosis of pregnancy in cattle. Vet. Rec., 1994, 134, (16), 427-428.
- CURRAN S. Fetal sex determination in cattle and horses by ultrasonography. Theriogenology, 1992; 37:17-20.
- CURRAN S., KASTELIC J.P., GINTHER O.J. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. Animal Reproduction Science. 1989, 19 (3-4) 217-227

- CURRAN S., PEARSON R.A., GINTHER O.J. : ultrasonography appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. J.A.V.M.A., 1986, 189, (10), 1289-1294.
- CURRAN S., PEARSON R.A., GINTHER O.J. : ultrasonography appearance of the bovine conceptus from days 20 through 60. J.A.V.M.A., 1986, 189, (10), 1295-1302.
- DECANTE F. Le diagnostic de gestation par échographie en clientèle rurale bovine. Bulletin des G.T.V. 1990, n° 4, 45-51
- DERIVAUX J., ECTORS FF. : Physiopathologie de de la gestation et obstétrique vétérinaire. Edition du point Vétérinaire, Maison-Alfort, 1980, 1-86.
- DESCOTEAUX Luc, Paul D. Carrière, Jean Durocher. ULTRASONOGRAPHY OF THE REPRODUCTIVE SYSTEM OF THE COW: BASIC PRINCIPLES, PRACTICAL USES AND ECONOMIC ASPECTS OF THIS DIAGNOSTIC TOOL IN DAIRY PRODUCTION. WORLD BUIATRICS CONGRESS 2006 - NICE, FRANCE
- DOBOSON H., HOPKINSON C.R.N., WARD W.R. :progetérone 17 β oestradiol and LH in relation to ovulation in cows. Vet. Rec., 1973, 93, 76.
- DOBSON H., ROWAN T.G., KIPPAX I.S, HUMBLLOT P., 1993. Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. Theriogenology, 40: 411-425.
- Dunbar MM, Wong TS, Ruder-Montgomery CA, Chew BP, Sasser RG (1990) Partial characterization of the immuno-suppressiveproperties of pregnancyspecificprotein B (PSPB). Theriogenology33, Abs 220
- Échographie. (2009, octobre 8). Wikipédia, l'encyclopédie libre. Page consultée le 08:43, octobre 13, 2009 à partir de
- EL AMIRI B. Diagnostic de la gestation chez les ovins. Bulletin mensuel d'information et de liaison de PNTTA. 2008, 161, 1-4.
- ELLENDORFF et coll. 1976. In physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire.
- ENGLAND G.C.W., ALLEN E. Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: Diagnosis of early pregnancy and the number of conceptuses. Journal of small Animal Practice. 1990, 31, 321-323.
- FAYED AH. : Progesterone assay for monitoring postpartal ovarian activity and early pregnancy diagnosis in dairy cows. AssiutVeterinaryMedical Journal, 1990, 24, (47), 75-80.
- FILTEAU V, DESCOTEAUX L. Valeur prédictive de l'utilisation de l'appareil échographique pour le diagnostic précoce de la gestation chez la vache laitière. MédVét Québec, 1998; 28 :81-85.
- FLINT A.P et al. : Embryonicsteroidsynthesis and lutealoxytocin production : controlling mechanisms for the maternal recognition of pregnancy. J. Steroid. Biochem., 1983, 19, 237-249.
- FRANCO O.J., DROST M., THATCHER M.J., SHILLE V.M., THATCHER W.W. : Fetal survival in the cow after pregnancy diagnosis by palpation per rectum. Theriogenology, 1987, 27, (4), 631-634.
- FRANK M et al A study of prostaglandin F2alpha as the luteolysin in swine. IV An explantation for the luteotrophiceffect of estradiol. Prostaglandins, 1978, 15, 151-160.
- GADSBY J.E., HEAP R.B., BURTON R.D.: oestrogens production by blastocyst and earlyembryonic tissue of variousspecies. J. Reprod. Fertil., 1980, 60, 409-417.
- GARNIER F. Test hormonal précoce de gestation en pratique bovine. Sciences VétérinairesMédecineComparée. 1985, 87 (1-2) 15-21

- GINTHER O.J. Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. Equiservices, Cross Plains, USA. 1986. 378 pp.
- Groves, D.J., Sauer, M.J., Rayment, P., Foulkes, J.A. & Morris, B.A. (1990) *Journal of Endocrinology*, 126, 217–222.
- GUERIN P.: le diagnostic de gestation. Document personnel de Monsieur TAINURIER D. cité dans : Diagnostic du sexe du fœtus par échotomographie chez la vache. TAINURIER. B. Thèse de Docteur Vétérinaire. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE NANTES. 2001
- H. DE PRÉAUMONT. LE SEXAGE DE FOETUS BOVIN PAR ÉCHOGRAPHIE Connaître le sexe du veau à naître 7 mois à l'avance, c'est possible. Coopérative d'Insémination Animale de L'Aigle.
- HANSEL W., CONCANNON P.W., LUKASZEWSKA J.H. : corpora lutea of the large domestic animals. *Boil. Reprod.*, 1973, 8, 222.
- HANZEN C, DELSAUX B. Use of transrectal B-mode ultrasound in early pregnancy in cattle. *Vet Rec*, 1987; 121:201-202.
- HANZEN C., LAURENT Y. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. *Ann. Méd. Vét.*, 1991, 135, (7), 135 481-487.
- HANZEN CH, Le diagnostic de gestation chez les ruminants 2009.
- HARTIGAN P.J. Chapter 33 : Reproductive Physiology in Cattle. In , *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle*. Second edition. 2004 by Blackwell Science Ltd. 471-507p
- HENDERSON K.M., KARANIKOLAS M., KENEALY L., MACMILLAN K.L. Concentrations of oestronesulphate during pregnancy in milk from Jersey and Friesian dairy cows differing in milk yields and composition. *New Zealand Veterinary Journal*. 1994, 42 (3) 89-92
- HERRING D.S. ; BJORNTON G. : Physics, Facts, and Artifacts of Diagnostic Ultrasound. *Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice*, 1985, 15(6), 1107-1122
- HOLDSWORTH R.J., HEAP R.B., BOOTH J.M., HAMON M. A rapid direct radioimmunoassay for the measurement of oestronesulphate in the milk of dairy cows and its use in pregnancy diagnosis. *Journal of Endocrinology*. 1982, 95 (1) 7-12.
<http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=%C3%89chographie&oldid=45571621>.
- HUGHES E.A., DAVIES D.A.R. : Practical uses of ultrasound in early pregnancy in cattle. *Vet. Rec.*, 1989, 124, (17), 456-458.
- HUMBLLOT P, CAMOUS S, MARTAL J, CHARLEREY J, JEANGUYOT N, THIBIER M, SASSER RG (1988b) Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J Reprod Fertil* 83, 215-223
- HUMBLLOT P, CAMOUS S, MARTAL J, CHARLEREY J, JEANGUYOT N, THIBIER M, SASSER RG (1988c) Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology* 30, 257-269
- HUMBLLOT P, JEANGUYOT N, RUDER CA, LERICHE 1, THIBIER M, SASSER RG (1988d) Accuracy of pregnancy diagnosis by PSPB RIA in the plasma of dairy cows 28 days after AI. In: *Proc 3rd intcongranimreprod and artifinsem, Dublin (short communication) vol 2 p 94*

- HUMBLLOT P, OLIVEIRA O, RUDER CA, JEANGUYOT N, THIBIER M, SASSER RG (1988a) Progesterone and PSPB concentrations at time of AI and at the beginning of pregnancy in dairy cows. In: Proc BARD workshop on maternal recognition of pregnancy and maintenance of the corpus luteum. Jerusalem, 20-24 Mars, abstr 62
- HUMBLLOT P, PAYEN B, JEANGUYOT N, THIBIER M, SASSER RG (1990) Progesterone and pregnancy specific protein B concentrations in serum and plasma 28-30 days after AI and their relationship with embryonic mortality in French beef breeds. In: Proc 3rd int ruminant reprod symp, Nice 25-28 mars, abstr 21
- HUMBLLOT P. Protéines spécifiques de la gestation chez les ruminants. *Reproduction, Nutrition, Développement*. 1988, 28 (6 B) 1753-1762
- HUMBLLOT P. Signaux embryonnaires et contrôle de la gestation des ruminants. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 1991, 167 (3-4) 193-202
- HUMBLLOT P. : Utilisation de la PSPB pour le diagnostic de gestation des ruminants. *Ann zootech*. 1992, 41, 389-396.
- HUMBLLOT P., CAMOUS S., MARTAL J., CHARLEREY J., JEANGUYOT N., THIBIER M., SASSER R.G., 1988. Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J. Reprod. Fert.*, 83: 215-223.
- HUMBLLOT P., THIBIER M. Evolution comparée des méthodes de diagnostic de gestation chez les bovins. *Elevage et Insémination*. 1984, 200, 3-18
- IMMUNOTECH : www.immunotech.cz
- JACKSON P.G.G ET COCKCROFT P.D. in, CHAPTER 10. Clinical Examination of the Female Genital System. *Clinical Examination of Farm Animals 2002* by Blackwell Science Ltd. 125-140.
- JAUDON J.-P. ; PERROT C. ; VIAUD F. ; CADORE J.-L. : Bases Physiques, Technologiques et Sémiologiques de l'ultrasonographie médicale. *Le Point Vétérinaire*, 1991, 23(135), 11-18
- JUILLIEN C. Intérêts diagnostique et pronostique de l'échographie fœtale chez les bovins clonés. Thèse de Doctorat Vétérinaire. 2003. ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT
- KAHN W. Examen échographique des bovins. Chapitre 2. In : *Atlas de diagnostic échographique. Examengynécologique et reproduction*. Edition MALOINE, Paris, 1994, 83-175.
- KAREN A, AMIRI B.E, BECKERS J.F, SULON J, TAVERNE M.A ET SZENCI O, Comparison of accuracy of transabdominal ultrasonography, progesterone and pregnancy-associated glycoproteins tests for discrimination between single and multiple pregnancy in sheep, *Theriogenology* **66** (2) (2006), pp. 314–322.
- KAREN A, DARWISH S, RAMOUN A, TAWFEEK K, VAN HANH N ET. SOUSA N.M *ET al.*, Accuracy of ultrasonography and pregnancy-associated glycoprotein test for pregnancy diagnosis in buffaloes, *Theriogenology* **68** (8) (2007), pp. 1150–1155.
- KASSAM A, BONDURANT RH, BASU S, KINDAHAL H, STABENFELDT GH. Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. *JAVMA* 1987; 191: 417-420
- KASTELIC J.P., CURRAN S., GINTHER O.J.: Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*, 1989, 31, (4), 813-820.

- KASTELIC J.P., CURRAN S., PIERSON R.A., GINTHER O.J.: ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology*, 1988, 29, (1), 39-54.
- KASTELIC JP, CURRAN S, PIERSON RA, GINTHER OJ. Ultrasonic evaluation of bovine conceptus. *Theriogenology*, 1988; 29:39-54.
- KOURLETAKI-BELIBASAKI S., STEFANAKIS A., VAFIADIS D., HATZIDAKIS G., KRAMBOVITIS E. Reproduction management in dairycattle: a prospective study using progesterone and oestrone sulphate for monitoring pregnancy. *Animal Science*. 1995, 60 (2) 177-184
- LAING J.A. : Fertility and infertility in domestic animals. Edidtio BAILLIERE-TINDALL, London, 1979, 42-48.
- LAING J.A., EASTMAN E.A.K., BOUTFLOWER J.C., 1979. The use of progesterone concentration in milk and plasma for pregnancy diagnosis in cattle. *Br. vet. J.*, 135: 204-209.
- LAING JA, GIBBS HA, EASTMAN SAK. A herd test for pregnancy in cattle based on progesterone levels in milk. *Brit Vet J* 1976; 132: 204-209.
- LAITINEN J., REMES E., TENHUNEN M., HANNIEN O., ALANKA M., 1985. Milk progesterone in Finnish dairy cows, a field study on the control of artificial insemination and early pregnancy. *Br. vet. J.*, 141: 297-307.
- LAMB GC. 2001. Reproductive Real-Time Ultrasound Technology: An Application for Improving Calf Crop in Cattle Operations. In: *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. Ed. M.J. Fields. pp 231-153. CRC Press LLC. Boca Raton. FL.
- LANGMAN J., SADLER T.W. *Embryologie médicale*. 6^e édition française. Pradel, Paris. 1996. 490 pp
- LAPLANCHE A., COM-NOUGUE C., FLAMANT R. : *Méthodes statistiques appliquées à la recherche clinique*. Edition FLAMMARION, Médecine Sciences, 1987.
- LARSEN W.J. *Embryologie humaine*. De Boeck Université, Bruxelles. 1996. 479 pp.
- LEBASTARD D. Echographie en gynécologie bovine : utilisations possibles dans le cadre d'un exercice en clientèle rurale. *Le Point Vétérinaire*. 1997, 28, (181) 1089-1096
- LEGRAND J.J., CARLIER B. Bases physiques de l'échotomographie. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 1981, 157 (7-8) 553-559
- LEMON M., THIMONIER J.: Evolution de la progesterone plasmatique pendant le cycle et la gestation des ruminants. Colloque Soc. Française de Fertilité, Paris, 29 juin – 1^{er} juillet, 1973, 51-58.
- LORIOT N., MARTINOT S., FRANCK M. *Echographie abdominale du chien et du chat*. Masson, Paris. 1995. 142 pp
- LOUSSOUARN C. : le diagnostic de la non gestation chez les bovins. Comparaison entre l'échotomographie et le dosage de la progestéronémie. Thèse de docteur vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Nantes. 1999.
- MAGRE S et VIGIER B. Chapitre 12 : développement et différenciation sexuelle de l'appareil génital. In. *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. THIBAUT C et LEVASSEUR MC. INRA édition. Ellipses édition Marketing S.A., 2001. 232, rue Bargue 75740 Paris cedex 15.

- MAI W. L'image échographique : formation et qualité. *Le Point Vétérinaire*. 1999, 30 (201) 499-504
- MARCOS G. COLAZO, DIVAKAR J. AMBROSE, JOHN P. KASTELIC, JULIE A. SMALL. Comparison of 2 enzyme immunoassays and a radioimmunoassay for measurement of progesterone concentrations in bovine plasma, skim milk, and whole milk. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 2008;72:32–36
- MARCOS G. COLAZO, DIVAKAR J. AMBROSE, JOHN P. KASTELIC, JULIE A. SMALL. Comparison of 2 enzyme immunoassays and a radioimmunoassay or measurement of progesterone concentrations in bovine plasma, skim milk, and whole milk. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2008; 72: 32–36.
- MAURER R.R., RUDER C.A., SASSER R.G. : Effectiveness of the protein B radiomunoassay to diagnose pregnant in beefcattle. *J. Anim. Sci.*, 1985, 61 (suppl. 1), 390 (abstract).
- MC CAUGHEY W.J., KERR O.M., GREER D., ELLIOT C. A direct radioimmunoassay to estimate oestrogen sulphate in defatted milk of dairy cows. *Irish Veterinary Journal*. 1982, 36 (11) 145-149
- MEE J.F., RYAN D.P., CONDON T. : Ultrasonound diagnosis of pregnancy in cattle. *Vet. Rec.*, 1994, 134, 532.
- MERCIER PARISOT P., MARTINOT S., THIRIAT F., FRANCK M. Echographie et gestion de la reproduction chez les bovins. *Le Point Vétérinaire*. 1991, 23, (135) 33-39
- MIALON M.M., RENAND G., CAMOUS S., MARTAL J., MENISSIER F. Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy serum protein (PSP60) in cattle. *Reproduction, Nutrition, Développement*. 1994, 34 (1) 65-72
- MIALOT J.P., LEVY I., GRIMARD B. L'échographie dans la gestion de la reproduction chez les bovins. *Recueil de Médecine Vétérinaire*. 1991, 167, (1) 21-31
- MIALOT M.M., CAMOUS S., RENARD G., MARTIAL J., MENISSIER F.: Peripheral concentration of a 60-KDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reprod. Nutr. Dév.*, 1993, 33, (3), 269-282.
- MILES K.G. : Basic Principles and Clinical Applications of Diagnostic Ultrasonography. *The Compendium Small Animal*, 1989, 11(5), 609-622.
- MOMONT H.: Rectal palpation: safety issues. *The Bovine Practitioner*, 1990, 25, 122-123.
- MORETTI J.L. Eléments de physique ultrasonore. Echographie. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 1982, 55 (2) 159-17
- MULLER E., WITTKOWSKI G. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. *Theriogenology*. 1986, 25 (4) 571-574
- MULLER ET WITTKOWSKI (1986). Cité dans, Le sexage tardif du fœtus chez la vache. *Le Point Vétérinaire / N° 241 / Décembre 2003*.
- NESS H., LEOPOLD G., MULLER W.: atresia of colon and jejuni. *Mh. Vet. Med*, 1982, 37, 89-92.
- NYLAND T.J., MATTON J. *Veterinary Diagnostic Ultrasound*. 1995, W.B. SAUNDRES COMPANY. 357p, Chapter 1: 3-18; chapter 2: 19-29; chapter 3: 141-163.

- PARISTON P. édition : linéaire ou sectoriel ? Revue française d'échographie Animal, Octobre 1992.
- PATEL O.V., DOMEKI I., SASAKI N., TAKAHASHI T., HIRAKO M., SASSER R.G., HUMBLLOT P.: Effect of fetal mass, number and stage of gestation on pregnancy-specific protein B concentration in the bovine. *Theriogenology*, 1995, 44, (6), 827-833.
- PELZER S. : Diagnostic de gestation par échotomographie chez la vache. *TH. Méd. Vet.*, Nantes, 1985, (50).
- PENNINCK D. ; CUVELLIEZ S. : Principes Physiques et Méthodes d'Exploration Echographique. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 1985, 129, 381-391.
- PENNINGTON JA, SPAHR SL, LODGE JR. Factors affecting progesterone in milk for pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Brit Vet J* 1976; 132:487-495.
- PERENYI Z., SZENCI O., SULON J., DRION P.V., BECKERS J.F., 2002. Comparison of the ability of three radioimmunoassay to detect pregnancy-associated in bovine plasma. *Reprod. domest. Anim.*, 37: 100-104.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J. : Ultrasonic appearance of the bovine uterus during the oestrus cycle. *J.A.V.M.A.*, 1987, 190, 995-1001.
- PIERSON R.A., GINTHER O.J.: ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers. *Theriogenology*, 1984, 22, 225-233.
- PIERSON R.A., KASTELIC J.P., GINTHER O.J. Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. *Theriogenology*. 1988, 29 (1) 3-20
- PIERSON RA, GINTHER OJ: Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology* 28:929-936, 1987.
- PIETERSE M.C., WILLEMSE A.H. : Diagnostic manuel de gestation chez la vache. *Pro Veterinario*, 1983, 2, 5-8.
- PIETERSE M.M., SZENCI O., WILLEMSE A.H., BAJCSY S.A., DIELEMAN S.J., TAVERNE M.A.M., 1990. Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array real time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 33: 697-708.
- PITALA W; BOLY H; ZONGO M; BA Y; SOUSA N.M ; SAWADOGO L; LEROY P; BECKERS J.F. Pregnancy Diagnosis and Monitoring in Zebu. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 2003, 56 (3-4) : 171-176
- POWER M.J., CLEERE W.F., GOSLING J.P., FOTTRELL P.F., LANGLEY O.H., SCREENAN J.M. A direct, highthroughput, enzymeimmunoassay of oestrone sulphate in the milk of cows. *Irish Veterinary Journal*. 1985, 39 (2) 18-24
- PRVANOVIC N., TOMASKOVIC A., GRIZELJ J., KOCILA P., SAMARDIZIJA M., Monitoring of early pregnancy and early embryonic mortality by ultrasound and determination of pregnancy-associated glycoproteins and progesterone in cows. *Veterinarski Arhiv*, 79 (3), 259-267, 2009.
- QUINTON H. ÉCHOGRAPHIE BOVINE : Dans quel contexte proposer un sexage du fœtus ?. 8 Le Point Vétérinaire / N° 248 / Août-Septembre 2004 .

- RAJAMAHENDRAN R., AMBROSE D.J., BURTON B. Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction : a review. *Canadian Veterinary Journal*. 1994, 35 (9) 563-572.
- ROMANO JE, THOMPSON J A., FORREST DW, WESTHUSIN ME, TOMASZWESKI MA, KRAEMER DC. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology* 66 (2006) 1034–1041.
- ROMANO JE. EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS AND EMBRYO/FETAL MORTALITY IN CATTLE. PhD thesis. *Physiology of Reproduction*. College of Agricultural and Life Sciences. Texas A&M University, pp120, 2004.
- ROYAL L., TAINTURIER D., FERNEY J. : Mise au point sur les possibilités actuelles de diagnostic de la gestation chez la vache. *Rev. Méd. Vét.*, 1981, 132, (6), 413-423.
- ROYNON E., GRANDCHAMPS P.A., ZAKINE J. Compte rendu de sessions de formation pratique à l'échographie obstétrico-gynécologique. Kontron International Medical Division. 1979. Tome 1 : Physique, Tome II : Clinique.
- RUDER C.A., SASSER R.G. : Source of bovine pregnancy-specific protein B during the post-partum period and estimation of half-life of bPSPB. *J. Anim. Sci.*, 1986, 63, (suppl. 1), 335 (abstract).
- SAGET Y. : le diagnostic de la gestation chez la vache. *Th. Méd. Vét.*, Maisons-Alfort, 1971, (55).
- SASSER R.G., ALEXANDER B.M., RUDER C.A. : Pregnancy detection in postpartum cows by measurement of pregnancy-specific protein B (PSPB). *J. Anim. Sci.*, 1991, 69, (suppl. 1), 466 (abstract).
- SASSER R.G., RUDER C.A., IVANI K.A., BUTLER J.E., HAMILTON W.C. : Detection of pregnancy by radio-immunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentration during gestation. *Bio. Reprod.*, 1986, 35, 936-942.
- SHEMESH M, AYALON N, SHALEV E, NERYA A, SCHINDLER H, MILGUR F. Milk progesterone measurement in dairy cows: correlation with estrus and pregnancy determination. *Theriogenology* 1978; 9: 343-353.
- SIGOGNAULT A. Diagnostic de gestation par échotomographie par voie rectale chez la brebis. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes. 1992. n° 17. 147 pp.
- SOLTNER D. Zootechnie générale. Tome 1. la reproduction des animaux d'élevage. 3è édition 2001. Collection sciences et techniques agricoles. Paris
- SOUSA N.M., EL AMIRI B., REMY B., DRION., P.V., BECKERS J.F. : Signaux embryonnaires de la gestation. *SFB. Paris*. 29. 30. 31 Oct. 2002. 95-115.
- SOUSA N.M., EL AMIRI B., SULON J., BECKERS J.F. dosages réalisables pour le diagnostic de la gestation. *SFP- Paris* 2002 : 29, 30, 31 Oct. 137-152.
- STABENFELDF G.H. : physiologic, pathologic and therapeutic roles of progestins in domestic animals. *J.A.V.M.A.*, 1974, 164, (3), 311-317.
- STROUD BK. Clinical application of bovine reproductive ultrasonography. *Comp Cont Educ*, 1994; 16:1085-1097.
- SZENCI O., BECKERS J.F., HUMBLLOT P., SULON J., SASSER G., TAVERNE M.A.M., VARGA J., BALTUSEN R., SCHEKK G.Y., 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific

- protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50: 77-88.
- SZENCI O., GYULAI G., NAGY P., KOVACS L., VARGA J., TAVERNE M.A.M. : Effect of uterus position relative to the pelvic inlet on the accuracy of early bovine pregnancy diagnosis by means of ultrasonography. *Vet. Quarter.*, 1995, 17, (1), 37-39.
 - SZENCI O., HUMBLLOT P., BECKERS J.F., SASSER G., SULON J., BALTUSEN R., VARGA J., BAJSZI C.S., TAVERNE M.A.M., 2000. Plasma profiles of progesterone and conceptus proteins in cow with spontaneous embryonic/fetal mortality as diagnosed by ultrasonography. *Vet. J.* 159, 287-290.
 - TAINTURIER D., ANDRE F., FIENI F. Application du dosage du sulfate d'œstrone au diagnostic tardif de gestation chez la vache par la technique ELISA ou la radioimmunologie. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 1986, 137 (5) 349-354
 - TAINTURIER D., ANDRE F., FIENI F. Diagnostic précoce de la non gestation chez la vache par un dosage qualitatif de la progestérone - comparaison de trois tests E.L.I.S.A. rapides. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 1988, 139, (12) 1115-1118.
 - TAINTURIER D., ANDRE F., GILBERT V., FIENI F., SILIART B. Diagnostic de gestation chez la vache allaitante par dosage plasmatique du sulfate d'œstrone. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 1987, 138 (7) 619-623.
 - TAINTURIER D., FIENI F., BRUYAS J.F., BATTUT I. diagnostic de gestation chez la vache : application au diagnostic du sexe. *Compte-rendu des journées Nationales des G.T.V., Tours, 27-28-29 mai, 1998, 397-404.*
 - TAINTURIER. B. Diagnostic du sexe du fœtus par échotomographie chez la vache. Thèse de Docteur Vétérinaire. ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE NANTES. 2001
 - THIBIER M. : les modes de prélèvements à des fins d'analyse hormonale en reproduction animale. *Rec. Méd. Vét.* 1983, 159, (11), 957-963.
 - THIBIER M. le diagnostic précoce de gestation et la mesure de progesterone dans le lait. *Elevage et Insémination*, 1980, 180, 9-14.
 - THIBIER M. : le diagnostic de gestation chez la femelle de l'espèce bovine. *Point vét.*, 1976, 5, (2), 61-68.
 - THIBIER M., CRAPLET C., PAREZ M : les progestagènes naturels chez la vache. 1 – étude physiologique. *Rec.méd.vét.*, 1973, 149, 1181-1203.
 - THIBIER M., CRAPLET C., PAREZ M., 1973. Les progestagènes naturels chez la vache. Conséquences zootechniques. *nRec. Méd. Vét.*, 149, 1601-1613.
 - THIBIER M., TERQUI M., 1978. Les diagnostics de gestation et de non gestation chez les mammifères de ferme, 127-140. In *Coll. Soc. Fr. Fert.*, Masson (Paris).
 - VAHDAT F., HURGTEN J.P., WHITMORE H.L., SEGUIN B.E., JOHNSTON S.D. : Decline in assayable progesterone in bovine plasma: effect to time, temperature, anticoagulant, and presence of blood cells. *Am. J. Vet. Res.*, 1981, 42, 521-523.
 - VAILLANCOURT D., BIERSCHWAL C.J., OGWU D., ELMORE R.G., MARTIN C.E., SHARP A.J., YOUNGQUIST R.S., 1979. Correlation between pregnancy diagnosis by membrane slip and embryonic mortality. *J. Am. vet. Med. Assoc.*, 175: 466-468.

- VALON F., LEGRAND J.J. Les ultra-sons : leur utilisation pour le diagnostic médical chez les équidés. *PratiqueVétérinaire Equine*. 1981, 13 (2) 89-95
- VASCONCELOS JLM, SILCOX RW, LACERDA JA, PURSLEY JR, WILTBANK MC. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at two different times from ovulation in dairy cows. *Biol Reprod* 1997; 56(Suppl 1):140 (Abstr).
- VASQUES M.I., HORTA A.E.M., MARQUES C.C., SASSER R.G., HUMBLLOT P. : levels of bPSPB throughout single and twin pregnancies after AI or transfer of IVM / IVF cattle embryos. *Anim. Reprod. Sci.*, 1995, 83, 279-289.
- VERRIELE M. témoignage au quotidien chez la vache par voie vaginale. *Compte-rendu des journées Nationales des G.T.V.*, Tours, 27-28-29 mai, 1985, 579-580.
- VIGIER B, PREPIN J, JOST A, *Arch AnatMicroscMorpholExp*, 1976, 65, 77-101
- W. PITALA 1 H. BOLY 1 M. ZONGO 1 Y. BA .,N.M. SOUSA 3 L. SAWADOGO 1 P. LEROY 3 J.F. BECKERS. Diagnostic et suivi de la gravidité chez le zébu par échographie. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 2003, 56 (3-4) : 171-176.
- WISHART D.F., HEAD V.A., HORTH C.E. : early pregnancy diagnosis in cattle. *Vet. Rec.*, 1975, 96, 34-36.
- WOLFGANG K. veterinary reproductive ultrasonography. 2004. Schlutersche Verlagsgesellschaftmb H and Co. KG. Hans-Bockler-Allee 4, 30173 Hannover
- ZOLI A.P., GUILBAULT L.A., DELAHAUT P., ORTIZ W.B., BECKERS J.F., 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biol. Reprod.*, 46 : 83-92.

ANNEXES

MATÉRIEL NON BIOLOGIQUE :**I. ETUDE 1 : DIAGNOSTIC DE GESTATION****I.1. Dosage de la progestérone :** le matériel suivant a été utilisé :

- Des Tubes sous vides (5ml) contenant de l'héparine (Vacutainer®; Becton Dickinson, Belliver Industrial Estate, Plymouth. PL6 7BP. Royaume-Uni).
- Un adaptateur pour les tubes Vacutainer.
- Une centrifugeuse portative.
- Des eppendofrs.
- Des Pipetes de pasteurs à usage unique.
- Une glacière.
- La trousse RIA qui comporte :
 - Le traceur qui est de la progestérone marquée à l'iode 125 (Ag^{*}).
 - Les échantillons de contrôle de qualité (QC) : un flacon de concentration connue en progestérone (0.78- 1.38ng/ml) est ajouté à une trousse afin de l'inclure dans le dosage en trois reprises (Début, milieu et fin de dosage).
 - les étalons (standard) sérum de concentration (ng/ml) croissante de progestérone (0, 0.11, 0.5, 1.75, 9.6).
 - le kit est pourvu de tubes en polypropylène revêtus d'anticorps spécifiques, anti progestérone.
- un compteur Gamma model « Perken Elmer® » (cf. image 5),
- un détecteur de contamination,
- un agitateur,
- un congélateur,
- un réfrigérateur,
- un vortex model « Vortex®-2 Genie. Scientific Industries. BOHEMIA, N.Y.11716 USA »,
- des micropipettes (100 et 1000µl) avec embouts adéquats,
- une multi-pipette et de seringues adéquates,
- portes tubes,
- gants jetables,

I.2. L'examen échographique : le matériel suivant a été utilisé :

- L'échographe utilisé est un CHISON 600VET (Chison Medical Imaging CO., LTD. China), avec une sonde linéaire de 5MHz. L'appareil travail sur la ligne continue mais il est doté aussi d'une batterie de 2heurs d'autonomie (cf. image 1).
- Un appareil photo numérique (SONY®) d'une résolution de 12.1 M. Pixel (full HD 1080) doté d'un objectif numérique (Carl Zeiss®) utilisé pour l'enregistrement des images échographiques.
- Nous avons utilisé une botte de foin déposée sur une brouette comme un chariot pour l'échographe.

- Un seau rempli d'eau est toujours déposé à côté de l'échographe. Nous mettons la sonde de l'échographe dans le seau rempli d'eau pour la nettoyer et pour la refroidir.
- Des gants de fouiller rectale.
- Un lubrifiant.
- Une rallonge.

I.2. La palpation transrectale : le matériel suivant a été utilisé :

- Une pince mouchette pour la contention de la vache.
- Des gants de fouiller rectale.
- Un lubrifiant.

I.2. ÉTUDE 2 : DIAGNOSTIC DE SEXE DU FŒTUS:

Pour le diagnostic du sexe du fœtus nous avons utilisé le même matériel que celui du diagnostic de gestation par examen échographique.

IVD

RIA PROGESTERONE

REF

IM1188



**TROUSSE RADIOIMMUNOLOGIQUE POUR LE DOSAGE IN VITRO
DE LA PROGESTERONE DANS LE SERUM OU LE PLASMA HUMAIN**



1. PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage radioimmunologique de la progestérone est un dosage par compétition. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés dans des tubes recouverts d'anticorps avec un traceur progestérone marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs inconnues sont déterminées par interpolation à l'aide de cette courbe.

2. REACTIFS FOURNIS

Tous les réactifs de la trousses conservés à 2-8°C sont stables jusqu'à la date de péremption mentionnée sur la trousses.

2.1 Tubes revêtus d'anticorps anti-progestérone : 2 x 50 tubes (prêts à l'emploi)

2.2 Traceur progestérone marquée à l'iode 125 : 1 flacon de 55 mL (prêt à l'emploi)

Le flacon de 55 mL contient 185 kBq (en début de lot) de progestérone marquée, sous forme liquide en tampon avec des protéines.

2.3 Calibrateurs : 6 flacons de 0,5 mL (prêts à l'emploi)

Les flacons de calibrateurs liquides contiennent des concentrations de progestérone permettant d'établir une gamme d'étalonnage de 0 à 60 ng/mL. Les calibrateurs sont fabriqués dans du serum humain, en présence d'azide de sodium (<0,1% voir § Précautions). La concentration exacte est indiquée sur chaque flacon. Les calibrateurs ont été calibrés par rapport à la solution de référence BCR 347.

2.4 Sérum de contrôle : 1 flacon de 0,5 mL (prêt à l'emploi)

Le serum de contrôle contient de la progestérone dans du serum humain et de l'azide de sodium (<0,1% voir § Précautions). La fourchette de concentrations attendues en progestérone est indiquée sur l'étiquette du flacon.

Remarque: Les températures et dates d'expiration imprimées sur les étiquettes des flacons, concernent uniquement le stockage à long terme des réactifs par le fabricant, avant l'assemblage de la trousses. Ne pas en tenir compte.

3. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- micropipette de précision (50 µL).
- pipette semi-automatique (500 µL).
- mélangeur de type vortex.
- agitateur à mouvement de va et vient horizontal ou à plateau oscillant.
- système d'aspiration.
- compteur gamma calibré pour l'iode 125.

4. PRECAUTIONS

4.1 Précautions générales

- Equilibrer les réactifs à la température du laboratoire avant utilisation.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Effectuer simultanément la courbe standard et le dosage des échantillons.
- Le bon réglage de l'agitateur est une condition importante pour la reproductibilité du dosage.
- Il est recommandé de réaliser les dosages en double.
- Chaque tube ne doit être utilisé qu'une seule fois.

4.2 Protection contre les rayonnements ionisants

L'achat, la possession, l'utilisation et l'échange de matières radioactives sont soumis aux réglementations en vigueur dans le pays de l'utilisateur.

L'application des règles de base de protection contre les rayonnements ionisants assure une protection adéquate. Certaines d'entre elles sont rappelées ci-après :

- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de cosmétiques dans les laboratoires où des produits radioactifs sont utilisés.
- Ne pas pipeter des solutions radioactives avec la bouche.
- Eviter le contact direct avec tout produit radioactif en utilisant des blouses et des gants de protection.
- Toute manipulation de matières radioactives se fera dans un local approprié.
- Les produits radioactifs seront stockés dans leur conditionnement d'origine dans un local approprié.
- Un cahier de réception et de stockage de produits radioactifs sera tenu à jour.

- Le matériel de laboratoire et la verrerie qui ont été contaminés doivent être éliminés au fur et à mesure afin d'éviter une contamination croisée de plusieurs isotopes.
- Chaque cas de contamination ou perte de substance radioactive devra être résolu selon les procédures établies.
- Toute mise aux déchets de matière radioactive se fera en accord avec les règlements en vigueur.

4.3 Azide de sodium

Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium comme agent conservateur. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb, le cuivre et le lait et former des azides métalliques explosifs. Lors du rejet de telles solutions à l'évier, laisser couler un volume important d'eau dans les canalisations.

4.4 Sérum Humain

Les produits d'origine humaine contenus dans les réactifs de cette trousses ont subi un dépistage négatif, concernant les anticorps anti-VIH 1, et VIH 2, les anticorps VHC, et l'antigène de surface HBs, mais doivent cependant être manipulés comme des produits infectieux. En effet, aucune méthode connue ne peut assurer l'absence complète de virus, c'est pourquoi il est nécessaire de prendre des précautions lors de leur manipulation.

Tous les échantillons de sérum ou de plasma doivent être manipulés comme étant susceptibles de contenir les virus de l'hépatite ou du SIDA. Les déchets doivent être éliminés selon les réglementations nationales en vigueur.

5. PRELEVEMENT, PREPARATION, CONSERVATION ET DILUTION DES ECHANTILLONS

- Recueillir le sang dans des tubes secs sans additif, des tubes héparinés ou contenant de l'EDTA.
- Séparer le sérum ou le plasma par centrifugation.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés à 2-8°C si le dosage est réalisé dans les 24 heures. Sinon, il est préférable de les conserver congelés (<-18°C) et de préférence aliquotés, afin d'éviter les congélations et décongélations successives.
- Si l'échantillon analysé a une concentration supérieure au calibrateur le plus élevé de la gamme, le diluer dans un échantillon bas en progestérone (sérum d'homme de concentration <0,1 ng/mL).

6. MODE OPERATOIRE (voir tableau page suivante).

7. RÉSULTATS

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de progestérone de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

7.1 Courbe standard

Les résultats présentés dans cette notice ont été calculés en employant un mode de tracé semi-logarithmique pour la gamme standard (mode "spline") avec en ordonnée le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) et en abscisse les concentrations en progestérone des calibrateurs (ng/mL). L'utilisation d'un autre mode de calcul peut conduire à des résultats légèrement différents.

Activité totale : 54227 cpm				
Calibrateurs	Progestérone (ng/mL)	cpm (n=3)	B/T (%)	B/B0 (%)
0	0	21739	40.1	100
1	0.10	19335	35.7	88.9
2	0.55	16226	29.9	74.6
3	2.20	9414	17.4	43.3
4	13	3790	6.99	17.4
5	60	1147	2.12	5.28

(Exemple de courbe standard, ne pas utiliser pour les calculs).

7.2 Echantillons

Pour chaque échantillon, repérer le rapport B/T (%) ou B/B0 (%) sur l'axe vertical, puis le point correspondant de la courbe standard et en déduire par lecture sur l'axe horizontal la concentration en progestérone de l'échantillon.

Pour convertir des concentrations de ng/mL en nmol/L, multipliez les résultats par 3,18.

8. CONTROLE DE QUALITE

Les bonnes pratiques de laboratoire impliquent que des échantillons de contrôle soient utilisés dans chaque série de dosage pour s'assurer de la qualité des résultats obtenus. Ces échantillons devront être traités de la même façon que les prélèvements à doser et il est recommandé d'en analyser les résultats à l'aide de méthodes statistiques appropriées.

En cas de détérioration de l'emballage ou si les résultats obtenus montrent une perte de performance du produit, veuillez contacter :

Beckman Coulter France Tel 01 49 90 90 00 ou notre service Support Technique :
Tel : 04 91 17 27 27, Fax : 04 91 17 27 25, e-mail,
immuno-techsup@beckmancoulter.com

9. VALEURS ATTENDUES

Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs normales. Les valeurs suivantes déterminées chez des sujets sains sont données à titre indicatif.

Progesterone	ng/mL	nmol/L
Hommes (20 à 70 ans)	0,13 – 1,26	0,4 – 4,0
Femmes en période d'activité génitale		
phase folliculaire	0,06 - 1,26	0,2 - 4,0
phase ovulatoire	0,08 - 1,2	0,25 - 3,8
phase luteale	2,5 - 25	8 – 78
Femmes ménopausées	0,06 - 1,6	0,2 - 5

10. CARACTERISTIQUES DU DOSAGE

(voir la feuille "APPENDIX" pour plus de détails)

10.1 Sensibilité analytique: 0,05 ng/mL (0,16 nmol/L)

10.2 Spécificité

L'anticorps utilisé dans ce dosage est hautement spécifique de la progestérone. Des réactivités croisées extrêmement basses ont été obtenues vis à vis de nombreux stéroïdes naturels (Cortisol, Estradiol, 5 α - et 5 β -Pregnandione, 16 α , 17 α - et 6 β -Hydroxyprogesterone, etc...) ou vis à vis de médicaments pouvant être présents dans les échantillons à tester (Danazol, Prednisolone, etc...).

10.3 Précision

10.3.1 Intra-essai

Des échantillons ont été dosés 10 fois dans une même série. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 5,8 % pour les sérums.

10.3.2 Inter-essais

Des échantillons ont été dosés en doublet dans 18 séries différentes. Les coefficients de variation obtenus étaient inférieurs ou égales à 9,0 % pour les sérums.

10.4 Exactitude

10.4.1 Epreuve de dilutions

Des échantillons de concentration élevée ont été dilués dans un échantillon bas en progestérone (sérum d'homme de concentration <0,1 ng/ml). Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 87 % et 115 %.

10.4.2 Epreuve de surcharge

Des quantités connues de progestérone ont été ajoutées à des sérums humains. Les pourcentages de recouvrement s'échelonnent entre 85 % et 110 %.

10.5 Plage de mesure (de la sensibilité analytique au calibrateur le plus élevé) :
0,05 – 60 ng/mL.

11. LIMITATIONS DE LA METHODE

Le non-respect des recommandations indiquées dans cette notice peut avoir un impact significatif sur les résultats. Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des tests additionnels et toute autre information appropriée.

Pour les tests employant des anticorps, il existe la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être la cause de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

6. MODE OPERATOIRE

Etape 1 Répartition	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement: - 50 μ L de calibrateur ou d'échantillon et - 500 μ L de traceur* Agiter	Incuber 1 heure à 18-25°C avec agitation (350 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes «cpm totaux») Compter les cpm liés (B) et cpm totaux (T) pendant 1 min.

* Ajouter 500 μ L de traceur dans 2 tubes supplémentaires pour obtenir les cpm totaux.



**RADIOIMMUNOASSAY FOR THE IN VITRO DETERMINATION
OF PROGESTERONE IN HUMAN SERUM AND PLASMA**



Performance characteristics

A. Specificity

Data on cross-reactivity with several endogenous and pharmaceutically employed steroids are presented in the following table:

$$\text{Cross-reactivity (\%)} = \frac{\text{Progesterone concentration}}{\text{Steroid concentration}} \times 100 \text{ at } 50 \% \text{ binding of the zero standard}$$

Steroid	Cross-reactivity (%)
Progesterone	100
17 α -Hydroxyprogesterone	0.17
20 α -Dihydroprogesterone	0.22
6 β -Hydroxyprogesterone	2.38
16 α -Hydroxyprogesterone	0.36
Spirolactone	<0.02
5 α -Pregnanedione	7.31
5 β -Pregnanedione	20.18
Pregnenolone	0.12
Pregnenolone sulfate	0.07
Cortisol	<0.003
Corticosterone	2.03
Cortisone	0.003
11-Deoxycortisol	<0.003
Desoxycorticosterone	0.80
Danazol	<0.02
Prednisolone	0.01
Estradiol	<0.02
19-Norethisterone	0.01
Δ 4-Androstenedione	0.02
DHEA sulfate	<0.02
Testosterone	0.06
19-Nortestosterone	0.003

B. Accuracy

B.1 Dilution test

Serum samples were diluted in the zero standard and assayed according to the procedure of the kit.

Samples	Dilution factor	Progesterone (ng/mL)		Recovery measured/expected %
		Measured	expected	
A	undil.	>60	>60	
	2	31.0	31.0	
	4	15.8	15.5	102
	8	7.0	7.75	91
B	undil.		42.3	
	2	24.3	21.1	115
	4	10.6	10.6	100
	8	4.6	5.3	87
C	undil.		5.9	
	2	2.9	3.0	98
	4	1.4	1.5	94
	8	0.76	0.74	103

B.2 Recovery test

Progesterone was added to serum samples and assayed according to the procedure of the kit.

Samples (ng/mL)	Progesterone (ng/mL)		Recovery measured/expected %
	added	expected	
A (0.09)	21	21.0	91
	18	18.1	94
	11.1	11.2	91
	8.8	8.9	91
B (0.21)	21	21.2	96
	18	18.2	87
	11.1	11.3	92
	8.8	9.0	102
C (0.22)	21	21.2	98
	18	18.2	85
	11.1	11.3	99
	8.8	9.0	101
D (0.23)	21	21.2	109
	18	18.2	104
	11.1	11.3	110
	8.8	9.0	106

C. Precision

Intra-assays (n = 25)

Samples	1	2	3
Mean value (ng/mL)	0.7	7.4	27.1
CV (%)	3.5	5.8	4.3

Inter-assays (n = 25)

Samples	A	B	C	D
Mean value (ng/mL)	1.3	0.8	7.3	26.3
CV (%)	3.3	5.1	8.8	9.0

D. Effect of anti-coagulants

Blood from volunteers was collected into dry tubes (with no additive), gel tubes, and tubes containing EDTA or heparin, and then assayed. The results demonstrate that progesterone may be assayed in both plasma and serum (dry and gel tubes).

Samples	Collection tubes			
	Dry	Gel	EDTA	Heparinized
1	0.429	0.437	0.451	0.450
2	0.206	0.311	0.208	0.250
3	0.703	0.708	0.665	0.753
4	2.825	2.661	2.688	3.205
5	0.213	0.252	0.176	0.139
6	0.301	0.212	0.145	0.284
7	0.036	0.019	0.020	0.025
8	0.105	0.093	0.059	0.121
9	0.579	0.504	0.547	0.547

$$T_{1/2} (^{125}\text{I}) = 1443 \text{ h} = 60.14 \text{ d}$$

¹²⁵ I	E (MeV)	%
γ	0.035	
X	0.027	114
	0.032	25

REFERENCES

1. BLIGHT L., WHITE G.
¹²⁵I-Labeled radioimmunoassay kits for progesterone evaluation for use in an in vitro fertilization program. – Clin.Chem., 1983, 29, 1024-7.
2. BOJANIC S., LAKE R., PLACE J., JONES L., LAYCOCK J., CARTER G., ALAGHBAND-ZADEH J. Serum progesterone concentration is raised during early follicular phase in women with polycystic ovaries. – Ann. Clin. Biochem., 1991, 28, 105-6.
3. GAUTRAY J.P., de BRUX J., TAJCHNER G., ROBEL P., MOUREN M. Clinical investigation of the menstrual cycle. III. Clinical endometrial, and endocrine aspects of luteal defect. – Fertil. Steril., 1981, 35, 296-303.
4. HAYNES S., CORCORAN J., EASTMAN C., DOY F. Radioimmunoassay of progesterone in unextracted serum – Clin.Chem., 1980, 26, 1607-9.
5. HENSLEIGH P., FAINSTAT T. Corpus luteum dysfunction: serum progesterone levels in diagnosis and assessment of therapy for recurrent and threatened abortion. Fertil. Steril., 1979, 32, 396-400.
6. HERNANDEZ HORTA J.L., GORDILLO FERNANDEZ J., SOTO de LEON B., CORTES-GALLEGOS V. Direct evidence of luteal insufficiency in women with habitual abortion. Obstet. Gynecol., 1977, 49, 705-8.
7. IUS A., FERRARA L., MERONI G., BACIGALUPO M. Evaluation of time-resolved fluoroimmunoassay with Eu-labelled protein-A for serum progesterone. J. Steroid Biochem., 1989, 33, 101-3.
8. JONES G. Progress in Infertility – BEHRMAN S.J. and KISTNER Ed., 1975, 299-324.
9. KUBASIK N., HALLAUER G., BRODOWS R. Evaluation of direct solid-phase radioimmunoassay for progesterone, useful for monitoring luteal function. - Clin. Chem., 1984, 30, 284-6.
10. MARCH C.M. Reproductive endocrinology, infertility and contraception. MISHELL D.R. and DAVAJAN V. Ed., 1979, 469-76.
11. MEULENBERG P., HOFMAN J. Salivary progesterone excellently reflects free and total progesterone in plasma during pregnancy. - Clin. Chem., 1989, 35, 168-72.
12. MUNRO C., STABENFELDT G., CRAGUN J., ADDIEGO L., OVERSTREET J., LASLEY B. Relationship of serum estradiol and progesterone concentrations to the excretion profiles of their major urinary metabolites as measured by enzyme immunoassay and radiimmunoassay - Clin. Chem., 1991, 37, 838-44.
13. PETSOS P., RATCLIFFE W., ANDERSON D. Assessment of corpus luteum function by direct radioimmunoassay for progesterone in bloodspotted on filter paper - Clin. Chem., 1985, 31, 1289-93.
14. PRIOR J.C. Progesterone as a bone-trophic hormone. Endocr. Rev., 1990, 11, 386-98.
15. RADWANSKA E., HAMMOND J., SMITH P. Single midluteal progesterone assay in the management of ovulatory infertility - J. Reprod. Med., 1981, 26, 85-9.
16. RADWANSKA E., FRANKENBERG J., ALLEN E. Plasma progesterone levels in normal and abnormal early human pregnancy - Fertil. Steril., 1978, 30, 398-402.
17. SHEEHAN K.L., CASPER R.F., YEN S.S. Luteal phase defects induced by an agonist of luteinizing hormone-releasing factor: a model for fertility control - Science, 1982, 215, 170-2.
18. STENDAHL U., ROGO K. Cervical cancer: role for progesterone during pregnancy and contraception? Am. J. Obstet. Gynecol., 1990, 163, 685-6.
19. WENTZ A. Endocrine physiopathology of the ovary. TOOZINI R., REEVES G. and PINEDA R. Ed., 1980, 257-74.



Use by / Utiliser jusqu'à / Verwendbar bis / Utilizzare entro / Use antes de / Ημερομηνία λήξης / Použitelné do / Použitelné do / Tarihinden önce kullanınız / Użyć do / Felhasználható / Naudoti iki / Использовать до



In Vitro diagnostic Device / Diagnostic in Vitro / In Vitro Diagnostikum / Diagnostico in vitro / Diagnostico in Vitro / In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν / Pro diagnostiku in vitro / Pre diagnostiku in vitro / In Vitro Teşhis Kiti / Do diagnostyki in vitro / In vitro diagnostikum / In vitro diagnostikai / Для ин витро диагностики



Catalogue Number / Référence catalogue / Bestellnummer / Numero di catalogo / Numero de catalogo / Αριθμός καταλόγου / Katalogové číslo / Katalógové číslo / Katalog Numarasi / Numero katalogowy / Katalógusszám / Katalogo Nr. / Каталогный №



Batch code / Numéro de lot / Chargenbezeichnung / Coddice del lotto / Codigo de lote / Αριθμός Παρτίδας / Číslo šarže / Číslo šarže / Lot numarasi / Numer seri / Lot szám / Serijos Nr. / № серии



Caution, see instructions for use / Attention, consulter la notice d'utilisation / Achtung, Gebrauchsanweisung beachten / Attenzione vedere le istruzioni per l'uso / Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα / Pozor, čtěte pozorně návod / Pozor, čítajte návod pozorne / Dikkat, kullanim kılavuzuna bakınız / Uwaga, patrz instrukcja użycia / Figyelem, olvassa el a használati utasítást / Dèmesio, atídziai perskaitykite instrukciją / Внимание, читайте тщательно инструкции



Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten / Leggere le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Viz návod / Vid' návod / Kullanna kılavuzuna bakınız / Patrz instrukcja użycia / Olvassa el a használati utasítást / Žiūrėti instrukciją / Смотри инструкции



Temperature limitation / Limites de température / Temperaturgrenzen / Limiti di temperatura / Limites de temperatura / Περιορισμοί θερμοκρασίας / Rozmezi skladovacích teplot / Rozsahy skladovacích teplot / Sıcaklık limitleri / Ograniczenie temperatury / Hőmérséklethatárok / Saugojimo temperatūrų intervalas / Диапазон температур хранения



Radioactive / Radioactif / Radioattivo / Radioaktiv / Radioactivo / Ραδιενεργός / Radioaktivní / Rádioaktívne / Radoaktif / Radioaktywność / Radioaktiv / Radioaktyvus / Радиоактивный



For XX tests / Pour XX dosages / Für XX Bestimmungen / Per XX dosaggi / Para XX ensayos / Περιεχόμενο επαρκές για XX εξετάσεις / Lze použiť pro XX testů / Určené na XX testov / XX Testleri için / Zawartość na XX testów / Tartalma XX teszt elvégzésére elegendő / Pakanka XX testui atlikti / Предназначен для XX тестов



Manufacturer / Fabricant / Hersteller / Fabricante / Κατασκευαστής / Výrobce / Výrobca / Üretici / Producent / Gyártó / Gamintojas / Производитель