

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach-Alger

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Magistère en Sciences Vétérinaires

Option : Nutrition et Reproduction des Bovins

Thème :

Intérêts et limites de l'utilisation de l'échographie dans le diagnostic ovarien chez la vache.

Présenté par Mr BOUKADIR A.

Devant le jury composé de :

<i>Mme S. TEMIM</i>	<i>Professeur</i>	<i>À</i>	<i>ENSV Alger</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mr R. KAIDI</i>	<i>Professeur</i>	<i>À</i>	<i>FMV Blida</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr D. KHELEF</i>	<i>Maître de Conférences</i>	<i>À</i>	<i>ENSV Alger</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mr A BERBER</i>	<i>Maître de Conférences</i>	<i>À</i>	<i>FMV Blida</i>	<i>Examineur</i>
<i>Mr S. SOUAMES</i>	<i>Maître assistant</i>	<i>À</i>	<i>ENSV Alger</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire 2009/2010

Remerciements

Tout d'abord, je remercie DIEU de m'avoir accordé la santé et les moyens pour réaliser ce travail.

Je remercie vivement Monsieur KHELEF D, maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse. Merci pour votre disponibilité et vos conseils éclairés.

Je remercie vivement Madame TEMIM S, professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de mémoire.

Je remercie vivement Monsieur KAIDI R, professeur à la faculté de médecine vétérinaire de Blida, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.

Je remercie vivement monsieur BERBER A, maître de conférences à la faculté de médecine vétérinaire de Blida, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.

Je remercie vivement monsieur SOUAMES S, maître assistant à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de mémoire.

Je remercie vivement monsieur GOUCEM R, maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger. Merci pour votre aide et pour vos corrections.

Je remercie tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail, surtout monsieur ABDELKRIM de la jumenterie de Tiaret.

Dédicaces

Je dédie mon mémoire de magistère :

- *À mon cher père qui n'est plus. Que Dieu l'accueille dans son vaste Paradis.*
- *À ma chère mère.*
- *À mes chers frères et sœurs.*
- *À tous mes amis de la promotion 2001-2006 de l'Institut Vétérinaire de Tiaret.*
- *À mes amis Daoud, Ahmed, Aboubakr, Kadirou et Tahar.*
- *À mes collègues de magistère : Rafik, Nedjma, Ibtissem, Redouane, Meriem, Mourad, Nadir, Asma, Brahim.*

RÉSUMÉ

Cinquante (50) vaches appartenant à deux élevages de vaches laitières dans la région de Tiaret, de race Holstein pie noire, font l'objet de cette étude, ayant pour objectif de comparer l'intérêt et l'efficacité de l'échographie à diagnostiquer le statut lutéal ovarien, par rapport à la palpation transrectale, et d'estimer la concordance entre l'échographie et le dosage de la progestérone P4 pour la classification des corps jaune selon l'état fonctionnel.

Un examen transrectal et un examen échographique (8 M Hz) sont réalisés sur chaque ovaire, dans le but de déterminer la présence, l'apparence échographique et le diamètre des corps jaunes. Immédiatement après l'examen échographique, un prélèvement sanguin est réalisé pour le dosage de la progestérone plasmatique.

Par comparaison à la palpation transrectale, les résultats montrent que l'échographie est plus sensible (64,9% vs 86,5%) et plus spécifique (53,8% vs 76,9%) pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune, indépendamment de son état fonctionnel. Cependant, l'absence d'un corps jaune n'est pas aisément mise en évidence par les deux outils diagnostiques (palpation Vp : 35% ; échographie Vp : 66,7%).

La sensibilité et l'exactitude de l'examen échographique changent significativement selon l'expérience de l'opérateur (opérateur expérimenté Se : 86,5%, Sp : 76,9% ; opérateur non expérimenté Se : 59,5%, Sp : 38,5%), contrairement à la palpation transrectale. (résultats pareils pour le deux opérateurs Se : 64,9 % et Sp : 53,8 %.)

Le degré de concordance entre la concentration plasmatique de progestérone et l'examen échographique (diamètre ou apparence) est hautement significatif ($p < 0,0001$). Cependant, les résultats suggèrent que l'évaluation de l'apparence échographique est plus fiable que la mesure du diamètre pour la classification des corps jaune selon l'état fonctionnel ($K_w : 0,71$).

L'échographie fournit des résultats plus exacts et plus fiables, permettant de juger au mieux le statut lutéal, en plus de son intérêt dans le diagnostic de gestation, ce qui suggère que son utilisation dans les fermes serait d'une grande utilité pour la réalisation du suivi de la reproduction.

Mots clés : corps jaune, échographie, palpation transrectale, progestérone, vaches laitières.

ABSTRACT

In this study, the ovaries of Fifty (50) randomly selected Holstein dairy lactating cows, from two dairy farms in the region of Tiaret, were examined by palpation per rectum and ultrasonography (8 MHz), concurrently; blood samples were taken and analyzed for plasma progesterone (P4) concentration. The presence or absence of a CL was recorded for 100 examinations. Diameter measurement and evaluation of the appearance of corpora lutea were recorded in order to assess the most reliable method for the diagnosis of the presence or absence of corpora lutea; and To evaluate the agreement between ultrasonographic characteristics of the corpus luteum (CL) and plasma progesterone (P4) concentration.

Compared to rectal palpation, the results show that ultrasonography is more sensitive (64.9% vs. 86.5%) and specific (53.8% vs. 76.9%) for diagnosing the presence of a corpus luteum regardless of its functional status. However, the absence of a corpus luteum is not easily demonstrated by the two diagnostic tools (palpation Vp: 35% and ultrasound Vp: 66.7%).

The sensitivity and accuracy of ultrasound significantly change according to operator experience (experienced operator Se: 86.5%, Sp: 76.9%; inexperienced operator Se: 59.5%, Sp: 38.5%), unlike rectal palpation. (Similar results for the two operators: Se: 64,9 % et Sp : 53,8 %.)

The results of this study indicate that in the dairy cow ultrasonographic appearance of tissue is a more reliable method for the assessment of the mid-cycle CL than measurement of its diameter ; this finding is substantiated by the higher level of agreement between appearance and plasma P4 (K= 0,69) compared to that of CL diameter and plasma P4 (K= 0,55).

Ultrasound provides a more accurate and more reliable results than palpation per rectum for the diagnosis of the presence or absence of corpora lutea, in addition to its importance in the diagnosis of pregnancy, suggesting that its use in dairy farms would be of great utility for carrying monitoring of reproduction.

Keywords: corpus luteum, ultrasonography, rectal palpation, progesterone, Dairy cows.

ملخص

شملت هذه الدراسة 50 بقرة حلوب مستوردة وموزعة على مزرعتين في منطقة تيارت وذلك بهدف تقييم دقة وفعالية تشخيص حالة وجود أو غياب الجسم الأصفر بواسطة الموجات فوق الصوتية و عملية جس المبيض عبر المستقيم (الشرح) ، و بهدف تحديد التوافق بين الفحص بواسطة الموجات فوق الصوتية و عملية فحص تركيز هرمون البروجسترون في البلازما لتصنيف الجسم الأصفر حسب الوضع الوظيفي.

يتم إجراء جس المبيض عبر المستقيم وبواسطة الموجات فوق الصوتية (8 ميغاهرتز) على كل مبيض ، لتحديد وجود ، والمظهر السونوغرافي و قطر الأجسام الصفراء . مباشرة بعد ذلك ، يتم أخذ عينة من الدم لتحديد معدل تركيز هرمون البروجسترون في البلازما.

مقارنة مع عملية الجس عبر المستقيم ، قد بينت النتائج أن الموجات فوق الصوتية أكثر حساسية (64,9 ٪ مقابل 86,5 ٪) و دقة (53,8 ٪ مقابل 76,9 ٪) لتشخيص وجود الجسم الأصفر بغض النظر عن حالته الوظيفية. ومع ذلك ، فقد كان من الصعب تشخيص غيابه بواسطة الجس و بواسطة الموجات فوق الصوتية (خصوصية الجس : 35 ٪ ؛ خصوصية الموجات فوق الصوتية : 66,7 ٪).

أظهرت النتائج أن حساسية ودقة الموجات فوق الصوتية تغيرت بشكل كبير وفقا لتجربة المشغل (مشغل خبير حساسية: 86,5 ٪ ، خصوصية : 76,9 ٪ ؛ مشغل غير خبير حساسية : 59,5 ٪ ، خصوصية : 38,5 ٪) ، وعلى النقيض من نتائج الجس عبر المستقيم. (نتائج مماثلة لكلا المشغلين حساسية : 64,9 ٪ , خصوصية : 53,8 ٪).

درجة التوافق بين تركيز هرمون البروجسترون في البلازما والموجات فوق الصوتية (القطر أو مظهر) مهم للغاية ($P < 0,0001$). ومع ذلك ، فإن النتائج تشير إلى أن تقييم المظهر السونوغرافي هو أكثر موثوقية من قياس القطر من أجل تصنيف الجسم الأصفر حسب الوضع الوظيفي ($Kw:0,71$).

الموجات فوق الصوتية توفر معلومات أكثر دقة وأكثر موثوقية لتشخيص الوضع الوظيفي للجسم الأصفر ، بالإضافة إلى أهميتها في تشخيص الحمل ، مما يوحي بأن استخدامها في المزارع سيكون ذا فائدة كبيرة من أجل متابعة و تنظيم عملية التكاثر.

كلمات مفتاحية : الجسم الأصفر ، الموجات فوق الصوتية ، الجس عبر المستقيم ، البروجسترون ، بقرة حلوب.

SOMMAIRE

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : PRINCIPES DE L'IMAGE ULTRASONORE

I- DEFINITION	2
II. PRINCIPES PHYSIQUES DES ULTRASONS.....	3
II.1. L'onde sonore.....	3
II.2. La production des ultrasons	4
II.3. Les caractéristiques de l'onde sonore	4
II.3.1. Fréquence.....	5
II.3.2. Longueur d'onde (λ)	5
II.3.3. Célérité de l'onde (c).....	5
II.3.4. Intensité.....	7
II.4. Interactions des ultrasons avec la matière	7
II.4.1.L'impédance acoustique.....	7
II.4.2. Formation des échos.....	9
II.4.2.1. La réflexion.....	9
II.4.2.2. Réfraction.....	11
II.4.2.3. Atténuation des ultrasons	12
II.4.3. Profondeur d'exploration	13
II.5. Principe et fonctionnement de l'échographe	14
II.5.1. Emission des ultrasons : production de salves.....	14
II.5.2.La réception des ultrasons	14
III. FORMATION DE L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE	15
III.1. Qualité de l'image échographique	15
III.1.1. Résolution	15
III.1.1.1. Résolution axiale.....	16
III.1.1.2. Résolution latérale	16
III.1.2.Echelle des gris	17
III.1.3. Traitement de l'image et réglages	18
III.1.3.1. Les gains.....	18

IV. SEMIOLOGIE DE L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE	19
IV.1. Interprétation de l'image échographique	19
IV.1.1. Définitions et terminologie	19
IV.1.2. Images de contour	20
IV.1.2.1. Image d'interface	20
IV.1.2.2. Image de paroi	21
IV.1.3. Images tissulaires	22
IV.1.3.1. Images de liquides	22
IV.1.3.2. Images de tissus mous	23
IV.1.3.3. Images de tissus osseux et de calculs	24
IV.1.3.4. Images de tissus graisseux	24
IV.1.3.5. Images de gaz	24
IV.2. Les artéfacts	25
IV.2.1. Réverbération	25
IV.2.2. Queue de comète	26
IV.2.3. Cône d'ombre	27
IV.2.4. Ombre acoustique de bord	27
IV.2.5. Renforcement postérieur	28
IV.2.6. Image en miroir	29
IV.2.7. Lobes accessoires	30
IV.2.8. Artéfact dû à la réflexion spéculaire : anisotropie	31
VI. EFFETS BIOLOGIQUES DES ULTRASONS	33

***Chapitre II : PRATIQUE DE L'ECHOGRAPHIE ET APPLICATIONS EN
GYNECOLOGIE BOVINE***

I. CHOIX DE L'ECHOGRAPHE POUR L'EXAMEN DE L'APPAREIL GENITAL	34
I.1. Les types de sondes échographiques	34
I.1.1. Sondes mécaniques	34
I.1.2. Sondes électroniques	34
I.1.2.1. Sondes linéaires « barrette »	34
I.1.2.2. Sondes linéaires courbes	35
I.1.2.3. Sondes annulaires	35

I.2. Choix de la sonde-----	37
II-APPLICATIONS EN GYNECOLOGIE BOVINE-----	38
II.1. Conditions à respecter pour réaliser un bon examen -----	38
II.1.1. Choix du local d'examen -----	38
II.1.2. Contention des animaux -----	38
II.1.3. Examen transrectal préalable-----	41
II.1.4. Examen échographique méthodique de l'appareil génital -----	42
II.1.4.1. Echographie de l'utérus : le col, le corps et les cornes -----	44
II.1.4.2. Echographie des ovaires -----	44

***Chapitre III : UTILISATION DE L'ECHOGRAPHIE POUR DETERMINER L'ETAT
PHYSIOPATHOLOGIQUE DES OVAIRES***

II. EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DE L'OVAIRE-----	47
II.1. Rappels anatomiques-----	47
II.1.1. Utérus -----	47
II.1.2. Ovaires-----	48
II.1.3. Les follicules-----	48
II.1.4. Les corps jaunes -----	49
II.2. Rappels physiologiques-----	50
II.2.1. Le cycle œstral-----	50
II.2.1.1. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache-----	51
II.2.1.2. Régulation hormonale du cycle œstral -----	55
II.2.3. Place du corps jaune dans l'activité ovarienne -----	60
II.2.3.1. Formation du corps jaune -----	60
II.2.3.2. La lutéolyse-----	62
II.2.3.3. Fonctionnement du corps jaune -----	64
II.2.3.4. Evolution de la progestéronémie-----	65
II.2.3.5. Dosage de la progestérone en pratique -----	68
II.2.3.6. Détermination du statut ovarien par palpation transrectale -----	70
II.3. Echographie de l'ovaire-----	72
II.4. Echographie des Follicules -----	72
II.5. Echographie des corps jaunes -----	73

II.6. Echographie de l'ovaire inactif -----	75
II.7. Echographie des formations kystiques -----	77
II.8. Diagnostic différentiel des organites ovariens -----	80
II.9. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes -----	82

Etude Expérimentale

Matériels et Méthodes

1. Objectifs -----	85
2. Animaux -----	85
3. Protocole expérimental -----	85
4. Contention des animaux -----	86
5. La palpation transrectale -----	86
6. L'examen échographique -----	88
7. Réalisation de l'examen échographique -----	88
8. Analyse de la progesterone (P4) -----	93
9. Etude statistique -----	93

Résultats

I. Résultats des examens faits par l'opérateur non expérimenté -----	98
I.1. Palpation transrectale -----	98
I.2. Examen échographique -----	98
I.3. Dosage de la progesterone -----	98
I.4. Comparaison entre la palpation transrectale et le dosage de la progesterone ---	99
I.5. Comparaison entre l'examen échographique et le dosage de la progesterone --	99
I.6. Comparaison entre la palpation transrectale et l'examen échographique ----	100
II. Résultats des examens faits par l'opérateur expérimenté -----	101
II.1. Palpation transrectale -----	101
II.2. Examen échographique -----	102
II.3. Dosage de la progesterone -----	103
II.4. Comparaison entre la palpation transrectale et le dosage de la progesterone	103
II.5. Comparaison entre l'examen échographique et le dosage de la progesterone	104
II.6. Comparaison entre la palpation transrectale et l'examen échographique ----	105
III. Comparaison des résultats des deux opérateurs -----	106

III.1. Comparaison des résultats de la palpation transrectale-----	106
III.2. Comparaison des résultats de l'examen échographique-----	107
IV. Diagnostic des corps jaunes selon le statut fonctionnel-----	108
IV.1. Diagnostic par mesure du diamètre-----	108
IV.2. Diagnostic par évaluation de l'apparence échographique -----	109
IV.3. Comparaison entre mesure du diamètre et évaluation échographique-----	110
V. Concordance entre mesure du diamètre, évaluation de l'apparence échographique et dosage de la progestérone-----	111
V.1. Diagnostic et classification des corps jaunes par mesure du diamètre -----	111
V.2. Diagnostic et classification des corps jaunes par évaluation échographique	113
V.3. Concordance entre la mesure du diamètre et le dosage de la progestérone--	114
V.4. Concordance entre évaluation échographique et dosage de la progestérone	115
Discussion -----	111
Conclusion -----	111
Recommandations -----	111

LISTE DES FIGURES

Etude Bibliographique

Figure 1: Schématisation d'une sonde ultrasonore disposant d'un cristal piézo-électrique	4
Figure 2: Longueur d'onde (λ)	5
Figure 3: Influence de la différence d'impédance sur le phénomène de réflexion du faisceau ultrasonore	8
Figure 4: Phénomènes de réflexion et réfraction des échos ultrasonores	9
Figure 5: La réflexion de type miroir	10
Figure 6: La réflexion multidirectionnelle, « dispersion »	11
Figure 7: Interaction des ultrasons avec les tissus	13
Figure 8: Variation inversement proportionnelle de la profondeur d'exploration et la fréquence de la sonde utilisée	14
Figure 9: Emission et réception des ultrasons	15
Figure 10: Résolution axiale et latérale	17
Figure 11: Différentes nuances d'échogénicité des structures examinées	20
Figure 12: Représentation schématique de coupes de vaisseaux	21
Figure 13: Représentation schématique d'un artéfact de réverbération entre la sonde et la paroi du rectum	26
Figure 14: Artéfact de réverbération	26
Figure 15: Cône d'ombre résultant de la réflexion totale des ultrasons au niveau des éléments osseux de la tête du fœtus	27
Figure 16: Schématisation de l'ombre acoustique de bord	28
Figure 17: Kyste folliculaire générant un artéfact de renforcement postérieur	28
Figure 18: Schématisation de l'artéfact de l'image en miroir	29
Figure 19: Image en miroir d'un utérus gravide « en bain d'eau »	30
Figure 20: Lobes accessoires	31
Figure 21: Des pseudo-sédiments (S) dans une image échographique de la vessie résultant d'un artéfact de lobes accessoires	31
Figure 22: Artéfact dû à la réflexion spéculaire	32
Figure 23: Représentation d'une sonde sectorielle (A) et une sonde linéaire (B)	36
Figure 24: Différents types de sondes	36
Figure 25: Différents types d'échographes utilisés en médecine vétérinaire	37
Figure 26: Contention des vaches pour réaliser un examen échographique	40
Figure 27: Méthode de palpation rectale de l'appareil génital chez la vache	42
Figure 28: Comment tenir et introduire une sonde pour l'examen échographique de l'appareil génital de la vache	43
Figure 29: Images représentatives de la méthode d'exploration échographique de l'appareil génitale de la vache	46
Figure 30: L'approche échographique de l'ovaire de la vache	46
Figure 31: Vues latérale et dorsale de l'appareil génital de la vache	48
Figure 32: Coupe anatomique et histologique de l'ovaire chez la vache	49
Figure 33: Images de l'ovaire de la vache à différents stades du cycle	50
Figure 34: Représentation schématique de l'évolution d'un follicule	52
Figure 35: Représentation schématique du cycle œstral de la vache	54
Figure 36: Représentation schématique des vagues folliculaires au cours du cycle œstral chez la vache	55

Figure 37: Représentation schématique des interactions hypothalamo-hypophyso-gonadique	59
Figure 38: Les étapes de recrutement, sélection, dominance au cours d'une vague folliculaire	59
Figure 39: Les étapes de formation du corps jaune chez la vache	61
Figure 40: Déterminisme de la lutéolyse chez les ruminants	64
Figure 41: Mécanisme de l'arrêt de synthèse de la progestérone par les cellules lutéales lors de la lutéolyse	64
Figure 42: Profil endocrinien de la progestérone au cours de l'œstrus et des huit premières semaines de gestation chez la vache	67
Figure 43: Profil endocrinien de la progestérone chez la vache gestante	67
Figure 44: Apparence du corps jaune en relation avec la sécrétion de progestérone durant le cycle œstrale chez la vache	68
Figure 45: Aspect d'un follicule pouvant être confondu avec un corps jaune	71
Figure 46: Image échographique d'un follicule de 16 mm sur l'ovaire gauche d'une vache en diœstrus	75
Figure 47: Image échographique d'un corps jaune cavitaire	76
Figure 48: Image échographique d'un corps jaune cavitaire	76
Figure 49: Image échographique de l'ovaire d'une vache en diœstrus	76
Figure 50: Image échographique d'un ovaire inactif	75
Figure 51: Appareil génital d'une vache en anœstrus montrant un ovaire droit polykystique et un ovaire gauche inactif	78
Figure 52: Section d'ovaire polykystique	78
Figure 53: (1)Kyste folliculaire,(2) Kyste lutéal, (3) Corps jaune cavitaire	79
Figure 54: Diagnostic échographique différentiel entre kyste folliculaire et kyste folliculaire lutéinisé	79
Figure 55: Diagnostic différentiel entre corps jaune et Placentome	81
Figure 56: Diagnostic différentiel entre corps jaune et abcès ovarien	81
Figure 57: Diagnostic différentiel entre corps jaune cavitaire et coupe transversale de la corne utérine	81

Partie Expérimentale

Matériels et méthodes :

Figure 1: Organisation du chantier lorsque les vaches sont à l'attache	87
Figure 2: Comment tenir et palper les ovaires.	88
Figure 3: Comment atteindre et explorer les ovaires de la vache	93
Figure 4: Principe de l'ELISA en sandwich	95
Figure 5: Classification fonctionnel des corps jaunes par échographie	97

Résultats :

Figure 1: Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur manque d'expérience	101
---	-----

Figure 2: Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur est expérimenté -----	106
Figure 3: Rôle de l'expérience de l'opérateur dans la détermination de l'efficacité et de l'exactitude de la palpation transrectale dans le diagnostic des corps jaunes-----	107
Figure 4: Rôle de l'expérience de l'opérateur dans la détermination de l'efficacité et l'exactitude de l'examen échographique dans le diagnostic des corps jaunes -----	108
Figure 5: Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par mesure de son diamètre-----	109
Figure 6: Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique	110
Figure 7: Exactitude du diagnostic du corps jaune du milieu du cycle par mesure du diamètre et par évaluation de son apparence échographique -----	111
Figure 8: Comparaison des différents niveaux de concordance entre la mesure du diamètre, l'évaluation de l'apparence échographique et la concentration plasmatique de progestérone pour le diagnostic des corps jaunes-----	116

LISTE DES TABLEAUX

Etude bibliographique

Tableau 1: Rappels historiques sur la technique -----	3
Tableau 2: Vitesse de propagation des sons dans différents tissus -----	6
Tableau 3: Relation entre la longueur d'onde et la fréquence des ultrasons pour une célérité de l'onde constante (1.540 m/s) -----	6
Tableau 4: Impédance acoustique selon les tissus traversés -----	8
Tableau 5: Coefficient d'atténuation des tissus ou matériaux -----	13
Tableau 6: Relation entre la résolution, la fréquence de la sonde et la profondeur d'exploration -----	17
Tableau 7: Caractéristiques et indications des différentes fréquences de sondes échographiques -----	38
Tableau 8: Le control hormonal de la croissance folliculaire -----	58
Tableau 9: Synthèse du retour de la cyclicité post-partum chez la vache laitière ----	62
Tableau 10: Date moyenne de la première ovulation post-partum chez la vache ----	62
Tableau 11: Date moyenne d'apparition de la première positivité de progestérone post-partum chez la vache -----	69
Tableau 12: Interprétation des dosages de progestérone -----	70
Tableau 13: Diagnostic différentiel entre le corps jaune et le follicule -----	72
Tableau 14: Diagnostic différentiel des organites ovariens par échographie chez la vache -----	80

Partie expérimentale

Résultats :

Tableau 1: Diagnostic de présence ou absence des corps jaunes par palpation transrectale lorsque l'opérateur manque d'expérience -----	98
Tableau 2: Diagnostic de présence ou absence des corps jaunes par examen échographique lorsque l'opérateur manque d'expérience -----	98
Tableau 3: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par analyse de la progestérone (P4) plasmatique -----	99
Tableau 4: Diagnostic de présence ou absence du corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur manque d'expérience -----	99
Tableau 5: Diagnostic de présence ou absence du corps jaune par échographie transrectale (8 MHz) lorsque l'opérateur manque d'expérience -----	100
Tableau 6: Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic des corps jaunes lorsque l'opérateur manque d'expérience -----	100

Tableau 7: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur est expérimenté-----	102
Tableau 8: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par mesure du diamètre à l'examen échographique (8MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté-----	102
Tableau 9: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par évaluation de son apparence (échostructure) à l'examen échographique (8 MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté	102
Tableau 10: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par analyse de la progestérone (P4) plasmatique -----	103
Tableau 11: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur est expérimenté-----	104
Tableau 12: Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par échographie transrectale (8 MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté-----	105
Tableau 13: Sensibilité (%), spécificité (%) et valeur prédictive (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur est expérimenté-----	105
Tableau 14: Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par mesure du diamètre -----	108
Tableau 15: Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique	109
Tableau 16: Comparaison entre classification échographique des corps jaunes par mesure du diamètre et concentration plasmatique de progestérone -----	111
Tableau 17: Comparaison entre diagnostic échographique des corps jaunes par mesure du diamètre et concentration plasmatique de progestérone -----	112
Tableau 18: Comparaison de la classification des corps jaunes selon le statut fonctionnel par mesure du diamètre, avec la concentration plasmatique de progestérone -----	112
Tableau 19: Comparaison entre la classification des corps jaunes par évaluation de l'apparence échographique et par la concentration plasmatique de progestérone ----	113
Tableau 20: Comparaison entre le diagnostic des corps jaunes par évaluation de l'apparence échographique et par la concentration plasmatique de progestérone-----	113
Tableau 21: Comparaison de la classification des corps jaunes, selon le statut fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique, avec la concentration plasmatique de progestérone -----	114
Tableau 22: Comparaison des différents niveaux de concordance entre l'examen échographique par mesure du diamètre des corps jaunes et la concentration plasmatique de progestérone -----	115
Tableau 23: Comparaison des différents niveaux de concordance entre examen échographique par évaluation de l'apparence échographique des corps jaunes et concentration plasmatique de progestérone -----	115

Annexe

ANNEXE 1 : Prospectus du test ELISA pour la détermination quantitative de la progesténone.

ANNEXE 2 : Résultats des différents examens.

Introduction

INTRODUCTION

Le vétérinaire joue un rôle prépondérant dans la gestion de la reproduction bovine, et recourt pour ce faire à des moyens propédeutiques de plus en plus spécifiques. Il doit par ailleurs répondre précocement et précisément aux divers problèmes cliniques associés au suivi mensuel de la reproduction (Hanzen *et al.*, 1990).

L'échographie des ovaires est un examen pratiqué dans le cadre des suivis de troupeau, à 60 jours postpartum chez les vaches en anoestrus, au moment du diagnostic de gestation chez les vaches révélées vides pour choisir un traitement, lors de troubles du cycle (frigidité, cycles irréguliers, nymphomanie, etc.) ou à l'occasion des transferts d'embryons pour vérifier que la vache donneuse a bien ovulé ou que les receveuses possèdent un corps jaune bien développé (Tainturier *et al.*, 2006)

La présence d'un corps jaune avant le début du programme de synchronisation (Galvao *et al.*, 2007 ; Bicalho *et al.*, 2007) ou avant le début de la saison de reproduction (McDougall et Compton, 2005) affecte la fertilité et l'intervention peut varier en fonction de la présence ou l'absence d'un corps jaune. Les vaches qui n'ont pas un corps jaune peuvent recevoir un insert de progestérone P4 (CIDR ou PRID, par exemple) et les vaches avec un corps jaune vont recevoir de la prostaglandine PGF2 α (McDougall, 2003 ; Chebel *et al.*, 2006). Après le diagnostic de non gestation, il est également fréquent d'administrer des traitements basés sur la présence ou l'absence d'un corps jaune : les vaches avec un corps jaune peuvent recevoir de la prostaglandine (PGF2 α) pour induire un retour à l'œstrus, alors que les vaches sans corps jaune peuvent recevoir la GnRH dans le cadre de protocoles de synchronisation des chaleurs ou de l'ovulation (McDougall, 2003 ; Chebel *et al.*, 2006).

La palpation du tractus génital est la méthode de diagnostic la plus couramment utilisée en reproduction bovine. Cependant, elle n'est pas dépourvue de contraintes ou de risques pour l'évolution ultérieure de la gestation (Hanzen *et al.*, 1993). L'analyse de la concentration plasmatique de progestérone est le teste standard « Gold Test » pour l'évaluation de la fonction lutéale, Cependant, elle a deux grands inconvénients : l'un est le coût relativement élevé et le second est l'intervalle de temps entre la prise de sang et la disponibilité du résultat (Herzog *et al.*, 2010)

La caractérisation échographique du corps jaune (CL) au cours du cycle œstral et au début de la gestation chez les ruminants a été réalisée pour la première fois chez les vaches (Kito *et al.*, 1986 ; Pierson et Ginther, 1987 ; Omran *et al.*, 1988 ; Kastelic *et al.*, 1990a). La comparaison entre l'échographie, la palpation transrectale et la concentration plasmatique de progestérone (P4) est utilisée pour évaluer le statut lutéal chez les bovins (Sprecher *et al.*, 1989 ; Ribadu *et*

al., 1994). Certains auteurs rapportent que la valeur prédictive (positive et négative) de l'échographie est plus importante que la valeur prédictive de la palpation transrectale. Cependant, l'exactitude de ces deux outils diagnostiques est plus faible et moins fiable pour le diagnostic des corps jaunes en formation ou en régression (Hanzen *et al.*, 2000b).

La corrélation entre la taille des corps jaunes et la concentration plasmatique de progestérone a fait l'objet de certaines études précédentes (Kastelic *et al.*, 1990b ; Assey *et al.*, 1993 ; Ribadu *et al.*, 1994). Assey *et al.*, (1993) trouvent que chez les génisses, il existe une corrélation significative entre la taille des corps jaunes en formation ou en régression et la concentration plasmatique de progestérone, alors que chez les vaches cette corrélation est significative seulement durant la phase de développement des corps jaunes. Ribadu *et al.* (1994) trouvent une importante corrélation entre le diamètre des corps jaunes et la concentration plasmatique de progestérone : ils remarquent des divergences entre le 18^{ème} et le 21^{ème} jour du cycle, correspondant à la phase d'involution du corps jaune. Veronesi *et al.* (2002) rapportent que l'aspect échographique du corps jaune semble être un paramètre plus fiable que la mesure de son diamètre pour l'évaluation du statut fonctionnel des corps jaunes.

L'objectif de notre étude est de comparer l'intérêt et l'efficacité de l'échographie à diagnostiquer le statut ovarien par rapport à la palpation transrectale, et de déterminer la sensibilité et l'exactitude de l'échographie à diagnostiquer un corps jaune fonctionnel et d'apprécier la concordance entre l'échographie et l'analyse de la progestérone (P4) pour la classification des corps jaune, selon l'état fonctionnel, en corps jaunes évolutifs et corps jaunes du milieu du cycle œstral.

Dans une première partie bibliographique, une vue d'ensemble présente l'échographie, les principes de l'image ultrasonore, les pratiques de l'échographie et ses applications en gynécologie bovine. Dans le chapitre suivant, sont abordés les détails sur l'utilisation de l'échographie pour déterminer l'état physiopathologique des ovaires chez la vache.

La partie expérimentale expose le détail des travaux effectués, les résultats obtenus, leur interprétation, une conclusion et des recommandations tirées à l'issue de cette étude.

Etude
Bibliographique

PRINCIPES DE L'IMAGE ULTRASONORE

I- DEFINITION

L'échographie est une technique d'imagerie médicale non invasive, qui permet l'étude des tissus mous de l'organisme. Elle permet de préciser la taille, la forme, la position d'un organe, sa structure et sa dynamique.

Elle repose sur le principe d'émission-réception des ondes ultrasonores produites par un cristal piézo-électrique contenu dans la sonde de l'échographe, un principe qui fut découvert par Pierre et Jacques Curie en 1880, et qui a trouvé sa première application pratique durant la première guerre mondiale pour équiper les sous-marins d'un système de détection des autres bateaux : le SONAR (Sound Navigation and Ranging) avant d'être utilisé dans le domaine médical pour visualiser les structures internes de l'organisme (Palmer et Driancourt, 1980)

Ainsi, l'image échographique est obtenue par l'envoi à travers l'organisme d'ultrasons (US) dont la réflexion par les tissus crée un écho capté et analysé par l'appareil. Ces échos ultrasonores sont transcrits sur un écran cathodique sous forme de points blancs sur fond noir, chaque point blanc représentant une onde ultrasonore réfléchi par le tissu. L'emplacement des points les uns par rapport aux autres dépend du temps qui sépare l'envoi de l'onde ultrasonore et la réception de l'écho correspondant.

L'ensemble de ces points aboutit ainsi à la construction d'une image représentant la structure étudiée (Chetboul *et al.*, 2005)

Tableau 1: Rappels historiques sur la technique (Hagen et al., 2000).

1952	Premières tentatives d'examen des tissus biologiques par une méthode échographique ultrasonore (Howery et Wild). Ils produisaient les premières images ultrasoniques sectorielles à partir d'un foie de chat.
1970	Premières échographies à balayage mécanique sur lesquels les mouvements rapides de la sonde, commandée par un moteur, permettent d'obtenir plusieurs images par seconde et d'observer en temps réel des tissus en mouvement.
Années 70	L'échostructure devient visible grâce à l'emploi de convertisseurs d'images donnant des images en échelle de gris.
1980	En France, première image échographique transrectale des organes génitaux de la jument (Palmer et Driancourt).
Années 80	Amélioration de la qualité des images par l'introduction des sondes ultrasoniques à barrettes qui permettent la focalisation d'un faisceau ultrasonore à plusieurs profondeurs.
Années 90	Miniaturisation des sondes et fonctionnement à haute fréquence (meilleure résolution). Développement de l'endosonographie.

La réalisation de l'interprétation rationnelle des informations issues d'un examen échographique nécessite de maîtriser un ensemble de connaissances biologiques (anatomie, physiologie, pathologie) et biophysiques (physique des ultrasons, formation de l'image, genèse des artéfacts...).

II. PRINCIPES PHYSIQUES DES ULTRASONS

II.1. L'onde sonore

Les sons sont des ondes sinusoïdales transmises par succession de compression et d'expansion subits par les particules des milieux traversés. Le temps mis pour la réalisation complète d'une compression et d'une relaxation constitue un cycle.

II.2. La production des ultrasons

La production des ultrasons est basée sur l'effet piézo-électrique. Le terme piézo-électrique vient du grec « piezein » voulant dire « presser ». Son principe repose sur la faculté de transformer une énergie électrique en énergie mécanique et vice-versa. Ce phénomène permettant de transformer un type d'énergie en un autre type d'énergie s'appelle la transduction (Barthez, 2009a). Les ultrasons sont produits par un élément piézo-électrique (cristaux de quartz, céramiques de plomb, zirconate de titane ou polymères fluorés) présent dans la sonde de l'échographe, les cristaux de quartz (ou les céramiques) ont la capacité de se charger lorsqu'ils sont comprimés (effet piézo-électrique direct) et, inversement, de se déformer lorsqu'ils sont chargés (effet piézo-électrique inverse). Ainsi, en appliquant un courant alternatif à un cristal piézo-électrique, ce dernier se comprime et se décompresse alternativement, et émet un son (effet piézoélectrique inverse) dont la fréquence dépend des caractéristiques du cristal. Cet élément piézo-électrique permet également de transformer en courant électrique les ultrasons qui reviennent à la sonde après avoir été réfléchis (effet piézo-électrique direct) (Barthez, 2009a)

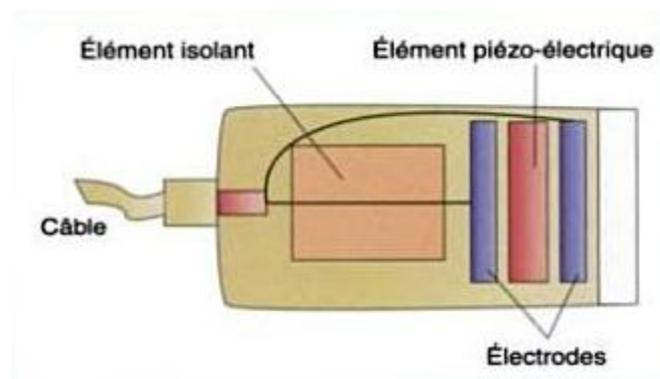


Figure 1: Schématisation d'une sonde ultrasonore disposant d'un cristal piézo-électrique (Chetboul et *al.*, 2005)

II.3. Les caractéristiques de l'onde sonore

L'onde sonore est caractérisée par les paramètres suivants :

- La fréquence.
- La longueur d'onde.
- La célérité de l'onde, ou vitesse.
- L'intensité.

II.3.1. Fréquence

La fréquence correspond au nombre de cycles se produisant par seconde, elle s'exprime en hertz (1 Hz = 1 cycle par seconde). 1 méga Hz (MHz) = 1.000.000 cycles par seconde.

Les ultrasons sont des ondes sonores de fréquence supérieure à 20.000 Hz, elles ne sont pas audibles par l'oreille humaine qui ne perçoit que des sons de fréquence comprise entre 30-50 et 15.000 Hz ; ceux utilisées dans le domaine médicale ont des fréquences comprises entre 1 et 20 millions de Hz (1-20 MHz). L'échographie utilise des ondes d'une fréquence comprise entre 2 et 10 MHz (Chetboul *et al.*, 2005 ; Hanzen, 2009a)

II.3.2. Longueur d'onde (λ)

La distance parcourue par l'onde sonore durant un cycle représente la longueur d'onde (λ). Pour une fréquence donnée, elle dépend étroitement du milieu traversé (Chetboul *et al.*, 2005)

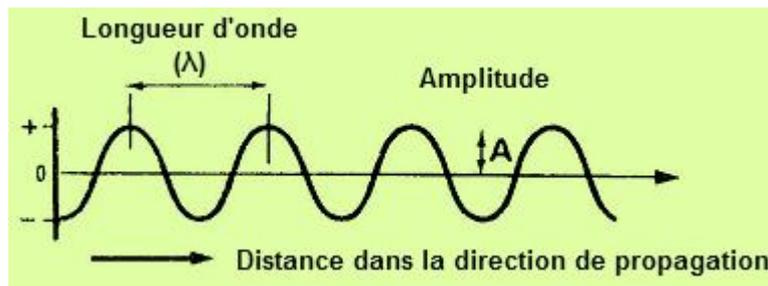


Figure 2: Longueur d'onde (λ) (Penninck et Cuveliez, 1985)

II.3.3. Célérité de l'onde (c)

Elle correspond à la vitesse de propagation de l'onde dans le milieu, elle exprime la rapidité avec laquelle s'opère la transmission du changement de la position d'équilibre d'une particule à sa voisine.

Elle dépend notamment de la densité et de la rigidité de compression du milieu traversé et, dans un milieu homogène, elle est indépendante de la fréquence de l'ultrason (Hanzen, 2009a).

Pour un milieu donné, elle dépend de son élasticité « E » (capacité du milieu à retrouver sa forme et taille d'origine) et de sa densité « ρ » (proximité des molécules) (Giuseppe, 2007).

Elle est calculée par la formule suivante :

$$C = (E \rho^{-1})^{1/2}$$

Tableau 2: Vitesse de propagation des sons dans différents tissus (Nyland *et al.*, 1995)

Tissus ou matériaux	Vitesse de propagation du son en m/s
Air	331
Graisse	1450
Eau	1495
Tissu mou (moyenne)	1540
Cerveau	1541
Foie	1549
Rein	1561
Sang	1570
Muscle	1585
Os	4080

La vitesse de propagation de l'onde (V) est déterminée par le produit de la longueur d'onde (λ) et de la fréquence F (Chetboul *et al.*, 2005) :

$$C = (f) \times (\lambda)$$

C = vitesse de propagation de l'onde sonore dans le milieu (m/s)

F = fréquence (Hz)

λ = longueur d'onde (mm)

La vitesse étant un paramètre constant dans un milieu donné, un accroissement de la fréquence entraîne une diminution de la longueur d'onde et vice-versa.

Tableau 3: Relation entre la longueur d'onde et la fréquence des ultrasons pour une célérité de l'onde constante (1.540 m/s) (Nyland *et al.*, 1995)

Fréquence (MHz)	Longueur d'onde (mm)
2	0,77
3	0,51
5	0,31
7,5	0,21
10	0,15

Généralement, puisque les vitesses de propagation des sons dans les différents tissus mous sont très proches, la valeur de 1.540 m/s (vitesse moyenne des ultrasons dans les tissus mous) est retenue pour étalonner les échographes.

II.3.4. Intensité

L'intensité des ultrasons correspond à la puissance du faisceau par unité de surface. Elle est exprimée en watt par cm² (W/cm²). Pour le diagnostic échographique, l'appareil émet un faisceau d'ultrasons dont l'intensité varie entre 0,1 et 0,001 W/cm² (Legrand et Carlier, 1981).

II.4. Interactions des ultrasons avec la matière

II.4.1.L'impédance acoustique

Les tissus de l'animal examiné constituent des milieux différents que les ultrasons doivent traverser. Ces milieux sont caractérisés par un paramètre physique, l'impédance acoustique Z (Ginther, 1995a).

L'impédance acoustique correspond à la résistance qu'oppose un milieu donné au cheminement des ultrasons, elle dépend de la densité du milieu et de sa consistance mais est indépendante de la fréquence ultrasonore (Chetboul *et al.*, 2005).

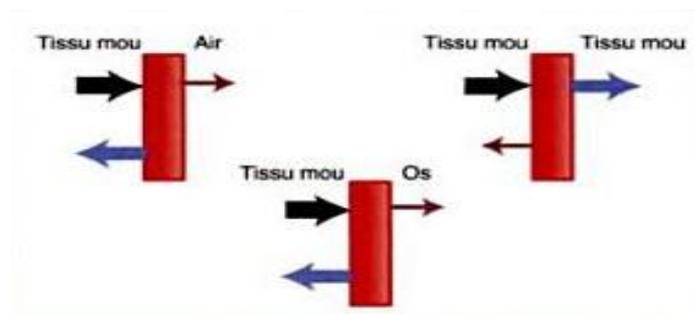
Elle est calculée par le produit de la densité du milieu (P) et la célérité de l'onde sonore (C), exprimée en Rayleigh (R) (Norman, 1998) :

$$Z = P \times C$$

Une interface est constituée de la juxtaposition de deux milieux d'impédance acoustique différente. Dans l'organisme, les grandes différences d'impédance acoustique se rencontrent entre les tissus mous et l'air et entre les tissus mous et les tissus durs (os, calculs, corps étrangers) (Barthez, 2009a). (Tableau 4)

Tableau 4: Impédance acoustique selon les tissus traversés (Chetboul *et al.*, 2005)

Milieu	Impédance acoustique Z ($\text{g.cm}^{-2}.\text{s}^{-1}$)
Air	0,0004 x 10 ⁵
Graisse	1,38 x 10 ⁵
Sang	1,61 x 10 ⁵
Rein	1,62 x 10 ⁵
Muscle	1,70 x 10 ⁵
Os	7,80 x 10 ⁵

**Figure 3:** Influence de la différence d'impédance sur le phénomène de réflexion du faisceau ultrasonore (Chetboul *et al.*, 2005)

Pour les interfaces tissu mou-os et tissu mou-gaz, la réflexion est très importante. Ceci a des conséquences pratiques pour l'examen échographique d'un animal. D'une part, il est nécessaire d'appliquer un gel de contact entre la sonde et la peau de l'animal, ou de plaquer la sonde contre la paroi du rectum lors d'échographie transrectale, afin de ne pas avoir d'air entre le transducteur (la sonde) et les tissus, sinon les structures plus profondes ne peuvent pas être visualisées puisque l'air représente un obstacle à la propagation des ultrasons.

D'autre part, lors de l'examen échographique, la sonde doit être placée sur une « fenêtre acoustique », c'est-à-dire une zone de l'organisme où le faisceau d'ultrasons ne rencontrera pas de tissu osseux, l'os étant un obstacle à la transmission des ultrasons. Lors d'échocardiographie, l'espace intercostal représente une « fenêtre acoustique ».

II.4.2. Formation des échos

II.4.2.1. La réflexion

Lorsque le faisceau ultrasonore rencontre un obstacle (interface), il subit simultanément une réflexion et une réfraction. L'écho représente la partie réfléchiée de l'onde incidente. La réfraction correspond à l'onde qui traverse cette interface et qui peut atteindre l'interface suivante. (Figure 4)

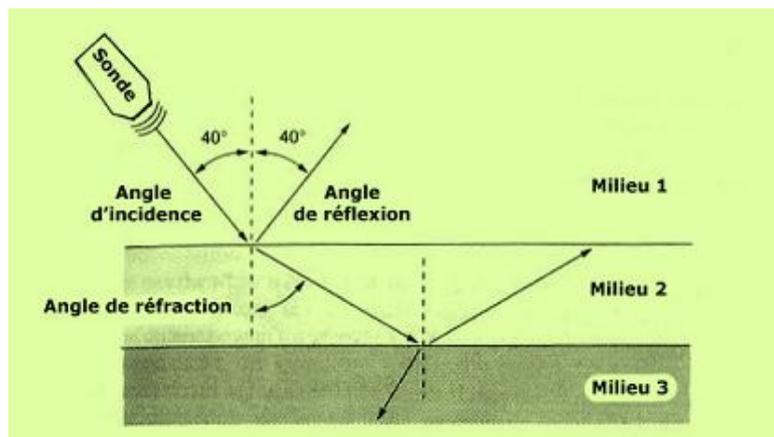


Figure 4: Phénomènes de réflexion et réfraction des échos ultrasonores (Boon, 1998)

Il existe deux modes de réflexion : Réflexion de type miroir et Réflexion multidirectionnelle.

a)- Réflexion de type miroir :

Deux cas peuvent se présenter :

- L'interface forme un écran et toute l'énergie du faisceau incident est réfléchiée ; le faisceau réfracté est nul, ce qui entraîne une perte d'information concernant les structures au-delà de l'obstacle (exemple de l'os).
- L'interface est franchie, une partie du faisceau est réfléchiée, l'autre est réfractée. On peut alors recevoir des échos provenant des structures plus profondes. Pour cela, trois conditions doivent être réunies (Ginther, 1986) :
 - Les variations d'impédance acoustique au niveau des interfaces doivent être suffisantes : la quantité d'ultrasons réfléchis est d'autant plus grande que la différence d'impédance entre les deux milieux est grande.

- Le faisceau incident doit être le plus perpendiculaire possible à l'interface, sans quoi l'écho est perdu car il ne rencontre pas le récepteur au retour.
- La puissance initiale du faisceau doit être suffisante pour qu'il puisse atteindre les surfaces réfléchissantes successives.

Seul le faisceau réfléchi (écho) qui revient à la sonde peut contribuer à la formation de l'image échographique. C'est pourquoi le faisceau incident doit être de dimension plus étroite que l'obstacle et doit être le plus perpendiculaire possible à l'interface afin que la totalité de l'onde réfléchie revienne au transducteur (Valon et Legrand, 1981). (Figure 5)

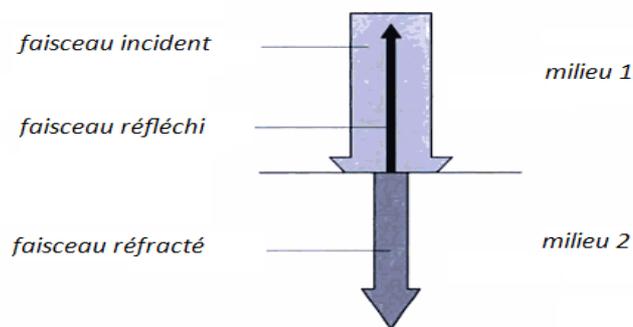


Figure 5: La réflexion de type miroir (Loriot et *al.*, 1995)

Les interfaces produisant une réflexion maximale sont qualifiées de réflecteurs spéculaires (du latin speculum, miroir). Ils produisent une ligne blanche intense facilement repérable. Des réflexions spéculaires (de type miroir) apparaissent lorsque l'ultrason rencontre des surfaces lisses et bombées remplies de liquides comme l'amnios entourant l'embryon et le kyste folliculaire (Hanzen, 2009a)

b)- Réflexion multidirectionnelle :

Appelée aussi réflexion diffuse ou dispersion (Barthez, 2002), se produit lorsque le faisceau ultrasonore rencontre des surfaces irrégulières ou de petites structures (cellules, petits vaisseaux,...) ou des particules en suspension de diamètre inférieur à sa largeur (Hanzen, 2009a)

Des échos sont émis dans une multitude de directions indépendamment de l'angle d'incidence du faisceau, mais seuls ceux qui retournent à la sonde sont utiles pour la formation de l'image échographique. (Figure 6)

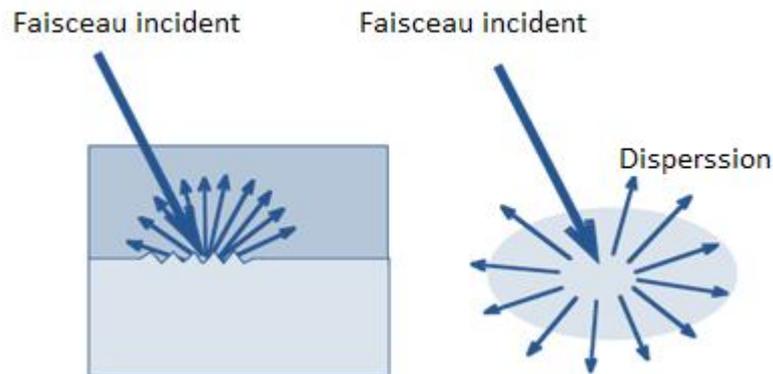


Figure 6: La réflexion multidirectionnelle, « dispersion » (Barthez, 2002)

Ces échos sont généralement plus faibles que ceux émis lors de réflexion de type miroir, alors on ne peut en aucun cas comparer l'échogénicité des structures dont l'image est formée par réflexion type miroir par rapport au type multidirectionnel (Jaudon *et al.*, 1991).

Ce mode de réflexion est très important en particulier pour la visualisation de la texture des parenchymes organiques (parenchymes hépatique, splénique...) ou des muscles et des parois sous incidences obliques ou tangentielles (Maï, 1999a).

La réflexion ne dépend pas seulement de la différence d'impédance acoustique entre les deux milieux traversés, mais aussi de l'épaisseur de la structure échographiée. Pour qu'il y ait réflexion, il faut que son épaisseur soit au moins égale au quart de la longueur d'onde. La sonde de 7,5 MHz peut permettre la réflexion à partir de structures aussi petites que 0,05 mm, alors que pour qu'il y ait réflexion avec une sonde de 2 MHz, l'épaisseur doit être au minimum de 0,19 mm. Ceci explique que les sondes de hautes fréquences offrent une meilleure résolution (Chetboul *et al.*, 2005).

L'image échographique d'un organe parenchymateux est donc composée, d'une part, de l'image d'interface très échogène résultant de la réflexion spéculaire de l'onde ultrasonore et représentant les contours de l'organe et, d'autre part, d'une image tissulaire d'échogénicité plus ou moins homogène résultant de la réflexion multidirectionnelle des ultrasons et représentant le parenchyme de l'organe (Cros, 2005)

II.4.2.2. Réfraction

La réfraction correspond à une déviation de l'onde ultrasonore lorsqu'elle traverse un tissu ayant des propriétés acoustiques différentes. La réfraction survient seulement si l'interface n'est pas perpendiculaire à l'onde.

Ce phénomène est comparable à la déviation de la lumière par un prisme. Cette incurvation du faisceau est à l'origine de la non-réception de l'écho par la sonde et contribue ainsi à l'atténuation.

Elle est fréquente lors de l'examen de l'appareil génital à cause de la présence de structures sphériques (follicules, vésicules embryonnaires, kystes) et est à l'origine d'images artéfactuelles avec l'apparition d'une ombre au dessous du bord de la structure contenant le liquide (Hagen *et al.*, 2000).

II.4.2.3. Atténuation des ultrasons

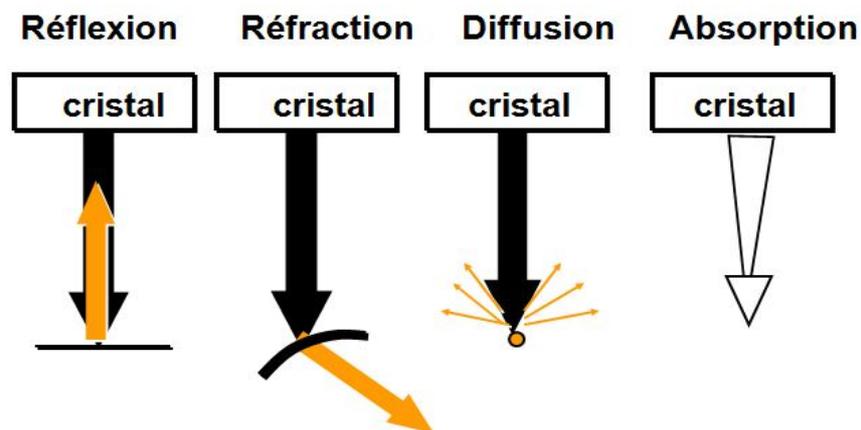
Le passage de l'onde dans un milieu entraîne pour elle une perte d'énergie sous forme de chaleur communiquée aux particules du milieu. C'est l'absorption de l'onde qui, avec la réflexion, font perdre à l'onde ultrasonore de l'intensité. C'est l'atténuation (Juillien, 2003). Le faisceau ultrasonore perd donc de son énergie au fur et à mesure de sa pénétration dans les différents tissus.

L'atténuation de l'onde dépend :

- De la fréquence d'émission des ultrasons : plus la fréquence est élevée, plus l'atténuation est grande et de ce fait plus faible est la pénétration (Penninck et Cuvelliez, 1985)
- De la distance parcourue : l'atténuation de l'onde ultrasonore décroît exponentiellement avec la distance parcourue. Ainsi, deux interfaces similaires mais situées à une profondeur différente ne donnent pas des échos d'intensités égales. Lors de l'examen échographique, cet inconvénient est corrigé en amplifiant le signal en profondeur par modification du gain profond (Cros, 2005).
- Des caractéristiques du milieu : la dissipation d'énergie due au milieu se fait principalement sous forme de chaleur (frottements internes) et en partie par relaxation moléculaire (Penninck et Cuvelliez, 1985). Les tissus ou matériaux ayant une très faible ou une très forte cohésion moléculaire (air, os) ont un coefficient d'atténuation maximal (Carniel, 1987).
- Le faisceau, quant à lui, provoque une atténuation géométrique due à un élargissement progressif lorsqu'il s'éloigne de la sonde (Penninck et Cuvelliez, 1985). (Tableau 5)

Tableau 5: Coefficient d'atténuation des tissus ou matériaux (Carniel, 1987)

Tissus ou Matériaux	Coefficient d'atténuation (dB/cm. MHz)
Eau	0,002
Sang	0,18
Foie	0,95
Rein	1,0
Os	20,0
Poumon	40,0

**Figure 7:** Interaction des ultrasons avec les tissus (Hagen *et al.*, 2000)

II.4.3. Profondeur d'exploration

La fréquence de la sonde détermine la profondeur d'exploration autorisée par la sonde ainsi que la résolution de l'image. Les deux étant inversement proportionnels, la profondeur d'exploration est ainsi acquise au détriment de la résolution de l'image (Chetboul *et al.*, 2005). (Figure 8)



Figure 8: Variation inversement proportionnelle de la profondeur d'exploration et la fréquence de la sonde utilisée (Chetboul *et al.*, 2005)

II.5. Principe et fonctionnement de l'échographe

II.5.1. Emission des ultrasons : production de salves

Les ultrasons ne sont pas émis de façon continue mais sous la forme de salves ou séries de 3 cycles environ. Le cristal est soumis à une série de courtes impulsions électriques qui sont à l'origine d'une courte série de vibrations appelée impulsions ou salves. (Figure 9)

L'image est formée par les échos qui reviennent à la sonde après chaque salve. Un temps adéquat est nécessaire pour que tous les échos reviennent à la sonde avant que la sonde n'émette à nouveau. De façon générale, les ultrasons ne sont émis que pendant 1% du temps alors que la sonde joue le rôle de récepteur des échos pendant 99% du temps. Ainsi, dans la sonde, le même cristal est émetteur pendant un temps très court, de l'ordre de 2 μ s, et ensuite récepteur pendant 998 μ s, le cycle durant 1 milliseconde. Mille impulsions de 3 à 4 cycles peuvent être émises par seconde malgré les pauses qui s'intercalent entre chaque salve.

La collection des échos demande environ 0,25 ms donc 4.000 impulsions ou lignes d'échos peuvent être collectées par seconde. Par conséquent, si 100 lignes d'écho sont nécessaires pour former une image, 40 images seront générées par seconde. Chaque pulse correspond à une série de 2 à 3 vibrations (Hagen *et al.*, 2000)

II.5.2. La réception des ultrasons

L'onde réfléchie, ou écho, captée par la sonde déforme les cristaux. Cette énergie mécanique est convertie en un signal électrique proportionnel à l'intensité de l'écho, avec un délai relatif à sa distance parcourue. Les échographes sont calibrés pour une vitesse de propagation

constante de 1.540 m/s (vitesse moyenne de propagation des ultrasons dans les tissus mous), bien que de faibles différences existent. La latence qui sépare le moment de l'émission d'une salve de vibrations et le retour de l'écho correspondant est déterminée. Cette latence, qui reflète la profondeur de l'interface qui a produit l'écho, est calculée.

Les signaux électriques générés par l'écho sont amplifiés, convertis numériquement et stockés. L'information ainsi stockée est représentée sur l'écran de l'échographe (tube cathodique). Un point lumineux représentant chaque écho est placé sur l'écran vidéo à une profondeur appropriée en fonction du temps de retour de l'écho ; les appareils sont calibrés et ils traduisent le temps de retour de l'écho en échelle de profondeur (Hagen *et al.*, 2000)

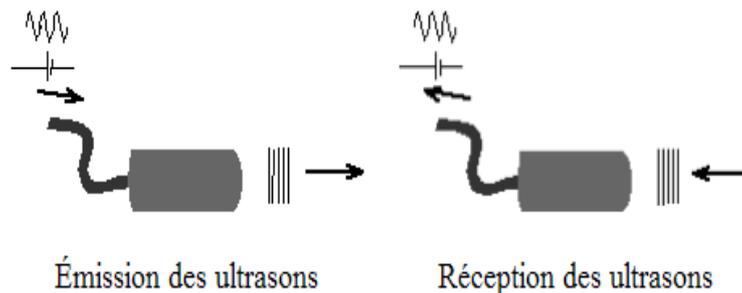


Figure 9: Emission et réception des ultrasons (Barthez, 2009a).

III. FORMATION DE L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE

III.1. Qualité de l'image échographique

Nous évoquerons seulement la qualité de l'image formée en mode dynamique, mode le plus couramment utilisé.

La qualité de l'image ultrasonore dépend des caractéristiques de l'appareil, de ses réglages et des compétences de l'opérateur. Les paramètres intrinsèques au transducteur déterminent pour une grande partie la qualité de l'image échographique. Parmi ces paramètres figurent la fréquence de la sonde, sa profondeur d'exploration ainsi que sa qualité de résolution (Massot, 2006).

III.1.1. Résolution

La finesse des détails d'une image dépend du pouvoir de résolution du système d'imagerie, la résolution est définie par la distance minimum qui doit séparer deux cibles pour que leurs

images soit distinctes. Ces deux cibles peuvent se trouver dans l'axe de propagation du faisceau ultrasonore (résolution axiale) ou lui être perpendiculaire (résolution latérale) (Legmann, 2008).

III.1.1.1. Résolution axiale

Si deux structures sont alignées, orientées dans la direction de l'onde sonore et peu distantes l'une de l'autre, on définit la résolution axiale comme la distance minimale nécessaire entre ces deux structures permettant de les représenter en deux images séparées (Maï 1999 a ; Hende, 2002).

La résolution axiale dépend essentiellement de la longueur d'onde : plus celle-ci est courte, plus la résolution axiale est grande, donc plus l'image est fine et de bonne qualité. Elle est égale au maximum à deux fois la longueur d'onde, ce qui signifie que si les deux objets sont situés à une distance inférieure à deux fois la longueur d'onde, ils ne seront pas séparés sur l'image échographique (Legrand et Carlier, 1981).

La longueur d'onde est inversement proportionnelle à la fréquence. Plus la fréquence de la sonde est élevée, plus la longueur d'onde est petite et plus la résolution axiale est bonne.

Cependant, la fréquence de la sonde a une influence sur l'atténuation des ultrasons et la profondeur d'exploration. Ainsi, plus la sonde est de basse fréquence (3,5 - 5 MHz), plus la profondeur d'exploration est importante, mais moins bonne est la qualité de l'image (Penninck et Cuvellez, 1985). (Tableau 6)

III.1.1.2. Résolution latérale

La résolution latérale ou transversale est définie comme la distance minimale entre deux structures situées transversalement par rapport au trajet de l'onde et proches l'une de l'autre, qui permet de les représenter par deux images séparées (Maï 1999a ; Hende, 2002).

La résolution latérale est liée à la largeur du faisceau. En effet, la résolution latérale diminue au fur et à mesure que le faisceau va s'élargir en profondeur (Penninck et Cuvellez, 1985). (Tableau 6)

Tableau 6: Relation entre la résolution, la fréquence de la sonde et la profondeur d'exploration (Hanzen, 2009a)

Sonde (MHz)	Résolution (mm)		Profondeur (cm)
	Axiale	latérale	
2.5	1	3	29
3.5	1	2	22
5	< 1	< 2	14
7.5	0.5	1	7

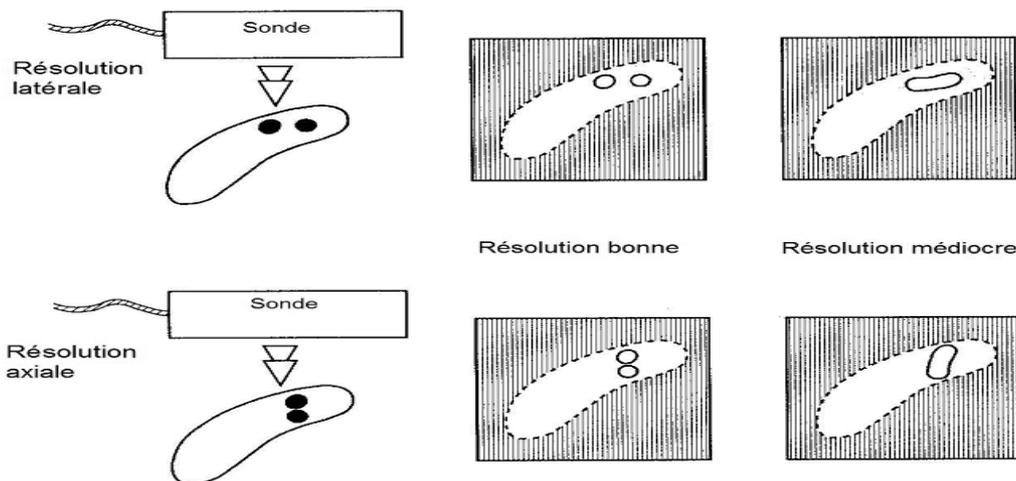


Figure 10: Résolution axiale et latérale (Goddard, 1995).

III.1.2. Echelle des gris

L'image retransmise par l'échographe est affichée sur l'écran en noir et blanc en passant par de nombreuses nuances de gris en fonction de l'échogénéicité des organes rencontrés par le faisceau ultrasonore. L'échelle des gris correspond au nombre de nuances de gris pouvant être distinguées par l'appareil, elle représente la résolution (ou finesse) en densité et est liée aux caractéristiques techniques de l'échographe (Mailland-Lagrance, 2005 ; Verdonck, 2006).

L'échelle de gris doit être suffisamment large pour distinguer deux organes d'échogénéicité voisines, cependant elle ne doit pas être trop étendue : d'une part la résolution oculaire humaine ne permet pas de distinguer toutes ces nuances fines et, d'autre part, il faut que cette

échelle permette de conserver un contraste suffisant pour obtenir une image de qualité (Mailland-Lagrace, 2005)

Ce nombre est indiqué dans la fiche technique de l'échographe. Sur la plupart des appareils, il y a 256 teintes de gris (Verdonck, 2006).

III.1.3. Traitement de l'image et réglages

La plupart des appareils échographiques récents offrent la possibilité de préréglages que l'opérateur choisit au début de l'examen. Ces préréglages permettent de fixer un certain nombre de paramètres comme le contraste, la persistance de l'image ou le renforcement des contours automatiquement à une valeur prédéterminée par le constructeur ou l'utilisateur, en fonction des caractéristiques de la partie à examiner. D'autres réglages peuvent être modifiés au cours de l'examen pour l'obtention d'une image optimale. Ainsi, l'opérateur peut ajuster l'échelle de profondeur, la focalisation, les gains et le rejet (Hendee, 2002).

III.1.3.1. Les gains

Les ultrasons captés par la sonde et analysés par l'appareil sont amplifiés. Cette amplification ou gain permet d'ajuster la brillance de l'image ultrasonore.

A)- Gain général

Le gain général (ou gain total) correspond à une amplification de la totalité des échos revenant vers la sonde. Il permet donc de régler la brillance générale de l'image échographique en fonction des organes et des structures étudiées.

Il est nécessaire de trouver un juste milieu pour optimiser l'image parce que si le gain est réglé trop fort, l'image sera trop blanche, entraînant une diminution du contraste et inversement, si le gain est trop faible, l'image sera toute noire (Mailland-Lagrace, 2005).

B)- Gain différentiel

Le réglage du gain différentiel (également appelé gain par niveaux ou TGC : Time Gain Compensation) consiste à modifier (augmenter ou diminuer) le niveau de réception du signal électronique par zones étagées sur l'image, l'intensité des ultrasons émis restant constante. Ceci est intéressant pour compenser le phénomène d'atténuation de l'énergie ultrasonore constatée pour les échos profonds. Le gain différentiel permet ainsi de renforcer les échos

profonds et d'atténuer les échos superficiels de façon à uniformiser l'image (Chetboul *et al.*, 2005).

IV. SEMIOLOGIE DE L'IMAGE ECHOGRAPHIQUE

IV.1. Interprétation de l'image échographique

L'interprétation des images échographiques obtenues avec un appareil en mode bidimensionnel nécessite de connaître des bases sémiologiques.

IV.1.1. Définitions et terminologie

La densité différente des tissus composant un organisme vivant sont à l'origine du caractère plus ou moins spécifique de l'image échographique à laquelle ils ont donné naissance. L'identification échographique de toute structure normale ou pathologique doit comporter l'examen de l'échogénicité de sa structure, de ses limites et des tissus avoisinants (Hanzen, 2009b)

L'échogénicité d'un tissu ou d'une interface est sa faculté à générer un écho, c'est-à-dire à réfléchir le faisceau ultrasonore incident (Barthez, 2009b), ainsi différents degrés d'échogénicité peuvent être distingués et ils apparaissent à l'écran selon une gamme de gris (Mailland-Lagrace, 2005 ; DesCôteaux *et al.*, 2006) :

- Les structures anéchogènes : ne produisant pas d'écho, elles transmettent les ultrasons aux structures sous-jacentes sans modification et apparaissent noires sur l'écran. Exemple : les liquides comme le liquide folliculaire.
- Les structures hyperéchogènes : génèrent beaucoup d'échos et apparaissent blanches à gris clair sur l'écran. Exemple : les structures denses comme l'os.
- Les structures hypoéchogènes : génèrent peu d'échos et apparaissent gris sombre sur l'écran. Exemple : la plupart des tissus mous.

Les termes "hypoéchogène", "hyperéchogène" et "isoéchogène" sont utilisés pour qualifier la zone étudiée selon son aspect à l'écran, par comparaison à la structure environnante. Une structure hypoéchogène apparaît plus sombre que la structure avec laquelle elle est comparée ; inversement, une structure hyperéchogène renvoie plus d'échos et apparaît donc plus claire à l'écran. Une structure isoéchogène apparaît à l'écran dans la même nuance de gris que celle de la structure considérée.

Par ailleurs, on définit l'échostructure du milieu biologique exploré par la répartition des échos (homogène, hétérogène) et leur niveau sonore (hypoéchogène, hyperéchogène ou anéchogène) (Penninck et Cuvelliez, 1985). (Figure 11)

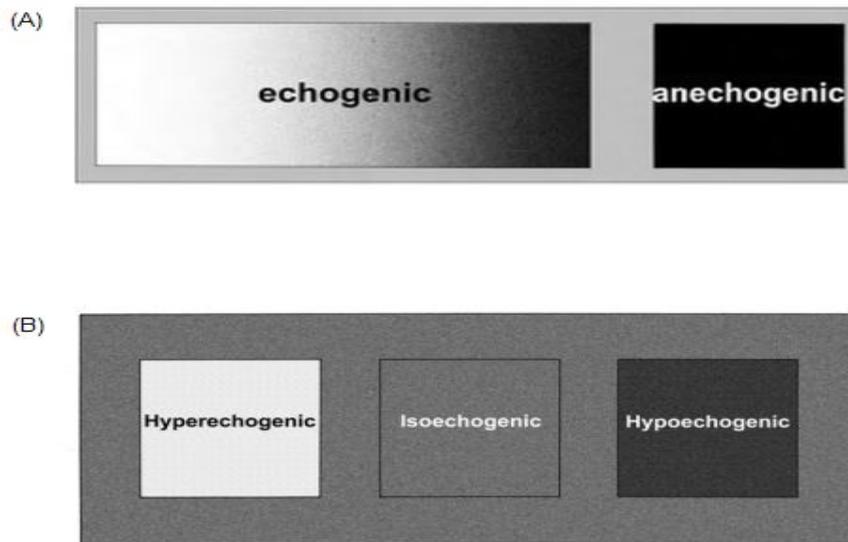


Figure 11: Différentes nuances d'échogénicité des structures examinées (DesCôteaux et *al.*, 2006)

Deux catégories d'images peuvent être distinguées : les images de contour représentant les limites des tissus et les images tissulaires montrant la structure des tissus (Mailland-Lagrace, 2005).

IV.1.2. Images de contour

IV.1.2.1. Image d'interface

L'interface est une limite virtuelle entre deux milieux d'impédances acoustiques différentes, elle n'a pas de réalité physique (Le Roux-Kouman, 2002). A son niveau, il se produit toujours une réflexion mais pour que les ultrasons réfléchis reviennent vers la sonde, il faut que le faisceau ultrasonore incident arrive perpendiculairement à l'interface ; cette dernière sera alors échogène et se matérialise à l'écran par une ligne blanche.

Dans le cas où les ultrasons incidents ne sont pas perpendiculaires à l'interface, les échos sont généralement perdus et ne reviennent pas vers la sonde, l'interface sera matérialisée sur l'écran par la différence d'échogénicité entre les deux milieux adjacents, c'est-à-dire par la limite entre les différentes teintes de gris représentant les deux milieux (Mailland-Lagrace, 2005).

IV.1.2.2. Image de paroi

Contrairement à une interface, une paroi possède une « réalité biologique », elle est limitée par deux interfaces et est représentée par une ligne échogène continue, quelle que soit l'incidence des ultrasons. Une paroi est visible même si les deux milieux qu'elle sépare ont des impédances acoustiques voisines.

Une paroi traversée par un faisceau incident perpendiculaire apparaît très échogène alors qu'une paroi tangente au faisceau n'est pas toujours visible sur l'écran, d'où la nécessité de déplacer la sonde pour vérifier l'intégrité de toute la paroi de l'organe considéré.

Les vaisseaux (et notamment la veine porte hépatique) ont une paroi plus ou moins visible (plus ou moins échogène) selon les caractéristiques structurales. En coupe transversale, les vaisseaux apparaissent sur l'écran comme des disques noirs plus ou moins bordés d'une ligne blanche, et en coupe longitudinale par des images canalaire bordées de blanc (Loriot *et al.*, 1995). (Figure 12)

La seule restriction pour qu'une paroi soit visible sur l'image échographique réside dans le fait que son épaisseur doit être supérieure aux valeurs seuils de résolution axiale et latérale de l'échographe utilisé (Mailland-Lagrace, 2005).

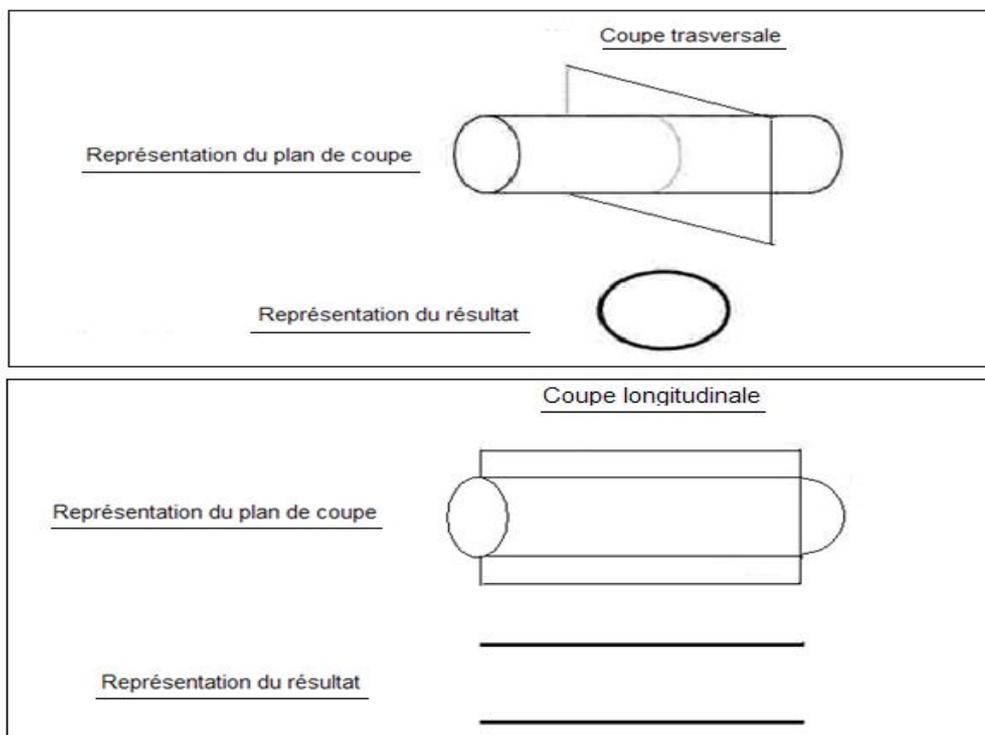


Figure 12: Représentation schématique de coupes de vaisseaux (Loriot *et al.*, 1995)

IV.1.3. Images tissulaires

Les échos de structure sont composés d'échos de faible amplitude correspondant à une réflexion diffuse et une dispersion des ultrasons dans les milieux relativement homogènes. Ces échos de structure constituent l'essentiel de l'image échographique et permettent d'imager les organes parenchymateux à une "échelle tissulaire". L'échogénicité d'un tissu dépend principalement de son homogénéité tissulaire, de sa vascularisation et de sa teneur en graisse et en tissu fibreux (Barthez, 2009b).

IV.1.3.1. Images de liquides

A) Les liquides homogènes

Un liquide sera dit homogène lorsqu'il ne contiendra aucune particule solide, tissulaire ou liquide en suspension. C'est le cas de la bile, de l'urine, du sang et du liquide amniotique. Excellents transmetteurs sonores, ils ne présentent pas de structures pouvant servir d'interface, les ultrasons les traversent donc sans être réfléchies, la sonde ne reçoit aucun écho, ces liquides sont donc anéchogènes et apparaissent noirs à l'écran même à saturation ; c'est-à-dire avec une amplification maximale. Ils présentent par ailleurs, une zone de renforcement postérieur (Le Roux-Kouman 2002 ; Hanzen, 2009a)

L'atténuation du faisceau ultrasonore étant minime, les liquides homogènes constituent donc de bonnes fenêtres acoustiques qui permettent d'examiner les structures en profondeur (Carniel, 1987).

B) Les liquides non homogènes

Un liquide sera dit non homogène lorsqu'il renferme des particules solides, tissulaires ou des liquides en suspension. C'est le cas du pus ou de débris nécrotiques. Ces particules représentent une multitude de petites interfaces et sont à l'origine de formation d'échos qui se matérialisent à l'écran par des taches blanches en suspension dans une zone anéchogène noire. Il existe également une zone de renforcement postérieur plus ou moins importante (Le Roux-Kouman, 2002 ; Mailland-Lagrace, 2005 ; Hanzen, 2009a). Il est nécessaire d'utiliser un gain élevé pour permettre une bonne visualisation de ces liquides.

Le sang, avec une cellularité élevée, ainsi que le pus, sont des liquides non homogènes : un pus liquidien apparaît à l'échographie sous forme de multiples particules hyperéchogènes sur un fond anéchogène, un pus de consistance crémeuse apparaît comme hypoéchogène avec des zones multifocales hyperéchogènes ; par contre, un pus de consistance plus épaisse (consistance de fromage) possède généralement une échogénicité homogène. La présence de fibrine (échogène) en plus ou moins grande quantité dans le pus modifie ainsi l'aspect échographique de celui-ci (Lischer et Steiner, 1994). Ce type d'image est, entre autres, mis en évidence lors de métrite et de cystite.

IV.1.3.2. Images de tissus mous

Les tissus mous (muscles, parenchymes), au sein desquels on observe une diffusion des ondes ultrasonores, sont représentés par une image de texture granuleuse (alternance de taches blanches, grises et noires) plus ou moins fine et plus ou moins contrastée. Cette texture, appelée « speckle », est due à la réflexion multidirectionnelle des ultrasons au sein du tissu (Jaudon *et al.*, 1991 ; Lorient *et al.*, 1995).

L'aspect de l'image dépend de nombreux facteurs (Lorient *et al.*, 1995) :

- Des caractéristiques structurales du tissu, de la répartition des réflecteurs (unité structurale au niveau de laquelle a lieu la réflexion des ultrasons), de leur densité et leur nature,
- Des caractéristiques de la sonde : la dimension des taches dépend de la résolution de l'appareil,
- Des caractéristiques de l'échographe (réglage du gain, du contraste...) ; l'utilisation d'un gain trop faible peut faire apparaître vide d'écho un parenchyme seulement hypoéchogène et la confusion avec un liquide est possible.

La répartition des échos permet de différencier un parenchyme physiologique d'un parenchyme pathologique ; les parenchymes physiologiques renvoient généralement des échos de faible amplitude et apparaissent dans la gamme de gris avec une répartition régulière des échos (homogène).

Les parenchymes pathologiques apparaissent aussi dans la gamme de gris mais avec des zones d'échos à répartition hétérogène et d'intensité variable (Mailland-Lagrance, 2005).

Ainsi, l'échostructure des organes peut être :

- Normale,
- Plus élevée que physiologiquement (fibrose),
- Plus faible que physiologiquement (inflammation, nécrose),
- Hétérogène.

Toutefois, un tissu pathologique peut présenter le même aspect échographique qu'un tissu sain, il est alors important de s'intéresser aussi au volume de l'organe considéré, son contour et sa topographie (déplacement ou non) (Carniel, 1987)

IV.1.3.3. Images de tissus osseux et de calculs

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 que la réflexion spéculaire des ultrasons au niveau de son interface est très importante. Le tissu osseux apparaît ainsi sur l'écran sous forme d'une plage hyperéchogène délimitant la surface de l'os, associée à une zone sous-jacente anéchogène.

Les calculs sont des tissus calcifiés qui présentent les mêmes caractéristiques que l'os (cohésion moléculaire forte, impédance acoustique élevée). Ils apparaissent sur l'écran sous la forme d'un arc hyperéchogène, plus ou moins visible selon l'incidence du faisceau ultrasonore, associée à une zone sous-jacente vide d'écho (cône d'ombre) (Loriot *et al.*, 1995).

IV.1.3.4. Images de tissus graisseux

Les tissus graisseux présentent deux types d'échostructure différents. Ils peuvent être :

- Transparents (tissu adipeux sous-cutané, graisse péri-rénale),
- Echogènes (mésentère, sinus rénal).

Ces variations sont dues à la teneur de la graisse en fibres de collagène, ceci expliquant par ailleurs les variations individuelles d'échogénicité (Jaudon *et al.*, 1991).

IV.1.3.5. Images de gaz

Le milieu gazeux a une impédance acoustique réduite par rapport à celle des tissus de l'organisme. A l'interface tissu-gaz, les ultrasons sont totalement réfléchis car la différence

d'impédance est élevée. Ceci se traduit à l'écran par une image d'interface hyperéchogène, suivie d'une zone anéchogène traduisant la perte d'information en aval (cône d'ombre).

Ce type d'image s'observe fréquemment en échographie digestive suite à la présence de gaz dans le tube digestif, mais aussi en début d'examen échographique lorsque le contact entre la peau et la sonde n'est pas correct, ou lors d'échographie transrectale lorsque le contact entre la sonde et la muqueuse rectale n'est pas suffisant. L'application de gel échographique améliore le contact (Le Roux-Kouman, 2002 ; Cros, 2005 ; Massot, 2006).

IV.2. Les artéfacts

Les artéfacts sont des images parasites qui peuvent rendre difficile, voire fausse, l'interprétation des images échographiques. Les altérations de l'image sont dues à des phénomènes physiques inhérents aux lois de propagation des ultrasons, mais qui ne correspondent à aucune lésion ou anomalie de structure (Maï, 1999b ; Hende, 2002)

Certains artéfacts sont nuisibles car ils dégradent la qualité de l'image et rendent l'interprétation plus compliquée. Ils résultent d'une mauvaise préparation de l'animal, d'un réglage incorrect de l'appareil ou d'une mauvaise méthode d'exploration avec la sonde.

D'autres artéfacts sont utiles car ils résultent d'interactions spécifiques des ultrasons avec la matière et leur reconnaissance apporte des informations sur les structures examinées (Maï, 1999b).

IV.2.1. Réverbération

La réflexion multiple ou réverbération trouve son origine dans le fait que les US rebondissent entre une interface et la sonde émettrice ou entre deux interfaces situées en profondeur. C'est le cas lorsque de l'air se trouve entre la sonde et le plancher du rectum. L'air ne laisse pas passer l'ultrason, celui-ci sera alors fortement réfléchi à l'interface du lubrifiant et de l'air. L'écho ainsi produit sera réfléchi à son tour par la surface et la sonde elle-même pour pénétrer une deuxième fois, une troisième fois et ainsi de suite jusqu'à ce que l'ultrason soit complètement atténué ; cela se manifeste à l'écran par une succession de lignes hyperéchogènes parallèles, régulièrement espacées les unes des autres et d'échogénicité décroissante (Hanzen, 2009a). (Figure 13 et 14)

Ce phénomène dégrade l'image et peut se produire soit entre deux interfaces tissulaires très échogènes (tube digestif, sac péricardique), soit entre le transducteur et une interface très réfléchissante ou très proche de la sonde (peau, côte). En échographie génitale des grands animaux, cet artéfact est observé en présence de pneumo-rectum, lorsque la sonde n'est pas bien collée à la muqueuse rectale mais aussi quand le faisceau ultrasonore rencontre des anses intestinales remplies de gaz (Maï, 1999b). Les réverbérations peuvent être supprimées par réorientation de la sonde ou en vidant bien le rectum.

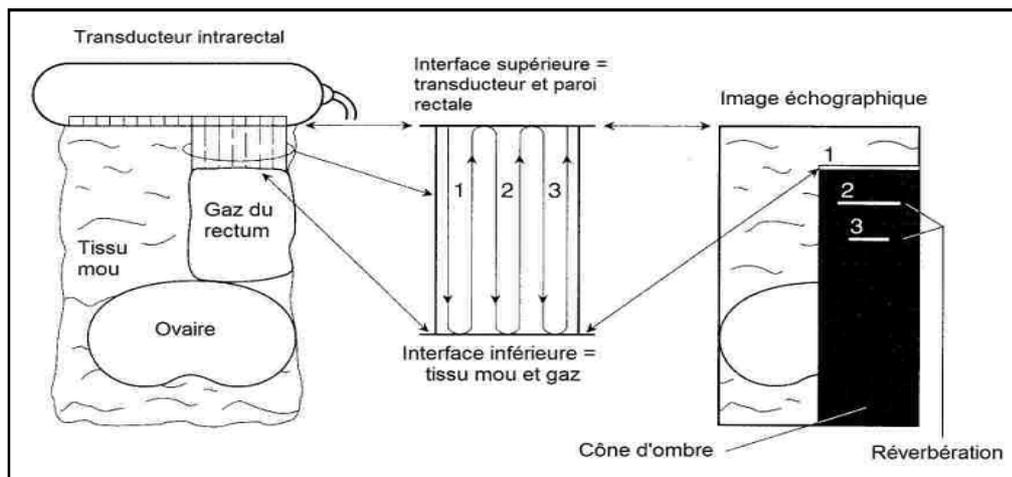


Figure 13: Représentation schématique d'un artéfact de réverbération entre la sonde et la paroi du rectum (Ginther, 1995b).

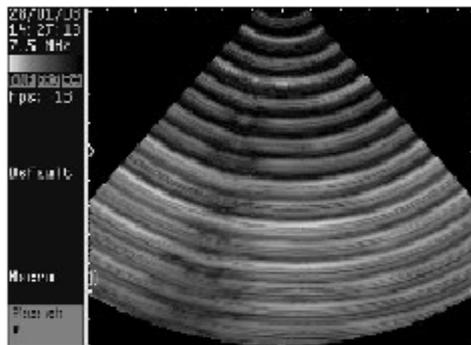


Figure 14: Artéfact de réverbération (Cros, 2005)

IV.2.2. Queue de comète

La queue de comète est un trait vertical hyperéchogène dont la brillance s'atténue progressivement. Ce cas particulier d'artéfact de réverbération est lié à la présence d'une petite structure très réfléchissante. On l'observe à l'écran quand le faisceau ultrasonore rencontre une bulle de gaz ou une surface minéralisée de petite taille. L'appareil interprète les

délais successifs entre les réverbérations comme un éloignement et inscrit une série rapprochée de pseudo-interfaces en «queue de comète» (Maï, 1999 b).

IV.2.3. Cône d'ombre

Le cône d'ombre est une zone d'ombre qui résulte de la réflexion totale des ondes ultrasonores au niveau d'une interface d'impédance acoustique très élevée, comme le gaz, les os, les calculs. C'est donc une image hypoéchogène ou anéchogène, située en deçà de structures qui atténuent fortement les ultrasons (Maï, 1999 b). (Figure 15)

Cet artéfact présente un intérêt : il permet de repérer plus facilement des calculs (vésicaux, rénaux, biliaires) ou des minéralisations dystrophiques (Kirberger, 1995 ; Penninck, 1995)

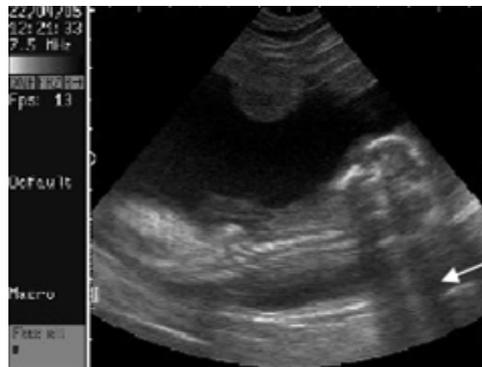


Figure 15: Cône d'ombre résultant de la réflexion totale des ultrasons au niveau des éléments osseux de la tête du fœtus (Cros, 2005)

IV.2.4. Ombre acoustique de bord

L'ombre acoustique de bord est une zone anéchogène, vide d'écho. Cet artéfact est observé sur le bord des structures sphériques comme un follicule, les ultrasons qui rencontrent la paroi de cette structure de manière tangentielle sont déviés et ne retournent pas au transducteur. La zone en dessous du point de déviation (bord de la structure arrondie) ne reçoit plus d'ultrasons et ne génère pas d'échos. Il en résulte une « ombre de bord », souvent bien visible au niveau du rein, de la vésicule biliaire et du bord crânial de la vessie (Kirberger, 1995 ; Penninck, 1995 ; Maï, 1999b; Hanzen 2009a). (Figure 16)

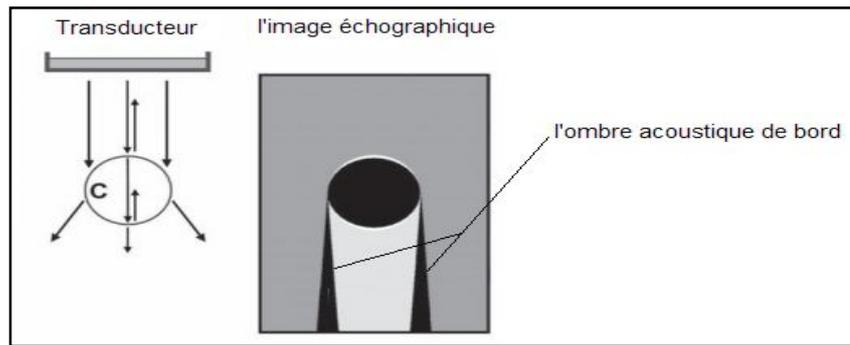


Figure 16: Schématisation de l'ombre acoustique de bord (Lang, 2006).

IV.2.5. Renforcement postérieur

Lorsque les ultrasons traversent les liquides, ils ne rencontrent pas d'interface et ne sont pas réfléchis. Par conséquent, les ultrasons arrivant dans les tissus au-delà des structures liquidiennes n'ont pas subi d'atténuation, et font apparaître ces tissus comme hyperéchogènes par rapport aux tissus adjacents non précédés de liquides (Ginther, 1986 ; Hanzen 2009a).

Ces artéfacts ne sont pas nuisibles, au contraire ils permettent de faire la distinction entre une structure liquidienne (suivie d'un renforcement postérieur) et une structure simplement hypoéchogène (non suivie d'un renforcement postérieur) ; de telles images peuvent être rencontrées lors d'échographie de kystes ou de follicules ovariens de gros diamètre, et facilitent également la mise en évidence du fœtus dans les liquides fœtaux (Kirberger, 1995 ; MAI, 1999b ; Barthez, 2009b). (Figure 17)

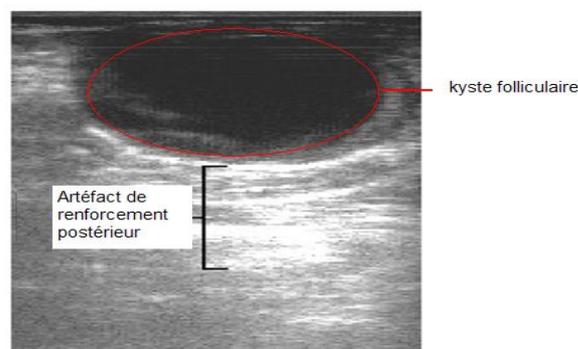


Figure 17: Kyste folliculaire générant un artéfact de renforcement postérieur (Calais et Dreno, 2004)

IV.2.6. Image en miroir

L'artéfact en miroir se produit au niveau d'interfaces arrondies très réfléchissantes, comme le diaphragme. Il se traduit à l'écran par deux images identiques, symétriques par rapport à une ligne très échogène ; les ultrasons incidents se réfléchissent sur le diaphragme puis sur un objet échogène, par exemple dans le foie. Ils repartent vers la sonde en se réfléchissant de nouveau sur l'interface très échogène, en suivant le chemin inverse.

Le traitement de l'information recueillie par la sonde suppose que les ultrasons voyagent en ligne droite et qu'une seule réflexion est survenue. Le logiciel calcule la position de l'écho (endroit de la réflexion) en multipliant le temps de vol par la vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1.540 m/s). Dans le cas d'une double réflexion, l'écho sera placé improprement dans l'axe d'émission initial des ultrasons à une profondeur correspondant au temps de vol (Massot, 2006 ; Barthez, 2009b).

Les images en miroir se rencontrent principalement avec le diaphragme, faisant apparaître du tissu hépatique de l'autre côté du diaphragme. Il est aussi observé lors d'échographie d'organe (ex : utérus) en bain d'eau. C'est la bassine contenant l'organe qui correspond au miroir. Toutefois, cet artéfact est très rare lors de l'examen de l'appareil génital des bovins. Il est exceptionnellement observé lorsque le fœtus est situé au-dessus de la symphyse ischio-pubienne. Dans ce cas, la symphyse osseuse joue le rôle de miroir (Tainturier, 2001 ; Barthez, 2009b). (Figure 18)

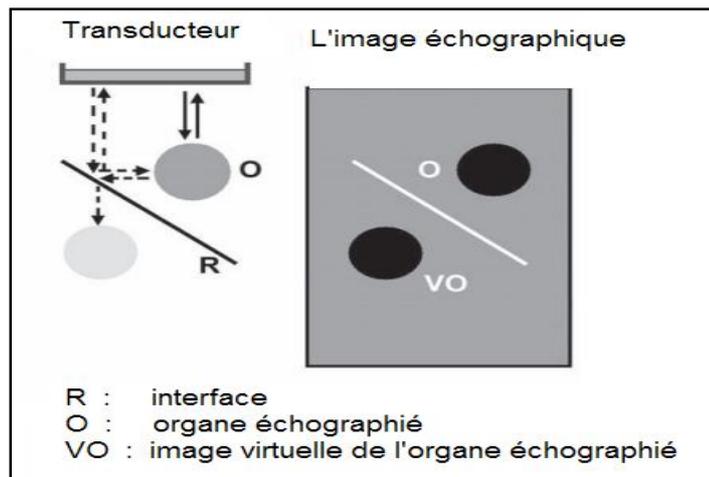


Figure 18: Schématisation de l'artéfact de l'image en miroir (Lang, 2006)



Figure 19: Image en miroir d'un utérus gravide « en bain d'eau » (Cros, 2005).

IV.2.7. Lobes accessoires

Le faisceau ultrasonore tel qu'il est émis par la sonde est composé d'ultrasons se propageant dans une direction principale, appelés «lobe principal», et d'ultrasons émis dans une ou plusieurs directions secondaires, sur les côtés, appelés «lobes accessoires» ou «secondaires».

Le programme de formation de l'image considère que les ultrasons sont émis et reviennent à la sonde dans une seule direction, autrement dit qu'ils appartiennent tous au lobe principal. Les lobes accessoires sont ignorés par le logiciel, mais lorsqu'ils sont réfléchis par une surface très échogène, ils reviennent d'une façon qui n'est plus négligeable vers la sonde. Ils sont alors considérés comme faisant partie du faisceau principal, et il y a apparition de structures à une place erronée sur l'image. Cet artéfact est responsable d'une partie du bruit de fond de l'image et diminue ainsi la résolution (Maï, 1999b ; Barthez, 2009b)

Deux types de lobes accessoires peuvent être distingués : les lobes latéraux correspondant aux ultrasons émis sur les cotés du faisceau ultrasonore principal et les lobes de réseau. Les lobes latéraux concernent tous les types de sondes, alors que les lobes de réseau sont spécifiques des sondes linéaires et sont liés à l'espacement régulier des éléments piézo-électriques de la sonde. Les artéfacts de lobes accessoires sont donc plus importants avec des sondes linéaires puisqu'elles cumulent les deux catégories de lobes. (Figure 20 et 21)

Les échos liés aux artéfacts de lobes accessoires sont généralement de faible intensité, ils peuvent donc passer inaperçus dans des structures échogènes mais ils sont nettement plus visibles dans des structures anéchogènes.

Ces artéfacts peuvent être observés lorsque les lobes accessoires rencontrent du gaz présent notamment dans le colon (interface très échogène) ou l'interface entre l'urine et la paroi vésicale ; ils aboutissent à l'observation de pseudo-sédiments dans la lumière vésicale (Maillard-Lagrace, 2005). La diminution du gain permet de limiter cet artéfact (Maï, 1999b).

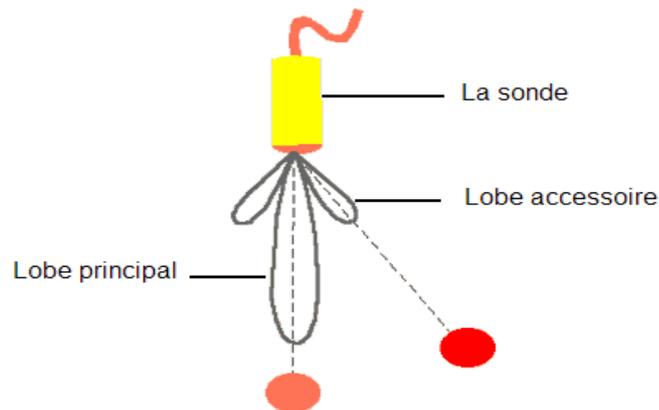


Figure 20: Lobes accessoires (Barthez, 2009b)

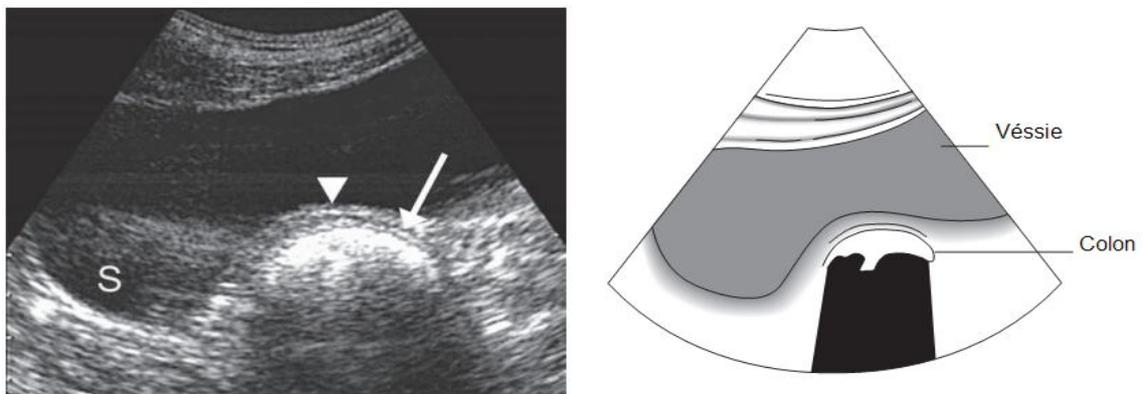


Figure 21: Des pseudo-sédiments (S) dans une image échographique de la vessie résultant d'un artéfact de lobes accessoires (Lang, 2006b).

IV.2.8. Artéfact dû à la réflexion spéculaire : anisotropie

L'anisotropie est un artéfact dû à la réflexion spéculaire. Le nombre d'échos revenant à la sonde est d'autant plus important que le faisceau ultrasonore incident aborde l'interface de manière perpendiculaire.

L'échogénicité des structures anisotropiques (ex : tendons) dépend de l'orientation des ultrasons. Elle est maximale quand le faisceau est perpendiculaire à l'interface. Ceci impose l'emploi de sondes linéaires pour l'exploration des tendons.

En échographie génitale, un problème se pose pour les structures liquidiennes sphériques de petite taille (follicule, kyste, vésicule embryonnaire). En effet, pour les parties antérieure et postérieure de la sphère, les ultrasons sont perpendiculaires à l'interface donc les échos réfléchis puis captés par la sonde sont intenses. En revanche, le faisceau ultrasonore n'aborde pas les bords de la sphère de manière perpendiculaire, si bien que les échos sont perdus. A l'écran, l'interface n'est pas matérialisée par une ligne échogène mais par une apposition des deux structures adjacentes (parenchyme et collection liquidienne).

Ainsi, nous observons une image caractéristique : une collection liquidienne anéchogène avec deux échos très échogènes, l'un en partie antérieure et l'autre en partie postérieure. Cet artéfact peut aider à repérer la vésicule embryonnaire lors de diagnostic précoce. Ceci est surtout vrai chez la jument qui a une vésicule embryonnaire sphérique, contrairement à la vache dont la vésicule embryonnaire est allongée (Ginther, 1995a ; Penninck, 1995).

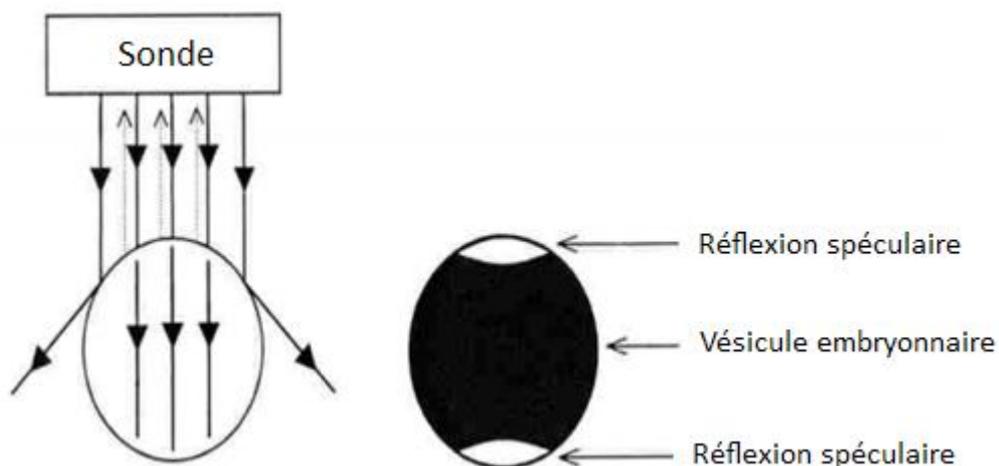


Figure 22: Artéfact dû à la réflexion spéculaire (Ginther, 1986).

VI. EFFETS BIOLOGIQUES DES ULTRASONS

Comme toute énergie, l'énergie ultrasonore est susceptible d'avoir des effets biologiques. Cependant, des effets délétères n'ont pas été constatés aux intensités utilisées pour le diagnostic échographique.

Dans la pratique, les risques biologiques sont très faibles puisque le temps d'émission des US ne représente que la millième partie du temps d'utilisation de l'échographe (une microseconde toutes les secondes) soit 3,6 secondes par heures de travail.

L'absorption des US par le milieu traversé en provoque l'augmentation de température. La chaleur ainsi produite est cependant rapidement dissipée par les liquides de l'organisme et n'entraîne pas d'augmentation de la température corporelle.

La cavitation constitue un autre effet biologique des US. Tous les liquides contiennent normalement des bulles de gaz microscopiques. Sous l'effet mécanique des US, la taille de ces bulles augmente de façon constante jusqu'à l'éclatement (cavitation transitoire) ou au contraire conserve une même dimension (cavitation propre stable). Il en résulte la formation de cavités de résonance possédant une fréquence de vibration susceptible d'avoir des effets sur les membranes cellulaires et les molécules biologiques. L'énergie libérée par l'éclatement des bulles formées peut également modifier le milieu environnant. Cet effet de cavitation requiert cependant l'utilisation d'US de fréquence élevée. Certains effets chimiques, tels l'accélération des réactions ou la rupture de macromolécules telles les polysaccharides, ont également été observés.

Aux intensités habituellement utilisées, les US n'entraînent aucun effet tératogène. L'énergie minimum pour produire des lésions est de 100 mWatt/cm², les ultrasons de l'échographe n'émettant que de 1 à 10 mWatt/cm² (Hagen *et al.*, 2000 ; Hanzen, 2009a).

PRATIQUE DE L'ECHOGRAPHIE ET APPLICATIONS EN GYNECOLOGIE BOVINE

I. CHOIX DE L'ECHOGRAPHE POUR L'EXAMEN DE L'APPAREIL GENITAL

I.1. Les types de sondes échographiques

En échographie vétérinaire, il existe différents types de sondes qui ont chacun des avantages et des inconvénients. Selon la zone de l'organisme examinée, un certain type de sonde peut être préféré. Les sondes échographiques sont généralement classées en fonction du mécanisme de balayage du plan de coupe : il existe des sondes mécaniques et des sondes électroniques.

I.1.1. Sondes mécaniques

Les sondes mécaniques, encore appelées sondes sectorielles, sont constituées soit d'un élément piézo-électrique qui oscille autour d'un axe, soit de plusieurs éléments (généralement trois) en rotation autour d'un axe. Ce mouvement est souvent perceptible lorsqu'on place la main sur la sonde.

Les sondes mécaniques ont un balayage sectoriel et donnent une image en cône, seule une faible surface de contact permet une grande surface d'exploration. Leur utilisation est donc privilégiée quand la fenêtre acoustique est réduite, c'est le cas de l'échocardiographie.

Elles permettent d'obtenir une bonne résolution proximale. Cependant, comme les lignes d'échos réfléchis ne sont pas parallèles, la résolution latérale change en fonction de la profondeur d'exploration. De plus, les structures de grande dimension sont plus difficiles à visualiser à proximité de la sonde.

I.1.2. Sondes électroniques

Les sondes électroniques sont constituées de plusieurs éléments piézo-électriques identiques juxtaposés en ligne droite (sonde linéaire ou barrette), sur un arc de cercle (sonde linéaire courbe) ou en cercles concentriques (sonde annulaire) (Cros, 2005).

I.1.2.1. Sondes linéaires « barrette »

Les cristaux sont juxtaposés côte à côte sur une longueur d'environ 10 cm. Ils sont excités électroniquement de proche en proche. La forme de l'image obtenue est rectangulaire.

Ce type de sonde présente de nombreux avantages (Mialot *et al.*, 1991) (Figure 23) :

- L'apprentissage de la manipulation et de la représentation dans l'espace du plan de coupe est rapide ;
- Le plan de coupe étant constitué de lignes d'échos réfléchis toutes parallèles entre elles, la résolution latérale est bonne et constante sur toute la profondeur du champ examiné ; ce qui fait que l'image obtenue est meilleure que celle d'une sonde sectorielle.
- Il est possible de visualiser des structures de plusieurs centimètres, même à proximité immédiate de la surface de la sonde, situation fréquente en gynécologie bovine.

En revanche, la surface de contact avec la partie à examiner doit être importante et l'utilisation par voie externe transcutanée chez les petits ruminants est parfois limitée. Ce matériel est cependant idéal pour les vétérinaires l'utilisant en gynécologie bovine et équine. En revanche, leur utilisation est impossible pour certaines applications telles que l'échocardiographie chez les carnivores domestiques (Boin, 2001).

I.1.2.2. Sondes linéaires courbes

Les cristaux alignés en arc de cercle sur quelques centimètres sont également excités électroniquement de proche en proche. Ces sondes courbes permettent d'avoir un champ d'exploration plus large qu'avec les sondes linéaires.

L'image reconstituée est en forme de cône comme les sondes sectorielles. Cependant, elles ont une plus grande surface de contact que ces dernières si bien que leur emploi reste difficile sur des chats et des chiens de petit format, sauf pour les sondes dites « micro-convexes » dont la surface de contact est réduite (Barthez, 2009b). Ce type de sonde est donc généralement utilisé pour l'échographie abdominale de chiens de grand format ou de veaux.

I.1.2.3. Sondes annulaires

Les éléments piézo-électriques des sondes annulaires sont assemblés en cercles concentriques pour former un réseau annulaire. Chaque élément est connecté à un module d'émission/réception. Ainsi, la fréquence d'émission des cristaux est différente d'un cercle à l'autre, ce qui permet d'obtenir une image d'une très bonne définition sur toute la profondeur d'exploration. Avec ce type de sonde, l'image affichée à l'écran est un cône.

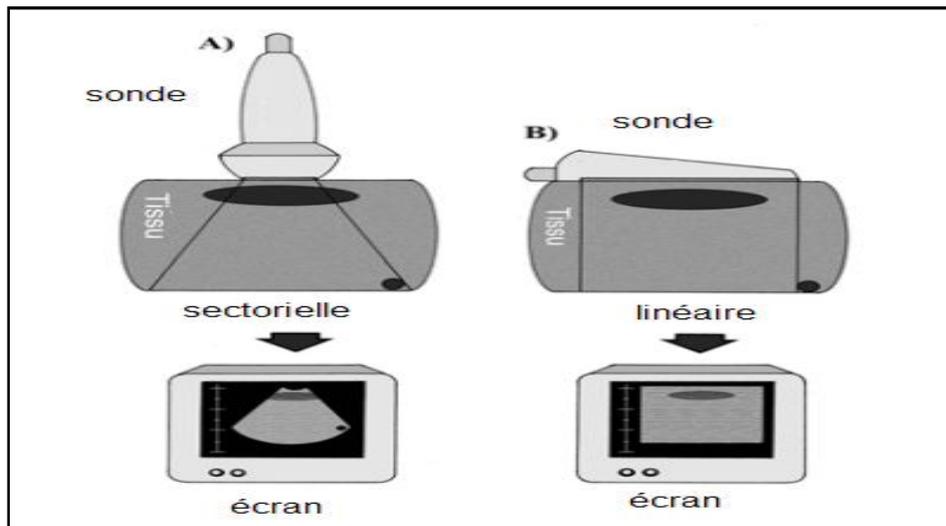


Figure 23: Représentation d'une sonde sectorielle (A) et une sonde linéaire (B) (DesCôteaux et al., 2006)

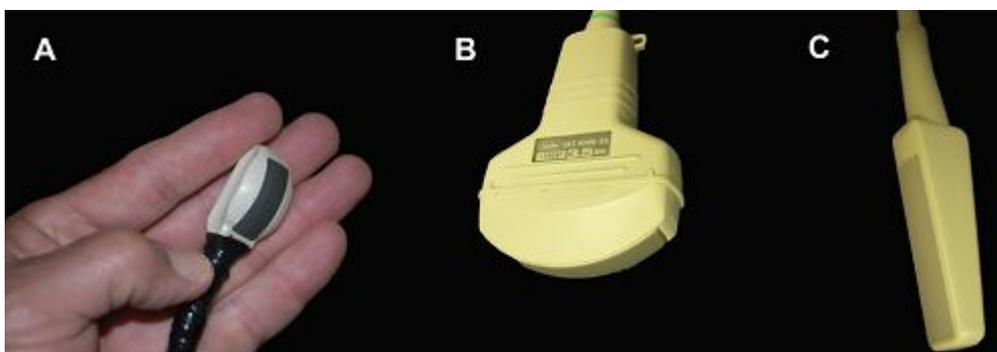


Figure 24: Différents types de sondes (DesCôteaux et al., 2010)

A : convexe, B : sectorielle, C : linéaire



Figure 25: Différents types d'échographes utilisés en médecine vétérinaire (DesCôteaux et *al.*, 2010)

I.2. Choix de la sonde

Le choix de la sonde échographique se fait en fonction de deux critères :

- Le type de sonde,
- La fréquence des ultrasons.

L'échographie par voie transrectale s'effectue à l'aide de sondes linéaires ou sectorielles, qui épousent bien la paume de la main, Une sonde de fréquence élevée permet d'avoir une image très fine mais sur une profondeur d'exploration réduite. Il est donc nécessaire de trouver un compromis entre le niveau d'exploration et la résolution de l'image échographique. (Tableau 7)

Tableau 7: Caractéristiques et indications des différentes fréquences de sondes échographiques (DesCôteaux et *al.*, 2010)

3 MHz	5 MHz	7,5 MHz
Profondeur d'exploration meilleure (0 – 20 cm)	Profondeur d'exploration moyenne (0 – 12 cm)	Profondeur d'exploration Limitée (0 – 7 cm)
Résolution limitée	Résolution moyenne	Meilleure résolution
Gestation avancée	En routine	Follicules et corps jaune
Utérus en post-partum	Diagnostic de gestation	Diagnostic de gestation précoce
	Sexage du fœtus	Sexage du fœtus

II-APPLICATIONS EN GYNECOLOGIE BOVINE

II.1. Conditions à respecter pour réaliser un bon examen

II.1.1. Choix du local d'examen

Lors de l'examen échographique, une luminosité ambiante excessive gêne la bonne visualisation de l'image apparaissant sur l'écran. Au contraire, l'obscurité permet d'utiliser au maximum toutes les nuances de gris, donnant une qualité optimale de l'image.

En pratique, il convient de réaliser l'examen échographique dans un local sombre (vieilles étables, salle de traite). L'emploi d'un échographe à l'extérieur ou dans un bâtiment ouvert et très lumineux est à éviter.

II.1.2. Contention des animaux

Face à l'augmentation de la taille des cheptels, à la diminution de la main-d'œuvre et à la nécessité d'exécuter rapidement les diverses tâches, on assiste au développement des systèmes de contention. Ces installations doivent permettre d'améliorer les conditions de sécurité de l'éleveur, de l'intervenant et des animaux, de maîtriser les animaux, de diminuer la pénibilité de certaines interventions et de diminuer le temps de travail.

La contention représente un facteur important dans la rapidité de l'examen. En effet, on peut considérer que, si l'examineur est expérimenté et la contention est de bonne qualité, la durée de l'examen échographique sera alors optimale et approximativement la même que lors d'une palpation transrectale.

Il existe 2 cas, selon la mobilité ou non de l'appareil (Figure 26) :

 Vaches en cage de contention :

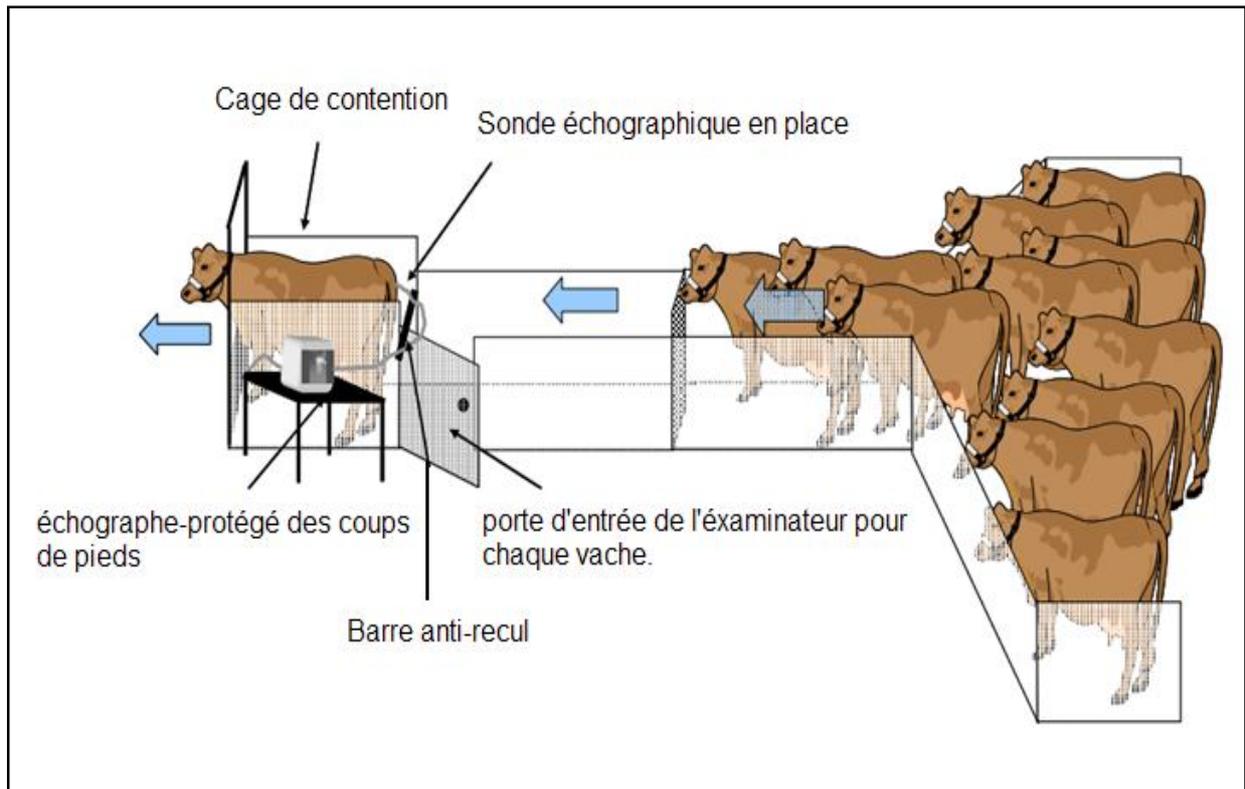
L'échographe est alors fixe. La vache est placée dans une cage de contention, un box d'examen ou amenée dans la salle de traite. L'avantage majeur de cette méthode est d'avoir l'appareil hors du moyen de contention, donc protégé des mouvements d'animaux (coups de pattes, bousculades,...) et des éclaboussures. Afin d'éviter le recul des animaux, il est nécessaire d'installer une barre anti-recul.

Amener chaque vache à la salle de traite ou même les faire passer une à une dans une cage à contention prend du temps ; ceci aura pour conséquence une durée d'examen beaucoup plus longue et donc un travail plus fastidieux. Par ailleurs, leur déplacement rend les animaux nerveux et stressés ; c'est pourquoi, sur de petits troupeaux, ou pour contrôler seulement quelques vaches, il est pratique d'utiliser un échographe portable afin de pouvoir se déplacer de vache en vache et éviter ainsi les mouvements d'animaux (Calais et Dreno, 2004)

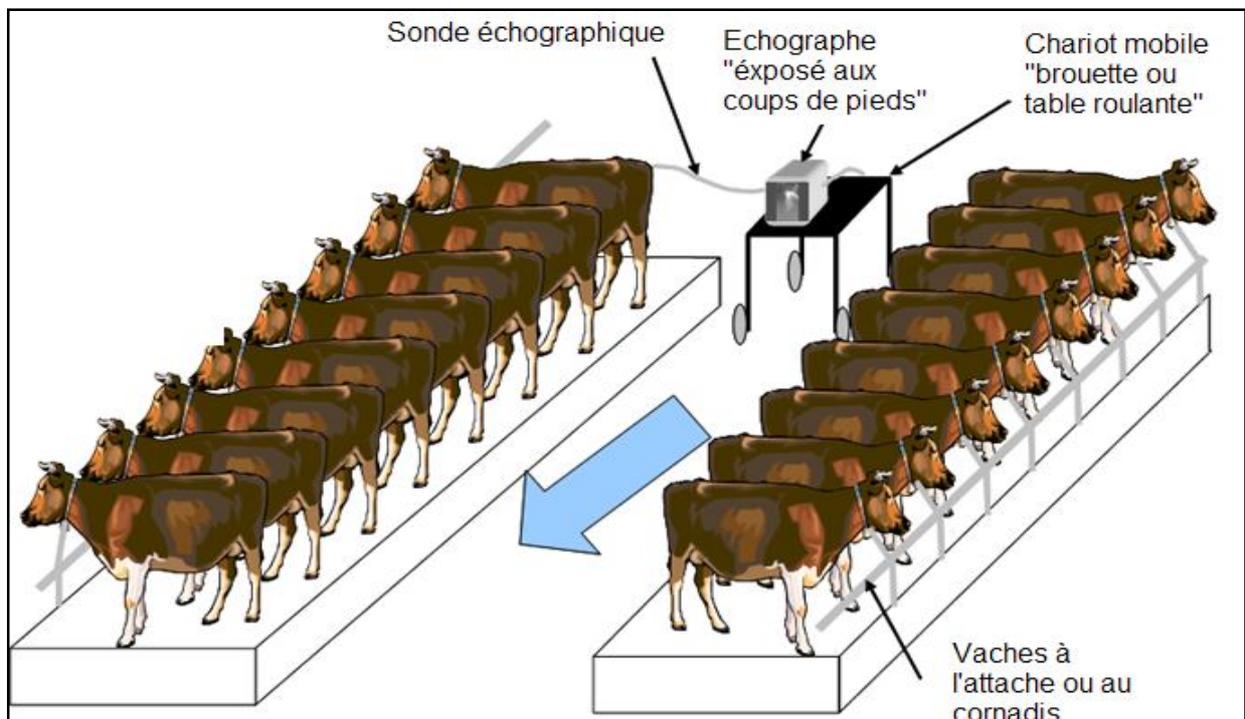
 Vaches au cornadis :

L'échographe est alors mobile, placé sur une table roulante, dans une brouette ou porté par un aide ou par l'opérateur lui-même pour certains appareils légers (50S TRINGA® et TRINGA LINEAR® de PIE MEDICAL, AGROSCAN L®). Les animaux sont alors à l'attache ou au cornadis. Dans ce cas, l'opérateur se place derrière les animaux. Pour un droitier, l'échographe est placé à gauche de l'opérateur et inversement pour un gaucher.

Cette méthode offre le principal avantage d'être rapide et donc la possibilité d'examiner un grand nombre de vaches en peu de temps. Cependant, l'appareil placé juste derrière les animaux est exposé aux coups de pieds qui pourront pour la majorité être évités en plaçant le chariot à bonne distance des vaches. Alors l'examen des vaches au cornadis reste le moyen de contention le plus couramment utilisé, offrant le meilleur compromis entre sécurité et rapidité (Calais et Dreno, 2004 ; Cros, 2005)



(A) : Organisation du chantier lorsque les vaches sont en cage de contention



(B) : Organisation du chantier lorsque les vaches sont au cornadis.

Figure 26: Contention des vaches pour réaliser un examen échographique

II.1.3. Examen transrectal préalable

Chez les bovins, l'échographie doit être considérée comme un examen complémentaire (Hanzen, 2009a). C'est pourquoi, avant d'échographier une vache, les commémoratifs (date de vêlage, date des chaleurs, date d'IA, interventions sur l'animal,...) sont recueillis et une palpation transrectale de l'appareil génital est effectuée.

En pratique, l'échographie chez la vache se fait toujours par voie transrectale pour les différents examens effectués, la profondeur des organes génitaux (30-40 cm) ne permettant pas leur visualisation de l'extérieur par échographie car les ondes ultrasonores ont un faible pouvoir de pénétration, de l'ordre de 14 cm pour une fréquence de 5 MHz (Hanzen, 2009a). En revanche, en introduisant une sonde dans le rectum, on approche suffisamment l'appareil génital situé juste au-dessous de la paroi rectale (Hagen *et al.*, 2000) La voie trans-abdominale, permettant le suivi de fin de gestation et la mise en évidence d'anomalies, reste utilisée expérimentalement pour le moment. La voie transvaginale, quant à elle, est utilisée pour la ponction de follicules, pratique demandant une certaine technicité.

La main et le bras de l'opérateur sont recouverts d'un gant protecteur à usage unique qui doit être lubrifié au moyen d'un gel. Tout d'abord, le rectum est vidé partiellement des fèces qu'il contient. Le tractus génital (col, cornes utérines puis ovaires) et la vessie sont palpés. Cet examen préliminaire permet d'estimer les différents rapports existant entre ces organes, de repérer leur position dans la filière pelvienne et de noter d'éventuelles modifications anatomiques liées à un processus physiologique ou pathologique.

L'examen des ovaires consiste à rechercher par palpation leur taille, leur mobilité, leur position et les structures présentes (corps jaune, follicule, kyste ou tumeur). L'examen de l'utérus consiste à déterminer la taille des cornes, leur position par rapport au pubis, leur consistance, leur symétrie et éventuellement la présence d'éléments figurés dans l'utérus (cotylédons, fœtus). L'examen échographique peut ensuite commencer (Boin, 2001 ; Calais et Dreno, 2004)

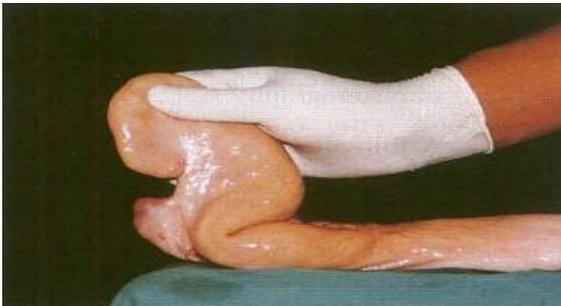
La palpation transrectale préalable est déconseillée pour le diagnostic du sexe du fœtus car elle entraîne une modification de la position du fœtus qui plonge dans la cavité abdominale (Cros, 2005).

La palpation transrectale reste une technique à maîtriser mais la valeur informative de l'échographie est très supérieure à celle de la palpation transrectale, à l'exception des

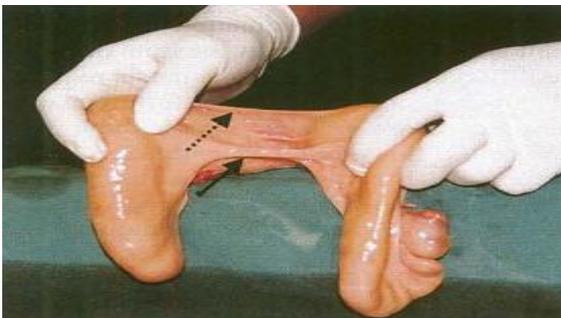
informations relatives à la consistance et la sensibilité des organes (Hagen et *al.*, 2000)
(Figure 27)



■ La flèche indique le ligament intercornual ventral représentant le point de séparation des deux cornes, sous lequel on place le doigt pour palper les cornes chacune à côté.



■ On tient la corne entre la paume de la main et les quatre doigts d'un côté et, avec le pouce de l'autre côté, la palpation se fait en avançant vers l'avant et en suivant la corne.



■ Les deux flèches indiquent les deux ligaments intercornuaux ventral et dorsal. Le ligament dorsal est mince et risque d'être déchiré au moindre étirement, donc c'est le ligament intercornual ventral, plus épais, qui est pris comme repère



■ Le ligament propre de l'ovaire est saisi entre le majeur et l'annulaire, et l'ovaire est palpé avec les autres doigts.

Figure 27: Méthode de palpation rectale de l'appareil génital chez la vache (Saito, 2002)

II.1.4. Examen échographique méthodique de l'appareil génital

Il est nécessaire de procéder de façon systématique dans la progression et le déroulement de l'examen échographique. Au préalable, la sonde enduite de gel de contact est recouverte d'une gaine plastique à usage unique ; pour des raisons sanitaires, entre chaque vache le gant et la gaine doivent être changés, ceci éviterait d'une part les contaminations de vache à vache (BVD, leucose) même si ce mode de contamination est mineur et, d'autre part, protégerait la sonde des produits désinfectants et des fèces qui sont corrosifs pour les matériaux la constituant (Mercier Parisot, 1991).

La sonde est tenue fermement et recouverte par la main de l'opérateur de telle sorte que son extrémité ne blesse pas la muqueuse rectale et que son côté émetteur soit dirigé vers le bas pour les sondes linéaires ou vers l'avant pour les sondes sectorielles.

Si l'animal pousse trop, par réaction réflexe à l'irritation de la muqueuse provoquée par l'examen, il faut attendre que cette onde péristaltique soit passée, et ne pas lutter contre celle-ci car on risquerait de blesser l'animal et les images obtenues seraient de mauvaise qualité du fait du défaut de contact entre la sonde et la paroi rectale en contraction.

Des artéfacts de réverbération peuvent être observés lors de mauvais contact entre la sonde protégée et la muqueuse rectale ou lors de présence de bulles d'air au sein du gel de contact contenu dans la gaine protectrice. Pour obtenir une meilleure transmission des ultrasons, il faut chasser les bulles d'air ou appuyer fermement sur l'utérus avec la sonde après avoir enlevé à l'aide d'un doigt les matières fécales situées entre la sonde et la muqueuse rectale.

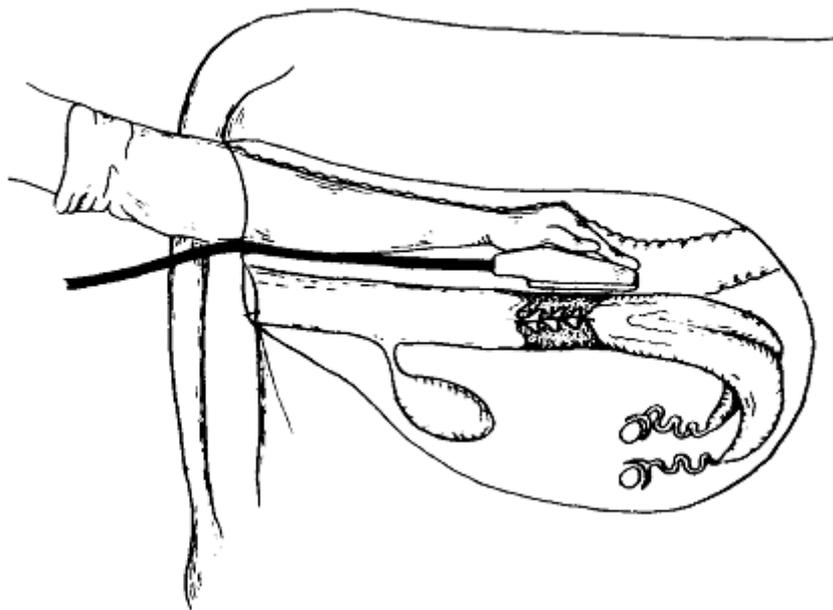


Figure 28: Comment tenir et introduire une sonde pour l'examen échographique de l'appareil génital de la vache (Beal et *al.*, 1989)

II.1.4.1. Echographie de l'utérus : le col, le corps et les cornes

Pour commencer l'examen, il est bon d'avoir des repères tactiles et imagés afin de faciliter la recherche des organes à échographier ; les repères tactiles sont :

- La protubérance pubienne, crânialement, qui marque la fin de la filière pelvienne et le début de la cavité abdominale, c'est à ce niveau que l'on peut espérer trouver le col et le début du corps utérin.
- Le col reconnaissable à sa consistance très ferme.
- Les branches de l'ilium, en avant desquelles on recherche les ovaires.

Les repères imagés sur l'écran sont : la vessie, la coupe longitudinale, puis transversale, de l'utérus (col et corps utérin) (Le Roux-Kouman, 2002)

Tout d'abord, c'est la vessie qui est visualisée en coupe longitudinale. Elle apparaît comme une structure anéchogène délimitée par une paroi échogène. Puis, au-dessus et crânialement à cet organe, le col et le corps utérins sont examinés (coupe longitudinale) en maintenant le faisceau ultrasonore dans le plan médian de la filière pelvienne. L'utérus présente des contours plus échogènes que son contenu qui n'est cependant jamais totalement vide d'échos. Ensuite, le manipulateur fait progresser la sonde crânialement, les cornes utérines sont successivement mises en évidence en déplaçant ou en inclinant la sonde d'un côté ou de l'autre. Les cornes utérines étant repliées sur elles-mêmes, plusieurs coupes transversales de cornes peuvent être observées simultanément à l'écran (Chevalier, 1988).

II.1.4.2. Echographie des ovaires

La sonde échographique est placée par voie transrectale au niveau de la bifurcation des cornes utérines puis elle est déviée dans son axe longitudinal, latéralement, en direction de la branche montante de l'ilium. Les ovaires sont généralement visualisés dans cette direction. Cependant, les ovaires chez la vache sont relativement mobiles et ne sont pas toujours visibles dans l'angle de la sonde. Dans ce cas, la technique consiste à tenir la sonde dans le creux de la main, à palper et à saisir l'ovaire par l'extrémité des doigts. L'ovaire sera alors plaqué contre la branche montante de l'ilium et la sonde échographique sera disposée par-dessus. Une dernière technique consiste à saisir l'ovaire dans le creux de la main et à maintenir la sonde

avec les doigts opposés au pouce. Elle présente l'inconvénient de déformer un peu les organites présents à la surface de l'ovaire.

Il faut souligner que l'échographie des ovaires ne se limite pas à une coupe mais est une vue dynamique des organites ovariens. Les différents organites, en particulier les follicules pourront être différenciés en faisant varier l'angle d'incidence du train d'ondes émises par la sonde.

La fréquence des ondes ultrasonores généralement utilisée est de 5 MHz, son pouvoir de résolution permet de visualiser des organites ovariens à partir de 4-5 mm de diamètre. L'échographie permet de mesurer les organites ovariens soit par comparaison avec l'échelle ou par déplacement des calipers sur l'écran.

Un examen échographique complet des ovaires dure en moyenne 2 à 5 minutes, tandis que celui de l'utérus dure 20 à 60 secondes (excepté le diagnostic du sexe) (Hagen *et al*, 2000)

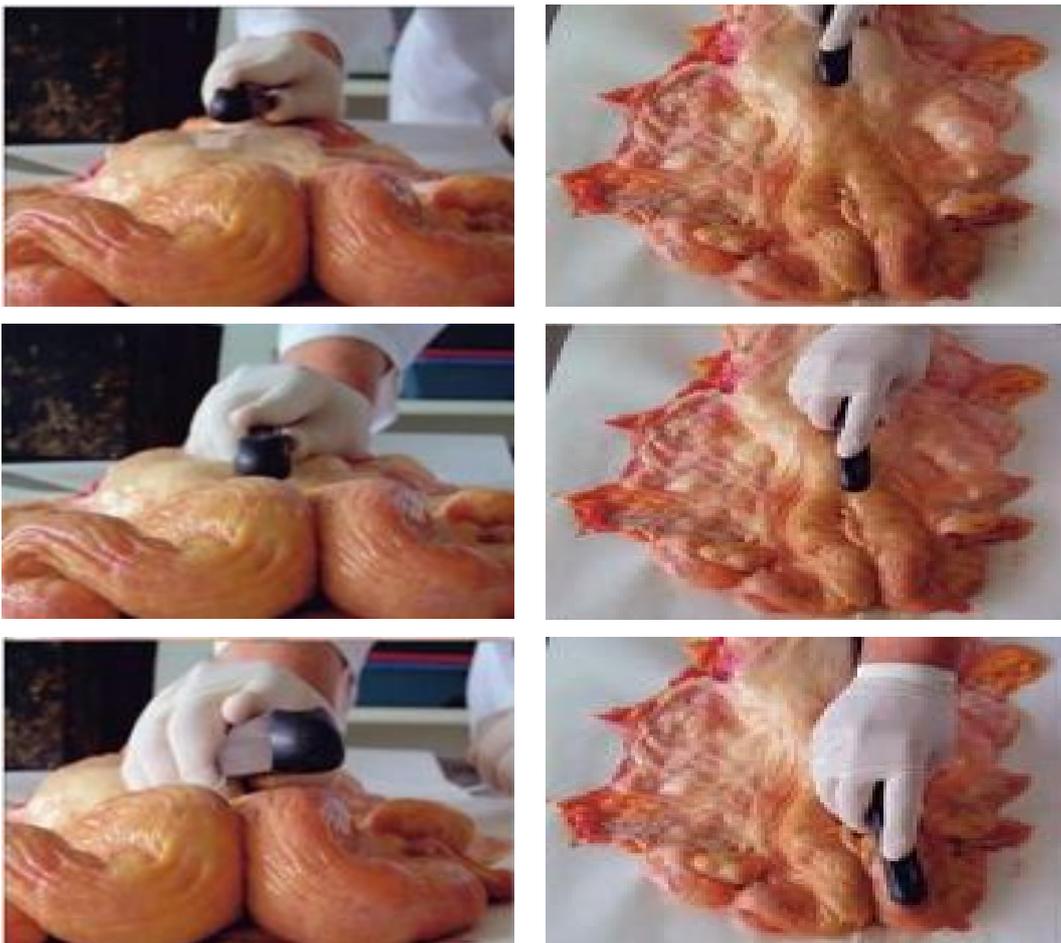




Figure 29: Images représentatives de la méthode d'exploration échographique de l'appareil génitale de la vache (Quintela Arias *et al.*, 2006)

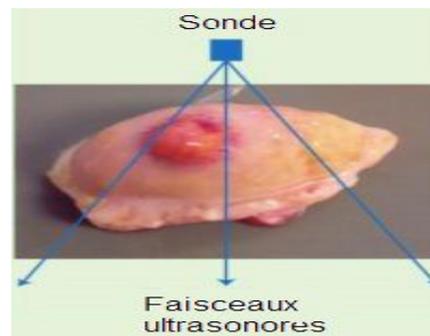


Figure 30: L'approche échographique de l'ovaire de la vache « le changement de l'angle d'incidence du faisceau permet d'avoir une vue dynamique des différents organites ovariens » (Quintela Arias *et al.*, 2006)

Conclusion

L'échographie est une technique d'imagerie médicale non invasive, pour la réalisation d'un examen échographique correcte, certains points importants sont à retenir :

- ❑ L'onde sonore subit un cheminement très complexe pouvant engendrer de nombreux artéfacts.
- ❑ La qualité de la sonde échographique est l'élément le plus important et doit être adapté aux besoins de l'utilisateur.
- ❑ L'échographe possède de nombreux réglages dont la connaissance permet d'améliorer la qualité de l'image obtenue.
- ❑ Une méthode rigoureuse est indispensable afin d'éviter de considérer un artéfact comme une modification pathologique ou de ne pas remarquer une image anormale. L'expérience et l'utilisation fréquente sont deux éléments primordiaux.

UTILISATION DE L'ECHOGRAPHIE POUR DETERMINER L'ETAT PHYSIOPATHOLOGIQUE DES OVAIRES

II. EXAMEN ECHOGRAPHIQUE DE L'OVAIRE

II.1. Rappels anatomiques

II.1.1. Utérus

L'examen échographique de l'appareil génital de la vache demande des connaissances en anatomie et physiopathologie de la reproduction : "On ne trouve que ce qu'on cherche, on ne cherche que ce qu'on connaît" (Decante, 1990). L'expérience de l'opérateur joue également un rôle décisif dans la qualité de l'examen.

L'utérus est l'organe de la gestation : implantation de l'œuf, développement embryonnaire et parturition. L'utérus de la vache est dit bipartitus. Sa paroi se compose de trois tuniques : une séreuse ou périmètre, une musculuse ou myomètre et une muqueuse ou endomètre. Son corps est court (3 à 4 cm) et ses cornes longues (35 à 45 cm). Ces dernières sont accolées l'une à l'autre sur 10 cm environ. Elles sont larges (3 à 4 cm) à leur base puis se rétrécissent progressivement pour atteindre 5 à 6 mm à leur extrémité ovarique. Leurs parois s'amincissent également en s'éloignant du corps de l'utérus : leur épaisseur est de l'ordre de 12 mm à la base et de 2 mm près des trompes. Elles sont plus ou moins circonvolutionnées selon le stade œstral.

Le col de l'utérus correspond à un tube de 10 cm de long dont la consistance, plus ferme que le reste de l'utérus, facilite la détermination de sa position dans la filière pelvienne. Les trompes utérines sont des conduits plus ou moins fluctueux, de 20 à 30 cm de long et 2 à 3 mm de diamètre, reliant les ovaires aux cornes utérines. Elles ne sont ni palpables par voie transrectale, ni visualisables à l'échographie.

Chez la génisse, l'utérus est situé entièrement dans la cavité pelvienne. Puis, au cours des gestations, le relâchement des ligaments larges fait que chez les multipares une partie des cornes utérines peut plonger dans la cavité abdominale.

L'utérus non gravide reste cependant peu volumineux, pèse 400 g environ et se situe ventralement au rectum et dorsalement à la vessie qui repose sur le plancher du bassin. L'utérus gravide augmente de taille et s'engage dans la cavité abdominale en repoussant les intestins et le rumen (Barone, 1990).

Les cornes étant incurvées en spirale, l'examen de l'utérus à l'aide d'une sonde linéaire permet d'obtenir une image longitudinale de la partie distale de la corne gauche et droite, et des images transversales de l'extrémité des cornes. (Figure 31)

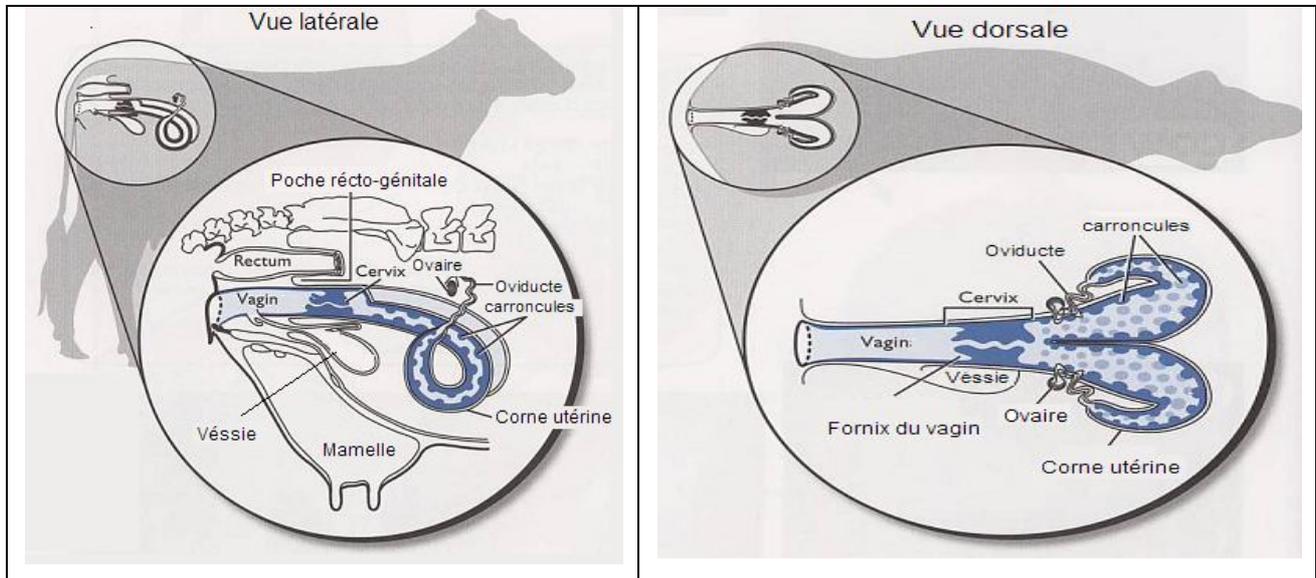


Figure 31: Vues latérale et dorsale de l'appareil génital de la vache (Senger, 2005)

II.1.2. Ovaires

Les dimensions de l'ovaire varient en fonction du développement de ses structures fonctionnelles. En moyenne, sa longueur est de 35 à 40 mm, sa hauteur de 20 à 25 mm et son épaisseur comprise entre 15 et 20 mm. Il a une forme aplatie, ovoïde en forme d'amande. Son poids, de 1 à 2 g à la naissance, est de 4 à 6 g à la puberté et d'une quinzaine de g chez l'adulte (10 à 20 g). En général, l'ovaire droit est 2 à 3 g plus lourd que l'ovaire gauche.

L'ovaire comporte un bord libre et un bord sur lequel se fixe le mésovarium, zone du hile recevant une importante vascularisation qu'il conviendra de ne pas confondre avec les follicules ovariens. L'ovaire comporte une zone vasculaire centrale (medulla) et une zone parenchymateuse périphérique (cortex).

L'ovaire renferme deux types d'organites physiologiques : les follicules d'une part et les corps jaunes d'autre part.

II.1.3. Les follicules

Les follicules sont dits primordiaux (0.04 mm), primaires (0.06 à 0.12 mm), secondaires (0.12 à 0.2 mm), tertiaires (0.3 à 2 mm) pré-ovulatoires (2 à 20 mm) et de De Graaf (20 à 25 mm). Histologiquement, seuls les follicules pré-ovulatoires et de De Graaf sont cavitaires et donc

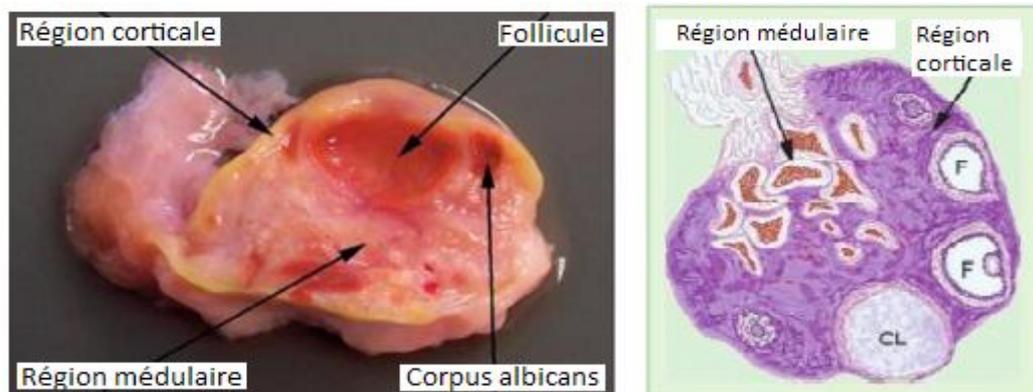
visibles par échographie. Anatomiquement, seuls les follicules pré-ovulatoires et de De Graaf sont palpables manuellement.

II.1.4. Les corps jaunes

Lors de l'ovulation, le follicule diminue de volume, sa paroi se plisse et sa cavité se remplit d'un exsudat séro-fibrineux qui ne tarde pas à coaguler. Il s'en suit une importante néoformation capillaire d'une part et une importante multiplication et transformation des cellules de la granuleuse en cellules lutéales (lutéocytes) d'autre part.

Au cours de cette phase de développement (premiers jours du metœstrus), le coagulum initial s'infiltré de sang et justifie l'appellation de corps jaune hémorragique ou encore de corps rouge donné à cette structure de couleur rouge sombre voire noirâtre. Progressivement se multiplient deux types de cellules les unes dérivées de la granuleuse (grandes cellules lutéales), les autres dérivées de la thèque (petites cellules lutéales). Après quelques jours, ces cellules refoulent en tout ou en partie le coagulum vers le centre ou il persiste sous la forme d'une simple traînée ou sous la forme d'une cavité ou moins importante telle que celle observée dans les corps jaunes cavitaires. Le corps jaune atteint alors une taille de 20 à 25 mm de large et de 25 à 30 voire 35 mm de long.

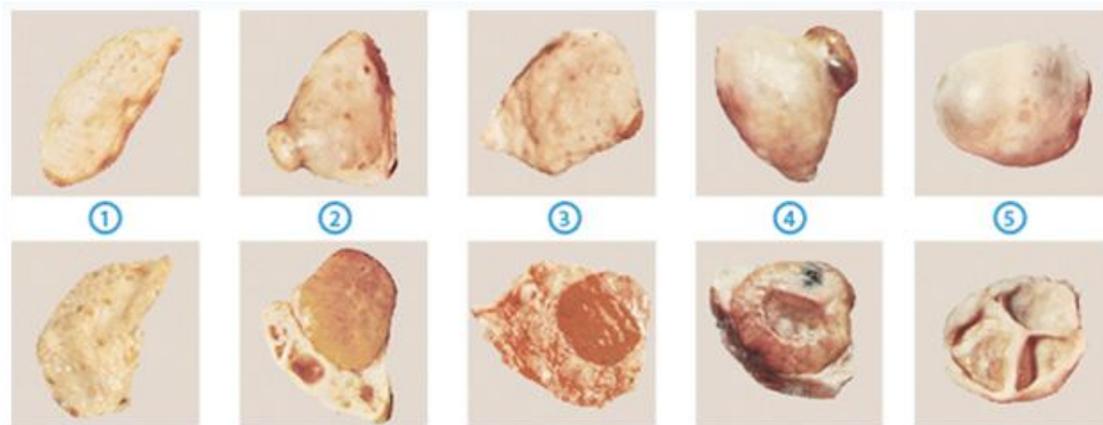
Vers la fin du dioestrus, le corps jaune rentre progressivement en régression. Il prend une teinte plus rouille, sa saillie en surface (stigma) se réduit progressivement, il subit une dégénérescence fibreuse puis fibro-hyaline qui lui donne un aspect blanchâtre (corpus albicans) (Hanzen, 2009 b ; Drion *et al.*, 1996 a).(Figure 32)



Coupe longitudinale de l'ovaire

Coupe histologique de l'ovaire :
F : follicule ; CL : corps jaune

Figure 32: Coupe anatomique et histologique de l'ovaire chez la vache (Quintela Arias *et al.*, 2006)



Ovaires à différents stades.

Figure 33: Images de l'ovaire de la vache à différents stades du cycle (Reprology, 2010)

1. Ovaire au repos, sans activité cyclique
2. Corps jaune fonctionnel apparent
3. Corps jaune fonctionnel peu apparent à la palpation
4. Corps jaune cavitaire
5. Ovaire polykystique (kystes folliculaires)

II.2. Rappels physiologiques

II.2.1. Le cycle œstral

La vache est une espèce poly-œstrienne de type continu, avec une durée moyenne de cycle de 21/22 jours chez la femelle multipare et de 20 jours chez la génisse. L'activité sexuelle débute à la puberté, quand l'animal a atteint 50 à 60% de son poids adulte, puis elle est marquée par cette activité cyclique, caractérisée par l'apparition périodique de l'œstrus. La presque totalité des génisses laitières sont cyclées à 15 mois (Mialot *et al.*, 2001).

L'œstrus ou chaleur est la période d'acceptation du mâle et de la saillie. C'est la période de maturité folliculaire au niveau de l'ovaire, suivie de l'ovulation. Cet œstrus dure de 6 à 30 heures, et se caractérise par des manifestations extérieures : excitation, inquiétude, beuglements, recherche de chevauchement de ses compagnes, acceptation passive du chevauchement et écoulement de mucus.

L'ovulation a lieu 6 à 14 h après la fin de l'œstrus et est suivie par la formation du corps jaune et l'installation d'un état pré-gravidique de l'utérus, correspondant à la période d'installation de la fonction lutéale (Derivaux et Ectors, 1986).

II.2.1.1. Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache

A) Ovogenèse

L'ovogenèse, débutée lors du développement embryonnaire, s'arrête à la prophase méiotique, laissant les ovocytes I entourés de cellules folliculeuses. Le nombre de ces follicules primordiaux, 235.000 à la naissance chez la vache (Mialot *et al.*, 2001), diminue avec l'âge par dégénérescence. Au cours de la succession des cycles, certains ovocytes vont jusqu'à la maturation et la ponte ovulaire, tandis que la majorité dégénère dans les follicules atrésiques. Seulement quelques centaines d'ovocytes primordiaux achèvent ainsi la première division de la méiose pour évoluer en ovocyte II avec émission du premier globule polaire, suivie de la seconde division méiotique. C'est au stade métaphase de cette division qu'a lieu l'ovulation, et la maturation finale se déroule lors de la fécondation, avec émission du second globule polaire.

B) Folliculogenèse

La folliculogenèse est un phénomène continu, succession des différentes étapes du développement du follicule, structure endocrine temporaire, depuis le moment où il sort de la réserve constituée lors du développement embryonnaire, jusqu'à sa rupture au moment de l'ovulation.

A partir de la puberté, chaque jour, environ 80 follicules primordiaux (diamètre 30 μm) débutent leur croissance par multiplication des cellules folliculaires et développement de l'ovocyte (Fieni *et al.*, 1995 ; Mialot *et al.*, 2001). Cette croissance aboutit successivement aux stades de follicule primaire, secondaire puis tertiaire, à partir duquel commence la différenciation de l'antrum. Au cours de cette croissance, les follicules acquièrent également des récepteurs les rendant potentiellement capables de répondre à une stimulation gonadotrope : récepteurs à LH (Luteinizing Hormone) pour les cellules de la thèque interne et récepteurs à FSH (Follicle Stimulating Hormone) pour les cellules de la granulosa (Fieni *et al.*, 1995 ; Ennuyer, 2000). (Figure 34)

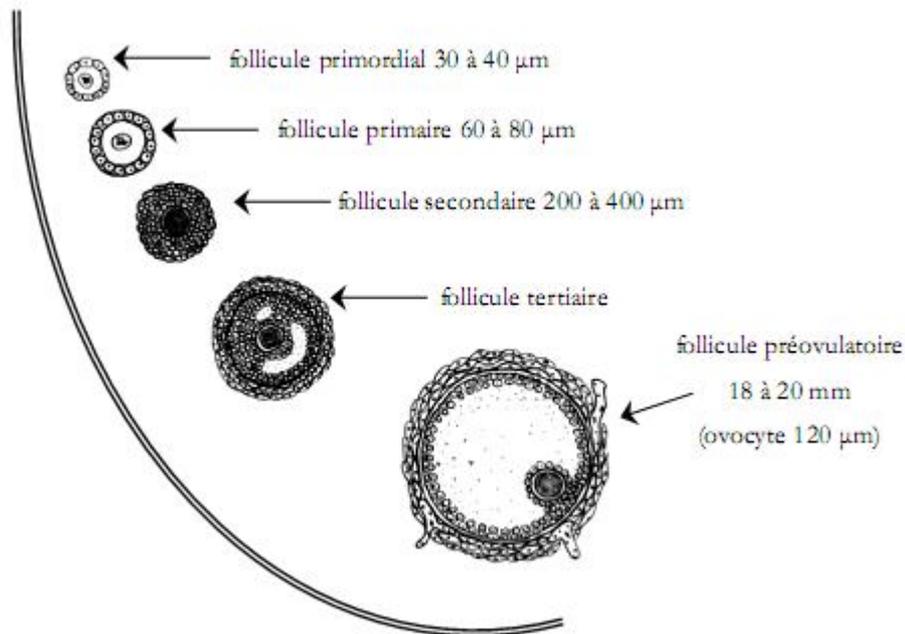


Figure 34: Représentation schématique de l'évolution d'un follicule (Drion *et al.*, 1998)

La maturation qui s'ensuit, et qui ne concerne que quelques centaines de follicules pour toute la période de la vie génitale, est communément décrite par les concepts de recrutement, sélection et dominance. Elle est sous l'influence des gonadotrophines puis de l'émergence d'un ou de plusieurs follicules ovulatoires.

Le recrutement est l'entrée en croissance terminale d'un groupe de follicules gonado-dépendants. La sélection est l'émergence parmi les follicules recrutés du follicule ovulatoire. La taille folliculaire au moment de la sélection correspond globalement à la taille où apparaissent les récepteurs à LH sur la granulosa (massif de cellules folliculaires). Enfin, la dominance correspond à l'amorce de la régression des autres follicules recrutés et au blocage du recrutement d'autres follicules.

Avant la phase de recrutement, le développement folliculaire est très lent puisque le stade pré-cavitaire n'est atteint qu'après 200 jours (Ennuyer, 2000 ; Fieni *et al.*, 1995). Au cours de cette période, l'ovocyte passe de 20 à 120 µm et s'entoure de la membrane pellucide. Les follicules dont la taille est supérieure à 5 mm sont recrutables, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles aux gonadotrophines. Après recrutement, la croissance folliculaire est extrêmement rapide (environ 1,5 mm/jour), essentiellement par gonflement de l'antrum.

C) Notions de vague folliculaire

C'est l'échographie qui a permis de confirmer la théorie des vagues folliculaires selon laquelle le développement folliculaire apparaît non pas de manière aléatoire mais sous la forme de croissances et de régressions synchrones de plusieurs follicules, appelées vagues. Chaque vague consiste en l'émergence, tous les 7 à 9 jours environ, de plusieurs follicules, de diamètre égal ou supérieur à 5 mm, parmi lesquels, au bout de quelques jours, apparaîtra un follicule dit dominant. Ce schéma de croissance folliculaire a également été décrit lors d'autres états physiologiques tels que les 45 voire 70 premiers jours de la gestation, la période pré-pubertaire et le post-partum.

Chez la vache, une à quatre vagues par cycle ont été décrites. Habituellement cependant, un cycle ne comporte que 2 ou 3 vagues, le follicule pré-ovulatoire étant issu de la dernière vague. Si trois vagues sont observées, elles débutent habituellement aux jours 2, 9 et 16 du cycle. Si celui-ci n'en comporte que deux, elles apparaissent aux jours 2 et 11 du cycle.

Au cours d'une vague de croissance folliculaire, le follicule est susceptible de passer par plusieurs étapes dites de recrutement, sélection et dominance. Le terme "recrutement" s'applique à tout follicule qui a dépassé le stade auquel habituellement la plupart des follicules de la réserve folliculaire deviennent atrésiques. Il concerne 2 à 5 follicules de taille comprise entre 3 et 6 mm.

La sélection fait référence au processus par lequel parmi les follicules recrutés, seuls arriveront au stade pré-ovulatoire des follicules en nombre caractéristique de l'espèce ou de la race. La dominance est tout à la fois morphologique (DM) et fonctionnelle (DF). Elle est qualifiée de morphologique (DM) parce qu'elle est exercée par le plus gros follicule présent sur l'un ou l'autre ovaire. Le follicule dominant a été défini comme une structure folliculaire qui croît à au moins 11 mm de diamètre et excède le diamètre des autres follicules au sein d'une même vague de croissance. Elle est également fonctionnelle (DF) parce que le follicule dominant est le seul qui soit capable de provoquer la régression de follicules en croissance ou d'inhiber la croissance d'autres follicules et d'ovuler dans un environnement hormonal approprié.

L'intégration des notions de recrutement, sélection et dominance à celle de vagues de croissance folliculaire permet de répartir les follicules d'une même vague de croissance folliculaire en 4 classes. La première concerne les follicules recrutés : leur taille comprise entre 3 et 5 mm est inférieure à la taille minimale requise pour observer une ovulation. Pendant les 2 au 3 premiers jours d'une vague, le nombre de ces follicules diminue tandis que

celui des follicules de la classe 2 augmente. Les follicules de la classe 2 peuvent potentiellement devenir le follicule ovulatoire. Leur taille est comprise entre 6 et 10 mm. Vers le 4ème jour de la vague, apparaît le follicule dominant (classe 3). Sa taille est comprise entre 10 et 15 mm : il est virtuellement capable d'ovuler. Sa présence s'accompagne au cours des jours suivants d'une diminution du nombre des follicules de la classe 2. Progressivement apparaît le follicule pré-ovulatoire de la classe 4 de taille supérieure à 15 mm qui persistera sur l'ovaire pendant 5 à 7 jours avant d'ovuler ou de s'atrophier (Drion *et al.*, 1996 b ; Hanzen *et al.*, 2000a)

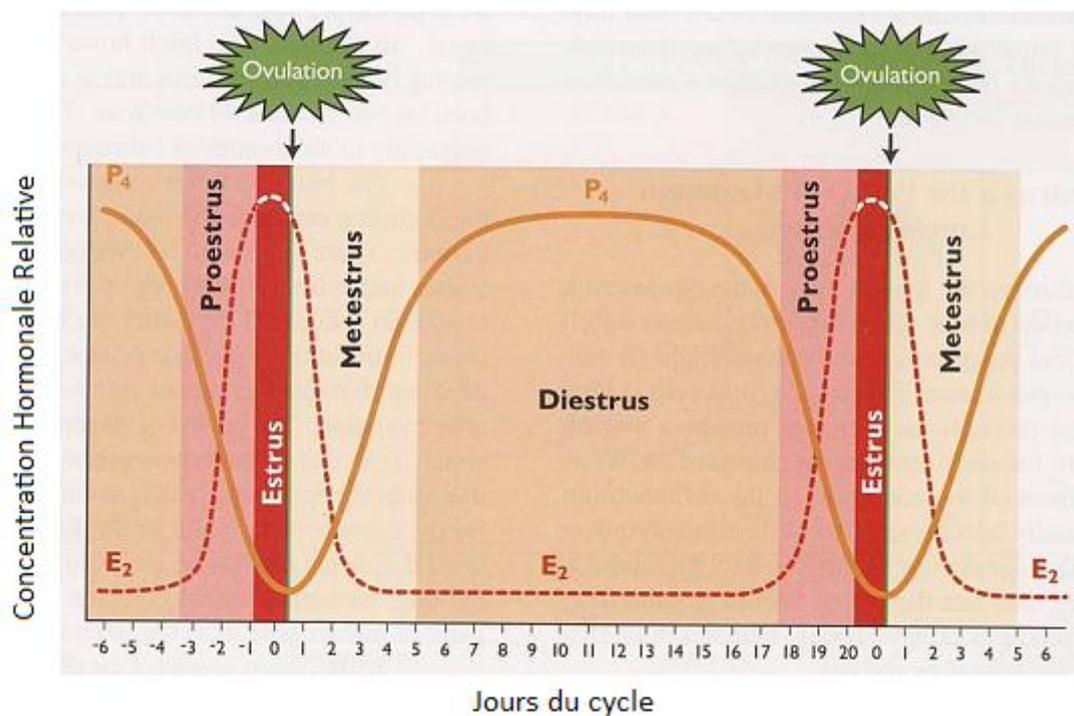


Figure 35: Représentation schématique du cycle œstral de la vache (Senger, 2005)

D) Phase lutéale

Immédiatement après l'ovulation débute la phase lutéale, tout follicule rompu étant le siège de remaniements cytologiques et biochimiques qui conduisent à la formation du corps jaune. Cet organe contient des grandes cellules issues de la granulosa et des petites provenant de la thèque interne. En fin de croissance, il atteint un diamètre minimal de 20 mm (Mialot *et al.*, 2001). Il sécrète essentiellement de la progestérone, mais aussi des œstrogènes, de la relaxine et de l'ocytocine.

L'évolution du corps jaune chez la vache se réalise en trois temps : une période de croissance de 4 à 5 jours, au cours de laquelle il est insensible aux prostaglandines ; un temps de maintien d'activité pendant 8 à 10 jours ; enfin, s'il n'y a pas eu de fécondation, une période de lutéolyse, observable macroscopiquement à partir du 17ème-18ème jour du cycle, aboutissant à la formation d'un reliquat ovarien, le corps blanc (Fieni *et al.*, 1995).

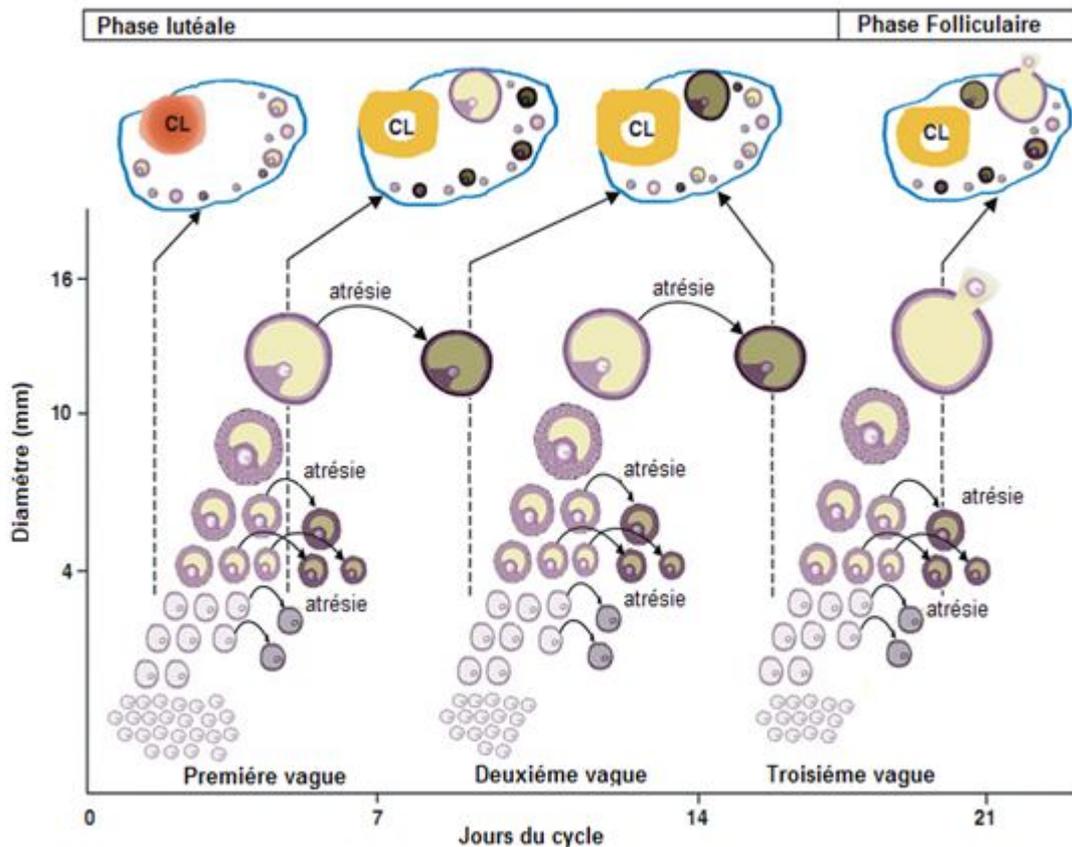


Figure 36: Représentation schématique des vagues folliculaires au cours du cycle œstral chez la vache (DesCôteaux *et al.*, 2010).

II.2.1.2. Régulation hormonale du cycle œstral

A) Aperçu du contrôle hormonal du cycle

Quand le corps jaune régresse à la fin du cycle (du 15ème au 19ème jour du cycle), le rétrocontrôle négatif exercé par la progestérone, sécrétée au cours de la phase lutéale par le corps jaune, sur l'axe hypothalamo-hypophysaire est levé progressivement. Les gonadotrophines hypophysaires, FSH et LH, stimulent la croissance du follicule dominant, jusqu'au stade pré-ovulatoire, et son activité sécrétoire, libérant des quantités croissantes d'œstradiol. En 2 à 3 jours, la forte augmentation d'œstradiol plasmatique (à l'origine du

comportement de chaleurs) entraîne une décharge importante de FSH et de LH, provoquant l'ovulation. (Figure 35 et 36)

Le corps jaune néoformé se développe sous l'influence trophique de la LH et de la prolactine, d'origine hypophysaire. Il sécrète à la fois de la progestérone et de l'œstradiol, à l'origine d'un rétrocontrôle négatif marqué sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, ce qui inhibe une éventuelle sécrétion pré-ovulatoire de gonadotrophines tout en permettant l'émergence d'une nouvelle vague folliculaire.

La progestérone provoque le stockage de précurseurs d'acides gras dans l'endomètre. Après le 10ème jour du cycle, à partir de ces précurseurs, l'œstradiol induit la synthèse de prostaglandines utérines $\text{PGF2}\alpha$ en stimulant la synthèse des enzymes phospholipase et prostaglandine synthétase, qui seront ensuite libérées par l'action de l'ocytocine lutéale sur ses récepteurs utérins. Leur effet lutéolytique aura pour conséquence d'un point de vue hormonal la diminution progressive de la progestéronémie (Meredith, 1995 ; Drion *et al.*, 2000).

B) Régulation de la croissance folliculaire

Les stades initiaux de la folliculogénèse se produisent indépendamment des gonadotrophines (Webb *et al.*, 2003).

En revanche, la FSH et la LH deviennent indispensables au développement des follicules dès le début de la maturation, grâce à une action synergique séquentielle mais aussi parfois simultanée. Ces hormones sont animées d'une sécrétion de base « tonique » à caractère pulsatile de faible fréquence mais aussi à intervalles réguliers, puis, 24 heures avant l'ovulation, d'une décharge importante de courte durée, décharge « cyclique » ou ovulatoire, également pulsatile mais de haute fréquence.

■ Croissance folliculaire pré-antrale

Ce phénomène continu démarre lors de l'entrée en croissance des follicules primordiaux, à partir de la sortie du stock, jusqu'à la taille de 5 mm. Les gonadotrophines ne sont probablement pas indispensables dans l'initiation de la croissance folliculaire (McNathy *et al.*, 1999), bien que les ARNm des récepteurs à FSH et à LH semblent apparaître précocement (Bao et Garverick, 1998).

La régulation de cette première phase, dite non gonado-dépendante, semble être largement assurée par des facteurs locaux, à l'origine d'interactions entre les cellules de la granulosa et

l'ovocyte : activine et inhibine, protéines BMP (Bone Morphogenetic Proteins), facteurs de croissance, en particulier IGF (Insulin-like Growth Factors), bFGF (basic Fibroblast Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) et TGF β (Transforming Growth Factors β), ... (McNathy *et al.*, 1999 ; Webb *et al.*, 2004).

■ *Recrutement*

La formation de l'antrum coïncide avec l'acquisition d'une dépendance du développement folliculaire vis-à-vis des gonadotrophines. Au cours de la maturation folliculaire, les cellules de la granulosa acquièrent des récepteurs spécifiques à la FSH. La sécrétion de la FSH va provoquer à leur niveau deux effets biologiques : d'une part, grâce à l'action conjointe de l'IGF-I, la stimulation de l'aromatase des androgènes, fournis par les cellules de la thèque, en œstrogènes ; d'autre part, l'apparition de récepteurs à LH sur les membranes cellulaires, toujours en relation avec l'IGF-I.

Les œstrogènes synthétisés grâce à l'action synergique de la FSH et de la LH stimulent la multiplication des cellules de la granulosa, induisant la croissance du follicule et le développement de la cavité antrale remplie de liquide folliculaire (Fieni *et al.*, 1995 ; Ennuyer, 2000). L'IGF-II, produit par les cellules thécales, serait le principal facteur ovarien de croissance folliculaire impliqué dans la régulation de la croissance des follicules cavitaires chez la vache (Webb *et al.*, 1999).

■ *Sélection*

Lors de la sélection, l'augmentation de la fréquence des pulses de LH stimule la production d'œstradiol et d'inhibine par la granulosa des gros follicules. Œstradiol et inhibine agissent conjointement en réduisant progressivement la sécrétion de la FSH, réduction responsable de la sélection (Webb *et al.*, 1999). En effet, la prévention de la chute de FSH par injection de cette hormone à petite dose conduit à une poly-ovulation (Fieni *et al.*, 1995 ; Ennuyer, 2000). Lorsqu'un follicule dominant a acquis suffisamment de récepteurs à LH pour lui permettre de subsister quand le taux de FSH diminue, il sécrète de grandes quantités d'œstrogènes et continue à croître en raison de l'augmentation de sa propre sensibilité à la FSH et à la LH, et par production de facteurs locaux, notamment des IGF. L'action de l'IGF-I semble régulée par la concentration en ses protéines-ligands, les IGFBP (Insulin-like Growth Factor Binding Proteins) : une diminution de la concentration en IGFBP, entraînant une plus grande biodisponibilité de l'IGF-I, serait déterminante dans le mécanisme d'acquisition de la

dominance (Austin *et al.*, 2001 ; Monget *et al.*, 2002). La sécrétion réduite de FSH ne permet plus en revanche la croissance des follicules non sélectionnés (Ennuyer, 2000).

■ *Dominance*

La LH induit la synthèse de progestérone par les cellules de la granulosa. La progestérone a un effet inhibiteur sur la production de 17- β -œstradiol : ainsi, sa sécrétion par le follicule dominant maintient les autres follicules dans un état d’immaturité en inhibant l’aromatase à leur niveau. Les follicules dominants ne seraient pas affectés en raison de concentrations importantes d’œstradiol présentes dans leur liquide folliculaire, tandis que les follicules atrophiques se caractérisent par leur richesse en androgènes. L’inhibine folliculaire, outre son action inhibitrice sélective sur la FSH, empêcherait également l’aromatase (Fieni *et al.*, 1995).

La LH assure la maturation du follicule dominant, dont l’avenir dépend de la fréquence des décharges de LH, régulées par la GnRH. Lorsqu’un corps jaune est présent, la fréquence d’une décharge de LH toutes les 3 ou 4 heures aboutit à la perte de dominance et à l’atrophie du follicule, donc à l’absence d’ovulation et d’œstrus. Une nouvelle vague folliculaire émerge alors, également précédée d’une augmentation transitoire de FSH, celle-ci commençant environ 60 heures avant le recrutement et se terminant lorsque celui-ci débute (Hamilton *et al.*, 1995). Lorsque la fréquence est d’un pic par heure, l’ovulation peut avoir lieu. Celle-ci est possible lors de la levée de l’inhibition de la progestérone sur la production de GnRH, à la suite de la lyse du corps jaune du cycle précédent (Ennuyer, 2000). (Figure 38)

Tableau 8: Le control hormonal de la croissance folliculaire (Senger, 2005)

<u>Recrutement</u> = FSH élevé + LH faible + pas d’estrogènes + pas d’inhibine
<u>Sélection</u> = FSH faible + LH modéré + inhibine faible
<u>Dominance</u> = FSH faible + LH élevé + inhibine élevé
<u>Atrésie</u> = dégénérescence des follicules

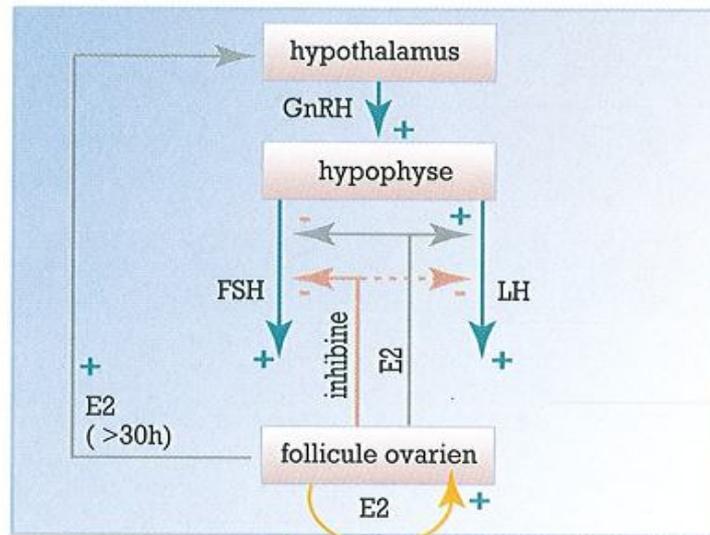


Figure 37: Représentation schématique des interactions hypothalamo-hypophyso-gonadique (Drion et al., 1996 a)

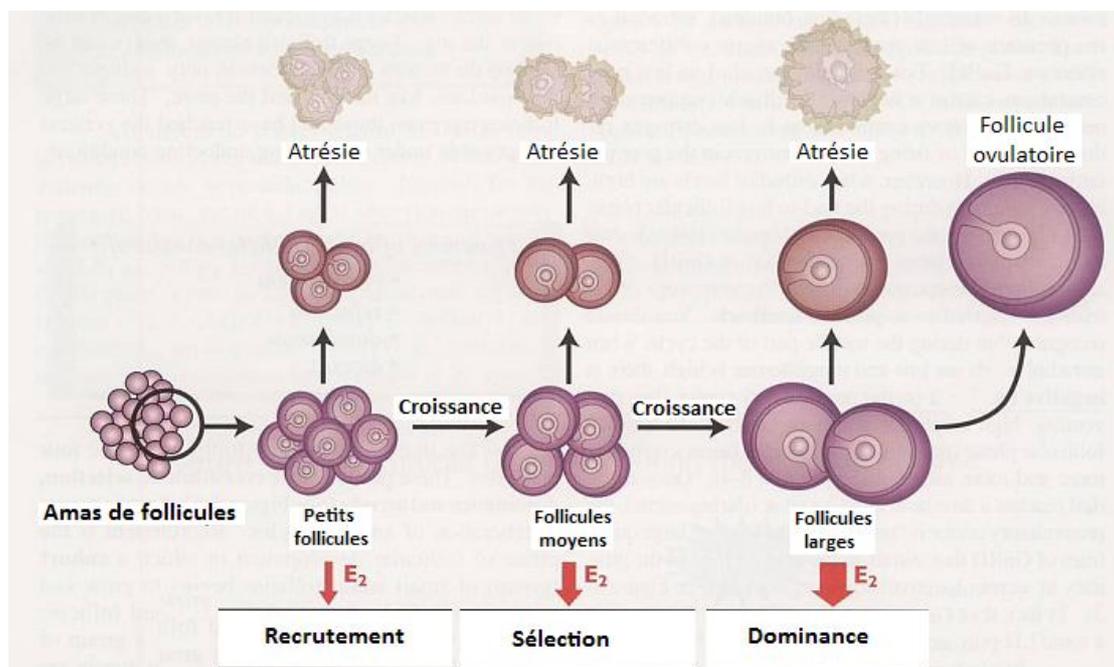


Figure 38: Les étapes de recrutement, sélection, dominance au cours d'une vague folliculaire (Senger, 2005)

II.2.3. Place du corps jaune dans l'activité ovarienne

II.2.3.1. Formation du corps jaune

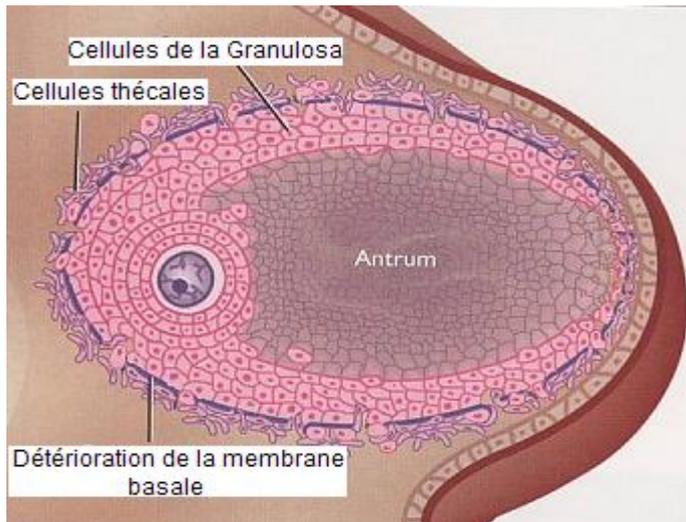
A l'ovulation, le follicule se rompt, collapse et se rétrécit jusqu'à ce que la pression soit réduite. La multiplication de la paroi folliculaire est extensive. Le follicule rompu est appelé corps hémorragique en raison du sang qui remplit l'antrum. Immédiatement avant l'ovulation, quelques cellules du stratum granulosum montrent des signes de pycnose.

Après l'ovulation, cependant, le stratum est vascularisé par les vaisseaux de la thèque interne. Alors, les cellules de la granulosa s'élargissent, se lutéinisent et forment la population des grosses cellules lutéales du corps jaune. Les cellules de la thèque contribuent à la population des petites cellules lutéales du corps jaune. La lutéinisation est le processus par lequel les cellules de la granulosa et de la thèque se transforment en cellules lutéales. Ceci inclut l'hypertrophie et l'hyperplasie des deux types de cellules. Un pigment jaune, la lutéine, apparaît dans les cellules lutéales chez la vache. Des mitoses post ovulatoires continuent pendant 40 heures pour les grosses cellules lutéales de la granulosa, et pendant 80 heures pour les petites cellules lutéales de la thèque.

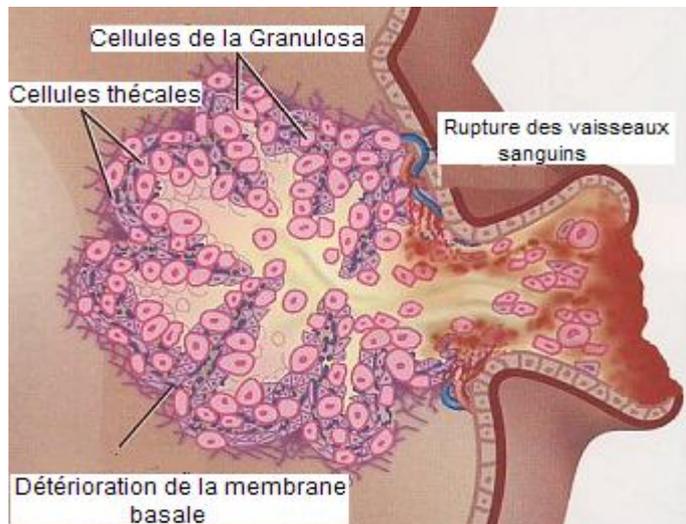
L'augmentation de taille du corps jaune, après cette période d'activité mitotique, est principalement due à l'hypertrophie des grandes cellules. Les petites représentent une part mineure du corps jaune et occupent essentiellement les zones trabéculaires périphériques.

Cependant, les deux types de cellules sont mélangés dans le corps jaune. Chez la vache, le corps jaune est totalement développé et vascularisé 9 jours après l'ovulation mais il continue à grossir jusqu'au 12^{ème} jour où il atteint environ 25 mm.

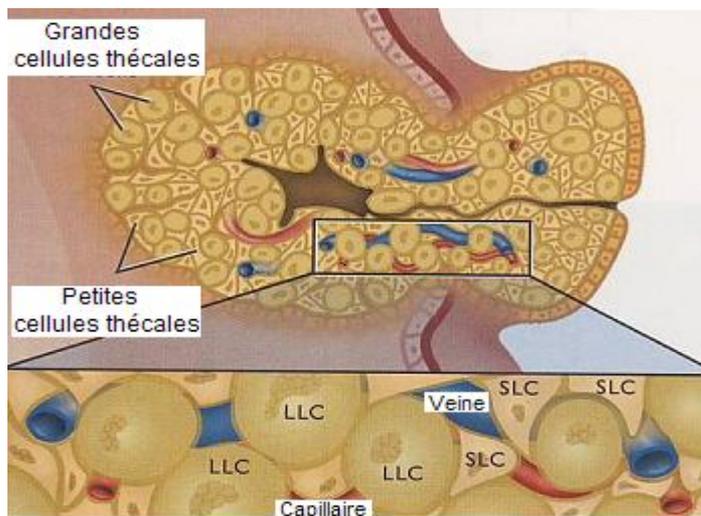
Au cours du metœstrus et du diœstrus, les grosses cellules lutéales contiennent des organites caractéristiques de cellules synthétisant des stéroïdes. Les petites cellules sont plus chargées en lipides mais contiennent moins de caractéristiques types de synthèse des stéroïdes. Dans les cellules du corps jaune développé et mature, les lipides sont surtout des phospholipides, avec des traces de triglycérides, de cholestérol et leurs esters (Laforest, 2005). (Figure 39)



Follicule pré ovulatoire



Corps hémorragique



Corps jaune fonctionnel

Figure 39: Les étapes de formation du corps jaune chez la vache (Senger, 2005)

Tableau 9: Synthèse du retour de la cyclicité post-partum chez la vache laitière (Point, 2007)

	Chaleurs	Palpation transrectale ou échographie	Progestéronémie
Cyclicité normale	Régulières	Alternance follicules/corps jaunes	Alternance valeurs faibles / élevées
Subœstrus	Absentes	Alternance follicules/corps jaunes	Alternance valeurs faibles / élevées
Corps jaune persistant	Absentes	Corps jaunes > 18-25 jours	Valeurs élevées
Kyste ovarien	Régulières, irrégulières, absentes ou persistantes	Follicule > 25mm et > 10 jours Paroi plus ou moins épaisse	Valeurs faibles ou élevées
Anœstrus vrai	Absentes	Ovaires petits et lisses	Valeurs faibles

Tableau 10: Date moyenne de la première ovulation post-partum chez la vache.

Référence	Date moyenne de la première ovulation post-partum
Bulman et Lamming, 1978	24,1 ($\pm 0,6$) jours post-partum
Webb <i>et al.</i> , 1980	15,7 ($\pm 2,0$) jours post-partum
Savio <i>et al.</i> , 1990	27 (± 23) jours post-partum
Slama <i>et al.</i> , 1996	15 à 17 jours post-partum
Lamming et Darwash, 1998	28,7 ($\pm 14,6$) jours post-partum
Tainturier, 1999	15 jours post-partum
Opsomer <i>et al.</i> , 1998 et 2000	32 (± 27) jours post-partum

II.2.3.2. La lutéolyse

A) Définition

La lutéolyse est la régression physiologique des cellules lutéales qui conduit simultanément à la diminution du nombre de récepteurs lutéaux à la prolactine et à la baisse de la stéroïdogénèse et donc à la levée du rétrocontrôle sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, elle peut être divisée en deux étapes : d'abord la lutéolyse fonctionnelle qui réduit brutalement la sécrétion de progestérone, puis la lutéolyse structurale, plus progressive, qui correspond à la régression morphologique du ou des corps jaunes et qui commence 4 à 20 heures après le début de la lutéolyse fonctionnelle.

Les premiers signes de régression lutéale apparaissent à la fin du dioestrus et entraînent la condensation du pigment lutéal (alors rougeâtre) suivie d'une fibrose. Chez la vache, ces signes sont observés 15 jours après l'ovulation. La régression ultérieure et la résorption du corps jaune ont lieu rapidement après le 18ème jour et sont complètes un à deux jours après l'œstrus (Laforest, 2005).

Lors de sa régression, l'oblitération des capillaires, la dégénérescence graisseuse des cellules et la prolifération du tissu conjonctif étouffent les éléments glandulaires, seul un petit amas blanchâtre ou jaunâtre, conjonctivo-fibreux persiste sur l'ovaire et constitue le corpus albicans qui ne semble jouer aucun rôle physiologique (Drion *et al.*, 1996 a)

Selon Humblot (1978), le corps jaune de gestation régresse rapidement dans la semaine suivant le part, il n'est plus fonctionnel à ce moment. Cependant Slama *et al.*, (1996) n'excluent pas sa participation dans la régulation et la reprise de l'activité folliculaire en période post-partum. Le corps jaune gestatif peut montrer une sécrétion résiduelle de progestérone durant les 15 premiers jours après le vêlage.

B) Mécanisme de la lutéolyse

D'un point de vue biologique, la lutéolyse se réalise selon plusieurs modalités :

- Indirectement par l'intermédiaire de l'ocytocine, la PGF2 α d'origine utérine entraîne une vasoconstriction provoquant une ischémie du corps jaune.
- Directement, d'une part la PGF2 α se fixe sur des récepteurs spécifiques présents en surface du corps jaune et diminue l'action lutéotrope de la LH par blocage de l'activité de l'adényl-cyclase et inhibition de l'AMP (adénosyl mono-phosphate), d'autre part, la PGF2 α exercerait ses effets sur la cellule lutéale par l'intermédiaire d'une augmentation du taux de calcium intracellulaire et par l'activation d'une protéine kinase C (Fieni *et al.*, 1995).

La lutéolyse résulte d'une boucle d'interaction entre l'utérus et l'ovaire. Au moment de la lutéolyse, l'étude des variations hormonales montre une augmentation du taux d'œstrogènes suivie par une libération d'ocytocine puis de PGF2 α . En fin de phase lutéale, les œstrogènes folliculaires induisent la synthèse de récepteurs à l'ocytocine au niveau utérin (Ennuyer, 2000 ; Fieni *et al.*, 1995). A cette période, les grandes cellules lutéales ne synthétisent plus de la progestérone mais de l'ocytocine. Celle-ci va se fixer sur les récepteurs utérins initiant un pulse de sécrétion de prostaglandines qui exercent alors une double action sur le corps jaune : d'une part, l'inhibition de la synthèse de progestérone, d'autre part, le déclenchement d'un

pulse important d'ocytocine d'où une série d'interactions entre utérus et corps jaune qui aboutissent à la lutéolyse (Fieni *et al.*, 1995). (Figure 40 et 41)

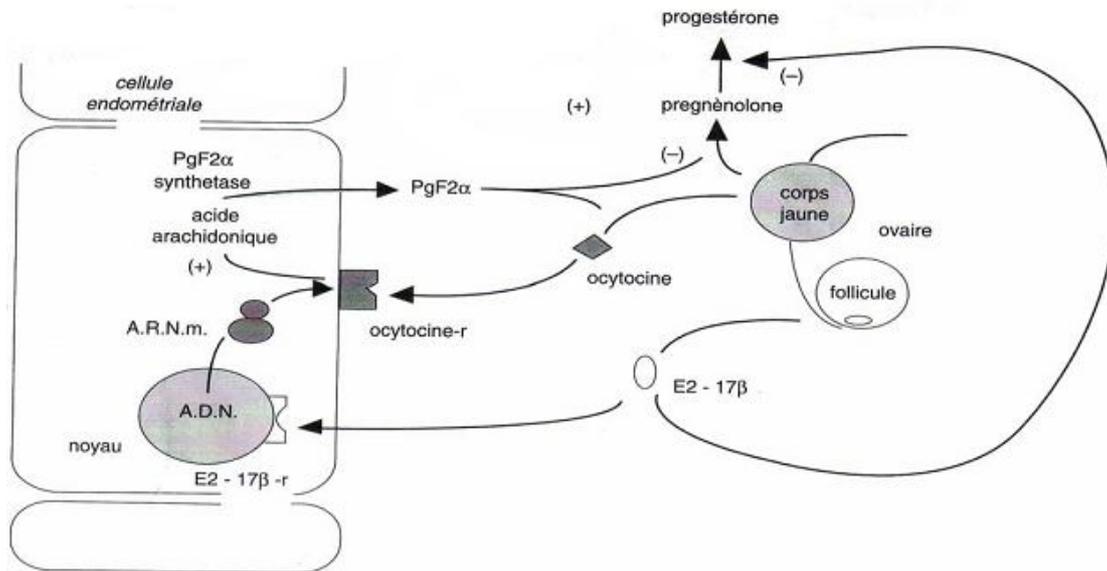


Figure 40: Déterminisme de la lutéolyse chez les ruminants (Fieni *et al.*, 1995)

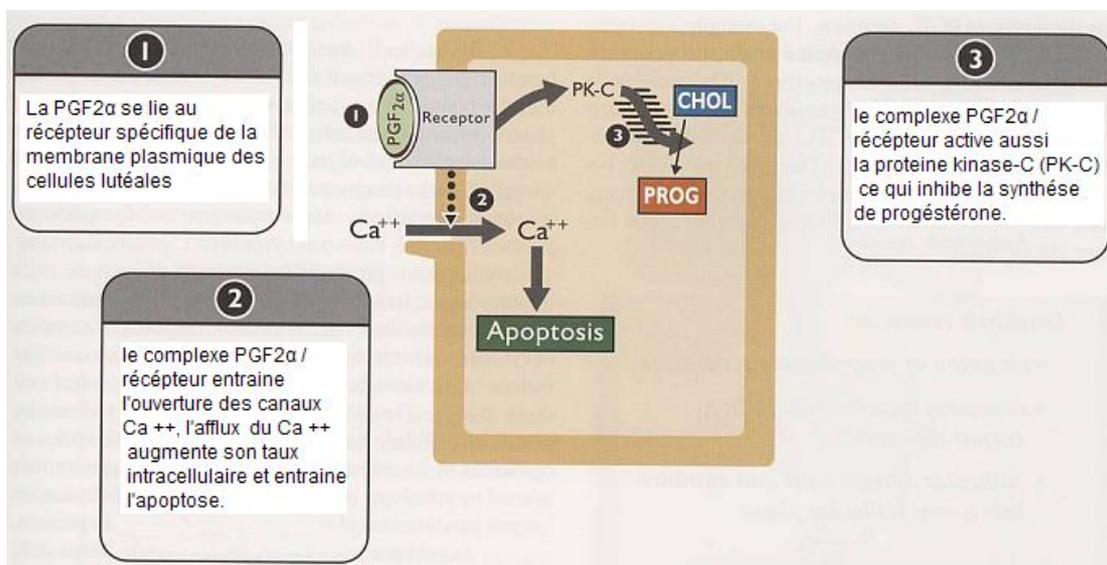


Figure 41: Mécanisme de l'arrêt de synthèse de la progestérone par les cellules lutéales lors de la lutéolyse (Senger, 2005)

II.2.3.3. Fonctionnement du corps jaune

Dans toutes les espèces de ruminants et dans de nombreuses de mammifères, le corps jaune exerce une fonction essentielle dans la régulation du cycle œstral. Il joue en plus un rôle

déterminant dans la mise en place et le maintien de la gestation. Le corps jaune (corpus luteum) est qualifié de :

- Corps jaune cyclique qui régresse spontanément en l'absence de fécondation ; Seul un petit amas, blanchâtre ou jaunâtre, conjonctivo-fibreux persiste sur l'ovaire et constitue le corpus albicans qui ne semble jouer aucun rôle physiologique ;
- Corps jaune gestatif lorsqu'il assure le maintien de la gestation.

La principale hormone sécrétée par le corps jaune est la progestérone. Elle est issue de la transformation du cholestérol sanguin (LDL et HDL). Les récepteurs aux lipoprotéines présents sur la cellule lutéale permettent l'entrée du cholestérol dans la cellule. Celui-ci est alors transformé en prégnélonone dans les mitochondries avant d'être converti en progestérone par la 3 β -hydroxy-stéroïde-déshydrogénase cytoplasmique. La production de progestérone est quantitativement élevée par rapport au poids du tissu qui la produit : le corps jaune de la vache (5 à 6 g) synthétise environ 200 mg de progestérone par 24 heures. Il produit aussi l'inhibine, l'ocytocine en fin de phase lutéale cyclique et la relaxine en fin de gestation (Drion *et al.*, 1996 a ; Bulvestre, 2007).

De manière générale, une action préalable de l'œstradiol est nécessaire à l'action de la progestérone. Celle-ci intervient sur tous les tissus impliqués dans la régulation sexuelle de la femelle : elle inhibe l'ovulation avec cependant une action permissive sur la reprise de la croissance folliculaire en fin de période lutéale ; elle conditionne la descente de l'embryon par l'oviducte ; elle assure la préparation de l'utérus à la réception de l'embryon et à l'initiation de la gestation. Par cette adaptation de la muqueuse utérine et par l'inhibition de la contractilité du myomètre, elle constitue un facteur essentiel dans l'initiation et la régulation de la gravidité. Enfin elle modifie les caractères de la glande cervicale, provoque la mucification de l'épithélium vaginal et participe au développement de la glande mammaire.

La progestérone est nécessaire au maintien de la gestation. Dans de nombreuses espèces, le placenta prend le relais du corps jaune pour sa synthèse. L'échéance de cette prise de relais varie considérablement selon les espèces et a lieu du 150^{ème} au 200^{ème} de gestation chez la vache (Bulvestre, 2007)

II.2.3.4. Evolution de la progestéronémie

A) Au cours du cycle œstral

La progestéronémie péri-œstrale est très faible : inférieure à 1 ng/ml (Bertrand et Chartre, 1976; Tainturier, 1977). C'est à partir de J4 qu'elle va significativement s'accroître

(Tainturier, 1977) ; elle continue à augmenter proportionnellement à la taille du corps jaune jusqu'à atteindre un plateau entre J10 et J16 à 5-10 ng/ml selon Bertrand et Chartre (1976) ou à 7-8 ng/ml selon Tainturier (1977). Elle va finalement s'effondrer autour de J18 lors de la lutéolyse (Bertrand et Chartre, 1976 ; Tainturier, 1977). (Figure 44)

La demi-vie de la progestérone est courte (22 minutes), ce qui explique que la diminution de la concentration dans le sang soit soudaine (Bertrand et Chartre, 1976).

B) Au cours de la gestation

En cas de gestation, la concentration en progestérone est similaire à celle du dicœstrus dans les 14 premiers jours. Puis vers le 15-17ème jour du cycle, la transformation du corps jaune cyclique en corps jaune gestatif est assurée d'une part par une intervention locale de l'embryon qui bloque l'action lutéolytique de l'utérus en inhibant la sécrétion de PGF2 α (par la sécrétion d'interféron Tau), et d'autre part par le maintien de l'action lutéotrope d'hormones hypophysaires (LH et prolactine). (Figure 42)

Le corps jaune gestatif se situe sur l'ovaire du côté de la corne gravide. Il est responsable de la sécrétion de progestérone. Vers 15-19 jours de gestation, la progestéronémie chute légèrement, puis elle remonte à un taux élevé pendant le reste de la gestation (Eldon, 1991). Le taux de progestérone est relativement stable chez les femelles gravides ; le taux maximum a été mesuré à 26 ng/ml autour du 245ème jour de gestation. La progestéronémie décline ensuite 20 à 30 jours avant le part ; elle est de 14 ng/ml au 260ème jour. Puis, elle diminue brutalement la veille du part (30 à 40 heures avant selon Humblot (1978)). Ainsi, dès les premiers jours suivant la mise bas, la progestéronémie n'excède généralement pas 0,61 ng/ml (Bertrand et Chartre, 1976 ; Humblot, 1978). (Figure 43)

Le corps jaune de gestation ne sécrète la progestérone que jusqu'au 160ème jour de gestation selon Tainturier (1977) ou jusqu'aux 165-180ème jours selon Bertrand et Chartre (1976). Au delà du 160ème jour, c'est le placenta qui prend le relais de cette synthèse. Ainsi, l'ovariectomie après le 200-230ème jour n'entraîne plus l'avortement, mais raccourcit la gestation et s'accompagne d'une rétention annexielle (Bertrand et Chartre, 1976).

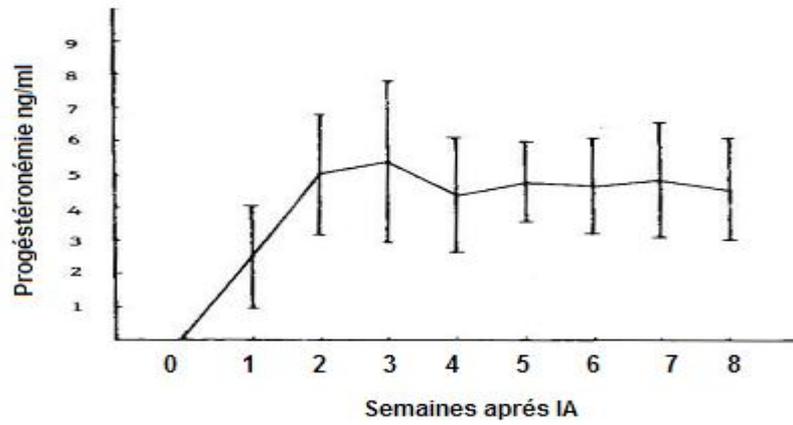


Figure 42: Profil endocrinien de la progestérone au cours de l'œstrus et des huit premières semaines de gestation chez la vache (Terblanche et Labuschagne, 1981).

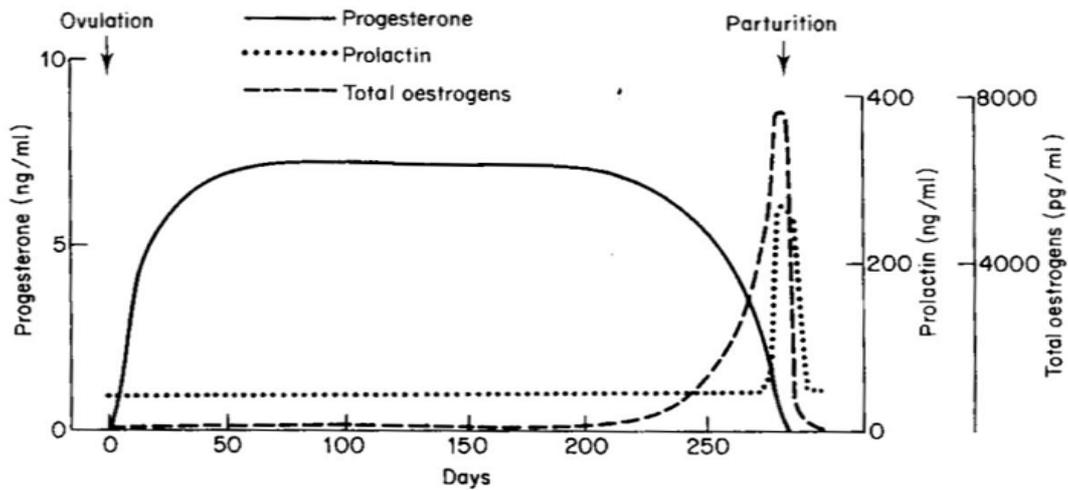


Figure 43: Profil endocrinien de la progestérone chez la vache gestante (Arthur *et al.*, 1996)

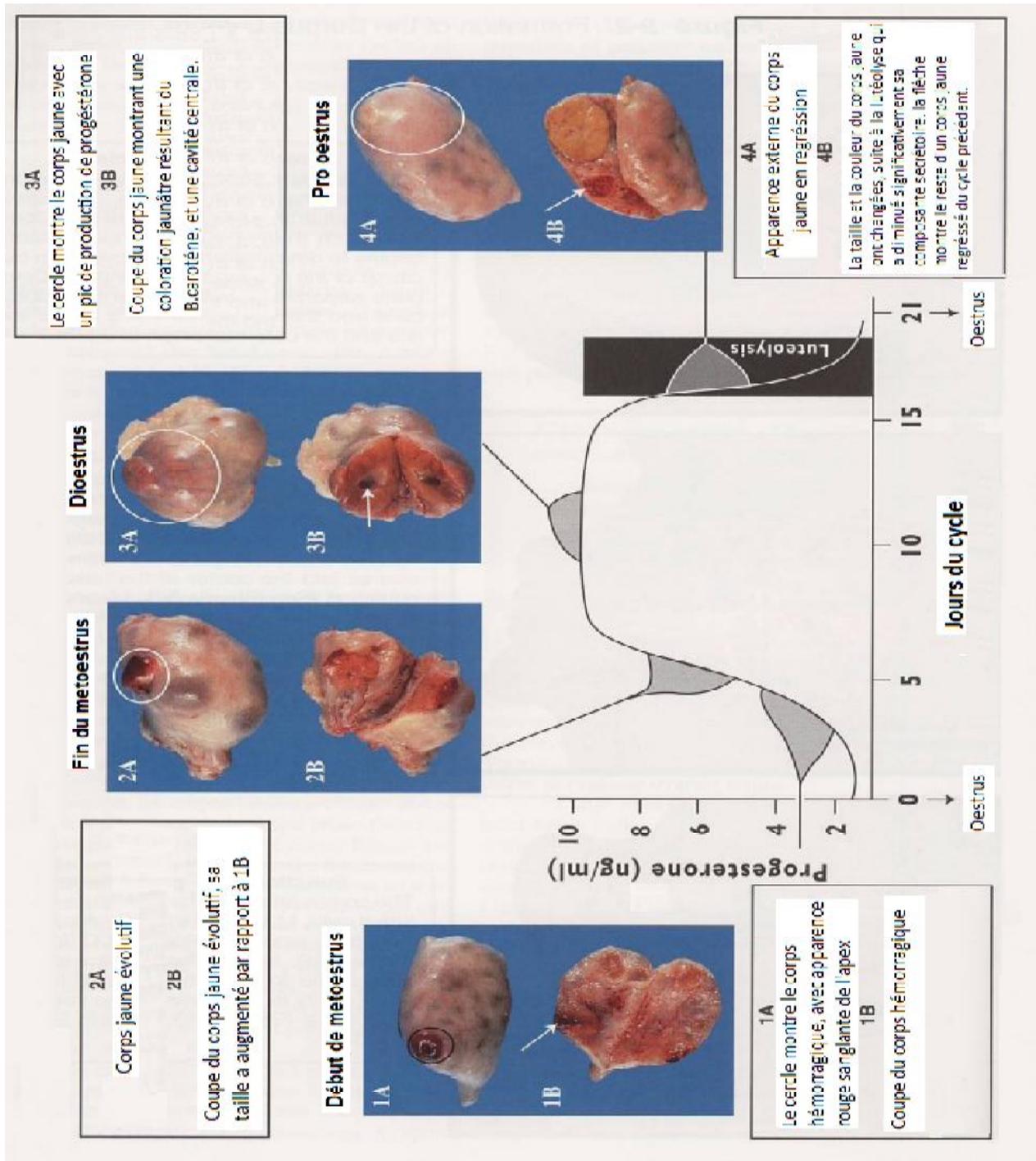


Figure 44: Apparence du corps jaune en relation avec la sécrétion de progestérone durant le cycle œstrale chez la vache (Senger, 2005)

II.2.3.5. Dosage de la progestérone en pratique

A) Intérêts du dosage

Pour déterminer l'état physiologique d'une femelle, les informations issues de l'observation du troupeau sont primordiales mais trop souvent incomplètes ; la simple détection visuelle des

chaleurs présente des limites. Ainsi, le dosage de progestérone est une information supplémentaire pour affirmer une reprise de la cyclicité post-partum, confirmer un œstrus, ou diagnostiquer une gestation.

B) Diagnostic de cyclicité

Le dosage permet ici de connaître l'état physiologique d'une vache laitière qui n'a pas été vue en chaleurs depuis le vêlage. Il est possible de commencer les analyses depuis le vêlage pour avoir un bilan complet de la cyclicité ou seulement dès 50 jours post-partum pour diagnostiquer les anœstrus pathologiques (Thimonier, 2000). (Tableau 11)

Tableau 11: Date moyenne d'apparition de la première positivité de progestérone post-partum chez la vache

Références	Date moyenne d'apparition de la première positivité de progestérone
Lamming et Bulman, 1976	24,3 ($\pm 1,1$) jours post-partum
Webb <i>et al.</i> , 1980	16,6 ($\pm 1,1$) jours post-partum
Opsomer <i>et al.</i> , 1998 et 2000	37 (± 27) jours post-partum
Disenhaus <i>et al.</i> , 2003	28 (de 14 à 70) jours post-partum
Taylor <i>et al.</i> , 2003	30 ($\pm 4,1$) jours post-partum

C) Principe

Il n'existe pas de développement spontané de corps jaune sans ovulation préalable. Si le taux de progestérone est élevé chez une vache, cela signifie qu'un corps jaune est présent ; or celui-ci, témoin fiable de l'ovulation, permet d'affirmer que l'animal est cyclé. Ainsi, d'une part, pendant la période d'anœstrus anovulatoire, la progestéronémie reste inférieure à 0,5 ng/ml ; d'autre part, chez les femelles cyclées, les niveaux de progestérone sont caractérisés par une alternance de valeurs faibles (moins de 1 ng/ml) pendant la période péri-ovulatoire et élevées (plus de 1 ng/ml) pendant la majeure partie de la phase lutéale. Ainsi, la progestéronémie de la phase folliculaire est environ dix fois moins élevée que celle mesurée en phase lutéale (Bertrand et Chartre, 1976).

Selon Thibier *et al.* (1983), le diagnostic de cyclicité doit impliquer des dosages de progestérone tous les 10 à 12 jours, alors que selon Thimonier (2000), deux prélèvements à 8 ou 11 jours d'intervalle suffisent.

On se place dans le cas d'une femelle laitière en postpartum, non vue en chaleurs et encore non inséminée, pour laquelle on veut savoir si la cyclicité est établie ou non. Dans cette hypothèse, plusieurs états physiologiques sont possibles :

- ❑ Anœstrus vrai : les ovaires ne sont pas fonctionnels et ne sécrètent pas d'hormones
- ❑ Anœstrus lié à la persistance d'une structure sécrétante :
 - ❖ corps jaune persistant (dont l'activité fonctionnelle sécrétoire est présente au delà du 18ème jour du cycle (Tainturier D, 1999) ou kyste folliculaire lutéinisé (kyste dit lutéal) ;
 - ❖ kyste folliculaire non lutéinisé : c'est un follicule kystique dont la sécrétion de progestérone n'excède pas 1 ng/ml (Tainturier D, 1999) ;
- ❑ Subœstrus : la vache est cyclée mais en anœstrus comportemental ;
- ❑ Anœstrus de détection : la cyclicité est régulière avec des chaleurs existantes mais non détectées.

D) Interprétation

Voici donc les quatre possibilités de résultats résumant les deux dosages successifs de la progestérone :

Tableau 12: Interprétation des dosages de progestérone (Thimonier, 2000)

1 ^{er} Dosage à J0	2 ^{ème} dosage entre J8 et J11	Etat Physiologique
< 1 ng/ml	< 1 ng/ml	Anœstrus vrai ou kystes folliculaire non lutéinisé
< 1 ng/ml	> 1 ng/ml	Anœstrus de détection ou Subœstrus
> 1 ng/ml	< 1 ng/ml	Anœstrus de détection ou Subœstrus
> 1 ng/ml	> 1 ng/ml	Corps jaune persistant ou kyste lutéinisé

II.2.3.6. Détermination du statut ovarien par palpation transrectale

Le diagnostic du statut ovarien d'un animal est déterminé par l'appréciation de chaque ovaire individuellement, puis l'un par rapport à l'autre.

Chez un animal normalement cyclé, un des deux ovaires doit porter un corps jaune en dehors de la période péri-ovulatoire, c'est cet éléments qui est recherché.

Il est normal de pouvoir palper sur le même ovaire, ou sur l'autre, un ou plusieurs follicules. Il est inutile de palper les ovaires aux environs d'un œstrus : le follicule en croissance terminale (de De Graaf) et un corps jaune en régression peuvent s'y trouver conjointement. Chez la

vache, la taille d'un ovaire au repos avoisine celle d'une amande (selon l'âge et la race), en général un seul ovaire porte un corps jaune.

La première démarche consiste à s'assurer que les ovaires sont de tailles différentes, le plus petit d'entre eux est l'ovaire au repos. Il convient de considérer que la différence de taille entre les deux ovaires équivaut à la taille d'une formation surajoutée, ou organite, présente sur l'ovaire fonctionnel : volume ovaire fonctionnel = volume ovaire au repos + n organites.

L'examen commence par la palpation rapide de l'ovaire au repos, pour apprécier son volume, et sa surface. De petites formations granuleuses (1 à 2 mm de diamètre) à la surface de l'ovaire ne sont pas forcément des corps jaunes peu extériorisés, mais peuvent être des corps blancs c'est-à-dire des résidus non fonctionnels de corps jaunes des cycles précédents. Si rien n'attire l'attention on passe au second ovaire. L'ovaire supposé fonctionnel peut avoir une taille voisine de celle de l'ovaire au repos, un examen minutieux est alors nécessaire pour vérifier l'absence ou la présence de toute formation surajoutée (Escouflaire, 2003)

L'objectif de la palpation est la recherche et l'identification d'un corps jaune ; la principale difficulté consiste en la diagnose différentielle entre le corps jaune et le follicule : quatre éléments fondamentaux sont appréciés :

- la présence ou l'absence d'un sillon disjoncteur entre l'organite et l'ovaire
- le caractère de la surface de l'organite : lisse ou rugueuse.
- La présence ou non d'une cicatrice d'ovulation
- La texture souple ou dure



Figure 45: Aspect d'un follicule pouvant être confondu avec un corps jaune si l'ensemble des quatre critères n'est pas analysé (Escouflaire, 2003)

Si l'ovaire fonctionnel porte réellement un corps jaune, avec ou sans follicules, une ovulation s'est bien produite.

Tableau 13: Diagnostic différentiel entre le corps jaune et le follicule (Escouflaire, 2003)

Critères	Follicule	Corps jaune
Sillon	Non	Oui
Surface	Lisse	Granuleuse
Cicatrice	Non	Oui
Texture	Dépressible	ferme

II.3. Echographie de l'ovaire

L'échographie des ovaires est un examen pratiqué dans le cadre des suivis de troupeau, à 60 jours post-partum chez les vaches en œstrus, au moment du diagnostic de gestation chez les vaches révélées vides pour choisir un traitement, lors de troubles du cycles (frigidité, cycles irréguliers, nymphomanie, etc.), ou à l'occasion de transfert d'embryons pour vérifier que la vache donneuse a bien ovulé ou que les receveuses possèdent un corps jaune bien développé.

Le stroma ovarien est un tissu dense qui est caractérisé par une échostructure hétérogène en raison de la présence de petits follicules intra ovariens ou de vaisseaux sanguins apparaissant comme des tâches noires de 2 à 4 mm de diamètre. La zone médullaire dépourvue de follicules en croissance apparaît globalement plus échogène que les structures environnantes. La présence d'organite, en particulier du corps jaune rend difficile l'appréciation du stroma ovarien car il envahit une grande partie de l'ovaire (Hagen *et al.*, 2000).

II.4. Echographie des Follicules

Les follicules peuvent être aisément aperçus par échographie quel que soit le stade du cycle œstral ou du postpartum (Pierson et Ginther 1984a, 1988a ; Edmondson *et al.*, 1986 ; Kahn et Leidl, 1989 ; Pieterse, 1989) ; Ils apparaissent comme des zones noires plus ou moins bien circonscrites sphériques, anéchogènes, de taille comprise entre 3 et 25 mm, limitées par une paroi mince. Cette forme sphérique peut toutefois être irrégulière lors de compressions par des follicules ou corps jaunes adjacents, la sonde ou les doigts. L'absence d'atténuation de l'onde ultrasonore par le liquide folliculaire est responsable de la présence d'une zone hyperéchogène de renforcement des échos à la partie ventrale du follicule (Omran *et al.*, 1988 ; Boyd et Omran, 1991 ; Hanzen *et al.*, 2000b).

Les follicules pré-ovulatoires apparaissent avec un diamètre entre 16 et 20 mm (Saumande, 1991). Des follicules de 8 à 10 mm peuvent cependant ovuler (Fieni *et al.*, 1995).

Par convention, le diamètre d'un follicule se détermine en positionnant les repères échographiques de mesure sur la paroi interne du follicule. Il s'agit donc d'une mesure de la cavité folliculaire et non du follicule lui-même. L'échographie sous-évalue de 2 à 3 mm environ le diamètre anatomique du follicule car seule la cavité folliculaire est observable de manière précise (Quirk *et al.*, 1986). Cependant, l'examen échographique prédit bien la taille des follicules puisqu'il existe une forte corrélation entre les mesures anatomiques et échographiques des follicules de taille supérieure à 3 mm (Pierson et Ginther, 1987b). Il est possible d'observer des follicules d'un diamètre égal ou supérieur à 2 mm avec une sonde de 5 MHz, et des follicules d'un diamètre ≥ 6 mm avec une sonde de 3.5 MHz (Pierson et Ginther 1984a ; Edmondson *et al.*, 1986) ; des follicules ≤ 5 mm peuvent être confondu avec des sections des vaisseaux sanguins et lymphatiques des ovaires (Pieterse, 1989), et un dénombrement des follicules d'un diamètre de 2 à 5 mm est très imprécis, 34,3% des follicules de 5 à 10 mm et 95% des follicules de plus de 10 mm de diamètre peuvent être détectés par échographie (Pieterse *et al.*, 1990).

L'échographie a permis de mettre en évidence des vagues de croissance folliculaire. Ainsi, l'ovaire de la vache est en permanence, quelque soit son stade cyclique et même pendant la gestation ou le post-partum, porteur de follicules en croissance (Rajamahendran *et al.*, 1994 ; Chastant-Maillard *et al.*, 2003b). L'observation de follicules ne signifie donc pas que la vache est en phase folliculaire du cycle œstral. (Fieni *et al.*, 1998) affirment que l'examen échographique tout comme la palpation transrectale ne permettent pas de différencier le follicule qui va ovuler de ceux des vagues anovulatoires. Seule l'absence de corps jaune fonctionnel peut faire penser que ce follicule va ovuler.

Lors de l'examen, l'opérateur doit faire la différence entre un follicule et un vaisseau sanguin en coupe transversale, cela se fait en réalisant un léger balayage d'un côté puis de l'autre : le follicule étant sphérique, il disparaît de l'écran alors que le vaisseau, assimilé à une tubulure, voit son image se déplacer et se déformer selon les variations du plan de coupe.

II.5. Echographie des corps jaunes

L'ovulation est indirectement mise en évidence par la disparition du follicule pré-ovulatoire ou la réduction brutale de son diamètre (Pierson et Ginther, 1984a, 1988a), La taille du corps jaune peut atteindre plus de 20 mm dès le 4ème jour du cycle. Elle se stabilise ensuite durant

13 à 14 jours puis diminue brutalement 2-3 jours avant la nouvelle ovulation. Le diamètre minimal d'un corps jaune fonctionnel est de 20 mm. En dessous, il s'agit d'un corps jaune en cours de lutéolyse (Chastant-Maillard *et al.*, 2003a). C'est habituellement 3 à 4 jours environ après l'ovulation qu'une structure lutéale bien distincte (corps jaune hémorragique) est identifiée sous la forme d'une zone anéchogène renfermant quelques points plus échogènes, bien démarquée du stroma ovarien (Hanzen, 2009a).

A l'inverse du follicule anéchogène, le corps jaune est une structure échogène granuleuse circonscrite, apparaissant gris homogène à l'écran et moins réfringente que le stroma ovarien (Hagen *et al.*, 2000 ; Fricke, 2002). Le corps jaune n'est pas toujours bien visible dans les deux jours qui suivent l'ovulation, ainsi qu'en fin de cycle. Ses caractéristiques échographiques varient en fonction du stade du cycle. L'échogénicité de la structure lutéale s'intensifie au cours du diœstrus si bien que le corps jaune est repéré facilement 3-4 jours post-ovulation et est discernable jusqu'à 1 à 3 jours après l'ovulation suivante (corpus albicans) (Pierson et Ginther, 1988b).

L'image du corps jaune n'est pas différente chez les animaux gestants ou non gestants (Pierson et Ginther, 1984a ; Omran *et al.*, 1988 ; Edmondson *et al.*, 1986 ; Pieterse, 1989 ; Kastelic *et al.*, 1990a ; Ribadu *et al.*, 1994), les caractéristiques de taille ou d'échogénicité ne permettent pas de distinguer les corps jaunes gestatifs des corps jaunes périodiques (Hagen *et al.*, 2000), et il n'est pas possible de préciser par échographie le stade du diœstrus auquel l'animal se trouve (Pieterse, 1989) ; Cependant, des études (Kastelic *et al.*, 1990b ; Ribadu *et al.*, 1994) ont montré qu'une corrélation significative et positive ($R = 0,73$ à $0,85$) existe entre la surface du tissu lutéal mesurée à l'échographie et la concentration plasmatique en progestérone dans la première moitié du cycle. Par contre, en phase de régression lutéale, la chute de progestérone plasmatique est plus rapide que la lutéolyse anatomique, alors il existe une corrélation positive entre la progestéronémie et l'écho-densité du corps jaune entre les jours 2 et 8 du cycle chez la vache (Veronesi *et al.*, 2002 ; Hanzen, 2009a).

La présence d'une cavité centrale au sein du corps jaune (corps jaune cavitaire) a été identifiée par échographie dans 37% à 79% des cas. L'échogénicité de cette cavité centrale est semblable à celle du follicule (Kahn et Leidl, 1989). Cependant, elle est habituellement moins sphérique, plus lobulée, entourée de tissu lutéal et peut renfermer des trabécules échogènes correspondant à des amas de cellules sanguines hémolysées (Pierson et Ginther, 1987b). La cavité centrale du corps jaune cavitaire a un diamètre compris entre 2 à 22 mm (83%, 59% et 24% des cavités ont un diamètre respectivement supérieur à 6, 9 et 20 mm). Cette cavité

centrale peut persister ou au contraire disparaître au cours du cycle. En cas de fécondation, ces larges cavités peuvent être détectées jusqu'au 28ème, voire 48ème jour de gestation (Hanzen, 2009a). La présence d'un corps jaune cavitaires n'influence ni le délai de retour en chaleurs, ni la progestéronémie au 10ème jour du cycle, ni le pourcentage de gestation. Il n'existe pas une tendance à voir apparaître une cavité centrale d'un cycle à l'autre chez un même animal (Kaneda *et al.*, 1980 ; Kito *et al.*, 1986 ; Fieni *et al.*, 1998 ; Hanzen, 2009a).

II.6. Echographie de l'ovaire inactif

L'ovaire inactif s'associe avec l'anœstrus et est caractérisé par l'absence des grands follicules, l'absence des corps jaune, et la présence des petits follicules mesurant moins de 4 mm de diamètre (DesCôteaux *et al.*, 2010). (Figure 50)

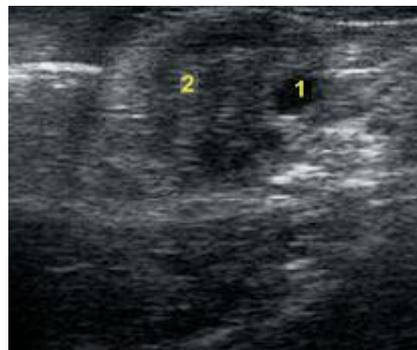


Figure 46: Image échographique d'un ovaire inactif : petit follicule de \varnothing moins de 4 mm (1) ; stroma ovarien (2) (DesCôteaux *et al.*, 2010)

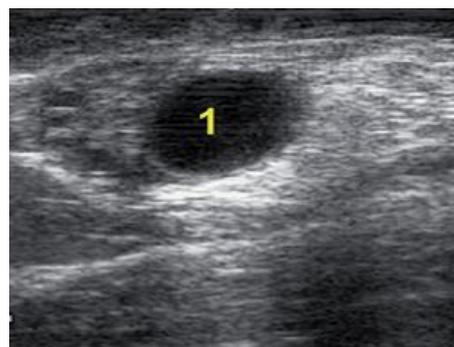


Figure 47: Image échographique d'un follicule de 16 mm sur l'ovaire gauche d'une vache en diœstrus (DesCôteaux *et al.*, 2010)

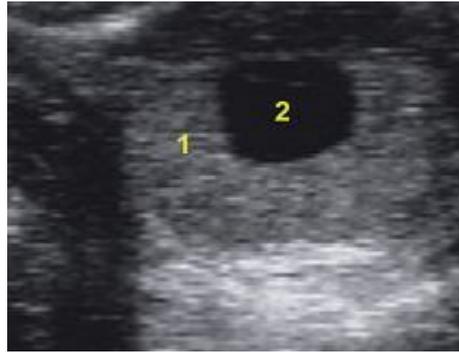


Figure 48: Image échographique d'un corps jaune cavitaire. 1 : tissu lutéal ; 2 : cavité (DesCôteaux et *al.*, 2010)

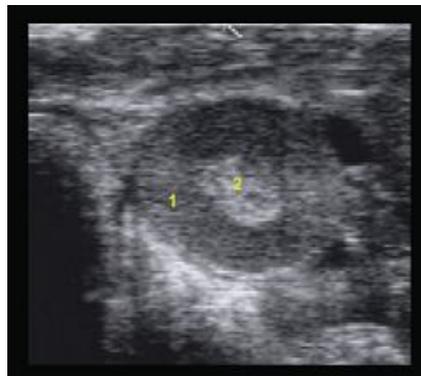


Figure 49: Image échographique d'un corps jaune cavitaire. La cavité commence à disparaître et être remplacée par un tissu hyperéchogène après le 10ème jour du cycle. 1 : Tissu lutéal ; 2 : zone hyperéchogène (DesCôteaux et *al.*, 2010)

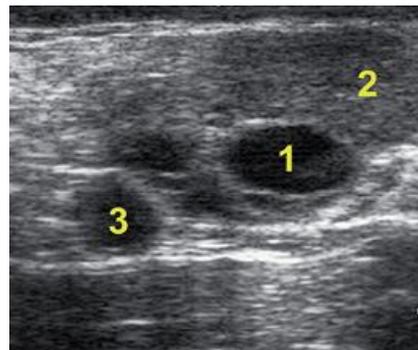


Figure 50: Image échographique de l'ovaire d'une vache en diestrus portant un follicule (1), un corps jaune (2) et un vaisseau sanguin (3) (DesCôteaux et *al.*, 2010)

II.7. Echographie des formations kystiques

Les kystes ovariens sont définis comme des structures liquidiennes dont le diamètre est supérieur à 25 mm. En absence de corps jaune, ils persistent sans évoluer pendant plus de 10 jours (Fieni *et al.*, 1998 ; Maarten et Pieterse, 1998).

Leur fréquence est comprise entre 3 et 29% (Hanzen *et al.*, 1993). Un kyste ne doit pas être considéré systématiquement comme pathologique, dans certaines conditions, la présence d'un kyste ne perturbe pas un fonctionnement normal de l'ovaire. Si un kyste folliculaire est présent en même temps qu'un corps jaune, la vache cyclée peut être fécondée. Par ailleurs, en début de post-partum, la première vague de croissance folliculaire aboutit dans environ 20% des cas à la formation d'un kyste qui régresse ultérieurement sans conséquence. Mialot *et al.*, (2001 ; 2003)

Il existe deux types de kystes ovariens : les kystes folliculaires et les kystes lutéaux. Compte tenu de leur taille importante et de leur persistance sans évolution dans le temps par rapport aux autres organites (follicule, corps jaune), le vétérinaire met facilement en évidence un kyste ovarien par palpation transrectale. En revanche, il lui est impossible de distinguer un kyste folliculaire d'un kyste lutéal par ce simple examen. Pourtant, ceci est important car cela conditionne le choix thérapeutique. L'échographie permet de différencier ces deux types de kyste (Jeffcoate et Ayliffe, 1995 ; Jou *et al.*, 1999 ; Dobson *et al.*, 2001 ; Hanzen *et al.*, 2007). Le kyste folliculaire est un follicule qui ne s'est pas lutéinisé (Chastant-Maillard *et al.*, 2003a). Il présente donc les mêmes caractéristiques échographiques que le follicule dont il ne se différencie que par sa taille et sa persistance sans évolution. Il est anéchogène donc noir à l'écran et est accompagné d'un artéfact de renforcement postérieur, Ce kyste a un diamètre supérieur à 25 mm et une paroi très fine (< 5 mm) (Hanzen *et al.*, 1993). Lorsqu'il est seul sur l'ovaire, le kyste folliculaire a une forme sphérique, Lors de pressions exercées par des structures adjacentes présentes sur l'ovaire, la sonde échographique ou les doigts de l'opérateur, il perd sa forme sphérique et apparaît à l'écran comme un disque noir déformé du côté où s'exerce la pression.

Le kyste folliculaire lutéinisé ou kyste lutéale possède à sa périphérie du tissu lutéal d'une épaisseur de quelques mm (≤ 5 mm), entourant une cavité centrale anéchogène d'un diamètre égale ou supérieur à 25 mm. Cette cavité est dans certains cas entrecoupée par des trabécules conjonctifs échogènes (Hanzen, 1993).

L'augmentation de l'épaisseur de la paroi est corrélée positivement avec le taux de progestérone et négativement avec le taux d'œstradiol du liquide folliculaire (Scott et Dobson, 1997).

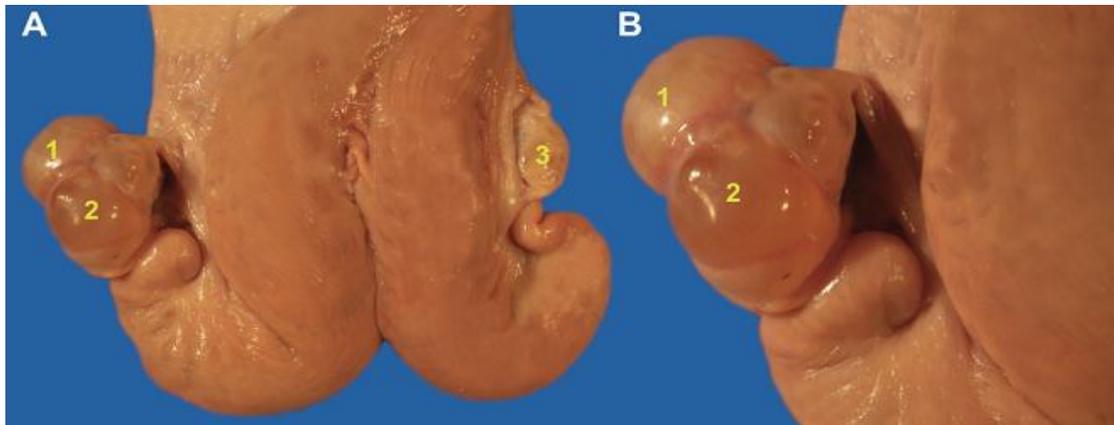


Figure 51: Appareil génital d'une vache en anœstrus montrant un ovaire droit polykystique et un ovaire gauche inactif. 1 : kyste folliculaire (3,7 cm) ; 2 : kyste folliculaire (3 cm) ; 3 : ovaire inactif (DesCôteaux et *al.*, 2010)

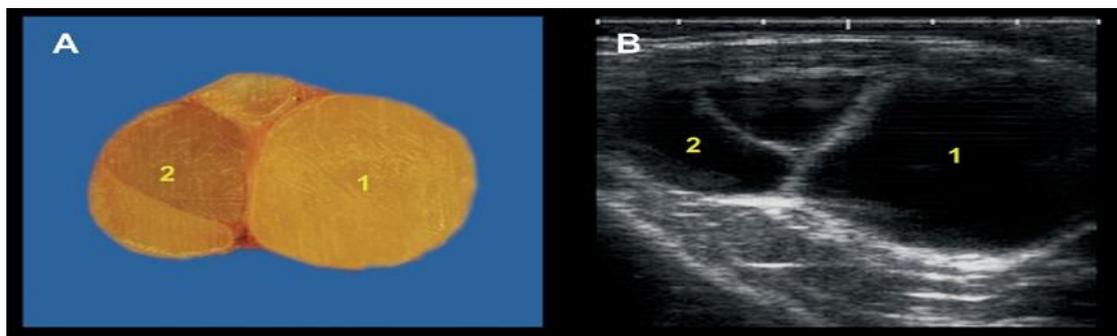


Figure 52: A = section d'ovaire polykystique ; B = image échographique de ces kystes folliculaires (DesCôteaux et *al.*, 2010).

A la différence de ces deux formations kystiques, le corps jaune cavitaire (ou kystique) ne résulte pas d'une absence de rupture du follicule. Le diagnostic différentiel repose sur la taille et sur la forme de ces structures. Le corps jaune cavitaire possède une cavité habituellement inférieure à 25 – 30 mm et une paroi d'épaisseur comprise entre 5 et 10 mm Elle est généralement ovalaire alors que celle du kyste est plus sphérique. Enfin, la cavité centrale du corps jaune tend à régresser à partir du dixième jour du cycle et le corps jaune lui-même disparaît après le 18ème jour, tandis qu'un kyste lutéal persiste sans évoluer (Hanzen *et al.*, 1993). (Figure 53 et 54)

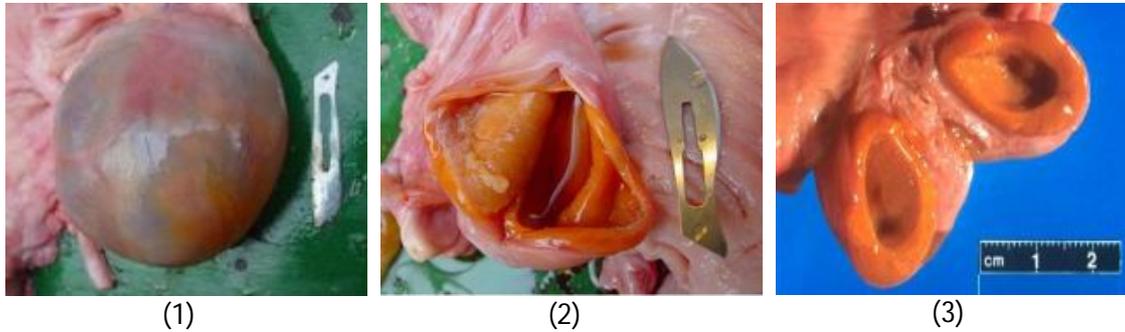


Figure 53: (1)Kyste folliculaire,(2) Kyste lutéal, (3) Corps jaune cavitaire (Hanzen, 2009c)

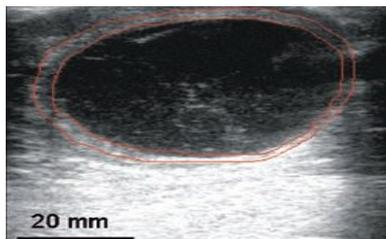


Image échographique d'un kyste folliculaire. la présence d'une zone hyperéchogène à la partie inférieure du kyste.

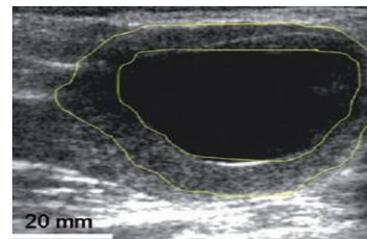


Image échographique d'un kyste folliculaire lutéinisé. Le tissu lutéal est délimité par les deux lignes jaunes.

Figure 54: Diagnostic échographique différentiel entre kyste folliculaire et kyste folliculaire lutéinisé (Hanzen et *al.*, 1993).

II.8. Diagnostic différentiel des organites ovariens

Tableau 14: Diagnostic différentiel des organites ovariens par échographie chez la vache (Chastant-Maillard et *al.*, 2003a)

Affection ou élément anatomique	Caractéristiques de la zone anéchogène Particularités de la structure	Caractéristiques de la paroi entourant la zone anéchogène
Follicule	Contours de l'ovaire visibles sur l'écran Zone sphérique Contenu parfaitement anéchogène entouré d'une paroi fine	Paroi 1 à 2 mm
Corps jaune	Contours de l'ovaire visibles sur l'écran Sphérique +/- bouchon de champagne Echogénicité moyenne, homogène (sauf renforcement hyperéchogène en son centre) Dans 40% des cas, cavité anéchogène entourée d'une paroi épaisse	Si la cavité existe paroi de 5 mm minimum
Kyste folliculaire	Zone anéchogène de diamètre > 25 mm Parfois flocons grisâtres en suspension Fréquemment plusieurs sur le même ovaire	Paroi 1 à 2 mm
Kyste lutéal	Zone anéchogène > 25 mm - Souvent travées conjonctives traversant la lumière	Paroi épaisse > 3-5 mm
Vaisseaux utérins	Pouls visible et palpable Lumière prenant une forme allongée lors du changement d'orientation de la sonde	Paroi 1 à 2 mm très échogène
Gestation précoce	Lumière à peu près circulaire (au moins jusqu'à 35 j) Visualisation de l'embryon et/ou des cotylédons Position de la sonde	Echogénicité tissulaire (grisâtre) Epaisseur d'environ 5 mm
Vessie	Lumière piriforme Éléments en suspension Position de la sonde	Paroi fine (2-3 mm) parfois multi-lamellaire

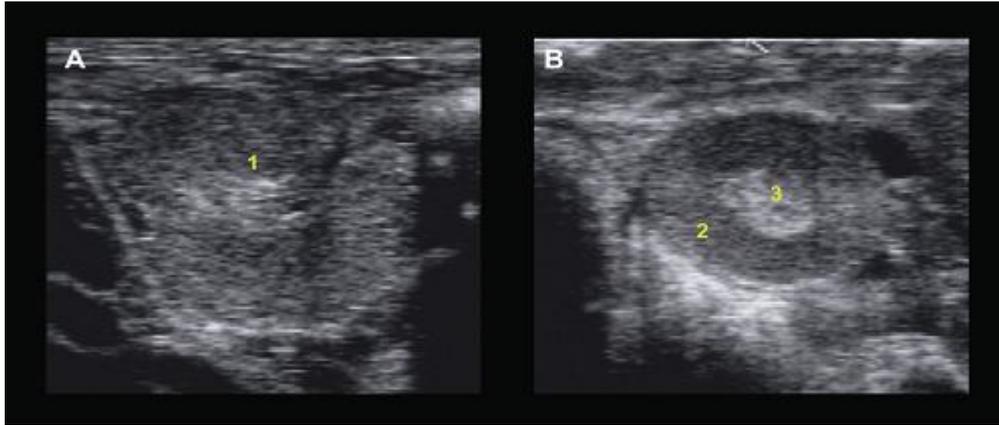


Figure 55: Diagnostic différentiel entre corps jaune et Placentome. A : Placentome ; B : CL ; 1 : Placentome ; 2 : Tissu Lutéal ; 3 : zone centrale hyperéchogène (DesCôteaux et *al.*, 2010).

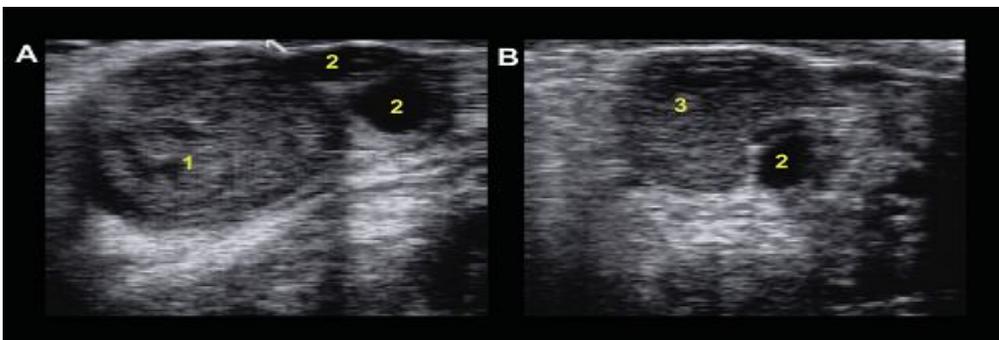


Figure 56: Diagnostic différentiel entre corps jaune et abcès ovarien. A : Abcès ovarien ; B : CL ; 1 : Abcès ; 2 : Follicule ; 3 : Corps jaune (DesCôteaux et *al.*, 2010)

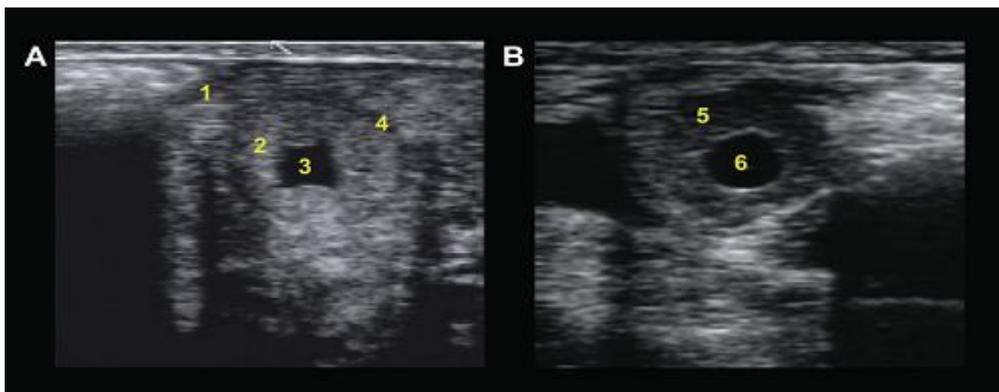


Figure 57: Diagnostic différentiel entre corps jaune cavitaire et coupe transversale de la corne utérine.

A : coupe transversale de l'utérus en phase œstrale ; B : corps jaune cavitaire ; 1 : Myomètre ; 2 : Endomètre ; 3 : Lumière utérine avec un liquide anéchogène ; 4 : couche vasculaire du myomètre ; 5 : tissu lutéal ; 6 : cavité du corps jaune (DesCôteaux *et al.*, 2010)

II.9. Intérêt de l'échographie dans l'évaluation des structures ovariennes

L'établissement d'un diagnostic correct et le choix d'une thérapeutique appropriée dépendent notamment d'une interprétation exacte des structures ovariennes normales ou pathologiques. La détection d'un corps jaune hémorragique ou d'un corps jaune en voie de lutéolyse est difficile, que ce soit par palpation manuelle ou par échographie (Pieterse *et al.*, 1990). La difficulté de détection du corps jaune hémorragique par palpation manuelle est imputable à sa petite dimension et à sa faible échogénicité lors de son diagnostic par échographie. En phase de régression, l'échogénicité du corps jaune est semblable à celle du stroma ovarien ce qui en explique la difficulté diagnostique par échographie. Il est donc utile d'examiner également le reste du tractus génital pour préciser le diagnostic à ces stades du cycle.

Par rapport à la palpation manuelle, l'échographie constitue une méthode de diagnostic plus exacte pour confirmer la présence (degré d'exactitude : 85 à 91% vs 73 à 88%) ou l'absence (degré d'exactitude : 78 à 88% vs 70 à 93%) d'un corps jaune âgé de 5 à 16 jours (Pieterse *et al.*, 1990 ; Sprecher *et al.*, 1989 ; Watson et Munro, 1980 ; Ott *et al.*, 1986). L'une et l'autre méthode permettent de confirmer la présence d'un corps jaune fonctionnel mieux que son absence.

Il existe une corrélation ($r = 0,68$) entre la taille du corps jaune évaluée par échographie et la progestéronémie (Sprecher *et al.*, 1989). Une structure lutéale d'un diamètre supérieur à 11 mm s'accompagne d'une progestéronémie supérieure à 5 ng/ml. Une telle corrélation n'a pas été décrite pour la palpation manuelle (Watson et Munro, 1980 ; Mortimer *et al.*, 1983)

Bien qu'il soit possible, de diagnostiquer par échographie (sonde de 5 ou 7,5 MHz) les follicules de taille inférieure à 5 mm, cette technique ne permet de dénombrer que 34% des follicules ovariens de diamètre compris entre 5 et 10 mm. Une amélioration de cette détermination peut être obtenue par l'utilisation d'une sonde de 7,5 MHz ou par l'analyse d'enregistrements vidéos (Quirk *et al.*, 1986 ; Sirois et Fortune, 1988). Certains auteurs ont obtenu une corrélation comprise entre 80 et 97% entre les dimensions mesurées au moyen d'une sonde de 5 MHz et celles mesurées au microscope (Pierson et Ginther, 1987 b).

Comparée à la palpation manuelle, l'échographie est significativement plus performante pour la détection des follicules de diamètre supérieur à 10 mm, puisque ces derniers ont été diagnostiqués dans 96% des cas par échographie et dans 72% des cas par la palpation manuelle (Kahn et Leidl, 1986 ; Pieterse *et al.*, 1990)

L'examen échographique permet de faire de manière plus précise que l'examen par palpation manuelle le diagnostic des kystes ovariens qu'ils soient de nature folliculaire ou lutéale (Sprecher *et al.*, 1988, Farin *et al.*, 1990, 1992). Comparée à la palpation manuelle (sensibilité 50% et spécificité 62% ; Sprecher *et al.*, 1988), l'échographie permet de détecter de manière plus exacte les kystes lutéaux que les kystes folliculaires (sensibilité 92%, spécificité 70%) (Farin *et al.*, 1990).

Matériels et méthodes

1. Objectifs

Les objectifs de cette étude sont de comparer l'intérêt et l'efficacité de l'échographie à diagnostiquer le statut lutéal ovarien par rapport à la palpation transrectale, et de déterminer la sensibilité et l'exactitude de l'échographie à diagnostiquer un corps jaune fonctionnel et d'évaluer la concordance entre l'échographie et l'analyse de la progestérone (P4) pour la classification des corps jaunes, selon l'état fonctionnel, en corps jaunes évolutifs et corps jaunes du milieu du cycle œstral.

2. Animaux

Cinquante (50) vaches appartenant à deux élevages de vaches laitières dans la région de Tiaret, de race Holstein pie noire, de différents âges et dont l'historique reproductif est inconnu, font l'objet de cette étude. Les vaches ne sont pas sélectionnées et aucune anamnèse recherchant des informations sur le cycle œstral ou le statut reproductif n'est faite.

3. Protocole expérimental

Un examen transrectal et un examen échographique sont réalisés sur chaque ovaire, dans le but de déterminer la présence, l'apparence échographique et le diamètre des corps jaunes. Immédiatement après l'examen échographique, un prélèvement sanguin est réalisé pour le dosage de la progestérone. Les examens échographiques et la palpation transrectale sont réalisés par deux opérateurs, l'un expérimenté (03 ans de d'utilisation de l'échographie) et l'autre ayant moins d'expérience (01 mois de pratique échographique), et ce dans le but de déterminer l'effet du facteur expérience sur la fiabilité des résultats.

Les critères retenus pour le diagnostic échographique des corps jaunes sont celles décrits par Hanzen, 1993 ; Hagen *et al.*, 2000 ; Fricke, 2002. Quant à la palpation rectale, les critères retenus pour le diagnostic sont décrits par Escouflaire (2003).

Les corps jaunes sont classés selon l'apparence échographique du tissu lutéal et selon la mesure du plus grand diamètre. Ces deux classifications sont comparées aux concentrations plasmatiques de la progestérone P4. Le degré de concordance entre la mesure échographique du diamètre et la concentration plasmatique de la progestérone P4, et entre l'apparence échographique du corps jaune et la concentration plasmatique de la progestérone P4 est calculé.

4. Contention des animaux

La contention représente un facteur important dans la rapidité de l'examen. En effet, on peut considérer que si l'examineur est expérimenté et la contention de bonne qualité, la durée de l'examen échographique sera alors optimale et approximativement la même que lors d'une palpation transrectale.

Dans cette étude, la préférence est donnée à l'organisation du chantier de travail de façon que l'échographe reste mobile, placé dans une brouette, les vaches étant à l'attache, et l'opérateur placé derrière. Cette méthode offre l'avantage d'être rapide et donc la possibilité d'examiner un grand nombre de vaches en peu de temps. Cependant, l'appareil, placé juste derrière les animaux, est exposé aux coups de pieds qui pourraient, pour la majorité, être évités en plaçant la brouette à bonne distance des vaches.

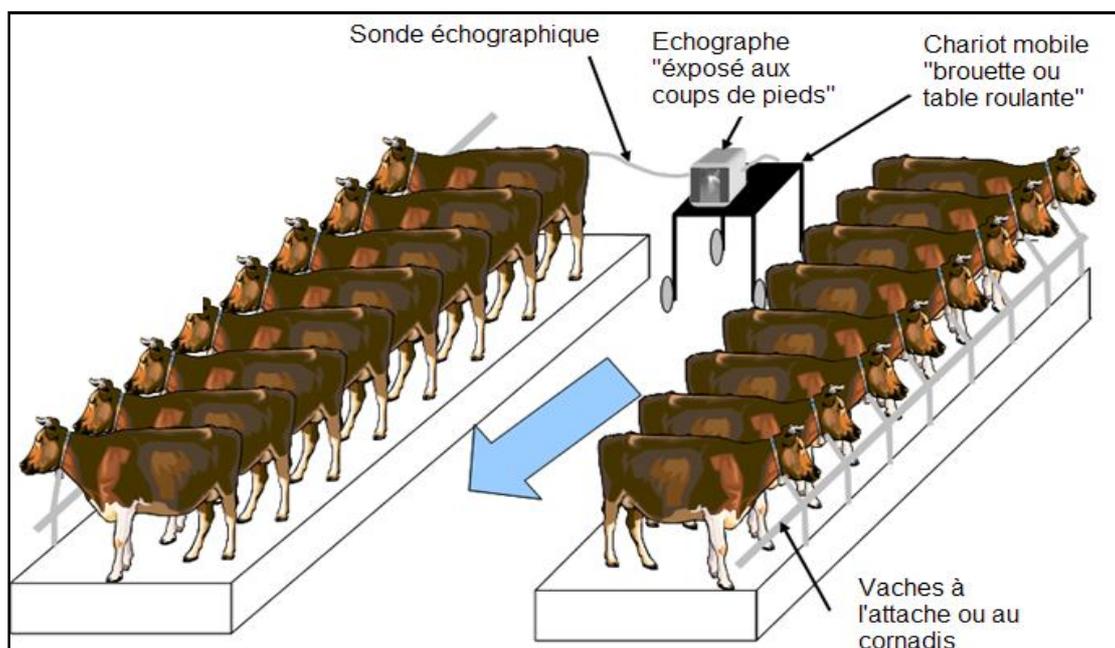


Figure 1 : Organisation du chantier lorsque les vaches sont à l'attache

5. La palpation transrectale

Deux examens sont réalisés sur chaque vache pour rechercher les structures présentes sur chaque ovaire, afin de déterminer la présence ou l'absence d'un corps jaune. Un premier examen consiste en une palpation transrectale après avoir vidangé les excréments contenus

dans le rectum. On commence par rechercher le corps et les cornes utérines, puis on repère les deux ovaires droit et gauche. Chaque ovaire est palpé minutieusement pour rechercher les organites qu'il porte afin de déterminer la présence ou l'absence d'un corps jaune sur chacun des deux ovaires.

La première démarche consiste à s'assurer que les ovaires sont de tailles différentes, le plus petit d'entre eux est l'ovaire au repos. Il convient de considérer que la différence de taille entre les deux ovaires équivaut à la taille d'une formation surajoutée, ou organite, présente sur l'ovaire fonctionnel : $\text{volume ovaire fonctionnel} = \text{volume ovaire au repos} + n \text{ organite}$.

L'examen commence par la palpation rapide de l'ovaire au repos, pour apprécier son volume et sa surface. De petites formations granuleuses (1 à 2 mm de diamètre) à la surface de l'ovaire ne sont pas forcément des corps jaunes peu extériorisés, mais peuvent être des corps blancs c'est-à-dire des résidus non fonctionnels de corps jaunes des cycles précédents. Si rien n'attire l'attention, on passe au second ovaire. L'ovaire supposé fonctionnel peut avoir une taille voisine de celle de l'ovaire au repos. Un examen minutieux est alors nécessaire pour vérifier l'absence ou la présence de toute formation surajoutée (Escouflaire, 2003)

Les critères retenus pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune sont celles évoquées par Escouflaire (2003). Quatre éléments fondamentaux sont appréciés :

- La présence d'un sillon disjoncteur entre l'organite et l'ovaire.
- Le caractère de la surface de l'organite qui est rugueuse.
- La présence d'une cicatrice d'ovulation.
- La texture dure.



Figure 2 : méthodologie de la palpation des ovaires.

6. L'examen échographique

Après la palpation transrectale, un examen transrectal des ovaires est réalisé par un échographe de marque Pie Médical équipé d'une sonde linéaire d'une fréquence de 8 MHz (échographie en temps réel, de mode BD). Cette fréquence de la sonde donne accès à une profondeur limitée à 7-8 cm, mais présente l'avantage d'avoir une meilleure résolution (1 mm), permettant un examen des follicules et corps jaunes dans les meilleures conditions et facilitant ainsi l'interprétation des images échographiques.

7. Réalisation de l'examen échographique

Au préalable, la sonde enduite de gel de contact est recouverte d'une gaine plastique à usage unique. Pour des raisons sanitaires, entre chaque vache, le gant et la gaine sont changés, ceci évitant d'une part les contaminations de vache à vache (BVD, leucose) même si ce mode de contamination est mineur, et d'autre part protégerait la sonde des produits désinfectants et des fèces qui sont corrosives pour les matériaux la constituant (Mercier-Parisot, 1991).

La sonde est tenue fermement et recouverte par la main de l'opérateur de telle sorte que son extrémité ne blesse pas la muqueuse rectale et que son côté émetteur soit dirigé vers le bas puisque c'est une sonde linéaire. Si l'animal pousse trop, par réaction réflexe à l'irritation de la muqueuse provoquée par l'examen, il faut attendre que cette onde péristaltique soit passée, et ne pas lutter contre celle-ci, car on risquerait de blesser l'animal et les images obtenues seraient de mauvaise qualité du fait du défaut de contact entre la sonde et la paroi rectale en contraction.

Pour commencer l'examen, on recherche des repères tactiles et imagés afin de faciliter l'examen des organes à échographier. Les repères tactiles sont :

- La protubérance pubienne, crânialement, qui marque la fin de la filière pelvienne et le début de la cavité abdominale. C'est à ce niveau que l'on peut espérer trouver le col et le début du corps utérin.
- Le col reconnaissable à sa consistance très ferme.
- Les branches de l'ilium, en avant desquelles on recherche les ovaires.

Les repères imagés sur l'écran sont la vessie, la coupe longitudinale, puis transversale de l'utérus (col et corps utérin) (Le Roux-Kouman, 2002)

Tout d'abord, c'est la vessie qui est visualisée en coupe longitudinale. Elle apparaît comme une structure anéchogène délimitée par une paroi échogène. Puis, au-dessus et crânialement à cet organe, le col et le corps utérins sont examinés (coupe longitudinale) en maintenant le faisceau ultrasonore dans le plan médian de la filière pelvienne. L'utérus présente des contours plus échogènes que son contenu, qui n'est cependant jamais totalement vide d'échos. Ensuite, on fait progresser la sonde crânialement, les cornes utérines sont successivement mises en évidence en déplaçant ou en inclinant la sonde d'un côté ou de l'autre. Les cornes utérines étant repliées sur elles-mêmes, plusieurs coupes transversales de cornes peuvent être observées simultanément à l'écran (Chevalier, 1988)

Pour réaliser l'examen échographique des ovaires, la sonde échographique est placée par voie transrectale au niveau de la bifurcation des cornes utérines puis elle est déviée dans son axe longitudinal, latéralement, en direction de la branche montante de l'ilium. Les ovaires sont généralement visualisés dans cette direction. Cependant, les ovaires chez la vache sont relativement mobiles et ne sont pas toujours visibles dans l'angle de la sonde. Dans ce cas, on tient la sonde dans le creux de la main et on palpe et saisit l'ovaire par l'extrémité des doigts. L'ovaire est alors plaqué contre la branche montante de l'ilium et la sonde échographique disposée par-dessus pour faciliter l'examen et obtenir une image échographique facile à interpréter.

Des artéfacts de réverbération sont observés lors de mauvais contact entre la sonde protégée et la muqueuse rectale ou lors de présence de bulles d'air au sein du gel de contact contenu dans la gaine protectrice. Pour obtenir une meilleure transmission des ultrasons, il faut chasser la bulle d'air ou appuyer plus fermement sur l'utérus avec la sonde après avoir enlevé à l'aide d'un doigt les matières fécales situées entre la sonde et la muqueuse rectale.

Il faut souligner que l'échographie des ovaires ne se limite pas à une coupe mais est une vue dynamique des organites ovariens. Les différents organites, en particulier les follicules, peuvent être différenciés en faisant varier l'angle d'incidence du train d'ondes émises par la sonde.

En premier lieu, on réalise un examen échographique de l'ovaire. Ce dernier étant un tissu dense, il est caractérisé par une échostructure hétérogène, en raison de la présence de petits follicules intra-ovariens ou de vaisseaux sanguins apparaissant comme des tâches noires de 2

à 4 mm de diamètre. La zone médullaire, dépourvue de follicules en croissance, apparaît globalement plus échogène que les structures environnantes. La présence d'organite, en particulier du corps jaune, rend difficile l'appréciation du stroma ovarien car il envahit une grande partie de l'ovaire (Hagen *et al.*, 2000).

Les différentes structures présentes sont identifiées selon les critères décrits par Kähn (1994). Les structures ovalaires ou rondes à paroi fine et dont le contenu anéchogène ne dépasse pas 2 cm de diamètre sont identifiées comme des follicules.

Les structures ovalaires d'échogénicité tissulaire, grossièrement granuleuse, se différenciant nettement du stroma ovarien, plus clair, sont identifiées comme des corps jaunes. Lorsque l'échographie montre au sein de ce même type de structure une collection de liquide anéchogène de diamètre inférieur à 2 cm, cette structure est identifiée comme un corps jaune cavitaire. Lorsque cette cavité anéchogène dépasse 2 cm de diamètre, avec une paroi de plus de 3 mm, cette structure est identifiée comme un kyste lutéal. Les kystes lutéaux sont différenciés des kystes folliculaires par l'épaisseur et le type d'échogénicité de leur paroi. Les kystes folliculaires ont également une cavité contenant un liquide anéchogène de plus de 2 cm de diamètre, mais leur paroi est très fine (moins de 3 mm) et apparaît plus échogène que celle des kystes lutéaux.

On classe les corps jaunes sur la base de leur diamètre et leur apparence échographique en deux groupes. Pour une évaluation précise du diamètre des corps jaunes, la mesure est faite deux fois, et seulement le plus grand diamètre des deux prises est inclus pour la classification.

La méthode utilisée pour classer les corps jaunes sur la base de leur apparence échographique et de leur diamètre est celle utilisée par Battocchio *et al.*, (1999) pour classer les corps jaunes en corps jaune évolutifs et corps jaunes du milieu du cycle (corps jaunes matures).

Selon Battocchio *et al.*, 1999 :

- Le corps jaune évolutif est caractérisé par une structure grise foncée, sans limite bien distincte. Il est observé dans le 3-4^{ème} jour du cycle œstral, et 3-4 jours avant l'œstrus ultérieur. Dans ces deux cas, la progésterone (P4) plasmatique varie entre 1 et 4 ng/ml.
- Le corps jaune du milieu du cycle (mature) est caractérisé par une apparence granulaire bien définie, grisâtre et nettement et proprement séparé du stroma ovarien par une limite noire. Parfois, une cavité centrale est découverte dans le milieu de la zone grisâtre du corps

jaune. Les corps jaunes du milieu du cycle sont observés entre le 7^{ème} et le 17^{ème} jour du cycle œstral. Dans ce cas, la concentration plasmatique de la progestérone (P4) plasmatique est supérieure à 4 ng/ml.

- Selon la mesure du diamètre, le corps jaune < 20 mm est considéré comme étant évolutif, alors que le corps jaune > 20 mm est considéré comme étant un corps jaune du milieu du cycle.

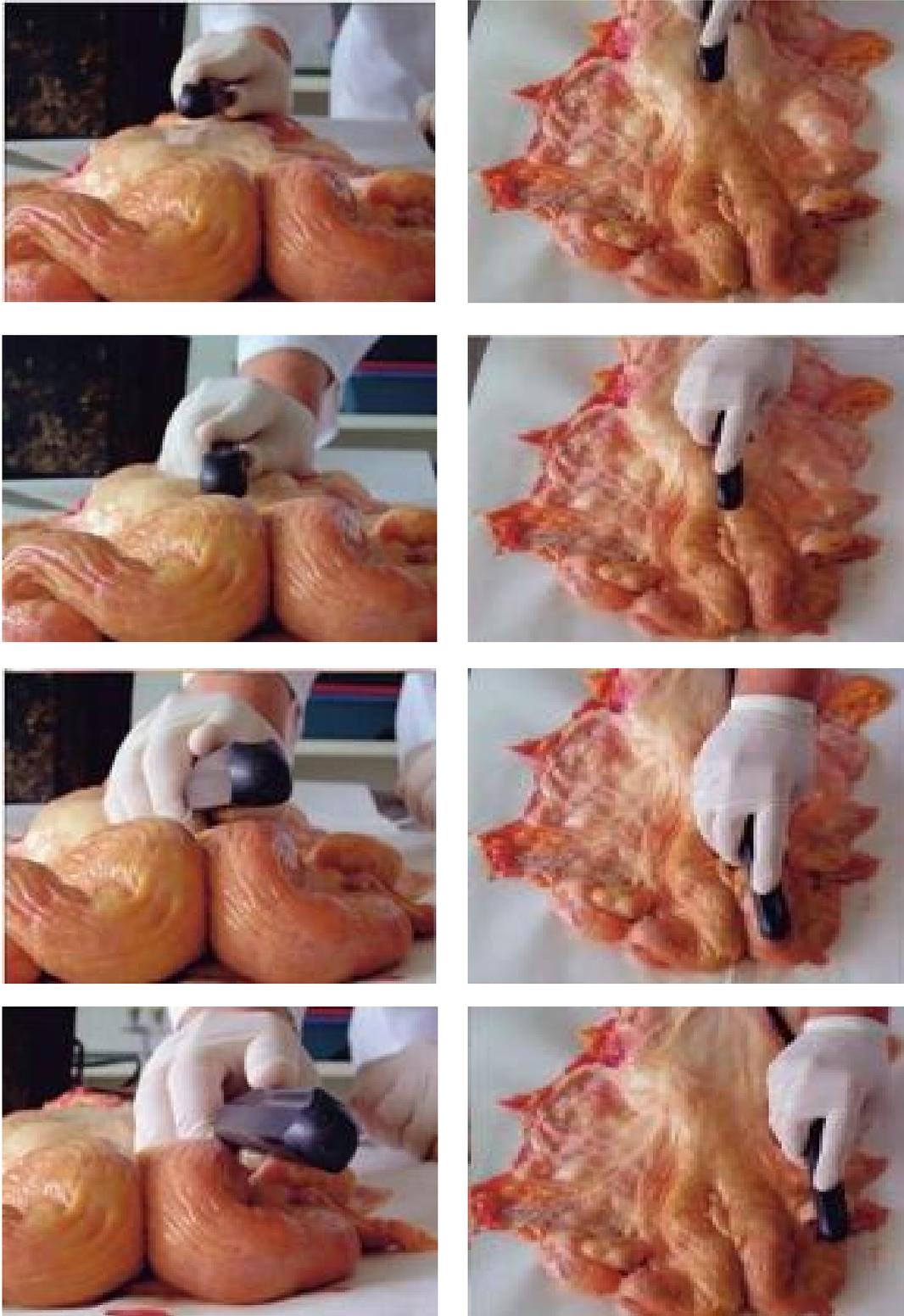


Figure 3 : Comment atteindre et explorer les ovaires de la vache.

8. Analyse de la progestérone (P4)

Immédiatement après l'examen échographique, des échantillons de sang sont prélevés sur chaque vache, à la veine coccygienne. 5 ml de sang veineux sont prélevés dans des tubes héparinés (DIMED, Algérie).

Les échantillons sont conservés au froid (+ 6°C) pendant 30 minutes, puis centrifugés pendant 10 min (1.600 g), puis le plasma est conservé à - 20°C (Vahdat *et al.*, 1981 et 1984 ; Breuel *et al.*, 1988 ; Pulido, 1991) jusqu'à l'analyse de la P4 par une méthode immuno-enzymatique (Bayemi *et al.*, 2007) (Annexe 1), tenant en compte que la progestérone n'est pas spécifique de l'espèce (Cavestani, 2004)

Cette technique d'analyse (ELISA indirecte) repose sur le principe d'une fixation compétitive entre la progestérone dans l'échantillon et un conjugué enzymatique hormonal à un nombre limité d'anticorps anti-progestérone immobilisés.

Ainsi, la quantité du conjugué enzymatique hormonal fixé est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans les échantillons. Après incubation des échantillons et du conjugué enzymatique hormonal, le conjugué non fixé est lavé. La solution de substrat est ajoutée et une couleur bleue se développe. L'intensité de cette couleur, qui change vers le jaune après arrêt de la réaction, est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans l'échantillon.

L'absorbance des calibreurs et des échantillons est déterminée avec un lecteur ELISA. Les concentrations des échantillons sont extrapolées à l'aide d'une courbe de calibrage réalisée en utilisant des calibreurs de sérum avec des concentrations de progestérone connues. La lecture de l'absorbance se fait à 450 nm.

La sensibilité analytique de ce test est de 0,03-0,07 ng/ml d'échantillon.

9. Etude statistique

L'efficacité des deux méthodes de diagnostic (palpation transrectale et l'examen échographique) est estimée par le calcul de la sensibilité, de la spécificité, de la valeur prédictive positive et de la valeur prédictive négative.

Les résultats sont répartis en 2 × 2 dans des tableaux de contingence pour la comparaison.

Tableau 1 : Tableau de comparaison

Résultats	Présence	Absence	Total
Positifs (+)	a	b	a + b
Négatifs (-)	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

- Situation a : vrai positif
- Situation b : faux positif
- Situation c : faux négatif
- Situation d : vrai négatif

La sensibilité de la méthode évalue sa capacité à détecter les animaux positifs. Elle s'exprime par le rapport : $a/a+c$

La spécificité de la méthode évalue sa capacité à détecter les animaux négatifs : elle s'exprime par le rapport : $d/b+d$

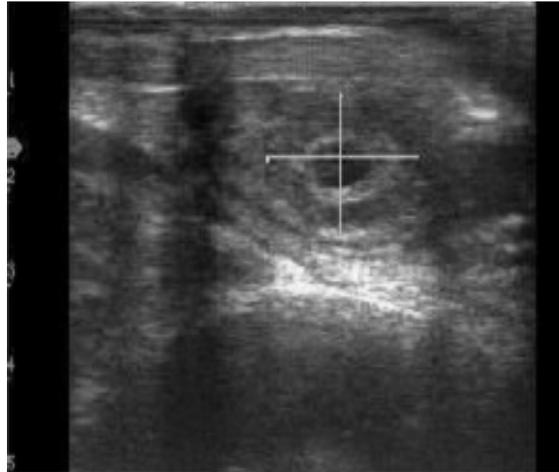
Les degrés d'exactitude (+ ou -) de la méthode ont davantage une valeur pronostique. Le degré d'exactitude des constats de la présence d'un organite ovarien (valeur prédictive positive) s'exprime par le rapport : Valeur prédictive positive = $a/a+b$, et celui des constats d'absence de l'organite ovarien (valeur prédictive négative) par le rapport : Valeur prédictive négative = $d/c+d$. Ces rapports expriment la probabilité que le diagnostic posé se révèle exact ou inexact.

Dans notre comparaison des différentes données, catégoriquement organisées pour voir la concordance entre l'échographie et l'analyse de la progestérone (P4), on calcule le coefficient K (kappa) de Cohen qui mesure l'accord entre observateurs lors d'un codage qualitatif en catégories (deux codeurs seulement). Pour une mesure de l'accord entre plus de deux codeurs, on utilise le coefficient kappa pondéré (kappa de FLEISS ou K_w) (Fleiss, 1981).

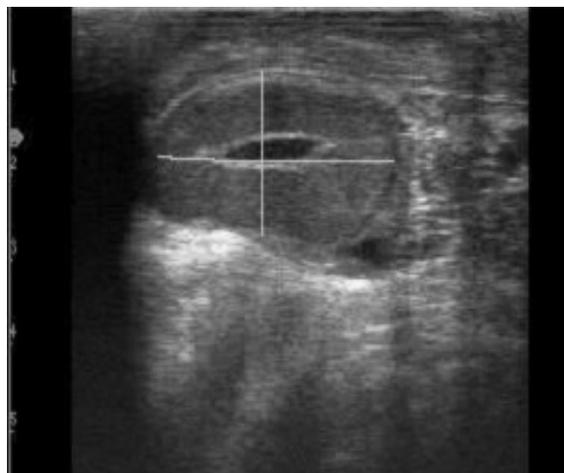
Interprétation des valeurs de K / K_w :

- $K \geq 0,80$ indique une concordance excellente.
- K entre 0,60 et 0,80 indique une bonne concordance.
- K entre 0,40 et 0,60 indique une concordance modérée.
- $K < 0,40$ indique une mauvaise concordance.

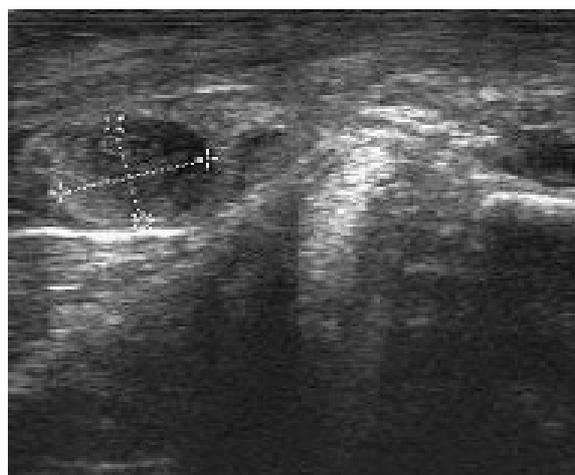
Les calculs de sensibilité, spécificité et valeurs prédictives sont réalisés à l'aide du programme Excel 2007 incluant une macro (obtenue du site web www.xlstat.com) pour le calcul des valeurs de K et K_w .



Corps jaune évolutif



Corps jaune du milieu du cycle



Corps jaune en régression, à J 19 du cycle

Figure 5 : Classification fonctionnel des corps jaunes par échographie.

Résultats

I. Résultats des examens faits par l'opérateur non expérimenté

I.1. Palpation transrectale

Le tableau 1 montre que suite à l'examen des ovaires par palpation transrectale, l'opérateur non expérimenté a pu diagnostiquer 30 vaches présentant un corps jaune et 20 vaches ne présentant aucune structure lutéale décelable à la main sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 1 : Diagnostic de présence ou absence des corps jaunes par palpation transrectale lorsque l'opérateur manque d'expérience

Statut ovarien	Absence	Présence
Palpation rectale	20	30

I.2. Examen échographique

Le tableau 2 montre que suite à l'examen des ovaires par échographie transrectale, l'opérateur non expérimenté a pu diagnostiquer 30 vaches présentant un corps jaune et 20 vaches ne présentant aucune structure lutéale décelable par échographie sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 2 : Diagnostic de présence ou absence des corps jaunes par examen échographique lorsque l'opérateur manque d'expérience

Statut ovarien	Absence	Présence
Echographie	20	30

I.3. Dosage de la progesterone

Les résultats du dosage de la progesterone (P4) plasmatique résumées dans le tableau 3 montrent que sur les 50 vaches examinées, 37 vaches présentent un corps jaune et 13 vaches ne présentent aucune structure lutéale décelable sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 3 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par analyse de la progestérone (P4) plasmatique

Statut ovarien	Absence	Présence
Progestérone	13	37

I.4. Comparaison entre la palpation transrectale et le dosage de la progesterone

Le tableau 4 montre les résultats des vrais positifs (24) et faux positifs (6), et les résultats des vrais négatifs (7) et faux négatifs (13) obtenus par l'opérateur non expérimenté suite à l'examen des ovaires par palpation transrectale et ce par comparaison des résultats de la palpation transrectale des deux ovaires gauche et droit de chaque vache, avec les résultats du dosage de la progestérone plasmatique.

Tableau 4 : Diagnostic de présence ou absence du corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur manque d'expérience

Résultats	Présence	Absence	Total
Positif (+)	24	6	30
Négatif (-)	13	7	20
Total	37	13	50

I.5. Comparaison entre l'examen échographique et le dosage de la progesterone

Le tableau 5 montre les résultats des vrais positifs (22) et faux positifs (8), et les résultats des vrais négatifs (5) et faux négatifs (15) obtenus par l'opérateur non expérimenté suite à l'examen des ovaires par échographie, et ce par comparaison des résultats de l'examen échographique des deux ovaires gauche et droit de chaque vache, avec les résultats du dosage de la progestérone plasmatique.

Les résultats montrent que parmi les 37 corps jaunes confirmés présents suite au dosage de la progestérone, 24 sont diagnostiqués par palpation transrectale alors que l'échographie permet

de diagnostiquer 22 corps jaunes seulement, et ce indépendamment de leur état fonctionnel. Quant à l'absence des corps jaunes, l'échographie montre un résultat de faux négatifs plus important que la palpation transrectale (15 vs 13 corps jaunes parmi 13 cas d'absence de corps jaunes confirmés par analyse de progestérone), ce qui indique que la palpation rectale se révèle plus exacte que l'échographie lorsque l'opérateur manque d'expérience (tableaux 4 et 5).

Tableau 5: Diagnostic de présence ou absence du corps jaune par échographie transrectale (8 MHz) lorsque l'opérateur manque d'expérience

Résultats	Présence	Absence	Total
Positif (+)	22	8	30
Négatif (-)	15	5	20
Total	37	13	50

I.6. Comparaison entre la palpation transrectale et l'examen échographique

Par comparaison à la palpation transrectale, les résultats montrent que l'échographie est moins sensible (59,5% vs 64,9%) et moins spécifique (38,5% vs 53,8%) pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune, indépendamment de son état fonctionnel, lorsque l'opérateur manque d'expérience (tableau 6).

Tableau 6 : Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic des corps jaunes lorsque l'opérateur manque d'expérience

	Palpation transrectale	Echographie
Sensibilité	64,9%	59,5%
Spécificité	53,8%	38,5%
Valeur prédictive (+)	80,0%	73,3%
Valeur prédictive (-)	35,0%	25,0%

Les résultats indiquent que l'absence d'un corps jaune n'est pas aisément mise en évidence par les deux outils diagnostiques (palpation et échographie) lorsque l'opérateur manque d'expérience. Seulement 35% des cas se sont révélés exacts lors de la palpation rectale, mais qui restent toujours bien meilleurs que les résultats obtenus par examen échographique (25%). 75% des cas d'absence de corps jaune diagnostiqués par échographie se sont révélés être des faux négatifs, et 65 % des cas d'absence de corps jaune diagnostiqués par palpation transrectale se sont révélés être des faux négatifs (figure 1).

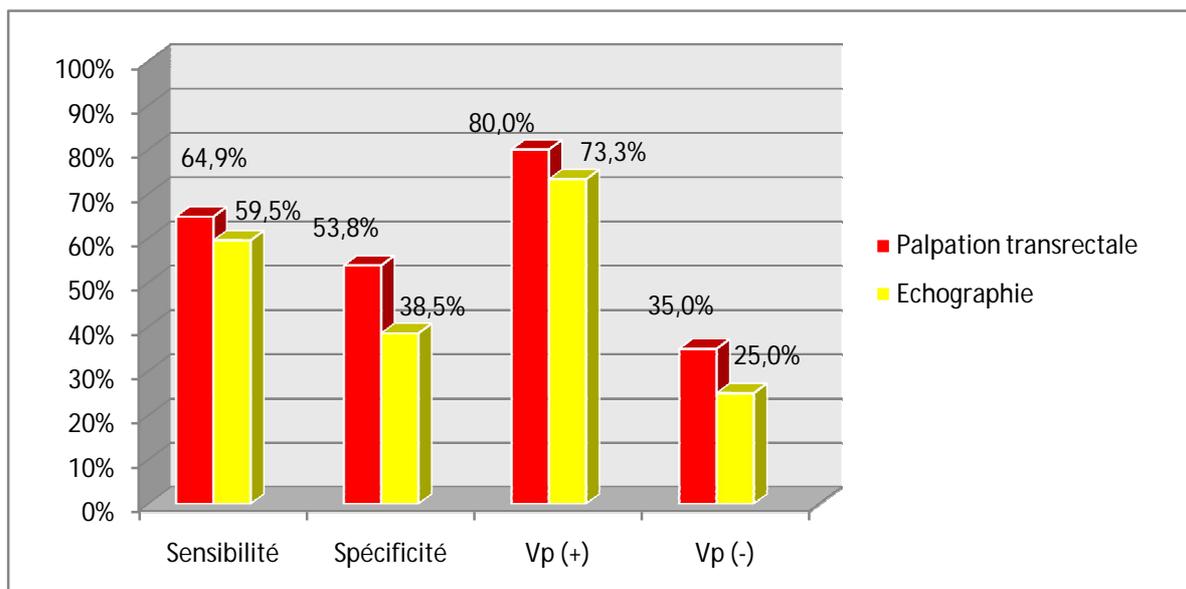


Figure 1 : Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur manque d'expérience

- Vp (+) : Valeur prédictive positive
- Vp (-) : Valeur prédictive négative

II. Résultats des examens faits par l'opérateur expérimenté

II.1. Palpation transrectale

Le tableau 7 montre que suite à l'examen des ovaires par palpation transrectale, l'opérateur expérimenté a pu diagnostiquer 30 vaches présentant un corps jaune et 20 vaches ne présentant aucune structure lutéale décelable à la main sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 7 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur est expérimenté.

<i>Statut ovarien</i>	<i>Absence</i>	<i>Présence</i>	
		<i>Corps jaune évolutif</i>	<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>
Résultats	20	30 *	

* L'opérateur est incapable de différencier entre corps jaune évolutif et corps jaune du milieu du cycle par palpation transrectale.

II.2. Examen échographique

Le tableau 8 montre que suite à l'examen des ovaires par échographie transrectale sur la base de mesure du diamètre des corps jaunes, l'opérateur expérimenté a pu diagnostiquer 35 vaches présentant un corps jaune dont 25 sont des corps jaunes du milieu du cycle et 10 des corps jaunes évolutifs ; et 15 vaches ne présentant aucune structure lutéale décelable par échographie sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 8 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par mesure du diamètre à l'examen échographique (8MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté

<i>Statut ovarien</i>	<i>Absence</i>	<i>Présence</i>	
		<i>Corps jaune évolutif</i>	<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>
Résultats	15	10	25

Tableau 9 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par évaluation de son apparence (échostructure) à l'examen échographique (8 MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté

<i>Statut ovarien</i>	<i>Absence</i>	<i>Présence</i>	
		<i>Corps jaune évolutif</i>	<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>
Résultats	15	12	23

Le tableau 9 montre que suite à l'examen des ovaires par échographie transrectale sur la base d'évaluation de l'apparence échographique des corps jaunes, l'opérateur expérimenté a pu diagnostiquer 35 vaches présentant un corps jaune dont 23 sont des corps jaunes du milieu du cycle et 12 sont des corps jaunes évolutifs ; et 15 vaches ne présentant aucune structure lutéale décelable par échographie sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

II.3. Dosage de la progesterone

Les résultats du dosage de la progesterone (P4) plasmatique résumés dans le tableau 10 montrent que sur les 50 vaches examinées, 37 présentent un corps jaune dont 22 sont des corps jaunes du milieu du cycle et 15 des corps jaunes évolutifs ; et 13 vaches ne présentent aucune structure lutéale décelable sur les deux ovaires gauche et droit de chaque vache.

Tableau 10 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par analyse de la progesterone (P4) plasmatique

<i>Statut ovarien</i>	<i>Absence</i>	<i>Présence</i>	
		<i>Corps jaune évolutif</i>	<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>
<i>Résultats</i>	13	15	22

II.4. Comparaison entre la palpation transrectale et le dosage de la progesterone

Le tableau 11 montre les résultats des vrais positifs (24) et faux positifs (6), et les résultats des vrais négatifs (7) et faux négatifs (13), obtenus par l'opérateur expérimenté suite à l'examen des ovaires par palpation transrectale et ce par comparaison des résultats de la palpation transrectale des deux ovaires gauche et droit de chaque vache avec les résultats du dosage de la progesterone plasmatique.

Tableau 11 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par palpation transrectale lorsque l'opérateur est expérimenté

<i>Résultats</i>	<i>Présence</i>	<i>Absence</i>	<i>Total</i>
<i>Positif (+)</i>	24	6	30
<i>Négatif (-)</i>	13	7	20
<i>Total</i>	37	13	50

II.5. Comparaison entre l'examen échographique et le dosage de la progestérone

Le tableau 12 montre les résultats des vrais positifs (32) et faux positifs (3), et les résultats des vrais négatifs (10) et faux négatifs (5), obtenus par l'opérateur expérimenté suite à l'examen des ovaires par échographie, et ce par comparaison des résultats de l'examen échographique des deux ovaires gauche et droit de chaque vache avec les résultats du dosage de la progestérone plasmatique.

Les résultats montrent que parmi les 37 corps jaunes présents, seulement 24 sont diagnostiqués par palpation transrectale alors que l'échographie permet de diagnostiquer 32 corps jaunes, et ce indépendamment de leur état fonctionnel. Quant à l'absence de corps jaune, la palpation transrectale montre un nombre de faux négatifs plus important que l'échographie (13 vs 5 corps jaunes parmi 13 cas d'absence de corps jaunes confirmés par analyse de progestérone) (tableaux 11 et 12).

Tableau 12 : Diagnostic de présence ou absence de corps jaune par échographie transrectale (8 MHz) lorsque l'opérateur est expérimenté.

<i>Résultats</i>	<i>Présence</i>	<i>Absence</i>	<i>Total</i>
<i>Positif (+)</i>	32	3	35
<i>Négatif (-)</i>	5	10	15
<i>Total</i>	37	13	50

II.6. Comparaison entre la palpation transrectale et l'examen échographique

Par comparaison à la palpation transrectale, les résultats montrent que l'échographie est plus sensible (64,9% vs 86,5%) et plus spécifique (53,8% vs 76,9%) pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune, indépendamment de son état fonctionnel (tableau 13).

Tableau 13 : Sensibilité (%), spécificité (%) et valeur prédictive (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur est expérimenté

	<i>Palpation transrectale</i>	<i>Echographie</i>
<i>Sensibilité</i>	64,9%	86,5%
<i>Spécificité</i>	53,8%	76,9%
<i>Valeur prédictive (+)</i>	80,0%	91,4%
<i>Valeur prédictive (-)</i>	35,0%	66,7%

Les résultats indiquent que l'absence d'un corps jaune n'est pas aisément mise en évidence par les deux outils diagnostiques (palpation et échographie). Seulement 66,7% des cas sont révélés exacts lors d'un examen échographique, mais qui restent toujours bien meilleurs que les résultats obtenus par la palpation transrectale : 35% seulement, les 65% restant étant avérés faux négatifs (figure 2).

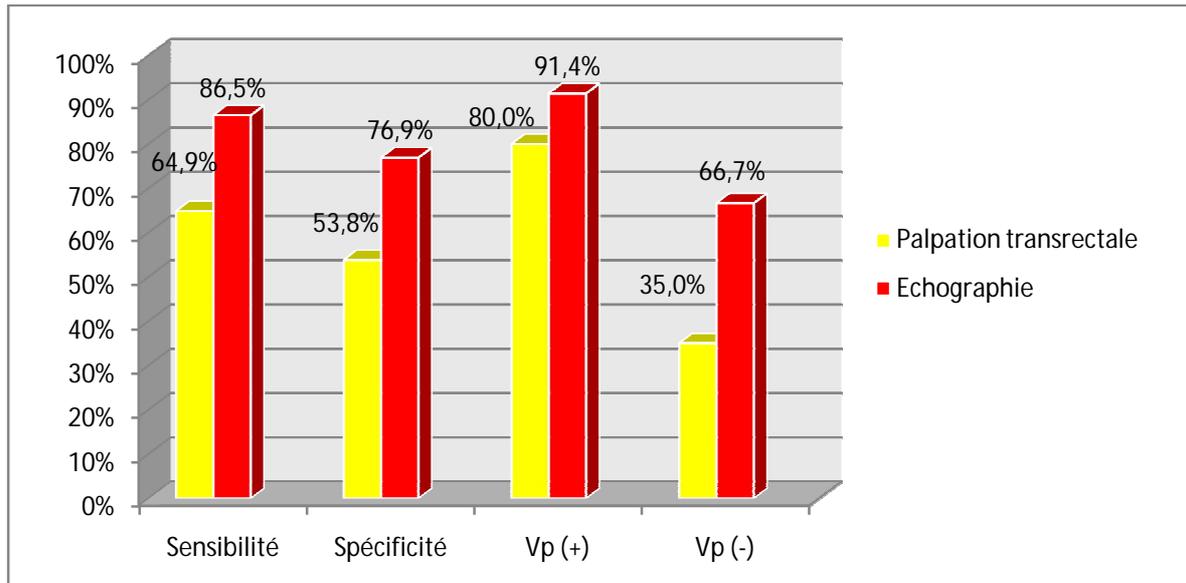


Figure 2 : Sensibilité (%), spécificité (%) et valeurs prédictives (%) de la palpation transrectale et de l'échographie pour le diagnostic du corps jaune lorsque l'opérateur est expérimenté.

- Vp (+) : valeur prédictive positive
- Vp (-) : valeur prédictive négative

III. Comparaison des résultats des deux opérateurs

III.1. Comparaison des résultats de la palpation transrectale

La comparaison des résultats de la palpation transrectale, obtenus par les deux opérateurs, permet de conclure que la sensibilité et l'exactitude de cet examen ne dépend pas de l'expérience de l'opérateur, toutes les valeurs affichées étant identiques pour les deux opérateurs (figure 3)

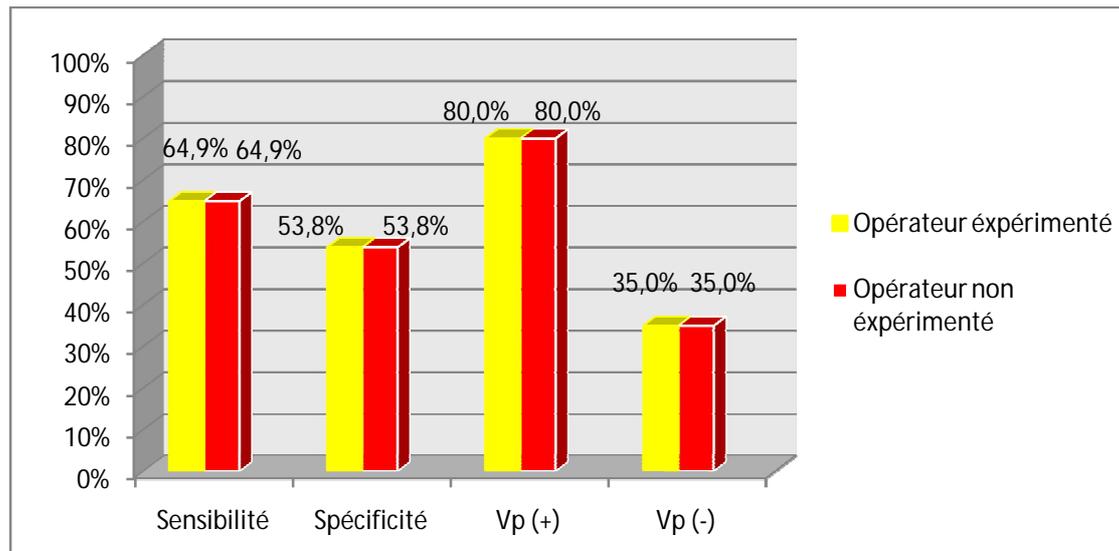


Figure 3 : Rôle de l'expérience de l'opérateur dans la détermination de l'efficacité et de l'exactitude de la palpation transrectale dans le diagnostic des corps jaunes

- Vp (+) : valeur prédictive positive
- Vp (-) : valeur prédictive négative

III.2. Comparaison des résultats de l'examen échographique

La comparaison des résultats de l'examen échographique, obtenus par les deux opérateurs, permet de conclure que la sensibilité et l'exactitude de cet examen changent significativement selon l'expérience de l'opérateur, contrairement à la palpation transrectale. Le diagnostic porté par l'opérateur expérimenté est plus sensible et plus exact que celui posé par l'opérateur non expérimenté : seulement 59,5% de l'ensemble des corps jaunes confirmés présents par l'analyse de la progestérone sont diagnostiqués par l'opérateur non expérimenté, avec une exactitude de 73,3% et une spécificité de 38,5% seulement, au contraire de l'opérateur expérimenté qui a pu diagnostiquer 86,5% de l'ensemble des corps jaunes avec une spécificité de 76,9% et une exactitude de 91,4% (figure 4)

Quant à l'absence des corps jaunes, les résultats montrent qu'elle est très difficile à mettre en évidence par un opérateur non expérimenté, vu que l'exactitude de cet examen se limite à 25% seulement par rapport aux résultats obtenus par l'opérateur expérimenté dont l'exactitude est de 66,7% (figure 4)

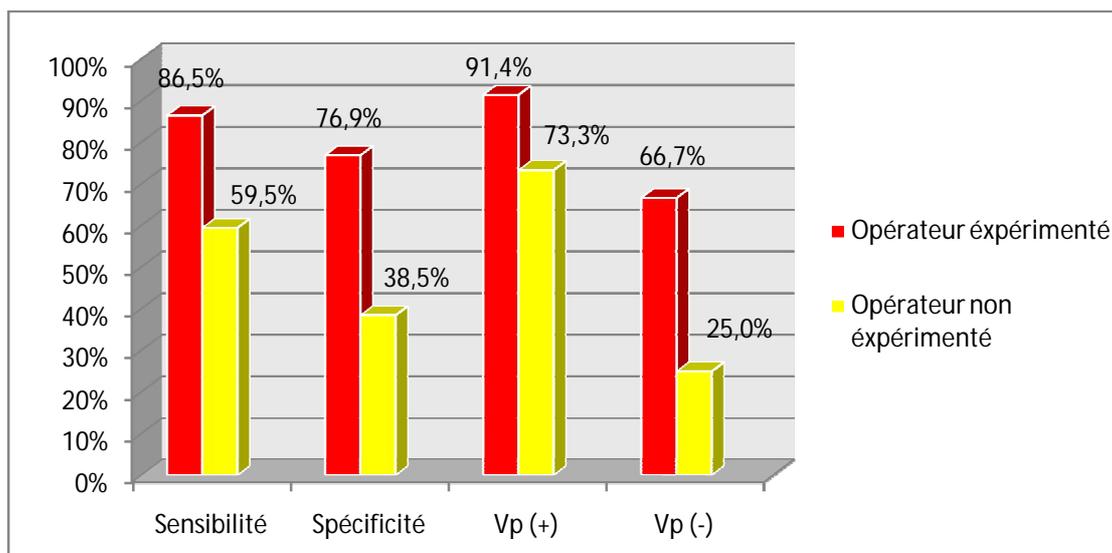


Figure 4 : Rôle de l’expérience de l’opérateur dans la détermination de l’efficacité et l’exactitude de l’examen échographique dans le diagnostic des corps jaunes

- Vp (+) : valeur prédictive positive
- Vp (-) : valeur prédictive négative

IV. Diagnostic des corps jaunes selon le statut fonctionnel

IV.1. Diagnostic par mesure du diamètre

Les résultats du tableau 14 montrent que la mesure du diamètre à l’examen échographique permet de diagnostiquer 20 parmi les 22 corps jaunes fonctionnels du milieu du cycle (sensibilité 90,9%) avec une exactitude de 80%, au contraire des corps jaunes évolutifs qui restent toujours difficiles à diagnostiquer même par échographie (sensibilité 40% ; exactitude 60%) (Figure 5).

Tableau 14 : Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l’échographie pour le diagnostic d’un corps jaune selon son état fonctionnel, par mesure du diamètre

	<i>Corps jaune évolutif</i>		<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>	
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
<i>Echographie</i>	6	4	20	5
	<i>S</i>	40%	90,9%	
	<i>VP</i>	60%	80%	
<i>P4</i>	15		22	

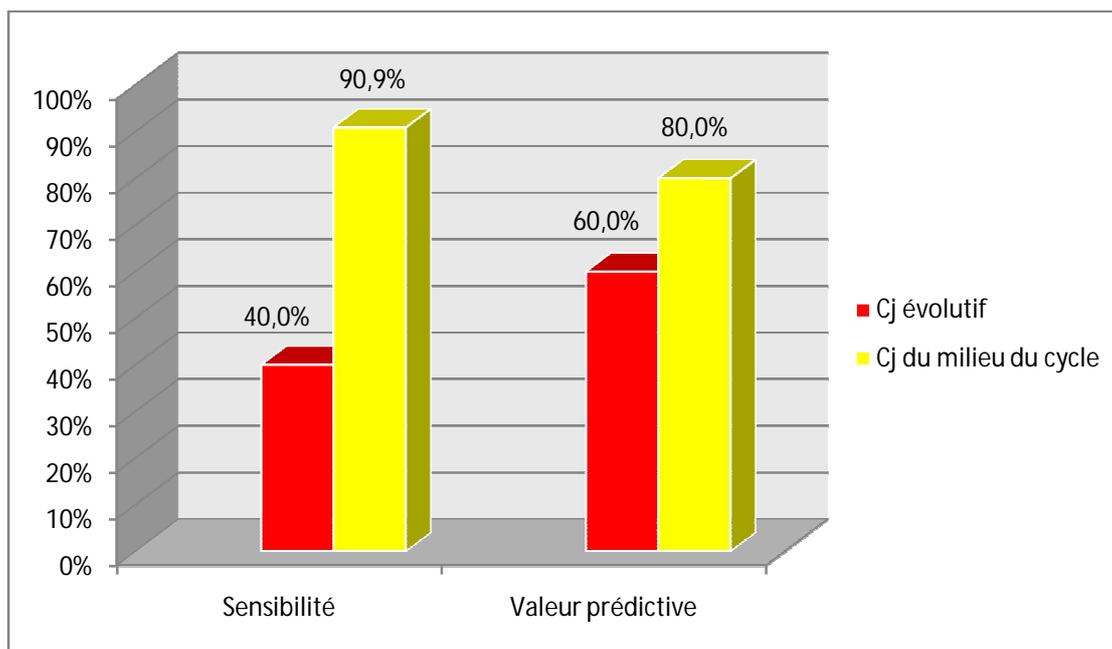


Figure 5 : Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par mesure de son diamètre

IV.2. Diagnostic par évaluation de l'apparence échographique

Les résultats du tableau 15 montrent que l'évaluation de l'apparence échographique des corps jaunes permet de diagnostiquer 20 parmi 22 corps jaunes fonctionnels du milieu du cycle (sensibilité 90,9%) avec une exactitude de 86,9%, au contraire des corps jaunes évolutifs qui restent toujours difficiles à diagnostiquer même par échographie (sensibilité 53,3% ; exactitude 66,7%) (figure 6).

Tableau 15 : Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique

	<i>Corps jaune évolutif</i>		<i>Corps jaune du milieu du cycle</i>	
	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>A</i>	<i>B</i>
<i>Echographie</i>	8	4	20	3
	<i>S</i>	53,3%	90,9%	
	<i>VP</i>	66,7%	86,9%	
<i>P4</i>	15		22	

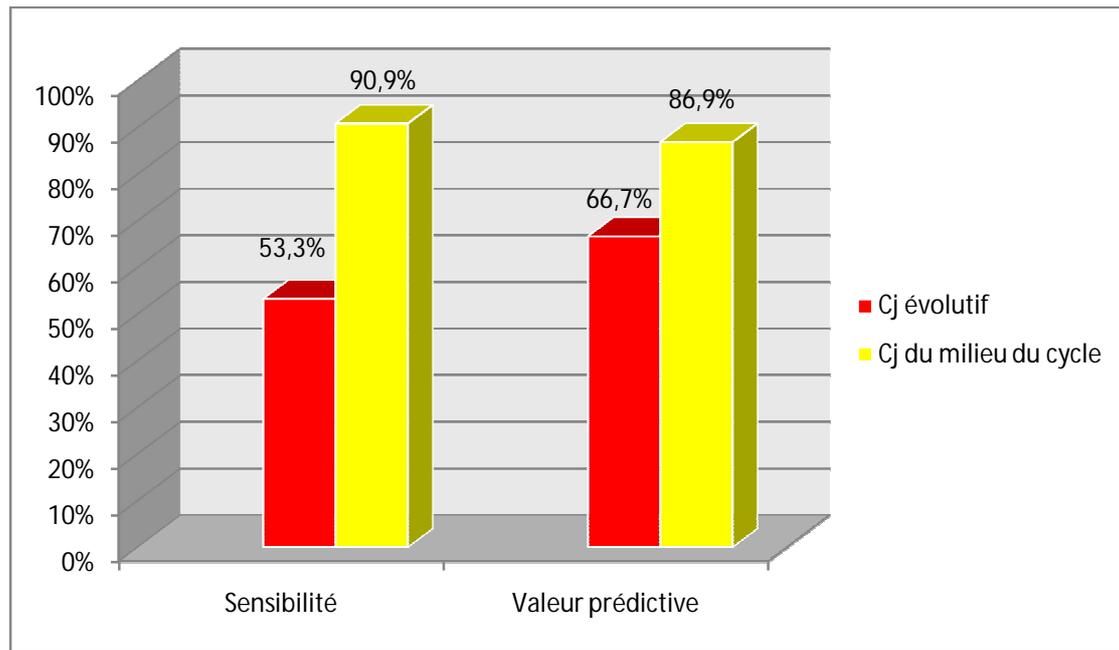


Figure 6 : Sensibilité (%) et valeur prédictive (%) de l'échographie pour le diagnostic d'un corps jaune selon son état fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique

IV.3. Comparaison entre mesure du diamètre et évaluation échographique

Par comparaison à la mesure du diamètre, les résultats montrent que le diagnostic des corps jaunes du milieu du cycle par évaluation de son apparence échographique est plus exact, avec une valeur prédictive de 80% pour la mesure du diamètre et 86,9% pour l'évaluation de l'apparence échographique (figure 7).

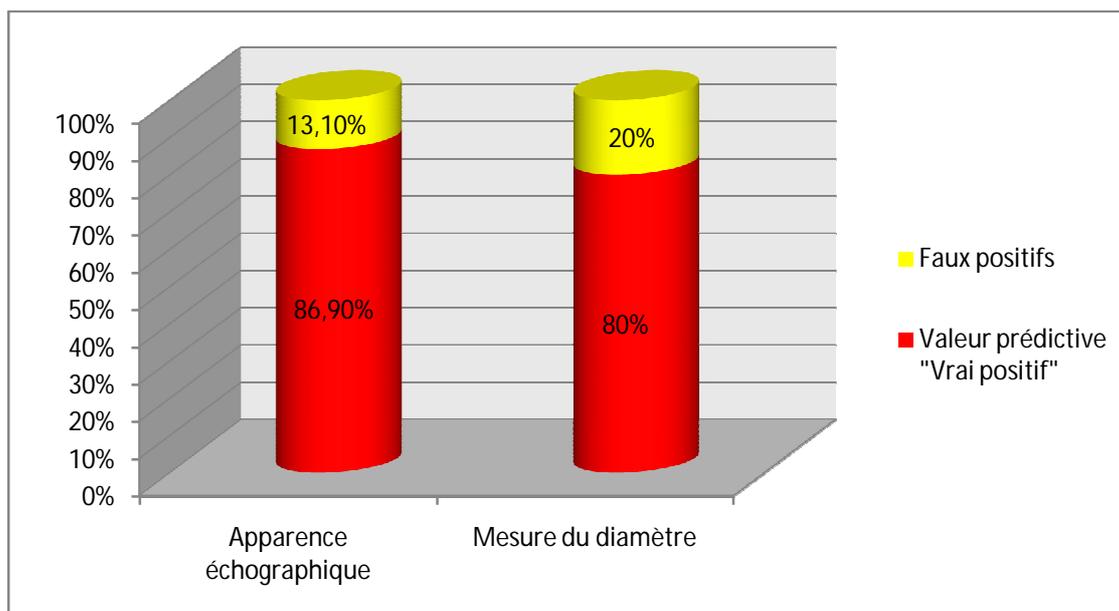


Figure 7 : Exactitude du diagnostic du corps jaune du milieu du cycle par mesure du diamètre et par évaluation de son apparence échographique

V. Concordance entre mesure du diamètre, évaluation de l'apparence échographique et dosage de la progestérone

V.1. Diagnostic et classification des corps jaunes par mesure du diamètre

La comparaison entre la classification des corps jaunes par la mesure du diamètre et la classification par dosage de progestérone plasmatique montre une bonne concordance (K_w : 0,67 ; concordance : 72% ; IC à 95% : 0,51-0,82 ; Z : 5,78) (tableaux 16 et 22)

Tableau 16 : Comparaison entre classification échographique des corps jaunes par mesure du diamètre et concentration plasmatique de progestérone

Classification Echographique	n	Concentration plasmatique de progestérone					
		< 1 ng/ml		1-4 ng/ml		> 4 ng/ml	
		n	%	n	%	n	%
<i>CJ non détecté</i>	15	10	66,7*	5	33,3	0	0
<i>Diamètre < 20 mm</i>	10	2	20	6	60*	2	20
<i>Diamètre > 20 mm</i>	25	1	4	4	16	20	80*

*Concordance significative entre la mesure échographique et la concentration plasmatique de progestérone ($p < 0,0001$).

Tableau 17 : Comparaison entre diagnostic échographique des corps jaunes par mesure du diamètre et concentration plasmatique de progestérone.

<i>Classification Echographique</i>	<i>n</i>	<i>Concentration plasmatique de progestérone</i>			
		<i>< 1 ng/ml</i>		<i>> 1 ng/ml</i>	
		<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>CJ non détecté</i>	15	10	66,7*	5	33,3
<i>CJ détecté</i>	35	3	8,6	32	91,4*

*Concordance significative entre la mesure échographique et la concentration plasmatique de progestérone ($p < 0,0001$).

La comparaison entre les mesures du diamètre des corps jaunes, indépendamment de leur statut fonctionnel, et les concentrations de progestérone au seuil de 1 ng/ml montre une bonne concordance (K : 0,60 ; concordance : 84% ; IC à 95% : 0,36-0,85 ; Z : 4,29) (tableaux 17 et 22)

Tableau 18 : Comparaison de la classification des corps jaunes selon le statut fonctionnel par mesure du diamètre, avec la concentration plasmatique de progestérone

<i>Classification Echographique</i>	<i>n</i>	<i>Concentration plasmatique de progestérone</i>			
		<i>< 4 ng/ml</i>		<i>> 4 ng/ml</i>	
		<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Diamètre < 20 mm</i>	10	8	80*	2	20
<i>Diamètre > 20 mm</i>	25	5	20	20	80*

*Concordance significative entre mesure échographique et concentration plasmatique de progestérone ($p < 0,0001$).

Le diagnostic de présence d'un corps jaune du milieu du cycle par la mesure du diamètre est comparé avec le diagnostic basé sur la concentration plasmatique de progestérone, prenant en compte qu'une concentration > 4 ng/ml est indicative de la présence d'un corps jaune du milieu du cycle. Les résultats montrent une concordance modérée entre les deux techniques (K : 0,55 ; concordance : 80 ; IC à 95% : 0,26-0,84 ; Z : 3,32) (tableaux 18 et 22)

V.2. Diagnostic et classification des corps jaunes par évaluation échographique

La comparaison entre la classification des corps jaunes par évaluation de l'apparence échographique et par la concentration plasmatique de progestérone montre une bonne concordance entre les deux examens diagnostic (K_w 0,71 ; concordance : 76% ; IC à 95% : 0,56-0,86 ; Z : 6,19) (tableaux 19 et 23)

Tableau 19 : Comparaison entre la classification des corps jaunes par évaluation de l'apparence échographique et par la concentration plasmatique de progestérone

<i>Classification Echographique</i>	<i>n</i>	<i>Concentration plasmatique de progestérone</i>					
		<i>< 1 ng/ml</i>		<i>1-4 ng/ml</i>		<i>> 4 ng/ml</i>	
		<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>CJ non détecté</i>	15	10	66,7*	5	33,3	0	0
<i>CJ évolutif</i>	12	2	16,7	8	66,6*	2	16,7
<i>CJ du milieu du cycle</i>	23	1	4,3	2	8,7	20	87*

*Concordance significative entre évaluation de l'apparence échographique et concentration plasmatique de progestérone ($p < 0,0001$).

Tableau 20 : Comparaison entre le diagnostic des corps jaunes par évaluation de l'apparence échographique et par la concentration plasmatique de progestérone

<i>Classification Echographique</i>	<i>n</i>	<i>Concentration plasmatique de progestérone</i>			
		<i>< 1 ng/ml</i>		<i>> 1 ng/ml</i>	
		<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>CJ non détecté</i>	15	10	66,7*	5	33,3
<i>CJ détecté</i>	35	3	8,6	32	91,4*

*Concordance significative entre évaluation de l'apparence échographique et concentration plasmatique de progestérone ($p < 0,0001$).

La comparaison de l'apparence échographique des corps jaunes, indépendamment de leur statut fonctionnel, avec la concentration plasmatique de progestérone au seuil de 1 ng/ml

montre aussi une bonne concordance (K : 0,60 ; concordance : 84, IC : 0.36-0.85 ; Z : 4.29) (Tableaux 20 et 23)

Tableau 21 : Comparaison de la classification des corps jaunes, selon le statut fonctionnel, par évaluation de l'apparence échographique, avec la concentration plasmatique de progestérone

<i>Classification Echographique</i>	<i>n</i>	<i>Concentration plasmatique de progestérone</i>			
		<i>< 1 ng/ml</i>		<i>> 1 ng/ml</i>	
		<i>n</i>	<i>%</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>CJ évolutif</i>	12	10	83,3*	2	16,7
<i>CJ du milieu du cycle</i>	23	3	13	20	87*

*Concordance significative entre mesure échographique et concentration plasmatique de progestérone (p < 0,0001).

Le diagnostic de présence d'un corps jaune du milieu du cycle par évaluation de son apparence échographique est comparé avec le diagnostic basé sur la concentration plasmatique de progestérone, prenant en compte qu'une concentration > 4 ng/ml est indicative de la présence d'un corps jaune du milieu du cycle. Les résultats montrent une bonne concordance entre les deux techniques (K : 0,69 ; concordance : 86 ; IC à 95% : 0,44 - 0,94 ; Z : 4,09) (Tableaux 21 et 23)

V.3. Concordance entre la mesure du diamètre et le dosage de la progestérone

La concordance entre la mesure du diamètre et le taux de progestérone est étudiée sur les critères de présence, absence et classification selon l'état fonctionnel des corps jaunes (tableau 22)

Tableau 22 : Comparaison des différents niveaux de concordance entre l'examen échographique par mesure du diamètre des corps jaunes et la concentration plasmatique de progestérone

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
K	0,67*	0,60	0,55
Concordance (%)	72	84	80
IC	0,51-0,82	0,36-0,85	0,26-0,84
Z	5,78	4,29	3,32

* : K_w

1 : Diagnostic de présence ou absence et classification selon l'état fonctionnel

2 : Diagnostic de présence ou absence indépendamment du statut fonctionnel

3 : Diagnostic de présence et classification selon l'état fonctionnel

V.4. Concordance entre évaluation échographique et dosage de la progestérone

Les résultats montrent que le diagnostic du corps jaune, indépendamment de son état fonctionnel, est facilement mis en évidence par examen échographique, que ce soit par évaluation de son diamètre ou par évaluation de son apparence échographique (échostructure). Les deux tests affichent des résultats de concordance identiques, avec une valeur de K de 0,6 (figure 8)

Tableau 23 : Comparaison des différents niveaux de concordance entre examen échographique par évaluation de l'apparence échographique des corps jaunes et concentration plasmatique de progestérone

	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
K	0,71*	0,60	0,69
Concordance (%)	76	84	86
IC	0,56-0,86	0,36-0,85	0,44-0,94
Z	6,19	4,29	4,09

* : K_w

1 : Diagnostic de présence ou absence et classification selon l'état fonctionnel

2 : Diagnostic de présence ou absence indépendamment du statut fonctionnel

3 : Diagnostic de présence et classification selon l'état fonctionnel

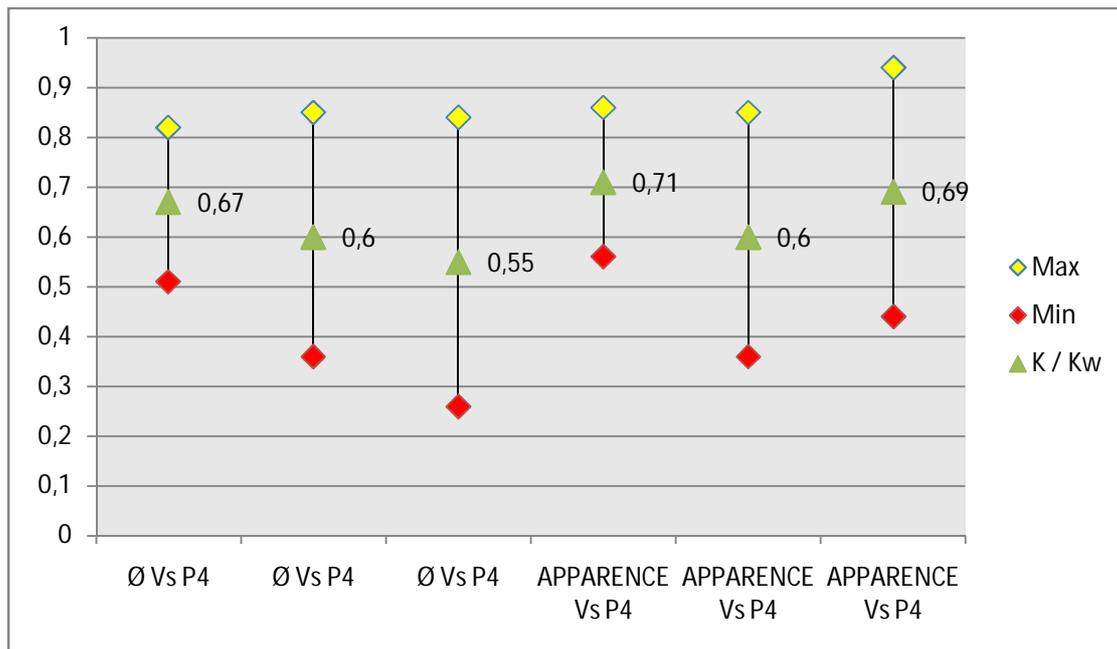


Figure 8 : Comparaison des différents niveaux de concordance entre la mesure du diamètre, l'évaluation de l'apparence échographique et la concentration plasmatique de progestérone pour le diagnostic des corps jaunes

Les résultats montrent que, par comparaison des différents niveaux de concordance de ces différents tests de diagnostic, l'évaluation de l'apparence échographique (échostructure) affiche le meilleur niveau de concordance avec l'analyse de la progestérone, avec une valeur du Kw estimée à 0,71, ce qui indique qu'il est plus facile de classer les corps jaunes comme étant mature, fonctionnel ou du milieu du cycle par évaluation de son apparence échographique (échostructure) (figure 8).

Discussion

Dosage de la progestérone

La détermination de la sensibilité et la spécificité d'un test ou procédure particulière implique le choix d'un "gold test standard" avec lequel le test utilisé peut être comparé (Martin *et al.*, 1987). Dans cette étude, le taux de progestérone plasmatique est utilisé comme étant le "gold test" (Ribadu *et al.*, 1994 ; Battocchio *et al.*, 1999 ; Hanzen, 2000b ; Veronesi *et al.*, 2002. Herzog, 2010).

En prenant comme test de référence le taux de progestérone plasmatique P4, les valeurs de 1 à 4 ng/ml sont considérées comme indicatives de présence d'un corps jaune évolutif, et les valeurs > 4 ng/ml comme indicatives de présence d'un corps jaune du milieu du cycle pleinement fonctionnel.

Battocchio *et al.* (1999) rapportent qu'une concentration plasmatique de P4 > 1 ng/ml est généralement prise comme indicative de présence d'un corps jaune fonctionnel. Il existe donc des différences selon les auteurs concernant la concentration de progestérone P4 qui indiquerait la présence d'un corps jaune du milieu du cycle pleinement fonctionnel.

Hartigan (1995) considère le corps jaune comme étant pleinement actif quand la concentration de progestérone est > à 6 ng/ml alors que Sprecher *et al.* (1989) prennent la valeur de 5 ng/ml comme étant suffisante pour différencier entre les vaches avec une faible ou une importante activité lutéale. Battocchio *et al.* (1999), lors d'une étude, rapportent que la concentration de progestérone ne chute pas en dessous de 4 ng/ml au cours du diœstrus, et la prennent comme valeur de référence pour différencier entre corps jaunes évolutifs et corps jaunes du milieu du cycle pleinement actifs. Cowie *et al.* (1980) démontrent que chez la vache, la concentration de progestérone varie entre 4 et 13 ng/ml entre le 8ème et le 15ème jour après l'œstrus.

Cette différence de valeurs de la concentration de progestérone peut être attribuée à la technique d'analyse utilisée par chaque auteur : méthode radio-immunologique ou immuno-enzymatique.

De ce fait, dans cette étude, la valeur de référence de 4 ng/ml est utilisée pour qualifier un corps jaune comme étant du milieu du cycle pleinement actif, sur la base des résultats de Cowie *et al.* (1980) et Battocchio *et al.* (1999).

Palpation vs progestéronémie

La palpation transrectale, bien que largement utilisée comme outil de diagnostic en élevage bovin, montre une faible précision de verdict du statut ovarien, et cela est comparable aux résultats de Pieterse *et al.* (1990), Mwaanga (2000) et Zdunczyk (2002).

Cette étude montre que la palpation transrectale est moyennement sensible mais moins spécifique que l'échographie pour diagnostiquer la présence de corps jaunes. Kelton *et al.* (1991) rapportent un résultat similaire avec une sensibilité de 82,6% (variant de 67,9 à 96,4%) et une spécificité de 52,6% (variant de 22,2 à 100%).

Les résultats montrent que la valeur prédictive de la palpation transrectale à diagnostiquer l'absence d'un corps jaune est plus faible que sa valeur prédictive à diagnostiquer sa présence (Vp négative : 35% ; Vp positive : 80%). Par comparaison de ces résultats avec d'autres études, cela ne semble pas être contradictoire, mais la valeur prédictive négative de cette étude est beaucoup plus faible que celle affichée dans d'autres études : Vp positive : 79% et Vp négative : 75% pour Boyd et Munro (1979) ; Vp positive : 84% et Vp négative : 69% pour Watson et Munro (1980) et enfin Vp positive : 95% et Vp négative : 72% pour Kelton *et al.* (1991).

Cette faible spécificité s'explique par le nombre élevé de faux positifs attribué à la détection d'un corps jaune quand la progestéronémie est < 1 ng/ml. Cela a déjà été démontré par McDougall et Rhodes (1999), Kastelic *et al.* (1990b), Sartori *et al.* (2004) et Bicalho *et al.* (2007).

La faible sensibilité de la palpation transrectale pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune est imputable à des erreurs d'interprétation qui sont de l'ordre de 35% dans cette étude, 25-30% pour Fieni *et al.* (1998) et de 48% pour Ribadu *et al.* (1994). Cette faible sensibilité est due au nombre élevé de faux négatifs attribué au diagnostic de l'absence d'un corps jaune quand la progestéronémie est > 1 ng/ml. Les principaux facteurs entraînant ces erreurs sont la taille réduite des organites, le développement intra-ovarien des organites, le développement de plusieurs organites (corps jaune et follicule) simultanément sur le même ovaire et la faible expérience de l'opérateur. L'échographie trouve dans ce cas tout son intérêt puisqu'elle

permet de différencier facilement un corps jaune d'un follicule, et ce même pour des organites adjacents.

Palpation vs échographie

Les résultats de cette étude montrent que l'examen échographique transrectal chez la vache est une technique fiable et précise pour le diagnostic du statut ovarien et, par comparaison à la palpation transrectale, les résultats montrent que l'échographie est bien meilleure pour le diagnostic de la présence ou l'absence de corps jaunes. Ces résultats sont similaires à ceux de Pieterse *et al.* (1990) et Ribadu *et al.*, (1994).

Par comparaison à la palpation transrectale, les résultats montrent que l'échographie est plus sensible (86,5% vs 64,9%) et plus spécifique (76,9% vs 53,8%) pour diagnostiquer la présence d'un corps jaune indépendamment de son état fonctionnel, alors que le diagnostic de l'absence d'un corps jaune reste moins exact par les deux outils diagnostiques, affichant des valeurs prédictives négatives plus faible : 35% pour la palpation transrectale et 66,7% pour l'examen échographique.

Ces résultats montrent aussi que la sensibilité des deux techniques est plus élevée que leur spécificité (Se 64,9 % vs Sp 53,8% pour la palpation transrectale ; Se 86,5% vs Sp 76,9% pour l'examen échographique), ce qui est comparable aux résultats de Pathiraja *et al.* (1986), Kelton *et al.* (1988 et 1991) et Ribadu *et al.* (1994).

Toutefois, l'exactitude de l'examen échographique estimée par la valeur prédictive positive est bien meilleure que celle de la palpation transrectale. Ces résultats sont comparables à ceux de Watson et Munro (1980), Ott *et al.* (1986), Sprecher *et al.* (1989) et Pieterse *et al.* (1990). Ces auteurs concluent que les deux méthodes de diagnostic permettent de confirmer la présence d'un corps jaune mieux que son absence.

Les résultats montrent que la détection des corps jaunes évolutifs est difficile, que ce soit par palpation transrectale ou par échographie (sensibilité : 40%, spécificité 60%), au contraire des corps jaunes du milieu du cycle qui sont facilement mis en évidence par les deux techniques de diagnostic (sensibilité 90,9%, spécificité 80%). Ceci rejoint les conclusions de Pieterse *et al.* (1990) et Ribadu *et al.* (1994).

Hanzen (2009a) indique que la difficulté de détection du corps jaune hémorragique par palpation manuelle est due à sa petite dimension. Lors d'un examen échographique, cette difficulté tient à sa faible échogénicité qui, en phase de régression, est semblable à celle du stroma ovarien, ce qui explique, lors de notre étude, le fait que dans deux cas, les corps jaunes sont classés comme étant du milieu du cycle alors que la progestéronémie révèle des corps jaunes évolutifs, ainsi que l'incapacité de détecter 30% des corps jaunes évolutifs.

Expérience de l'opérateur

La comparaison des résultats de la palpation transrectale, obtenus par les deux opérateurs, permet de conclure que la sensibilité et l'exactitude de cet examen ne dépendent pas de l'expérience de l'opérateur, toutes les valeurs affichées étant identiques pour les deux opérateurs (Se : 64,9%, Sp : 53,8%, VP positive : 80%, Vp négative : 35%). Cela s'explique par le fait que la palpation transrectale n'est pas si exigeante sur le plan expérience et connaissances anatomo-physiologiques et, puisqu'elle est largement utilisée dans les élevages, devient maîtrisable dans un relatif bref délai.

Par contre, la comparaison des résultats de l'examen échographique, obtenus par les deux opérateurs, permet de conclure que la sensibilité et l'exactitude de cet examen changent significativement selon l'expérience de l'opérateur, contrairement à la palpation transrectale. Le diagnostic porté par l'opérateur expérimenté est plus sensible et plus exact que celui posé par l'opérateur non expérimenté : seulement 59,5% de l'ensemble des corps jaunes affirmés présents par le dosage de la progestérone sont diagnostiqués par l'opérateur non expérimenté, avec une exactitude de 73,3% et une spécificité de 38,5% seulement, au contraire de l'opérateur expérimenté qui diagnostique 86,5% de l'ensemble des corps jaunes, avec une spécificité de 76,9% et une exactitude de 91,4%.

Quant à l'absence des corps jaunes, les résultats montrent qu'elle est difficile à mettre en évidence par un opérateur non expérimenté, l'exactitude de cet examen se limitant à 25% par rapport aux résultats obtenus par l'opérateur expérimenté dont l'exactitude est de 66,7%. Ginther (1995b) rapporte un niveau de concordance de 0,66 entre les résultats d'un opérateur inexpérimenté et les résultats de dissection des ovaires (accord : 82,8%), et un niveau de concordance de ,94 entre les résultats d'un opérateur expérimenté et les résultats de dissection

(accord : 96,9%). De plus, l'opérateur non expérimenté ne peut pas différencier entre corps jaune évolutif et corps jaune du milieu du cycle même en utilisant l'échographie.

Ces résultats indiquent que l'échographie est beaucoup plus exigeante sur le plan technique que la palpation transrectale : l'interprétation rationnelle des informations issues d'un examen échographique nécessite la maîtrise d'un ensemble de connaissances biologiques (anatomie, physiologie, pathologie) et surtout biophysiques (physique des ultrasons, formation de l'image, genèse des artefacts,...), ce qui implique que l'expérience de l'opérateur est un élément clé pour mener à bien cette technique "opérateur dépendante".

Echographie vs progestéronémie

Dans certains cas, les corps jaunes présentent une cavité centrale, mais qui n'est pas prise en compte puisqu'il n'existe pas de corrélation significative entre la présence ou le diamètre de cette cavité et le taux de progestérone plasmatique (Kastelic *et al.*, 1990a ; Assey, 1993 ; Ribadu *et al.*, 1994).

Veronesi *et al.* (2002) rapportent qu'il est nécessaire de faire plusieurs prises pour déterminer le diamètre des corps jaunes, mais cela semble avoir l'inconvénient de prolonger le temps nécessaire à l'examen échographique et le rendre difficile, surtout en présence d'un nombre élevé de vaches à examiner, mais cela peut être réservé aux animaux à haut potentiel génétique notamment pour les transferts d'embryons, pour vérifier de façon aussi exacte que possible que la vache donneuse a bien ovulé ou que les receveuses possèdent un corps jaune bien développé (Tainturier *et al.*, 2006)

La sensibilité du diagnostic échographique des corps jaunes du milieu du cycle est pareille pour les deux méthodes : évaluation du diamètre ou évaluation de l'apparence échographique. Par contre, les résultats montrent que l'évaluation de l'apparence échographique est plus exacte que l'évaluation du diamètre pour le diagnostic des corps jaunes du milieu du cycle, ce qui explique un défaut de mesure de diamètre dans 2 cas, résultant d'une surestimation du diamètre, et qui a entraîné la classification de ces deux corps jaunes comme étant du milieu du cycle alors qu'ils étaient évolutifs.

Kastelic *et al.* (1990a) rapportent que le diagnostic de l'état fonctionnel du corps jaune ne peut pas se faire de façon exacte par mesure de son diamètre, et que la progestéronémie reste le paramètre le plus précis et le plus exact. Assey *et al.* (1993) rapportent qu'il existe une corrélation significative entre le diamètre des corps jaunes et le niveau de progestérone durant la phase de développement et de régression du corps jaune chez les génisses, et seulement durant la phase de développement chez les vaches.

Ribadu *et al.* (1994) trouvent aussi une corrélation significative entre le diamètre du corps jaune et la progestéronémie mais avec une divergence du 18^{ème} au 21^{ème} jour du cycle. Kayacik *et al.* (2005) rapportent qu'il est toutefois possible d'établir un diagnostic de l'état fonctionnel du corps jaune par mesure du diamètre puisqu'ils trouvent une corrélation significative entre la progestéronémie et la mesure du diamètre ($r : 0,92, p < 0,01$).

Dans trois cas, la présence de corps jaunes est retrouvée, deux comme étant évolutifs et le troisième comme étant un corps jaune du milieu du cycle, alors que le dosage de la progestérone révèle l'absence de tout corps jaune, qu'il soit évolutif ou du milieu du cycle. Cela est dû à une fausse interprétation de l'image échographique, ou bien résulte de la discordance observée entre la lutéolyse anatomique et la lutéolyse physiologique qui sont asynchrones (Viana *et al.*, 1999 ; Siqueira, 2009).

Des études montrent que la régression fonctionnelle exprimée par la diminution de la progestéronémie lors de la lutéolyse est plus rapide que la régression anatomique, la diminution de la progestéronémie étant le résultat d'une diminution du flux sanguin vers les cellules lutéales, ce qui entraîne la diminution de la capacité synthétique des cellules (Niswender *et al.*, 2000), alors que la régression structurale du tissu lutéal résulte d'une dégradation tissulaire nécessitant un processus complexe de mort cellulaire et de remodelage tissulaire (Pate, 1994 ; Juengel *et al.*, 1994), ce qui prend plus de temps que la régression fonctionnelle. La régression morphologique du ou des corps jaunes commence 4 à 20 heures après le début de la lutéolyse fonctionnelle (Laforest, 2005).

L'évaluation de l'apparence échographique des corps jaunes est indicative de leur statut fonctionnel. Selon Tom *et al.* (1998), le changement quantitatif de l'échostructure lutéale est réflexif du changement de statut physiologique du corps jaune.

Pour le classement des corps jaunes en corps jaune évolutifs et corps jaunes du milieu du cycle, les résultats de notre étude montrent que l'évaluation de l'apparence échographique est une méthode plus fiable que l'évaluation du diamètre pour le diagnostic des corps jaunes du milieu du cycle. Les résultats affichent un niveau de concordance plus élevé entre l'apparence échographique et la progestérone plasmatique (K : 0,69), qui est tout aussi meilleur que le niveau de concordance entre la mesure du diamètre et la progestéronémie plasmatique (K : 0,55). Cela est similaire avec les résultats de Battocchio *et al.* (1999) et Veronesi *et al.* (2002), qui rapportent une bonne concordance entre l'apparence échographique et la progestéronémie plasmatique (K : 0,72 vs 0,55).

Quand l'examen échographique vise la détection du corps jaune indépendamment de son statut fonctionnel, le niveau de concordance avec la progestéronémie est de 0,60 mais ce taux de concordance diminue à 0,55 quand on cherche à diagnostiquer les corps jaunes selon leur statut fonctionnel. Cela est comparable avec les résultats de Veronesi *et al.* (2002) qui trouvent une concordance de 0,631 mais qui chute à 0,554 pour le statut fonctionnel.

Cependant, la classification des corps jaunes en évolutifs, du milieu du cycle ou absence de corps jaune, par mesure du diamètre, concorde bien avec la progestéronémie (Kw : 0,67), ce qui est analogue avec les résultats de Battocchio *et al.* (1999). Ceci s'explique par des erreurs de classification suite aux difficultés rencontrées pour l'interprétation des images échographiques, dues à différents facteurs comme l'éclairage du local où se déroule l'examen, les mouvements de l'animal stressé et l'expérience de l'opérateur.

Ginther (1995b) rapporte que le temps nécessaire pour la réalisation d'un examen des ovaires compte aussi dans l'exactitude du test. Il affirme ainsi que depuis l'introduction de la sonde échographique dans le rectum jusqu'à la localisation de l'ovaire droit, l'examen nécessite en moyenne 6,8 secondes, et le déplacement de la sonde depuis l'ovaire droit vers l'ovaire gauche nécessite $5,3 \pm 2,5$ secondes. De ce fait, si l'opérateur s'empresse, des erreurs seront faites et des structures seront ratées.

Battocchio *et al.* (1999) concluent que l'examen échographique et la palpation transrectale ne peuvent pas être utilisés comme des moyens précis pour la classification des corps jaunes en évolutifs ou pleinement actifs suite à un seul examen sur le terrain. Herzog *et al.* (2010)

rappellent que l'examen des ovaires par échographie Doppler couleur donne des résultats assurant que le flux sanguin lutéale est un indicateur plus approprié et plus exact que la mesure de la taille lutéale pour évaluer et déterminer la fonction lutéale au cours du cycle œstral et spécifiquement durant la phase de régression lutéale.

Toutefois, des études récentes démontrent l'utilité d'une autre technique d'examen échographique des ovaires en vue du diagnostic du statut fonctionnel des corps jaunes : l'analyse des images par mesure des pixels par ordinateur ou Computer-Assisted Echotexture Analysis. Ginther (1995b) et Siqueira *et al.* (2009) rapportent que l'intensité des pixels de l'image échographique d'un corps jaune est élevée durant la phase de formation du corps jaune (corps jaune évolutif en formation), puis redevient faible durant le diœstrus, puis s'élève de nouveau durant la phase de régression du corps jaune (corps jaune évolutif en régression). Cette variation cyclique en pixels (densité écho-structurale ou hétérogénéité en pixels) est étroitement liée à la variation cyclique de la concentration de progestérone.

La valeur élevée en pixels observée lors de la phase de formation du corps jaune est attribuée au volume et au nombre de cellules lutéales qui sont petites et n'occupent qu'un faible volume de l'ensemble du corps jaune, étant donné que le grand volume est occupé par les vaisseaux sanguins et le tissu conjonctif. La valeur faible en pixels observée lors du diœstrus est attribuée à l'hypertrophie des cellules lutéales qui occupent le plus grand volume du corps jaune. Puis cette valeur de pixels redevient élevée lors de la phase de régression du corps jaune puisque ces cellules redeviennent petites en volume et en nombre, ce qui ne leur permet d'occuper qu'un faible volume du corps jaune.

L'analyse des valeurs en pixels allant de 00 à 255 nuances de gris permet une approche quantitative qui minimise les incohérences entre les opérateurs, avec la possibilité d'être inclus dans le matériel et le software (logiciel) de l'échographe.

Cette technique est testée dans certaines études dont celle publiée par Siqueira *et al.* (2009) qui rapportent que les valeurs moyennes en pixels (Mean Pixel Values) ne sont pas des indicateurs utiles du changement du statut fonctionnel du corps jaune. En revanche, l'écart-type de cette valeur (Pixel Heterogeneity) est étroitement lié au statut fonctionnel du corps jaune, et permet d'indiquer la fonctionnalité et la capacité stéroïdogénèse du corps jaune chez les bovins.

Ginther (1995b) et Siqueira *et al.* (2009) en concluent que ces changements quantitatifs dans les valeurs de pixels se produisent simultanément avec des changements des caractéristiques structurales et hormonales du corps jaune, et que cette technique de diagnostic peut être développée en un puissant outil diagnostic et pronostic pour évaluer et déterminer le statut physiologique et pathologique du corps jaune chez les bovins.

Intérêts pratiques

L'incapacité à détecter la présence d'un corps jaune, notamment par palpation transrectale, entraîne l'échec pour traiter un nombre important de vaches qui pourraient être capables de répondre à un traitement avec un agent lutéolytique. Cela entraîne une perte en produits et en temps, ce qui pénalise la fertilité des vaches et la rentabilité économique de la ferme. Cela peut être évité en recourant à l'échographie, technique permettant de différencier facilement un corps jaune persistant d'un état anovulatoire et, de ce fait, choisir un traitement judicieux chez les vaches qui présentent des troubles du cycle comme l'anœstrus du post-partum.

Lors de transfert d'embryons, les praticiens rejettent souvent les receveuses sur la base d'absence d'un corps jaune décelable par palpation transrectale ou de la présence d'un corps jaune petit, irrégulier, CL remplie de liquide ou molle.

L'échographie est considérée comme étant une meilleure méthode d'évaluation des corps jaunes chez les receveuses pour la réalisation du transfert d'embryons. Perry (1990) rapporte que lorsque les embryons sont transférés aux receveuses qui présentent une structure lutéale dite acceptable suite à un examen échographique (CL solide > 13 mm ou CL cavitaire avec au moins 3 mm de tissu lutéal entourant uniformément la cavité centrale, mais qui avaient été rejeté à la palpation rectale), le taux de gestation chez ces receveuses est similaire à celui des vaches dont le corps jaune était qualifié de satisfaisant ou excellente par palpation transrectale. En fait, 79% (96/121) des receveuses qui auraient été rejetées en raison d'un CL non satisfaisant basé sur la palpation transrectale ont par la suite été gestantes.

Alors, dans le domaine de la génétique, l'échographie est d'un grand intérêt et permet d'agir avec la précision que demande la mise en jeu de telles valeurs économiques.

Dans une étude récente, McArt (2010) rapporte l'intérêt de l'utilisation du protocole de synchronisation Ultrasynch qui est un protocole basé sur la détection du statut fonctionnel des corps jaunes par échographie, résultant d'une amélioration de l'intervalle vêlage- conception qui chute de 98 à 87 jours, ainsi qu'un taux de détection de chaleurs plus élevé.

L'échographie peut jouer un rôle majeur dans la réduction des coûts à la ferme. L'utilisation systématique de l'échographie peut conduire à une utilisation plus raisonnée des produits médicamenteux, par exemple éviter de traiter une vache non cyclée avec un agent lutéolytique, étant incapable de répondre à un tel traitement.

Elle permet également de réduire, voire annuler, la normale marge d'erreur de la palpation manuelle : quand un excellent clinicien examine manuellement les ovaires, la marge d'erreur est estimée à 30-35% voire 70% (Gnemmi, 2007), ce qui peut conduire à un allongement de l'intervalle vêlage-conception (jours ouverts), entraînant une utilisation plus intensive des médicaments (hormones). Chaque vache non gestante après 100 jours post-partum engendre une perte de 4-6 €/jour, compte tenu des médicaments utilisés et des coûts du travail, conduisant à une perte totale de 40-42 € par traite. Par conséquent, il semble clair que l'échographie est un investissement et non une dépense.

Conclusion

Au terme de cette étude, quelques enseignements peuvent être tirés, cités ci-après :

- Les deux techniques de diagnostic, palpation transrectale et examen échographique, permettent de diagnostiquer la présence d'un corps jaune mieux que son absence, et ce indépendamment de son statut fonctionnel. Toutefois, l'échographie se révèle être la seule technique de diagnostic, par rapport à la palpation transrectale, permettant de juger de façon fiable le statut fonctionnel d'un corps jaune, surtout que, par rapport à la mesure du diamètre, l'évaluation de l'apparence échographique permet de diagnostiquer de façon plus exacte et plus fiable la présence d'un corps jaune du milieu du cycle pleinement fonctionnel. Au contraire, les corps jaunes évolutifs (en cours de formation ou en régression) sont toujours difficiles à diagnostiquer, que ce soit par palpation transrectale ou par échographie.

- La palpation transrectale reste un outil de diagnostic largement utilisé pour l'examen des ovaires chez la vache laitière. Bien que sa sensibilité semble être faible, elle présente l'avantage de ne pas être coûteuse, d'être facilement maîtrisée par les opérateurs, et nécessitant peu de temps par rapport à l'examen échographique.

- Quant à l'examen échographique, il reste un outil de diagnostic plus sensible et plus spécifique que la palpation transrectale, et donc plus fiable, mais, au contraire de cette dernière, est très exigeant sur le plan manipulation et interprétation, ce qui impose une longue pratique de l'opérateur, facteur déterminant pour juger l'exactitude des résultats obtenus par cette technique, qui est ainsi en grande partie opérateur dépendante. D'autre part, son coût élevé limite son utilisation courante dans les élevages de vaches laitières en Algérie.

Recommandations

La réalisation d'un bon examen échographique en vue de diagnostiquer la présence ou l'absence d'un corps jaune implique le respect scrupuleux de certaines règles ci-après citées :

- Avoir une bonne connaissance anatomo-physiologique de la fonction de reproduction chez la vache laitière : « on ne trouve que ce qu'on cherche et on ne cherche que ce qu'on connaît ».
- Réaliser une bonne contention des vaches à examiner afin d'éviter tout mouvement pouvant endommager le matériel échographique ou pouvant rendre l'examen difficile.
- Le choix de l'échographe est d'un grand intérêt pour qu'il soit adapté à cet examen gynécologique (choix du type de la sonde et de sa fréquence).
- La bonne réalisation de l'examen échographique est déterminante pour avoir des résultats exacts et fiables. Pour cela, il faut :
 - ▣ Faire un balayage pour obtenir une vue dynamique des ovaires et non pas une coupe comme c'est le cas pour l'utérus.
 - ▣ Ne pas se presser lorsqu'on tient la sonde dans le rectum, et réaliser un balayage pour examiner les ovaires, et ce pour éviter que des structures soient omises.
 - ▣ Assurer un bon contact entre la sonde et la paroi du rectum pour éviter tout artéfact pouvant rendre difficile ou même fausser l'interprétation de l'image échographique. Ce qui implique l'utilisation du gel de contact et la couverture de la sonde par une gaine protectrice.
 - ▣ La réalisation de deux prises pour évaluer le diamètre des corps jaunes semble être efficace et ne semble pas retarder l'examen échographique.
- L'échographie est une technique opérateur-dépendante, exigeante sur plan professionnel. Seule une utilisation fréquente, avec le respect des règles précitées, permet d'acquérir l'expérience nécessaire pour que les résultats soient exacts et fiables.
- Pour l'analyse de la progestérone plasmatique, la prise de sang à la veine coccygienne permet de réaliser l'examen le plus vite possible, sans nécessiter une contention rigoureuse comme c'est le cas pour une prise par la veine jugulaire.
- Il est impératif d'éviter, surtout quand on travaille dans les conditions de terrain, que les échantillons de sang soient hémolysés.
- La conservation des échantillons de sang prélevé au froid (+6°C) pendant 30 minutes permet d'éviter que la progestérone soit dégradée par les globules rouges.
- L'échographie est une technique plus sensible et plus spécifique que la palpation transrectale pour diagnostiquer la présence des corps jaunes chez la vache laitière. Elle

fournit des résultats plus exacts et plus fiables, permettant de juger au mieux le statut lutéal, en plus de son intérêt dans le diagnostic de gestation et du sexage du fœtus. De ce fait, son utilisation dans les fermes serait d'une grande utilité pour la réalisation du suivi de la reproduction.

Perspectives

L'intérêt de l'échographie en productions animales est pour l'instant essentiellement le suivi de la reproduction en élevage, que ce soit en élevage de ruminants ou de porcs. Cependant, ces dernières années, cette technique a connu d'autres utilisations qui se révèlent très intéressantes dans le domaine vétérinaire notamment pour la médecine bovine.

Des études récentes présentent l'intérêt de l'échographie dans le diagnostic des affections de l'appareil digestif chez les bovins, elle permet d'apprécier les contours, la taille, l'échogénicité, voire la motilité des organes digestifs. En se référant à l'apparence échographique normale des structures digestives, le praticien peut identifier, chez l'animal malade, les modifications de l'aspect échographique des estomacs, des intestins ou encore des annexes digestives.

Les informations obtenues par l'échographie seront utiles tant dans la confirmation ou l'infirmité du diagnostic de pathologies telles que la réticulo-péritonite traumatique, les abcès hépatiques, ou encore les cholestases. Elles seront également utiles dans le choix d'une thérapeutique adéquate.

L'échographie constitue aussi un examen de choix lors d'atteinte pulmonaire chez la vache, notamment, lors de pleurésie, de pneumonie avancée, d'abcès pulmonaire ou lors d'hémorragie pulmonaire.

Cette technique est aussi utilisée dans les omphalites des veaux, cela apparaît comme un outil diagnostique intéressant et fiable : Elle apporte plus de renseignement qu'une simple palpation, et le diagnostic du type d'omphalite est plus sûr.

Non seulement, l'échographie tient une place clé dans le diagnostic des omphalites bovines, mais elle est aussi très intéressante en ce qui concerne la thérapeutique mise en place : elle peut être utilisée pour déterminer l'efficacité d'un traitement médical effectué, et elle permet la préparation du chirurgien à l'opération quand celle-ci s'avère nécessaire.

Aux Etats-Unis, l'échographie est utilisée depuis plusieurs années pour l'estimation de la composition corporelle des bovins dans le but de l'engraissement et la sélection de la race ANGUS, en vue d'obtenir de meilleures qualités diététiques et organoleptiques de la viande.

La glande mammaire a pris aussi part parmi les nombreuses utilisations de l'échographie, cette dernière est considérée comme étant un bon moyen pour évaluer les capacités laitières de la citerne de la glande, elle tient aussi son importance au diagnostic de certaines affections

de la mamelle tels que les mammites les abcès mammaires, les hématomes et les lésions de fibrose, et même identifier la présence d'une membrane ou d'une masse obstruant le tiers distal de la citerne du trayon.

Annexes

PROGESTERONE

Test ELISA pour la détermination quantitative de la progestérone dans le sérum ou le plasma humain

Présentation

REF	55020	96 tests	Kit complet
IVD			

Usage prévu

La progestérone (Pregn-4-en-3, 20-dion), une hormone stéroïde C₂₁ avec un poids moléculaire de 314,5 Dalton, est le gestagène naturel le plus important. Elle est produite par le corpus luteum de la femme non enceinte et par le placenta de la femme enceinte. Chez les hommes elle se trouve dans les testicules en quantités minimales ainsi que dans la corticosurrénale de l'homme et de la femme.

Conjointement avec des œstrogènes (notamment l'estradiol) elle règle les organes associés pendant le cycle menstruel. Une fonction importante est le contrôle de la transformation de l'endomètre au début de la gestation ainsi que l'entretien de celui-ci.

90-98% de la progestérone dans la circulation sanguine sont liés aux protéines porteurs (CBG, SHBG) et à l'albumine. Le reste non lié, la progestérone libre, représente la forme bioactive de ce stéroïde.

En dépendance des phases du cycle menstruel, la concentration de progestérone dans le sang est soumise à une fluctuation significative. Comme les taux reflètent les activités des ovaires et du corps jaune, l'importance clinique du dosage de la progestérone est la preuve de l'ovulation et l'examen de la fonction du corpus luteum de la femme non enceinte¹.

Une sécrétion déséquilibrée de la progestérone peut être constatée pendant la phase prémenstruelle, lors d'une insuffisance lutéale, d'une dysménorrhée et en cas d'une expulsion de l'endomètre irrégulièrement tardée^{2,3,4,5}.

Principe - EIA compétitif -

Le test PROGESTERONE ELISA est basé sur le principe d'une fixation compétitive entre la progestérone dans l'échantillon et un conjugué enzymatique hormonal à un nombre limité d'anticorps anti-progestérone (lapin) immobilisés. Ainsi, la quantité du conjugué enzymatique hormonal fixé est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans les échantillons.

Après l'incubation des échantillons et du conjugué enzymatique hormonal, le conjugué non fixé est lavé. La solution de substrat est ajoutée (phase 2) et une couleur bleue se développe. L'intensité de cette couleur, qui change vers le jaune après l'arrêt de la réaction, est inversement proportionnelle à la concentration de progestérone dans l'échantillon.

L'absorbance des calibrateurs et des échantillons est déterminée avec un lecteur ELISA ou des systèmes complètement automatisés (comme des appareils des séries HUMAREADER ou ELISYS de HUMAN). Les concentrations des échantillons sont extrapolées à l'aide d'une courbe de calibrage, réalisée en utilisant des calibrateurs de sérum avec des concentrations de progestérone connues.

Réactifs

MIC	12	Barrettes de microtitration dans un cadre support Barrettes sécables à 8 puits, enduites d'anticorps anti-progestérone (lapin)
CAL	A - G	Calibrateurs (capuchon blanc) 7x1,0ml Prêts à l'usage, dans du sérum humain Concentrations de progestérone: 0 (A), 0,3 (B), 1,25 (C), 2,5 (D), 5,0 (E), 15,0 (F) et 40,0 (G) ng/ml
CON	25 ml	Conjugué d'enzyme-antigène (capuchon blanc) Prêt à l'usage, coloré en rouge Progestérone - HRP - Conjugué pH 6,9 ± 0,2 BSA 0,5 % Tampon TRIS/MOPS 0,05 mol/l NaCl 0,1 mol/l
WS	30 ml	Solution de lavage (capuchon noire) Concentré pour environ 1200 ml pH 7,3 ± 0,1 TWEEN 20 0,2 % Tampon TRIS-NaCl 3,0 mmol/l

SUB	25 ml	Réactif de substrat (capuchon jaune) Prêt à l'usage 3,3', 5,5'- tetraméthylbenzidine (TMB) 0,26 g/l Peroxyde d'hydrogène 0,015 % Tampon d'acétate de sodium 0,05 mol/l DMSO < 5 %	pH 3,5 - 4,0
STOP	14 ml	Solution d'arrêt (capuchon rouge) Acide sulfurique 0,5 mol/l	

Conservateurs: concentration totale < 0,7%

Conseils de sécurité

Ne pas avaler les réactifs. Eviter le contact avec les yeux, la peau et les muqueuses. Tous les échantillons des patients et **CAL** du kit devraient être traités comme potentiellement infectieux. **CAL** ont été examinés en niveau du donneur afin d'exclure la présence d'anticorps anti-VHC et anti-VIH-1/2 aussi bien que le HBsAg et ont été trouvés négatifs. Porter du vêtement protecteur et des gants jetables selon les bonnes pratiques du laboratoire.

Tout le matériel, contaminé par les échantillons ou **CAL**, devrait être inactivé par des méthodes appropriées et validées; traiter par autoclave ou par réaction chimique.

STOP irrite les yeux, la peau et les muqueuses. En cas d'un contact, rincer soigneusement avec beaucoup d'eau et consulter un médecin.

Stabilité

Conservés à 2...8°C, les réactifs sont stables jusqu'aux dates de péremption indiquées sur les étiquettes individuelles.

Après l'ouverture les réactifs doivent être stockés à 2...8°C et utilisés dans les 60 jours (voir aussi "remarque").

MIC

- cachetées dans un sac d'aluminium contenant un agent de dessiccation;
- avant l'ouverture, les barrettes doivent être ramenées à la température ambiante.
- non utilisés: Les barrettes ou les puits devraient être rangés dans leur sac refermable avec le dessiccateur. Les barrettes, stockées de cette manière à 2...8°C, peuvent être utilisées dans les 60 jours (voir aussi "remarque").
- Ne pas toucher avec les doigts le rebord supérieur ou le fond des puits.

Préparation des réactifs

Avant l'utilisation, ramener tous les réactifs à la température ambiante (15...25°C). Les réactifs non utilisés devraient toujours être stockés à 2...8°C.

Solution de lavage prête à l'emploi WASH

- diluer **WS** à 1200 ml avec de l'eau fraîche, dé-ionisée dans un récipient approprié. Rincer l'ampoule plusieurs fois.
- Stabilité: jusqu'à 2 semaines à 15...25°C.

Echantillons

Sérum ou plasma à l'EDTA

Ne pas utiliser ni les échantillons fortement lipémiques ou hémolytiques ni les échantillons contenant de l'azide de sodium.

Les échantillons peuvent être stockés 3 jours à 2...8°C, jusqu'à 30 jours à -20°C. Congeler et dégeler seulement une fois. Les échantillons dégelés doivent être homogénéisés. Eliminer les particules par centrifugation ou filtration.

Procédure

Réaliser la procédure exactement selon la description ci-dessous.

Avertissements

A1: Ne pas mélanger ou utiliser des composants de lots différents. Ne pas fondre les capuchons des ampoules (risque de contamination). Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption.

A2: Ne pas utiliser des réactifs qui peuvent être contaminés ou qui ont l'air ou l'odeur anormal.

A3: Soigneusement enregistrer tous **CAL**, échantillons et contrôles dans la fiche de travail fournie avec le kit.

A4: Sélectionner le nombre de **MIC** requis et les monter dans le cadre support.

A5: Appliquer chaque **CAL**, contrôle ou échantillon en double. Les pipetter dans le fond des puits.

A6: Toujours ajouter les réactifs dans le même ordre afin de minimiser les différences en l'intervalle de réaction entre les puits et afin d'obtenir des résultats reproductibles. La durée du pipetage des échantillons ne devrait pas excéder 10 minutes. Le

cas échéant, pipetter [CAL] dans les positions indiquées à mi-temps d'une série. Si plus d'une plaque est utilisée, répéter le calibrage.

A7: Eviter/éliminer les bulles d'air avant les incubations et avant la lecture de l'absorbance.

A8: [SUB] lance et [STOP] termine la réaction cinétique. Eviter de la lumière claire pendant le développement de la couleur.

A9: [MIC] - Après chaque pipetage doucement agiter 20-30 sec. sans répandre le liquide afin d'assurer un mélange minutieux. Si disponible, mettre sur un agitateur de plaques.

Procédé de lavage

Le procédé du lavage est critique. Un lavage insuffisant va donner des résultats moins précis et une absorbance faussement élevée.

L1: Aspirer le contenu, ajouter [WASH], aspirer après 30 sec. de trempage et répéter le lavage 2 fois.

L2: Si un laveur automatique est utilisé, le remplir et rincer avec [WASH] et ensuite laver les barrettes 3 fois. Faire attention que tous les puits soient remplis complètement et aspirés soigneusement (après 30 sec.; volume résiduel: < 15 µl).

L3: Après le lavage, ôter le fluide résiduel en frappant la plaque sur du papier absorbant, le côté supérieur en bas.

Mode opératoire

Les réactifs et les échantillons devraient être à la température ambiante avant l'utilisation.		
Phase 1	Puits [µl]	
	A1...F2	G2...
[CAL] A-G; en double	25	—
Echantillons, contrôles; en double	—	25
[CON]	200	200
Mélanger		
Incuber 60 min. à 20...25°C		
Laver 3 fois comme décrit ci-dessus (voir L1/L2 + L3)		
[WASH]	400	400
Phase 2		
[SUB]	200	200
Incuber 15 min. à 20...25°C (voir A8)		
[STOP]	100	100
Mélanger soigneusement		
Lire l'absorbance à 450 nm dès que possible ou dans les 30 min. après avoir terminé la réaction en utilisant une longueur d'onde de référence de 630-690 nm (si disponible).		

Validité du test

Les résultats du test sont valables à condition que les critères suivants soient accomplis:

Maximum d'absorbance ([CAL] A) D.O. $\geq 1,0$

Un contrôle devrait être accompli à 3 concentrations:

Concentration de progestérone à 80% de D.O. $\text{max.} = 0,17 - 0,5 \text{ ng/ml}$

Concentration de progestérone à 50% de D.O. $\text{max.} = 0,82 - 3,8 \text{ ng/ml}$

Concentration de progestérone à 20% de D.O. $\text{max.} = 8,0 - 26,0 \text{ ng/ml}$

Calcul

Une courbe de calibrage est appliquée afin d'interpoler la concentration de progestérone des échantillons inconnus.

- [CAL] - Appliquer les absorbances individuelles en double contre la concentration de progestérone correspondante en ng/ml dans un diagramme linéaire (ne pas calculer la moyenne des doubles avant l'application dans le diagramme).
- Dessiner la courbe la plus congrue possible à travers les points appliqués.
- Pour déterminer la concentration de progestérone pour un échantillon inconnu (S), placer l'absorbance moyenne des doubles sur l'axe vertical du diagramme, trouver le point d'intersection dans la courbe et lire la concentration (en ng/ml) sur l'axe horizontal du diagramme. Voir l'illustration ci-contre.

Interprétation des résultats

En vue de la variabilité significative des taux causée par des fluctuations circadiennes ou même par des variations d'une heure à l'autre ce n'est que la détermination sérielle de la progestérone qui permet d'établir une interprétation précise des valeurs lors d'une affection gynécologique ou d'une gestation anormale.

Grâce à son effet thermogénétique la progestérone provoque l'augmentation de la température basale. L'évaluation des taux de progestérone est facilité par l'interprétation simultanée d'une courbe de la température basale.

Les taux de progestérone varient de < 1 ng/ml pendant la phase folliculaire jusqu'à environ 10-20 ng/ml dans la phase lutéale (voir valeurs usuelles). Les valeurs atteignent leur niveau maximal dans les 6 à 8 jours après l'ovulation, restent constantes pendant 4 à 6 jours et s'abaissent à la concentration initiale 1 à 2 jours avant le flux menstruel.

Au cours de la gestation la concentration de la progestérone placentaire s'accroît continuellement jusqu'à 200 ng/ml.

Seulement la détermination de la progestérone ne suffit pas pour un diagnostic définitif qui devrait toujours être basé sur le rapport entre l'anamnèse et l'évaluation clinique, surtout l'analyse des paramètres hormonaux diagnostiques.

Valeurs usuelles

	concentration de progestérone
Femmes normales	
Phase folliculaire	0,2 - 1,4 ng/ml
Phase lutéale	4 - 25 ng/ml
Ménopause	0,1 - 1 ng/ml
Hommes normales	0,1 - 1 ng/ml

Facteur de conversion: 1 ng/ml = 3,18 nmol/l

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs usuelles en utilisant des instrumentations, des méthodes pour collecter du sang et des techniques de test habituellement appliquées dans ce laboratoire.

Caractéristiques typiques

La sensibilité analytique du test PROGESTERONE ELISA est de 0,03 - 0,07 ng/ml d'échantillon.

Les échantillons avec des concentrations de progestérone au-dessus de 40 ng/ml devraient être dilués 1+9 avec du [CAL] A (0 ng/ml). Répéter le test et multiplier le résultat par 10.

Pour les caractéristiques typiques, veuillez consulter la fiche technique accessible à

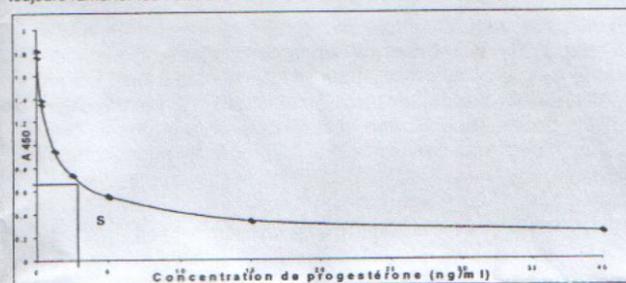
www.human.de/data/gb/vr/el-prog.pdf ou
www.human-de.com/data/gb/vr/el-prog.pdf

Remarque

Même après l'ouverture, les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption. Toutefois, la possibilité d'une contamination est directement rattachée au nombre de prises de réactif. La limitation de 60 jours pour les ampoules ouvertes a seulement été déterminée pour des raisons de sécurité.

La manipulation devrait toujours s'effectuer conformément aux conditions communes d'une bonne pratique du laboratoire (GLP*). Les critères de la validation doivent toujours être respectés!

(*Ceci comporte: toujours soigneusement fermer les flacons avec les capuchons propres / seulement prélever la quantité de solution nécessaire pour un essai, si les réactifs peuvent être contaminés par d'autres solutions comme des échantillons des patients etc. / toujours ramener les solutions à 2...8°C si elles ne sont pas en usage).



Bibliographie

- Israel, R. *et al.*, Am. J.- Obstet. Gynecol. **112**, 1043 (1971)
- Soules, M.R. *et al.*, Fertil. Steril. **36**, 31 (1981)
- Maganliello, P.D. *et al.*, Fertil. Steril. **36**, 55 (1981)
- Hahlin, M. *et al.*, Hum. Reprod. **5**, 622-626 (1990)
- Buck, R.H. *et al.*, Fertil. Steril. **50**, 752-755 (1988)

EL-PROG
INF 5502001 F
11-2005-7



Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 - D-65205 Wiesbaden - Germany
Telefon: +49 6122 9988 0 - Telefax: +49 6122 9988 100 - eMail: human@human.de

PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML
PR	ML	ML	PR	PR	ML

Références Bibliographiques

Arthur A.O., Noakes D.E., Pearson H., Parkinson T.J., 1996: Veterinary reproduction and obstetrics, 7th Ed, Philadelphia: SAUNDERS, 726 pages.

Assey R.J., Purwantara B., Greve T., Hyttell P., Schmidt M.H., 1993: Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. *Theriogenology* 39, 1321–1330.

Austin E.J., Mihm M., Evans ACO., Knight PG., Ireland J.L., Ireland J.J., Roche J.F., 2001 : Alterations in intra follicular regulatory factors and apoptosis during selection of the follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod*, 64, 839-848.

Bao B., Garverick H.A., 1998: Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor gene in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *J Anim. Sci*, 76, 1903-1921.

Barone R., 1990 : Anatomie comparée des mammifères domestiques, Tome 4, splanchnologie II. Ed. Vigot, 2^{ème} édition, 951 pages.

Barthez P., 2002 : L'image ultrasonore : formation de l'image, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité d'Imagerie. Page web : <http://www2.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/11.Echo1/Echo1.pdf>, consultée le 24-09-2009.

Barthez P., 2009 a : L'Image Ultrasonore, Bases Techniques et Matériel. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité d'Imagerie. Page web: <http://www3.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/11.Echo1/Echo1.html> , consultée le 24-09-2009.

Barthez P., 2009 b : L'Image Ultrasonore : Instrumentation, Sémiologie et artefacts. Page web : <http://www2.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/12.Echo2/Echo2.html> , consultée le 28-09-2009.

Battocchio M., Gabai G., Mollo A., Veronesi M.C., Soldano F., Bono G., Cairoli F., 1999 : Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology* 1999, 51, 1059-1069.

Bayemi P.H., Nsongka V.M., Perera B.M., Cavestany D., Webb E.C., 2007: Validation of a human progesterone enzyme immunoassay (EIA) kit for use on serum of cattle in Cameroon. *Trop Anim Health Prod*, 39(5), 335-338.

Beal W.E., Edwards R.B., Kearnan J.M., 1989: Use of B-mode linear array ultrasonography for evaluating the technique of bovine artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 72 : 2198.

Bertrand M., Chartre J.L., 1976 : Physiopathologie lutéale chez la vache. *Rev Méd Vét.*, 4, 541-574.

Bicalho R.C., Cheong S.H., Warnick L.D., Guard C.L., 2007: Evaluation of progesterone supplementation in a prostaglandin F2 alpha-based presynchronization protocol before timed insemination. *J Dairy Sci.* 90, 1193–200.

Bicalho R.C., Cheong S.H., Warnick L.D., Guard C.L., 2007: Evaluation of progesterone supplementation in a prostaglandin F2alpha-based presynchronization protocol before timed insemination. *J Dairy Sci* 2007, 90, 1193–200.

Boin E.M., 2001 : Atlas d'échographies en gynécologie bovine. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 100 pages.

- Boon JA., 1998 :** Manual of veterinary echocardiography. Baltimore: Williams & Wilkins, 400 pages.
- Boyd H., Munro C.D., 1979:** Progesterone assays and rectal palpation in pre-service management of a dairy herd. *Vet Record.* 104, 341-343.
- Boyd JS, Omran SN., 1991 :** Diagnostic ultrasonography of bovine female reproductive tract. In *Practice.* 13, 109–118.
- Breuel KF., Spitzer JC., Gimenez T., Henricks DM., Gray SL., 1988:** Effect of holding time and temperature of bovine whole blood on concentration of progesterone, estradiol-17beta and estrone in plasma and serum samples. *Theriogenology,* 30 (3), 613-27.
- Bulman D.C., Lamming G.E., 1978:** Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *J. Reprod. Fertil,* 54, (2) 447-458.
- Bulvestre M., 2007 :** Influence du β -carotène sur les performances de reproduction chez la vache laitière. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 114 pages.
- Calais E, Dreno C., 2004 :** L'échographie en gynécologie bovine, ovine et caprine : réalisation d'un cd-rom didactique. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 214 pages.
- Carniel P., 1987 :** Données de base de l'échographie. *Le Point Vétérinaire,* 19, (105), 199-212.
- Cavestany D., Galina C.S., Cinoles Vinales., C., 2004:** Effect of the characteristics of the postpartum onset of ovarian activity on the reproductive efficiency of Holstein cows in pastoral conditions. *Archivos de Medicina Veterinaria (Chile).* 33, 217–226.
- Chastant-Maillard S., Boin E., Grimard B., Mialot J.P., 2003a :** Echographie ovarienne chez la vache. *Le Point Vétérinaire,* N° Spécial Examens para cliniques chez les bovins, 34, 112-117.
- Chastant-Maillard S., Mialot J.P., Rosso V., Fournier R., 2003b :** Les vagues folliculaires chez la vache. *L'Action Vétérinaire,* n°1643, 15-19.
- Chebel RC., Santos JE., Cerri RL., Rutigliano HM., Bruno RG., 2006 :** Reproduction in dairy cows following progesterone insert pre-synchronization and resynchronization protocols. *J Dairy Sci,* 89, 4205–19.
- Chetboul V., Pouchelon J.L., Tessier-Vetzel D., Bureau-Amaglio S., 2005 :** Echographie et Doppler du chien et du chat : Thorax, Abdomen, Œil, Système nerveux. Atlas en couleur. Masson, Paris, 453 pages.
- Chevalier F., 1988 :** Echographie de l'appareil génital des femelles domestiques. *Rec. Méd. Vét.* 164, (2), 81-100.
- Cowie AT., Forsyth IA., Hart IC., 1980:** Hormonal control of lactation. *Monographs on Endocrinology (Vol. 15).* Berlin: Springer-Verlag, 96-97.
- Cros N., 2005 :** le sexage du fœtus par échographie chez la vache : étude de l'utilisation pratique sur le terrain. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 158 pages.

Decante F., 1990 : Le diagnostic de gestation par échographie en clientèle rurale bovine. Bulletin des G.T.V., n°4, 45-51.

Derivaux J., Ectors F., 1986 : Reproduction chez les animaux domestiques, 3^{ème} édition revue. Louvain-la-Neuve : Cabay, 1141 pages.

DesCôteaux L., Carrière P.D., Durocher J., 2006: Ultrasonography of the reproductive system of the cow: Basic principles, practical uses and economic aspects of this diagnostic tool in dairy production, 24th world bariatric congress, Nice, France.

Disenhaus C., Kerbrat S., Philipot J.M., 2003 : Entre « fureur » et pudeur: actualités sur l'expression de l'œstrus chez la vache laitière. Journée bovine nantaise, Nantes.

Dobson H., Douthwaite R., Noble K.M., O'donnell M.J., Ribadu A.Y., Tebble J.E., 2001 : Cystic ovaries in cattle. Cattle Pract. 9, 185-189.

Drion P.V., Ectors F.J., Hanzen C., Houtain J-Y., Lonergan P., Beckers J-F., 1996 a : Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : 2. Ovulation, corps jaune et lutéolyse. Le Point vétérinaire, numéro spécial « reproduction des ruminants », 28, 49-56.

Drion P.V., Ectors F.J., Hanzen C., Houtain J-Y., Lonergan P., Beckers J-F., 1996 b : Régulation de la croissance folliculaire et lutéale : 1. Folliculogénèse et atresie. Le point vétérinaire, vol. 28, numéro spécial « Reproduction des ruminants », 28, 37-44.

Drion P.V., Hanzen C., Houtain J.Y., Ectors F., Beckers J.F., 1998 : Connaissances actualisées des régulations de la croissance folliculaire chez les bovins. In : Journées Nationales des GTV. Tours, 27-28-29 Mai. Paris, 15-26.

Drion P.V., Beckers J.F., Derkenne F., Hanzen C., 2000 : Le développement folliculaire chez la vache. 2. Mécanismes hormonaux au cours du cycle et du post-partum. Ann. Méd. Vét, 144, 385-404.

Edmondson A.J., Fissore R.A, Pashen R.L., Bondurant R.H., 1986: The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. 1. Normal and pathological ovarian structures. Anim Reprod Sci. 12, 157-165.

Eldon J., 1991: Post-partum and post conceptional ovarian activity of dairy cows: evaluation based on progesterone profiles .Acta.Vet.Scand, 32(3), 377-386.

Ennuyer M., 2000 : Les vagues folliculaires chez la vache, applications pratiques à la maîtrise de la reproduction. Le Point Vétérinaire, 31 (209) : 9-15.

Escoufflaire P., 2003 : Détection des corps jaunes par palpation des ovaires. Le point vétérinaire, 238, 36-38.

Farin P.W., Youngquist R.S., Parfet J.R., Garverick H.A., 1990: Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts in dairy cows by sector scan ultrasonography. Theriogenology. 34, 633-642.

Farin P.W., Youngquist R.S., Parfet J.R., Garverick H.A., 1992: Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear -array ultrasonography in dairy cows. Journal of American Veterinary Medical Association. 200, 1085-1089.

Fieni F., Tainturier D., Bruyas J.F., Battut I., 1995 : Physiologie de l'activité ovarienne cyclique chez la vache. Bull. GTV, 4: 35-49.

Fieni F., Tainturier D., Bruyas J.F., Battut I., 1998 : Examen échotomographique des ovaires chez la vache. Journées nationales des GTV, Tours, 411-415.

Fleiss J.L., 1981: Statistical methods for rates and proportions, New York, USA: WILEY, 223-24.

Fricke P.M., 2002: Scanning the Future- Ultrasonography as a Reproductive Management Tool for Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 85, 1918–1926.

Galvao K.N., Sa Filho M.F., Santos J.E., 2007: Reducing the interval from presynchronization to initiation of timed artificial insemination improves fertility in dairy cows. J. Dairy. Sci. 90, 4212-8.

Ginther O.J., 1986: Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. Equiservices, Cross Plains, USA, 378 pages.

Ginther O.J., 1995 a: Ultrasound imaging and animal reproduction: Fundamentals. Book 1. Equiservices, Cross Plains, USA, 225 pages.

Ginther O.J., 1995 b: Ultrasound imaging and animal reproduction: Cattle. Book 3. Equiservices, Cross Plains, USA, 301 pages.

Giuseppe G., 2007 : l'onde ultrasonore propriétés physiques, sémiologie et artefacts, CHUV.

Gnemmi G, 2007: Improving bovine fertility: look again at ultrasonography. Irish Veterinary Journal. 60 (7), 435-438.

Goddard P.J., 1995: Veterinary Ultrasonography. CAB international, Wallingford, 329 pages.

Hagen N., Gayraud V., Toutain P.L., 2000 : L'échographie de l'appareil génital de la vache. Polycopié d'enseignement deuxième cycle première année module sémiologie, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 35 pages.

Hamilton S.H., Garverick H.A., Keisler D.H., Xu Z.Z., Loos K., Youngquist R.S., 1995 : Characterization of follicle / cyst dynamics and associated endocrine profiles in dairy cows. Biol Reprod, 53, 890-898.

Hanzen Ch ., Laurent Y., Lambert E ., Delsaux B ., Ectors F., 1990 : Etude épidémiologique de l'infécondité bovine. 1. Mise au point d'un programme informatisé de gestion de la reproduction. Ann. Méd.Vét. 134, 93-103.

Hanzen C, Lourtie O, Drion P.V., 2000a : Le développement folliculaire chez la vache : Aspects morphologiques et cinétiques. Annales de Médecine Vétérinaire, 144, 223-235.

Hanzen C, Pieterse M, Scenczi O, Drost M., 2000 b: Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. The Veterinary Journal, 159, 161-170.

Hanzen C., Laurent Y., Jakovljevic S., 1993: Applications de l'échographie en reproduction bovine 1.Examen des ovaires. Ann. Méd. Vét. 137, 13-18.

Hanzen C., Bascon F., Theron L., Lopez-Gatius F., 2007 : Les kystes ovariens dans l'espèce bovine. 1. Définitions, symptômes et diagnostic. Ann. Méd. Vét. 151 (4), 247-256.

Hanzen C., 2009 a : Applications de l'échographie à la reproduction des ruminants, note de cours. Faculté de médecine vétérinaire, université de Liège.

Hanzen C., 2009 b : Rappels anatomophysiologiques relatifs à la reproduction de la vache. Note de cours. Faculté de médecine vétérinaire, université de Liège.

Hanzen C., 2009 c : Propédeutique de l'appareil génital de la vache, note de cours. Faculté de médecine vétérinaire, université de Liège.

Hartigan P.J., 1995: Cattle breeding and infertility. In: Meredith MJ (ed), animal breeding and infertility. Oxford: Blackwell Science Ltd, 101-102.

Hendee W.R., 2002: Medical imaging physics. 4th Ed., John Wiley and Sons, 512 pages.

Herzog K., Brockhan-Ludemann M., Kaske M., Beindorff N., Paul V., Niemann H., Bollwein H., 2010: Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size. *Theriogenology*. 73, 691–697.

Humblot P., 1978 : Les dosages hormonaux dans le diagnostic et la thérapeutique de l'infécondité individuelle chez la vache. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 93 pages.

Jaudon J.P., Perrot C., Viaud F., Cadore J.L., 1991 : Bases physiques, technologiques et sémiologiques de l'ultrasonographie médicale. *Le Point Vétérinaire*, 23, (135), 11-18.

Jeffcoate I.A., Ayliffe T.R., 1995 : An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment. *Veterinary Record*, 136, 406-410.

Jou P., Buckrell B.C., Liptrap R.M., Summerlee A.J.S, Johnson W.H., 1999: Evaluation of the effect of GnRH on follicular ovarian cysts dairy cows using transrectal ultrasonography. *Theriogenology*, 52, (5), 923-937.

Juengel J.L., Smith G.W., Smith M.F., Youngquist R.S., Garverick H.A., 1994: Pattern of protein production by bovine corpora lutea during luteolysis and characterization of expression of two major secretory products of regressing corpora lutea. *J. Reprod. Fertil.* 100 (2), 515–520.

Juillien C., 2003 : Intérêts diagnostique et pronostique de l'échographie fœtale chez les bovins clonés. Thèse de doctorat, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, 100 pages.

Kahn W., 1994 : Examen échographique des bovins. In : Atlas de diagnostics échographiques. Editions Maloine, Paris, p 83-185.

Kahn W., Leidl W., 1989: Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. In: Diagnostic ultrasound and animal reproduction. P53-65, eds M.M. Taverne & A.H. Willemsse, Kluwer Academic Publisher.

Kaneda Y., Domeki I., Nakahara T., 1980: Effects of removal of cystic fluid from cystic corpus luteum on luteinization and conception rate in dairy heifers. *Japanese Journal of Animal Reproduction*. 26, 37-42.

- Kastelic J.P., Pierson R.A., Ginther O.J., 1990 a:** Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*. 34, 487-498.
- Kastelic J.P., Bergfelt D.R., Ginther O.J., 1990 b:** Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology*. 33, 1269-1278.
- Kayacik V., Salmanoglu M.R., Polat B., Ozluer A., 2005:** Evaluation of the Corpus Luteum Size throughout the Cycle by Ultrasonography and Progesterone Assay in Cows. *ukr J Vet Anim Sci* ,29 : 1311-1316.
- Kelton D.F., Leslie K.E., Etherington W.G., Bonnett B.N., Walton J.S., 1991:** Accuracy of rectal palpation and a rapid milk progesterone enzyme immunoassay for determining the presence of a functional corpus luteum in sub estrous dairy cows. *Canadian Veterinary Journal* . 32, 286-291.
- Kelton D.F., White M.E., Hodges R.J., Guard C.L., Powers P.M., Dinsmore R.P., Stehman S.M., Hillman R.B., Yoder S.S., 1988:** The relationships among palpator experience, milk progesterone concentration and estrus and fertility in cows with palpable corpora lutea treated with cloprostenol. *Cornell Vet.* . 78, 105-112.
- Kelton D.F., Leslie K.E., Hetherington W.G., Bonnett B.N., Walton J.S., 1991:** Accuracy of rectal palpation and a rapid milk progesterone enzyme immunoassay for determining the presence of a functional corpus luteum in sub estrous dairy cows. *Canadian veterinary journal*. 32, 286-291.
- Kirberger R.M., 1995:** Imaging artifacts in diagnostic ultrasound – a review. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 36, (4), 297-306.
- Kito S., Okuda K., Miyazawa K., Sato K., 1986:** Study of the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology*. 25, 325-333.
- Laforest M., 2005 :** Le contrôle de la maturation nucléaire des ovocytes porcins. Implication de la phosphodiesterase de type 3 et de l'AMPK (5' adenosine-monophosphate-activated protein kinase). Mémoire de maîtrise, université de Laval, 158 pages.
- Lamming G.E., Bulman D.C., 1976:** The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of sub fertility in dairy cows. *Br. Vet. J.*, 132, (5), 507-517.
- Lamming G.E., Darwash A.O., 1998:** The use of milk progesterone profiles to characterize components of sub fertility in milked dairy cows. *Anim Reprod Sci.*, 52, 175-190.
- Lang J., 2006:** Ultrasound Artifacts: In: *Diagnostic ultrasound in small animal practice*. Blackwell Science, pages 20-25.
- Lang J., 2006 b:** Urinary Tract: In: *Diagnostic ultrasound in small animal practice* pages 109-144.
- Le Roux-Kouman L., 2002 :** Pratiques et intérêts de l'échographie chez les animaux de rente. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 200 pages.
- Legmann P., 2008 :** Echographie, Elsevier Masson, 4^{ème} édition, 334 pages.
- Legrand J.J., Carlier B., 1981 :** Bases physiques de l'échotomographie. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 157, (7-8), 553-559.

Lischer CJ., Steiner A., 1994: Ultrasonography of the umbilicus in calves. Part 2: Ultrasonography, diagnosis and treatment of umbilical diseases. *Schweiz Arch Tierheilkd.* 136 (6-7), 227 - 41.

Loriot N., Martinot S., Franck M., 1995 : Echographie abdominale du chien et du chat. Masson, Paris, 142 pages.

Maarten D., Pieterse M.C., 1998 : Ultrasound in bovine reproduction : Uterus, ovaries, diagnosis and treatment. *Le nouveau Péripartum*, SFB, Paris, 25 et 26 novembre, 213-220.

Mai W., 1999a : L'image échographique: formation et qualité. *Le Point Vétérinaire.* 30, 71-76

Mai W., 1999 b : Les artéfacts de l'image échographique. *Le Point Vétérinaire.* 30, 49-54.

Mailland-Lagrace A.S., 2005 : Utilisation de l'échographie dans les omphalites des veaux. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 114 pages.

Massot J., 2006 : Apport de l'échographie dans le diagnostic des affections de l'appareil digestif chez les bovins : étude bibliographique. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse, 100 pages.

McArt JA., Caixeta LS., Machado VS., Guard CL., Galvao KN., Sá Filho OG., Bicalho RC., 2010: Ovsynch versus Ultrasynch: reproductive efficacy of a dairy cattle synchronization protocol incorporating corpus luteum function. *J Dairy Sci.* 93(6), 2525-32.

McDougall S., Rhodes FM., 1999: Detection of a corpus luteum in apparently anoestrous cows by manual palpation, transrectal ultrasonography and plasma progesterone concentration. *NZ Vet J* 1999, 47, 47-52.

McDougall S., 2003: Resynchrony of previously anoestrous cows and treatment of cows not detected in oestrus that had a palpable corpus luteum with prostaglandin F2 alpha. *NZ Vet J*, 51, 117-24.

McDougall S., Compton C., 2005: Reproductive performance of anestrous dairy cows treated with progesterone and estradiol benzoate. *J Dairy Sci*, 88, 2388-400.

McNathy KP., Heath DA., Lundy T., Fidler AE., Quirke L., O'connell A., Smith P., Groome N., Tisdall DJ., 1999 : Control of early ovarian follicular development. *J Reprod Fertil Suppl*, 54, 3-16.

Mercier-Parisot P., Martinot S., Thiriat F., Franck M., 1991 : Echographie et gestion de la reproduction chez les bovins. *Le Point Vétérinaire.*, 1991, 23 (135), 33-39.

Meredith MJ., 1995 : Animal breeding and infertility. UK: Blackwell Science, 508 pages.

Mialot J.P., Levy I., Grimard B., 1991 : L'échographie dans la gestion de la reproduction chez les bovins. *Rec. Méd. Vét*, 167, (1), 21-31.

Mialot JP., Constant F., Chastant-Maillard S., Ponter AA., Grimard B., 2001 : La croissance folliculaire ovarienne chez les bovins : nouveautés et applications. *Journées Européennes de la Société Française de Buiatrie*, Paris, 163-168.

Mialot J.P., Radigue P.E., Houard J., Marchon D., Constant F., Ponter A.A., Chastant-Maillard S., 2003 : Les kystes ovariens chez la vache laitière : apport de l'échographie. *Journées nationales des GTV*, Nantes 14, 15 et 16 mai, 657-664.

Monget P., Fabre S., Mulsant P., Lecerf F., Elsen JM., Mazerbourg S., Pisselet C., Monniaux D., 2002 : Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic mammals. *Domest Anim Endocrinol*, 23 (1-2), 139-154.

Mortimer R.G., Olson J.D., Huffman E.M., Farin P.W., Ball L., Abbitt B., 1983: Serum progesterone concentration in pyometric and normal postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 19, 647-653.

Mwaanga, E.S., 2000: Diagnosis and treatment of ovarian afuction in cows. Thèse de doctorat, Université de Warmia and Mazury, Olsztyn, 2000.

Niswender G.D., Juengel J.L., Silva P.J., Rollyson M.K., Mcintush E.W., 2000: Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 80, 1–29.

Norman W., 1998: Equine diagnostic ultrasonography, Wiley-Blackwell, 677 pages.

Nyland T.G., Mattoon J.S., Wisner E.R., 1995: Physical principles, instrumentation and safety of diagnostic ultrasound. In: NYLAND T.G. and MATTOON J.S. (ed), *Veterinary diagnostic ultrasound*. W.B. Saunders, Philadelphia, 357 p., 3-18.

Omran S.N., Ayliffe T.R., Boyd J.S., 1988: Preliminary observations of bovine ovarian structures using B-mode real-time ultrasound. *Vet Record*. 122, 465-469.

Opsomer G., Coryn M., Deluyker H., De Kruif A., 1998 : An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod in Dom Anim.*, 33, 193-204.

Opsomer G., Grohn Y.T., Hertl J., Coryn M., Deluyker H., De Kruif A., 2000: Risk factors for postpartum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology*, 53, 841-857.

Ott, R.S., Bretzlaff, K.N., Hixon, J.E., 1986: Comparison of palpable corpora lutea with serum progesterone concentration in cows. *Journal of American Veterinary Medical Association*. 188, 1417-1419.

Palmer E., Driancourt M.A., 1980: Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*, 13, 203-216.

Pate J.L., 1994: Cellular components involved in luteolysis. *J. Anim. Sci.* 72, 1884–1890.

Pathiraja N., Oyedipe E.O., Voh A.A., Dawuda P.M., 1986: Accuracy of rectal palpation in the diagnosis of corpora lutea in Zebu cows. *British Veterinary Journal*. 142, 467-471.

Penninck D., Cuvellez S., 1985 : Principes physiques et méthodes d'exploration échographique. *Ann. Méd. Vét*, 129, (6), 381-391.

Penninck D.G., 1995: Imaging artifacts in ultrasound: In: NYLAND T.G. and MATTOON J.S. *Veterinary diagnostic ultrasound*, W.B. Saunders, Philadelphia, pages 19-29.

Perry R.C., Beal W.E., Corah L.R., 1990: Reproductive applications of ultrasound in cattle. 1. *Agri-Practice*. 11(4), 28-32.

Pierson R.A., Ginther O.J., 1984a: Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*. 21, 495-504.

Pierson R.A., Ginther O.J., 1987: Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 190, (8), 955-1001.

Pierson R.A., Ginther O.J., 1987 b: Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. *Theriogenology*. 28, 929-936.

Pierson R.A., Ginther O.J., 1988a: Follicular populations during the estrus cycle in heifers. 3. Time of selection of the ovulatory follicle. *Anim Reprod Sci.* 16, 81-95.

Pierson R.A., Ginther O.J., 1988b: Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*. 29, 21-37.

Pieterse M.C., 1989: Ultrasonic characteristics of physiological structures on bovine ovaries. In: *Diagnostic Ultrasound and Animal Reproduction*, eds M.M. Taverne & A.H. Willemse, p53-65, Kluwer Academic Publisher.

Pieterse M.C., Taverne M.A.M., Kruijff Th A.M., Willemse A.H., 1990: Detection of corpora lutea and follicles in cows: A comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet Record*. 126, 552-554.

Point F., 2007 : Contribution a l'étude de la détection des chaleurs par vidéosurveillance chez la vache laitière. Comparaison avec les profils de progestérone. Thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Lyon, 120 pages.

Pulido A., Zarco L., Galina CS., Murcia C., Flores G., Posadas E., 1991: Progesterone metabolism during storage of blood samples from Gyr cattle: effects of anticoagulant, time and temperature of incubation. *Theriogenology*, 35 (5): 965-75.

Quintela Arias L.A., De Pablo C.D., Herradon P.J.G., Martinez A.I.P., Gonzalez J.J.B., 2006 : Ecografía y reproducción en la vaca. Ed, Université de Santiago, 92pages.

Quirk S.M., Hickey G.J., Fortune J.E., 1986: Growth and regression of ovarian follicles during the follicular phase of the estrous cycle in heifers undergoing spontaneous and PGF 2a induced luteolysis. *J Reprod and Fertil* 77, 211-219.

Rajamahendran R., Ambrose D.J., Burton B., 1994: Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction: a review. *Canadian Veterinary Journal*, 35, (9), 563-572.

Reprology., 2010 : site web : www.reprology.com , consulté le 10-05-2010.

Ribadu A.Y., Ward W.R., Dobson H., 1994: Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet Record*. 135, 452-457.

Saito Y., 2002: Diagnostic method for reproductive disorders: In: *Manual for Diagnosis and Treatment of Reproductive Disorders in Dairy Cattle*. Japan Livestock Technology Association, pages 83-99.

Sartori R., Haughian JM., Shaver RD., Rosa GJ., Wiltbank MC., 2004: Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci* 2004, 87, 905-20.

Saumande J., 1991 : La folliculogénèse chez les ruminants. *Rec Méd Vét. Spécial Reproduction des Ruminants*, 167, (3/4), 205-218

Savio JD, Boland MP Roche JF., 1990: Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. *J Reprod Fert*, 88, 581-591

Scott S.J., Dobson H., 1997: Postmortem comparison of ultrasonography, endocrine measurements and histology of large abnormal ovarian follicles in cows. *Vet Record*, 134, 654-656.

Senger PL., 2005: Pathways to Pregnancy and Parturition. Second revised version, Current Conceptions Inc, Pullman, 373 pages.

Siqueira LG., Torres CA., Amorim LS., Souza ED., Camargo LS., Fernandes CA., Viana JH., 2009: Interrelationships among morphology, echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrous cycle. *Animal Reproduction Science*, 115 : 18–28

Sirois J., Fortune J.E., 1988: Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biology of Reproduction*. 39, 308-317.

Slama H., Zaiem B., Chemli J., Tainturier D., 1996 : Reprise de l'activité ovarienne en période postpartum chez la vache laitière. *Rev Med Vét*, 147, (6), 453-456.

Sprecher D.J., Nebel R.L., Whittier W.D., 1988: Predictive value of palpation per rectum vs. milk and serum progesterone levels for the diagnosis of bovine follicular cysts and luteal cysts. *Theriogenology*. 30, 701-709.

Sprecher D.J., Nebel R.L., Whitman S.S., 1989: The predictive value, sensitivity and specificity of palpation per rectum and transrectal ultrasonography for the determination of bovine luteal status. *Theriogenology*. 31, 1165-1172.

Tainturier B., 2001 : Le diagnostic du sexe du fœtus par échotomographie chez la vache. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université de Nantes, 163 pages.

Tainturier D., 1977 : Progesterone et pathologie de la reproduction. *Rev Méd Vét*, 2, 130-142.

Tainturier D., 1999 : Pathologie de la reproduction de la vache. *La Dépêche*, supplément technique n°64, 47 pages.

Tainturier D., Bencharif D., Briand L., 2006 : L'échographie des ovaires de vache (dossier : l'échographe en gynécologie : un outil incontournable, souvent sous-exploité). *Bulletin des GTV*. n° 036 : 37-42.

Taylor V.J., Beever D.E., Bryant M.J., Wathes D.C., 2003: Metabolic profiles and progesterone cycles in first lactation dairy cows. *Theriogenology*, 59, 1661-1667.

Terblanche H.M., Labuschagne J.M., 1981: Plasma progesterone in cattle. II. Levels during the estrous cycle, pregnancy and parturition. *J S Afr Vet Assoc*. 52 (3), 187-189.

Thibier M., Chapalgaonkar K., Joshi A., Karbade V., Recca A., 1983: Use of a heat detection paste on dairy cattle in France. *Vet Record*. 113, 128-130.

Thimonier J., 2000 : Détermination de l'état physiologique des femelles par analyse des niveaux de progesterone. *Prod. Anim.*, 13 (3), 177-183.

- Tom J.W., Pierson R.A., Adams G.P., 1998:** Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology* 49, 1345–1352.
- Vahdat F., Hurtgen J.P., Whitmore H.L., Seguin B.E., Johnston S.D., 1981:** Decline in assayable progesterone in bovine plasma: effect of time, temperature, anticoagulant, and presence of blood cells. *Am J Vet Res*, 42(3), 521-2.
- Vahdat F., Seguin B.E., Whitmore H.L., Johnston S.D., 1984:** Role of blood cells in degradation of progesterone in bovine blood. *Am J Vet Res*, 45(2), 240-3.
- Valon F., Legrand J.J., 1981 :** Les ultra-sons : leur utilisation pour le diagnostic médicale des équidés. *Pratique Vétérinaire Equine*, 13, (2), 89-95.
- Veronesi M.C., GABAI G., Battocchio M., 2002:** Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows. *Theriogenology*, 58, (1), 61-68.
- Viana J.H.M., Ferreira A.M., Sà W.F., Camargo, L.S.A., 1999:** Luteal regression and follicular dynamic after spontaneous or cloprostenol induced luteolysis in Gir cattle. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinaria e Zootecnia* 51 (3), 251–256.
- Watson E.D., Munro C.D., 1980:** A re-assessment of the technique of rectal palpation of corpora lutea in cows. *British Veterinary Journal*. 136, 555-560.
- Webb R., Lamming G.E., Haynes N.B., Foxcroft G.R., 1980:** Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in postpartum dairy cows. *J Reprod Fert*, 59, 133-143.
- Webb R., Campbell BK, Garverick HA, Gong JG, Gutierrez CG, Armstrong DG., 1999 :** Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl*, 54, 33-48.
- Webb R., Nicholas B., Gong JG., Campbell BK., Gutierrez CG., Garverick HA., Armstrong DG., 2003 :** Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. *Reprod Suppl*, 61, 71-90.
- Webb R., Garnsworthy PC., Gong JG., Armstrong DG., 2004 :** Control of follicular growth : local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci*, 82 (E. Suppl.), E63-E74
- Zdunczyk S., Janowski T., Ras A., Baranski W., 2009:** accuracy of ultrasonography and rectal palpation in the diagnosis of silent heat in cows compared to plasma progesterone concentration. *Bull vet inst pulawy* 53, 407-410.