

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر-

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE – ALGER-

MÉMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

MAGISTÈRE EN SCIENCES VÉTÉRINAIRES

Option : NUTRITION ET REPRODUCTION DES BOVINS

Thème :

**Suivi de l'activité ovarienne par Echographie Doppler chez la
vache de race locale "Brune de l'Atlas"**

Présenté Par :

Dr. MEBARKI Mounir

Devant le Jury :

Président : Dr. KHELEF D. (ENSV d'Alger)

Promoteur : Pr. TEMIM S. (ENSV d'Alger)

Examineurs : Dr. GHOZLANE F. (ENSA d'Alger)

Dr. LAMARA A. (ENSV d'Alger)

Dr. SOUAMES S. (ENSV d'Alger)

Remerciements

A Monsieur le Docteur KHELEF.D,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse,

Qu'il daigne agréer l'expression de nos hommages respectueux.

A Madame le Professeur TEMIM.S,

Pour nous avoir encadré et soutenu dans la réalisation de ce travail,

Puissiez-vous trouver ici l'expression de notre profonde gratitude ainsi que nos sincères vœux de réussite dans l'accomplissement de vos fonctions pour notre Ecole.

A Monsieur le Docteur GHOZELANE F,

Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse,

Sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur LAMARA A,

Qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail.

Sincères remerciements.

A Monsieur. SOUAMES.S,

Qui nous a fait l'honneur de juger notre travail.

Sincères remerciements.

Je ne saurai oublier de remercier messieurs Ayachi, Aissi et Hanzen

Pour les nombreux conseils et moyens que vous m'avez prodigué

DEDICACES

A mes parents.

Vous m'avez tant apporté.

Je vous remercie de m'avoir soutenu et aidé depuis toujours.

Je vous aime tant !!

A ma femme pour sa compréhension et son soutien.

A mes enfants chéris SARA, RAYANE et TAKIEDDINE

A mes sœurs, frères, nièces et neveux

Je dédie également ce travail à tous mes amis

Karim , Takfarines et Hamza

A mes collègues de promotion de Magistère.

RESUME

L'objectif de notre étude était d'évaluer la fiabilité du flux sanguin enregistré par échographie-doppler couleur pour suivre l'évolution des follicules et l'activité du corps lutéal chez les vaches de race locale « brune de l'atlas ».

La synchronisation des chaleurs est obtenue par le protocole Ovsynch. Quatorze vaches cyclées hors lactation sont examinées par échographie Doppler couleur endovaginale en vue de :

- * **Etude 1** : Déterminer le changement de la vascularisation folliculaire durant la première vague folliculaire ;
- * **Etude 2** : Déterminer la relation entre le flux sanguin lutéal et le taux de la progestérone sérique durant le cycle œstral, et de les comparer avec ceux de la taille lutéale obtenue par échographie mode 2D ;
- * **Etude 3** : Déterminer la relation entre le flux sanguin lutéal et le taux de la progestérone sérique après luteolyse par injection de PGF 2α , Et de les comparer avec ceux de la taille lutéal obtenue par échographie mode 2D ;
- * **Etude 4** : Déterminer l'utilité du flux sanguin lutéal comme méthode de diagnostic précoce de gestation.

Ces études confirment que le nombre de follicules, avec vascularisation détectable dans la première vague folliculaire chez 10 vaches, est étroitement en relation avec la dynamique de la croissance folliculaire, sélection et atresie. Ainsi, il a été démontré que le flux sanguin est plus indicatif de l'activité lutéale durant le cycle œstral (0.93 ; $p < 0.001$) et après luteolyse par injection de PGF 2α (0.99 ; $p < 0.001$) que la taille du corps jaune, de même, pour le corps jaune gestatif (0.95 ; $p < 0.001$) durant les premiers 42 jours, ce qui permet son utilisation pour diagnostiquer précocement les cas de non gestation et de mortalités embryonnaires.

Mots clés : follicule, corps jaune, Doppler, échographie, vascularisation, vache.

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the reliability of blood flow (BF) as recorded by color Doppler sonography endovaginal to monitor changes of ovarian follicles, and the corpus luteum (CL) activity in cows of local breed “brown of the atlas”.

14 normally cycling and no lactating cows were examined by endovaginal color Doppler ultrasonography .Synchronization of the estrous cycle was achieved with the aid of the Ovsynch protocol, to:

- * **Study 1:** To determine the real-time changes in vascularity of the follicle during the first follicular wave.
- ***Study2:** To determine the relationships between blood flow in the corpus luteum (CL)and circulating progesterone concentrations during the estrous cycle ,to compare the results with that for established criterion luteal size(LS) as determined by B-mode sonography.
- ***Study 3:** To determine the relationships between blood flow in the corpus luteum (CL)and circulating progesterone concentrations during the estrous cycle and after injection of a luteolytic dose of PGF2 α , to compare the results with that for established criterion luteal size(LS) as determined by B-mode sonography.
- ***Study 4:** Assess corpus luteum blood flow (CLBF) as early indicator of pregnancy status.

This study demonstrates that the number of follicles with detectable vascularization in the first follicular wave in 10 cows is closely related to the dynamics of follicular growth, selection and atresia. Thus it was demonstrated that blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the oestrous cycle in 10 cows (0.93, $p < 0.001$) and after luteolysis by PGF2 α in 7 cows (0.99, $p < 0.001$) than luteal size, the same applies to the corpus luteum of pregnancy (0.95, $p < 0.001$) during the first 42 days in 6 cows, which could be applied to the early diagnosis of non-pregnancy and fetal loss.

Keywords : Follicle, Corpus luteum, Doppler, Ultrasonography, Vascularization, Cow.

ملخص

الهدف من دراستنا هذه هو تقييم مدى فعالية استخدام التدفق الدموي المسجل بموجات دوبلر فوق الصوتية بالألوان لمتابعة تطور الجر يبات المبيضية و كذا نشاط الجسم الأصفر عند أبقار السلالة المحلية " سمراء الأطلس" .

14 بقرة ذات دورات شبق منتظمة غير حلوبة خضعت للفحص بموجات دوبلر فوق الصوتية بالألوان عن طريق المهبل توقيت الشبق تم بواسطة البرنامج المسمى Ovsynch من اجل:

الدراسة 1: تحديد التغييرات في الوقت الحقيقي في التدفق الدموي في الجريب خلال الموجة الجريبية الأولى من دورة الشبق

الدراسة 2: تحديد العلاقة بين التدفق الدموي في الجسم الأصفر مع تركيز البروجسترون في الدم خلال دورة الشبق ومقارنة النتائج مع المساحة المقاسة بالفحص بالأمواج فوق صوتية ثنائية الأبعاد.

الدراسة 3: تحديد العلاقة بين التدفق الدموي في الجسم الأصفر مع تركيز البروجسترون في الدم بعد هدم الجسم الاصفر

بحقن مادة ال $PGF2\alpha$ ومقارنة النتائج مع المساحة المقاسة بالفحص بالأمواج فوق صوتية ثنائية الأبعاد

الدراسة 4: تقييم فعالية الفحص بموجات دوبلر فوق الصوتية بالألوان في التشخيص المبكر للحمل

هذه الدراسة بينت بان عدد الجر يبات ذات التدفق الدموي الواضح أثناء الموجة الجريبية الأولى لدى 10 ابقار وثيق الصلة بالمرحل: نمو، اختيار، ضمور الجر يبات . وقد أثبتت أيضا بان التدفق الدموي يعتبر المؤشر الأكثر ملاءمة للدلالة على عمل الجسم الأصفر مقارنة باستخدام الحجم كمؤشر ، أثناء دورة الشبق عند 10 أبقار، و بعد حقن $PGF2\alpha$ عند 7 أبقار، و كذلك لدى الجسم الأصفر خلال ال 42 يوم الأولى من الحمل عند 6 أبقار.

مما يسمح باستخدامه للتشخيص المبكر لحالات عدم الحمل كذا فقدان الأجنة.

الكلمات المفاتيح: الجريب ، الجسم الأصفر ، دوبلر ، الموجات فوق الصوتية ، التدفق الدموي ، بقرة.

- AC** : Aire colorée
- BD = 2D** : Bidimensionnel
- C** : Vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1540 m/s)
- CJ** : Corps jaune
- D** : Vitesse minimale diastolique
- E2** : Oestradiol-17 β
- ELISA**: Enzyme Linked immunosorbent Assay
- f0** : Fréquence émise
- FSH**: Follicle-stimulating hormone
- FSI**: Full spectrum imaging
- FSL** : Flux sanguin lutéale
- GnRH**: Gonadotrophin releasing hormone = gonadolibérine
- Hz** : Hertz
- IP** : Index de Pulsatilité
- IR** : Index de résistivité
- LH**: Luteinizing hormone
- MHz**: Mégahertz
- OPU**: Ovum pick-up
- p** : Niveau de significativité pour les probabilités critiques
- P4** : Progestérone
- PGF2 α** : Prostaglandine F2 α
- PLSD**: Protected Least Sig difference
- PRF** : Fréquence de répétition des pulses
- r** : Coefficient de corrélation de Pearson
- S** : Vitesse maximale systolique
- SRF** : Speckle reduction filter
- TL** : Taille lutéale
- TM** : Temps-mouvement
- V** : Vitesse du flux sanguin
- Δf** : Variation de fréquence en Hertz

Figure 01 :	Représentation schématique des différents stades de croissance (folliculogénèse) et de régression par lesquels passent les follicules ovariens (Laforest,2005)	02
Figure 02 :	Vagues de croissance folliculaires au cours du cycle œstral de la vache (Smith et al., 2010).	03
Figure 03 :	Les changements dans le développement du corps jaune, la concentration de la progestérone sérique, et la concentration de la prostaglandine F2 α (PGF2 α) durant la phase lutéale du cycle œstrale de la vache (Smith et al .,2010)	06
Figure 04 :	Mécanisme de l'inhibition de la lutéolyse par le trophoblaste	07
Figure 05 :	Représentation schématique des interrelations de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique	08
Figure 06 :	Longueur d'onde (λ) (Penninck et Cuvelliez 1985)	13
Figure 07 :	La réflexion et la réfraction de l'onde ultrasonore incidente (Boon, 1998).....	15
Figure 08 :	Les différents types de réflexion des échos (Ginther,1986)	16
Figure 09 :	Illustration du Mode A (Block.2004)	19
Figure 10 :	Illustration du Mode B (Barthez, 2002)	19
Figure 11 :	Mode BD (Barthez, 2002)	20
Figure 12 :	Illustration du Mode TM (Block.2004)	21
Figure 13 :	Sonde linéaire (http://reprology.com)	22
Figure 14 :	Sonde sectorielle (http://reprology.com).	23
Figure 15 :	Photo et Représentation schématique de l'artéfact réverbération (Barthez, 2002)	24
Figure 16 :	photo et Représentation schématique du renforcement postérieur (Barthez 2002)	25
Figure 17 :	Photo et Représentation schématique du cône d'ombr (Barthez 2002)	26
Figure 18 :	Photo et Représentation schématique de l'image en miroir (Barthez 2002)	26
Figure 19 :	Illustration de l'effet Doppler. (Boon, 1998)..	27
Figure 20 :	Illustration de la fréquence Doppler (Ginther et Matthew, 2004).	28
Figure 21 :	Illustration de l'angle θ (d'après Ginther et Matthew, 2004)..	28
Figure 22 :	Flux laminaire et flux turbulent (Chetboul et al., 1999)	29
Figure 23 :	Représentation schématique du fonctionnement d'un système d'échographie Doppler pulsé pour la production d'un spectre de vitesses (Ginther et Matthew, 2004).	31
Figure 24 :	Image échographique illustrant la « porte Doppler » (DesCôteaux et al.,2005)	32
Figure 25 :	Schématisation du Doppler couleur (d'après Ginther et Matthew, 2004).	34
Figure 26 :	Représentation schématique du fonctionnement d'un système d'échographie Doppler couleur pour la production d'une image combinant les modes 2D et couleur (Ginther et Matthew, 2004)	35
Figure 27 :	Deux images échographiques de corps jaune observés à l'aide d'un mode Doppler couleur (droite) et d'un mode Doppler puissance (gauche)	36
Figure 28 :	Image échographique montrant un artéfact dû au mouvement de l'animal : taches bleues dispersées sur la gauche de l'image	37
Figure 29 :	Image échographique Doppler montrant un artéfact dû au péristaltisme intestinal : grandes taches colorées en rouge et bleu	37
Figure 30 :	Représentation de l'effet « aliasing » et résolution de l'artéfact par l'augmentation de la PRF (Ginther et Matthew, 2004).	39
Figure 31 :	Artéfacts d'image-miroir (flèches jaunes)	40

Figure 32 :	Méthode de calcul des index de résistance et de pulsatilité (Luc Des Côteaux et al)	42
Figure 33 :	Extraction des aires colorées à partir d'une image échographique obtenue au Doppler couleur (Ginther et Matthew, 2004)	43
Figure 34 :	Vue aérienne des fermes de l'étude expérimentale	44
Figure 35 :	Protocole expérimental	48
Figure 36 :	Le protocole GPG (Ovsynch) de synchronisation des cycles œstraux (http://www.reprology.com)	49
Figure 37 :	Echographe (MEDISON®, SONOACE X6) et sonde endocavitaire	50
Figure 38 :	Représentation schématique et réelle de l'échographie endovaginale.	51
Figure 39 :	Mesure des diamètres horizontal et vertical d'un follicule (Cliché personnel)	53
Figure 40 :	Sélection de la zone d'intérêt (ROI) sur une image enregistrée d'un corps jaune avec calcul de la surface au moyen du logiciel Image J version 1.43	54
Figure 41 :	L'automate d'immunoanalyse AxSYM-Abbott ®	55
Figure 42 :	Les changements du pourcentage des follicules avec flux sanguin détectable dans les grands, les moyens et les petits follicules ; autour du jour de la déviation folliculaire ; moyen \pm écart type	57
Figure 43 :	Images échographiques Doppler couleur de l'ovaire avant et après la déviation du diamètre lors de la vague de croissance folliculaire primaire (clichés personnels)	58
Figure 44 :	: Images échographiques Doppler couleur montrant l'évolution du flux sanguin d'un Corps jaune de vache au cours du cycle œstrale (clichés personnels).....	64
Figure 45 :	les changements relatifs de la progestéronémie, superficie du CJ et flux sanguin lutéale durant le cycle œstral ; moyenne \pm écart type.....	65
Figure 46 :	Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique durant le cycle œstral	66
Figure 47 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique durant le cycle œstral....	66
Figure 48 :	Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase de croissance lutéale (luteogenèse).	67
Figure 49 :	Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase statique (luteotropie)	67
Figure 50 :	Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase de régression lutéale (luteolyse).	68
Figure 51 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase de croissance lutéale (luteogenèse)	68
Figure 52 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase statique (luteotropie). ..	69
Figure 53 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique durant la phase de régression lutéale (luteolyse).	69
Figure 54 :	Images échographiques Doppler couleur montrant les changements du flux sanguin d'un corps jaune de vache à J7 (J1=jour de l'ovulation) juste avant l'injection de la PGF2 α , 24 et 48heures après l'injection (Clichés personnels).....	71
Figure 55 :	les changements relatifs à la progestéronémie, à la superficie du CJ et au flux sanguin lutéal juste avant l'injection de PGF2 α (00h), 24h et 48heures après; à J7 (J1=jour d'ovulation); moyen \pm écart type.....	72
Figure 56 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique après injection de PGF2 α	73

Figure 57 :	Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique après injection de PGF2 α	73
Figure 58 :	Images échographiques Doppler couleur montrant l'évolution du flux sanguin d'un Corps jaune de vache au 21ème ,28ème, 35ème et au 42ème jour de gestation (images gauche) et les images des embryons correspondants (images à droite).	75
Figure 59 :	Les changements relatifs à la progestéronémie, à la superficie du CJ et au flux sanguin lutéal durant les six premières semaines de gestation; moyen \pm écart type.....	76
Figure 60 :	Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progestérone plasmatique durant les six premières semaines de gestation.	77
Figure 61 :	corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progestérone plasmatique durant les six premières semaines de gestation.	77
Figure 62 :	Image échographique 2D (droite), et échographique Doppler (gauche) d'un vaisseau sanguin (flèches jaunes) (Clichés personnels).	79
Figure 63 :	Corps jaune fonctionnels peu saillants à la palpation (http://reprology.com).....	81
Figure 64 :	Corps jaune cavitaires perceptibles à la palpation (http://reprology.com)....	81
Figure 65 :	Corps jaune fonctionnel à J13 du cycle œstral sécrétant peu de progestérone (1.75 ng/ml).....	82
Figure 66 :	Corps jaune entier de vache en dioestrus .notez sa riche vascularisation. (http://drostproject.org).	82
Figure 67 :	Schéma récapitulatif de l'évolution de la vascularisation ovarienne et des concentrations hormonales au cours du cycle œstral de la vache.....	87

Tableau 01 :	<i>Vitesse de propagation des sons dans les différents tissus (Nyland et al., 1995).</i>	14
Tableau 02 :	<i>Impédance acoustique de différents milieux (Chetboul, 1999).</i>	17
Tableau 03 :	<i>Relation entre profondeur d'exploration et fréquence de la sonde (Carniel 1987)</i>	17
Tableau 04 :	<i>Fréquence des sondes en fonction des indications en reproduction chez les bovins (http://reprology.com).</i>	22
Tableau 05 :	<i>Caractéristiques des femelles de l'étude.....</i>	46

SOMMAIRE

Introduction générale

Partie bibliographique

Chapitre Premier

Rappels physiologiques de la reproduction de l'espèce bovine

I. Activité cyclique de l'ovaire.....	01
I.1. Folliculogenèse.....	01
I.1.1 Dynamique de la croissance folliculaire.....	01
I.1.1.1. Phase non-gonado-dépendante.....	02
I.1.1.2. Phase gonado-dépendante.....	02
I.1.1.2.1. Phase de recrutement.....	03
I.1.1.2.2. Phase de sélection (Déviation).....	03
I.1.1.2.3. Phase de dominance.....	04
I.2. Ovulation et remaniements vasculaires.....	04
I.3. Corps jaune.....	05
I.3.1 Evolution morphologique et fonctionnelle du corps jaune cyclique.....	05
I.3.2. Lutéolyse.....	06
I.3.3. Corps jaune gestatif.....	07
II. Régulation endocrinienne de l'activité ovarienne.....	07
II.1. Complexe hypothalamo-hypophysaire.....	07
II.1.1. Gonadotropine Releasing Hormone -GnRH-.....	08
II.1.2. Follicle Stimulating Hormone -FSH-.....	09
II.1.3. Luteinizing Hormone -LH-.....	09
II.2. Hormones ovariennes.....	10
II.2.1. Œstrogène -E2.....	10
II.2.2 Progestérone -P4.....	10
II.2.2.1. Méthodes de dosage.....	11
II.2.2.1.1. Méthode radio-immunologique.....	11
II.2.2.1.2. Méthode immuno-enzymatique.....	11
II.3. Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires.....	11
II.3.1. GnRH.....	12
II.3.2. Stéroïdes gonadiques.....	12

SOMMAIRE

Chapitre Second

Principes de l'image ultrasonore

I. Bases physiques et techniques	13
I.1. Les ondes ultrasonores	13
I.1.1. La fréquence	13
I.1.2. La longueur d'onde	13
I.1.3. La célérité de l'onde	14
I-1-4. L'intensité	14
I.2. Formation des échos	15
I.2.1. La réflexion spéculaire	15
I.2.2. La réflexion non spéculaire	16
I.2.3. Impédance	17
I.3. Pénétration des ultrasons	17
II. Emission et réception des ultrasons	18
III. Modes de traitement des échos	18
III.1. Mode Amplitude	18
III.2. Mode Brillance	19
III.3. Mode Bidimensionnel	20
III.4. Mode Temps Mouvement	20
IV. Choix de la fréquence des ultrasons	21
V. Différents types de sondes	22
V.1. Sonde linéaire.....	22
V.2. Sonde sectoriel.....	23
VI. Artefacts	23
VI.1. La réverbération	23
VI.2. Interférences	24
VI.3. Renforcement postérieur.....	24
VI.4. Cône d'ombre acoustique	25
VI.5. L'image en miroir	26

SOMMAIRE

Chapitre Troisième

Principes De L'échographie Doppler

I. Principes physiques	27
II. Analyse de l'effet Doppler.....	29
II.1. Analyse auditive	29
II.2. Analyse graphique.....	30
II-3. Analyse colorimétrique	31
III. Les différents modes Doppler	32
III.1. Doppler pulsé	32
III.2. Doppler continu	33
III.3. Doppler couleur	33
III.4. Doppler puissance	35
IV. Les artefacts de l'échographie doppler	36
IV-1. Les artefacts de mouvement	36
IV-1-1. Les mouvements du patient	36
IV.1.2. Le mouvement des organes du patient	37
IV.2. L'effet « aliasing »	38
IV.3. Le décalage temporel entre l'image bidimensionnelle et la cartographie Doppler	39
IV.4. Les artefacts d'image-miroir	39
V. Les paramètres étudiés en échographie Doppler	40
V.1. La vitesse du flux sanguin.....	40
V.2. Les index de résistance	41
V.3. L'index de résistivité	41
V.4. L'index de pulsatilité	41
V.5. La mesure de l'aire colorée.....	42

SOMMAIRE

Partie expérimentale

I. Matériel et Méthodes	44
I.1. Objectif de l'étude	44
I.2. Lieu et période de l'essai	44
I.2.1. Lieu de l'essai	44
I.2.2. Période de l'essai	45
I.3. Animaux	45
I.4. Protocole expérimental	46
I.4.1. Synchronisation des cycles œstraux	49
I.4.2. Contrôle de l'ovulation par échographie	50
I.4.3. Examen de l'activité ovarienne par échographie 2D et Doppler	52
a. Suivi du flux sanguin folliculaire par écho-doppler couleur de la première vague folliculaire	52
b. Suivi du flux sanguin du corps jaune cyclique par écho-doppler couleur	52
c. Suivi du flux sanguin d'un corps jaune par écho-doppler couleur après induction de la luteolyse par injection de PGF2 α à J ₇	52
d. Suivi du flux sanguin d'un corps jaune gestatif par écho-doppler couleur	53
I.5. Mesures réalisées	53
I.5.1. Mesures en mode 2D	53
a. Mesures en mode Doppler couleur	54
b. Dosage de la progestérone	55
I.6. Analyses statistiques	55
II. Résultats	56
a. Axe 1 : Suivi du flux sanguin folliculaire par écho-doppler couleur durant la première vague folliculaire	56
b. Axe 2 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune cyclique par écho-doppler couleur	59
- Les changements cycliques	59
- La corrélation	60

SOMMAIRE

c. Axe 3 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune par écho-doppler couleur après luteolyse induite par injection de PGF2α à J7.....	70
- Les changements de paramètres	70
- La corrélation	70
d. Axe 4 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune gestatif par écho-doppler couleur et son intérêt dans le diagnostic précoce de la gestation	74
- Les changements des paramètres.....	74
- La corrélation	74
III. Discussion.....	78
III.1. Choix de la race	78
III.2. Préparation alimentaire des femelles	78
III.3. Protocoles expérimentaux	78
III.3.1. Traitement de synchronisation des chaleurs	78
III.3.2. Suivi de l'ovulation	79
III.3.3. Echographie 2D et Doppler couleur	79
III.3.3.1. De la première vague folliculaire	79
III.3.3.2. Du corps jaune cyclique	80
III.3.3.3. Du corps jaune après induction de la lutéolyse	83
III.3.3.4. Du corps jaune gestatif et diagnostic précoce de gestation	83
III.4. Résultats	83
III.4.1. Axe 1	83
III.4.2. Axe 2	84
III.4.3. Axe 3	84
III.4.4. Axe 4	85
IV. Conclusion	86
Conclusion générale et perspectives	88
V. Références bibliographiques	89
VI. Annexes	103

Introduction générale

L'Algérie continue à connaître une croissance démographique importante étroitement corrélée aux besoins alimentaires. Afin de répondre à cette demande croissante, et dont la facture en devises devient problématique, les pouvoirs publics ont mis en place un certain nombre de plans, PNDA entre autres, en vue de satisfaire, du moins en partie, ces besoins par la production locale, particulièrement les productions animales.

Afin de faire face à la demande de plus en plus croissante et pressante, les productions animales passent inéluctablement par la maîtrise de la conduite d'élevage elle-même tributaire d'une bonne maîtrise de la reproduction.

L'Algérie dépendant pour une bonne partie, pour ce type de productions, des intrants alimentaires provenant de l'importation, il est apparu souhaitable d'assurer une partie de ces besoins en encourageant l'élevage des bovins de race locale, dotés d'une rusticité avérée lui conférant une résistance naturelle aux maladies et surtout une exigence minorée du point de vue de l'alimentation, poste le plus contraignant et considérée comme le maillon faible de la chaîne de production.

Cependant, les conditions de vie de ces animaux ne permettent pas une maîtrise réelle des paramètres de reproduction. Il fallait donc s'appuyer sur l'utilisation d'un certain nombre de techniques de diagnostic qui permettent de s'affranchir de conduites d'élevage et de reproduction usuelles. Certaines de ces techniques ont été utilisées avec plus ou moins de succès.

Il est classiquement attendu des femelles laitières de produire un veau par an, ce qui nécessite de raccourcir l'intervalle vêlage-insémination fécondante. Or, en élevage extensif, ce souci n'est souvent pas pris en compte par les éleveurs car de technicité relativement complexe.

L'objectif de cette étude est de proposer des méthodes simplifiées de diagnostic de l'état physiologique des ovaires en temps réel. La recherche de nouveaux critères pour atteindre cet objectif a amené à étudier non seulement la morphologie des structures ovariennes mais aussi leur vascularisation grâce à l'échographie Doppler. En Algérie, aucune étude ne décrit cette technique chez les animaux, notamment chez la vache.

Ce contexte nous a dicté la réalisation d'une étude portant sur l'intérêt de l'échographie Doppler conventionnelle dans le suivi de l'activité ovarienne chez la vache de race locale Brune de l'Atlas, avec pour objectifs de décrire l'intérêt de cette méthode dans la détermination du stade folliculaire et de la fonction lutéale, et dans le diagnostic précoce de gestation.

Pour ce faire, nous avons scindé notre travail en deux parties majeures, une première traitant des rappels physiologiques de la reproduction chez les bovins et des principes de l'ultrasonographie médicale en général et de ceux de l'échographie doppler en particulier. La seconde partie étant, quant à elle, consacrée à la réalisation pratique de notre protocole expérimental qui comprenait quatre axes, à savoir :

- ✓ Le suivi de la l'activité ovarienne durant la première vague de croissance folliculaire ;
- ✓ Le suivi de l'activité lutéale durant un cycle œstral ;
- ✓ Le suivi du flux sanguin lutéal après lutéolyse induite à J7 ;
- ✓ Le diagnostic précoce de gestation moyennant le flux sanguin lutéal.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre Premier

Rappels physiologiques de la reproduction de l'espèce bovine

I. Activité cyclique de l'ovaire

L'activité sexuelle cyclique chez la vache est définie par l'alternance de deux phases, l'une de croissance folliculaire et l'autre lutéale (Combarrous Y., 1994), les structures impliquées dans cette alternance sont le complexe hypothalamo-hypophysaire, l'ovaire et l'utérus, qui ont des actions distinctes sur la chronologie de la succession de ces événements (Drion P.V., Backers JF., 1996).

I.1. Folliculogénèse

Désigne l'ensemble des phénomènes régissant le développement du follicule depuis sa sortie de la réserve ovarienne, constituée durant la vie embryonnaire durant l'ovogénèse, jusqu'à l'ovulation ou, dans la plupart des cas (99,9%), l'atrésie (Monniaux et al., 2009).

Trois éléments peuvent caractériser la croissance folliculaire, sa durée, évaluée à cinq mois chez la vache, le faible nombre de follicules parvenant jusqu'à l'ovulation et le parfait parallélisme entre la croissance folliculaire et l'acquisition de la compétence ovocytaire (Greenwald G.S., 1972).

I.1.1 Dynamique de la croissance folliculaire

Depuis le stade 3 couches de cellules folliculaires (60 μ), jusqu'au stade préovulatoire, s'écoulent pas moins de 5 mois, alors qu'il n'a besoin, pour atteindre ce dernier stade à partir du moment de la formation de sa cavité antrale, que de 43 jours. La croissance ovocytaire, durant ce temps n'évolue que très peu (Monniaux *et al.*, 1999 ; Mc Gee, Hsueh, 2000).

Du point de vue fonctionnel, la dynamique folliculaire peut être divisée en deux phases successives, une première dite basale, indépendante des hormones gonadotropes et une seconde, terminale, étroitement tributaire des variations de sécrétions de ces dernières.

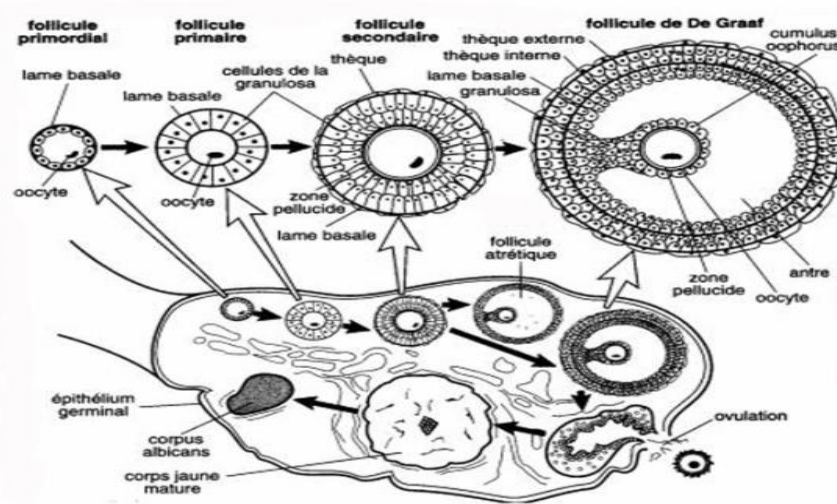


Figure 1 : Représentation schématique des différents stades de croissance (folliculogénèse) et de régression par lesquels passent les follicules ovariens (Laforest, 2005).

I.1.1.1. Phase non-gonado-dépendante

Pendant cette phase, 50 à 80 follicules primordiaux quittent la réserve pour former des follicules primaires, secondaires puis tertiaires. Certains parmi eux subissent une atrophie à différents stades (Thibault, 2001). Cette phase, qui dure approximativement 6 mois, est régie par un complexe endocrinien, notamment, des facteurs de croissance somatiques et locaux qui contrôlent la croissance basale du follicule jusqu'au stade antral (Bendell, 1990 ; Roche *et al.*, 1998). Le GDF-9 (*Growth differentiation factor 9*,) qui initie la croissance folliculaire jusqu'au stade de follicule secondaire, est le principal facteur somatique, tandis que les facteurs de croissance ovariens sont essentiellement représentés par le TGF- α (*Transforming growth factor α*) produit par la granulosa des follicules en début de croissance (Elvin, *et al.*, 1993).

I.1.1.2. Phase gonado-dépendante

Durant cette phase, les follicules tertiaires ayant un diamètre ≥ 4 mm entrent en croissance cyclique par groupe dite vague folliculaire (Hanzen, 2000). Chez la vache, le cycle œstral comporte 2 à 3 vagues folliculaires dont chacune est caractérisée par une dynamique de croissance se déroulant en trois étapes :

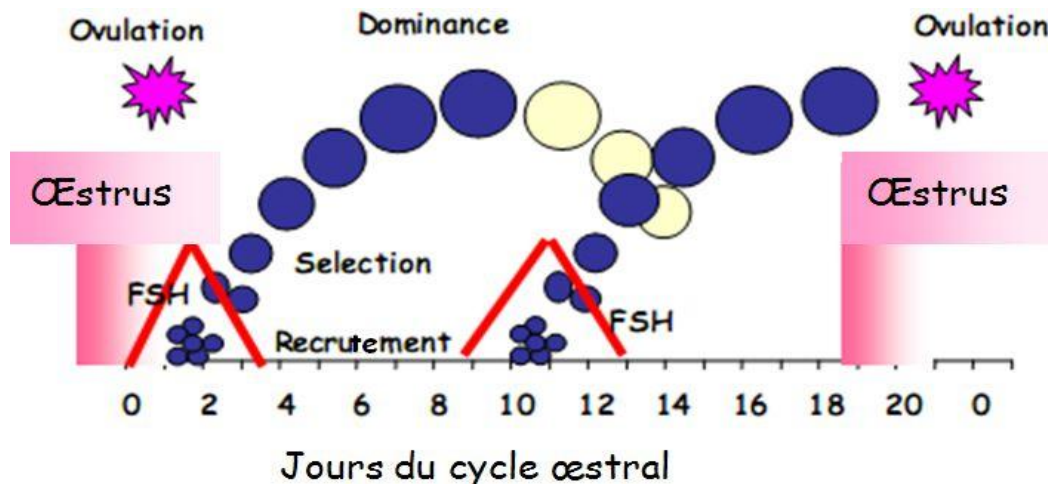


Figure 02 : Vagues de croissance folliculaires au cours du cycle œstral de la vache
(Smith *et al.*, 2010).

I.1.1.2.1. Phase de recrutement

Induite par un mécanisme aléatoire, suite à l'augmentation transitoire du taux de FSH (Roche et Boland, 1991), la phase de recrutement se définit comme l'entrée en croissance terminale d'une cohorte de follicules tertiaires de diamètre ≥ 4 mm (Hanzen *et al.*, 2000). Généralement, 5 à 20 follicules (Forde *et al.*, 2010) ayant des récepteurs pour la FSH et dépassé le cap de l'atrésie (Fortune, 1994). Cette phase nécessite une augmentation de la concentration de la FSH (Roche *et al.*, 1998) ainsi que d'une intervention des facteurs de croissance et des substances polypeptidiques telles que l'inhibine et l'activine (Drion *et al.*, 2000).

I.1.1.2.2. Phase de sélection (Déviation)

Les sécrétions de l'œstradiol et de l'inhibine, par les follicules recrutés, exercent un rétrocontrôle négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire en diminuant la sécrétion de la FSH (Taya *et al.*, 1996). Le mécanisme de la sélection d'un ou des follicules recrutés, suite à la diminution de la concentration de la FSH, n'est pas encore tout à fait élucidé mais des récepteurs bien développés de la FSH ont été observés chez les follicules sélectionnés, ces récepteurs auraient un rôle dans le mécanisme de sélection (Drion *et al.*, 2000). Les follicules non sélectionnés subissent une dégénérescence communément appelée « atrésie » (Bazot *et al.*, 2004).

I.1.1.2.3. Phase de dominance

Cette étape est caractérisée par un développement d'un ou des follicules sélectionnés en un ou des gros follicules dits follicules dits préovulatoires ou de De Graaf (20 mm de diamètre) apte à ovuler (Drion *et al.*, 1996). Bien que la faible concentration en FSH persiste, un ou des follicules sélectionnés deviennent dominants en continuant leur croissance car ils ont acquis un mécanisme d'autostimulation par la sécrétion folliculaire de l'IGF-1 qui stimule à son tour (paracrine) la synthèse des oestrogènes (Spicer, 2004) et l'acquisition des récepteurs de LH (Roche *et al.*, 1998). Le ou les follicules dominants provoquent la régression des follicules en croissance et bloquent le recrutement des autres (Drion *et al.*, 1996).

I.2. Ovulation et remaniements vasculaires

L'ovulation est le résultat d'un accroissement des taux d'hormones gonadotropes en fin de phase folliculaire, les mécanismes qui régissent cette décharge sont complexes (Afri-Bouzebda 1985), le follicule dominant ayant, durant sa phase d'évolution terminale, acquis la possibilité de répondre à ces pics (Allant jusqu'à 100 fois le taux de LH circulante) (Callesen *et al.*, 1986), il voit ses structures subir de profonds remaniements aboutissant à l'expulsion d'un ovocyte mature et la formation d'un corps jaune.

L'élément clé du déclenchement de l'ovulation est le pic de LH, ce dernier est induit, chez les bovins, par une oestradiolémie supérieure à 12 pg/ml et pendant au moins 12 heures, ce taux provoque une inversion du mécanisme de rétrocontrôle négatif de l'oestradiol sur l'hypothalamus. (Drion *et al.*, 1996).

Divers phénomènes vasomoteurs sont, entre autres, à l'origine du processus de l'ovulation. Juste après le pic des hormones gonadotropes, nous assistons à une hyper vascularisation de l'ovaire (Okuda, 1983), différents facteurs vasodilatateurs sont mis à contribution, à savoir, l'histamine (Murdoch, *et al.*, 1990), la bradykinine (Gao *et al.*, 1992), l'angiotensine II (Itskovitz *et al.*, 1987), le PAF (Platelet Activating Factor), ainsi que les produits dérivés de l'acide arachidonique telles les prostaglandines I₂ et E₂ (Armstrong *et al.*, 1975), les leucotriènes et les lipoxines (Leung *et al.*, 1992), une augmentation de la perméabilité vasculaire est aussi notée, avec apparition des plusieurs fenestrations capillaires, à l'origine de la fuite des cellules sanguines.

I.3. Corps jaune

Après l'ovulation, et à la suite de la rupture des vaisseaux sanguins, la cavité antrale se remplit de sang formant ainsi le corps jaune hémorragique qui se constitue au bout d'à peine 30 minutes. Au fur et à mesure de leur lutéinisation, les cellules de la thèque interne et de la granulosa subissent des transformations morphologiques et fonctionnelles aboutissant à l'augmentation de la sécrétion de la progestérone et de la disparition des sécrétions d'androgènes et d'œstrogène (Leymarie et Martal, 2001).

I.3.1 Evolution morphologique et fonctionnelle du corps jaune cyclique

Après l'ovulation, la cavité antrale du follicule se remplit d'un liquide séro-hémorragique et de cellules folliculaires qui se lutéinisent sous l'effet de LH aboutissant à la formation d'un corps jaune dit hémorragique (Rathbone *et al.*, 2001).

Le corps jaune est formé de deux types de cellules, les cellules lutéales (petites et grandes) chargées d'assurer la sécrétion de la P₄ et les cellules vasculaires (cellules endothéliales, érythrocytaires, leucocytaires et celles du tissu conjonctif) non stéroïdogènes (Hansel *et al.*, 1996).

La détection de P₄ plasmatique débute, généralement, au 5^{ème} jour du cycle, c'est-à-dire à la fin de la croissance du corps jaune, durant cette période, ce dernier acquiert une sensibilité vis-à-vis de l'effet lutéolytique de la PGF₂α. La durée de l'activité du corps jaune chez la vache va du 5^{ème} au 16^{ème} jour du cycle (Rathbone *et al.*, 2001).

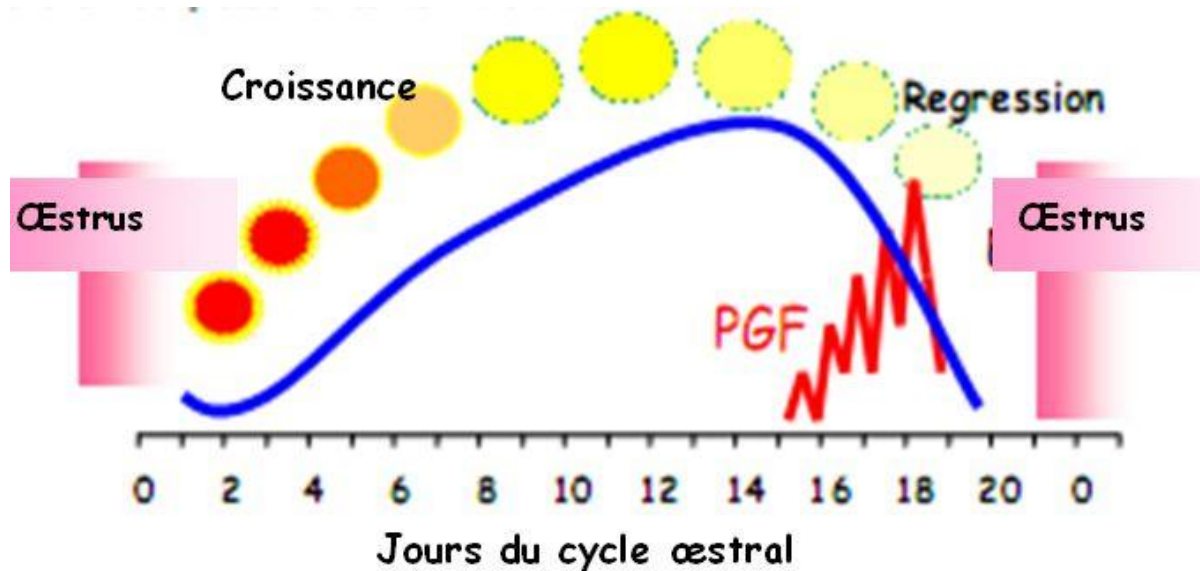


Figure 03 : Les changements dans le développement du corps jaune, la concentration de la progestérone sérique, et la concentration de la prostaglandine F2 α (PGF2 α) durant la phase lutéale du cycle œstral de la vache (Smith et al., 2010)

I.3.2. Lutéolyse

Physiologiquement et en dehors d'un état gestatif, le maintien du corps jaune est assuré par des hormones lutéotropes d'origine hypophysaire, à savoir, la LH et la prolactine, arrivé au terme de la phase lutéale, le corps jaune subit une lyse induite par la prostaglandine F2 α d'origine utérine (Thibault et Levasseur, 2001).

L'injection de PGF α entraîne la lyse du corps jaune et l'apparition des chaleurs entre 60 et 120 h après (Hansel *et al.*, 1996 ; Hanzen et al., 2001). La concentration élevée de P₄ durant la phase lutéale, prépare l'endomètre pour une éventuelle gestation (Rathbone *et al.*, 2001). Au 16^{ème} jour du cycle et en absence de gestation, le corps jaune régresse en raison de l'absence des signaux de gestation ce qui entraîne la levée du feed-back négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire par arrêt de sécrétion de la P₄. La présence d'une gestation, par contre, empêche la lutéolyse à la faveur de signaux embryonnaires et le corps jaune est alors dit gestatif, ce dernier maintient la gestation jusqu'à terme (Drion et al., 1996 ; Thibault et Levasseur, 2001 ; Forde et al., 2010).

I.3.3 Corps jaune gestatif

Deux éléments régissent le passage du corps jaune cyclique en corps jaune gestatif, l'absence du facteur lutéolytique (assurée par une intervention du trophoblaste) et le maintien des facteurs lutéotropes hypophysaires (PRL et LH) (Martal et al., 1998).

Le facteur anti-lutéolytique est une protéine de la famille des interférons de type I, aussi appelé Trophoblastine, oTP ou encore IFN-tau, ce facteur est sécrété par les cellules mononucléées du trophoctoderme (Martal et al., 1998), sa synthèse prend fin dès que l'embryon s'attache aux caroncules utérines au moment de l'implantation au 20^{ème} jour de gestation et son action apparait être strictement locale car aucune trace n'est décelée dans la circulation générale (Leymarie et Martal, 2001).

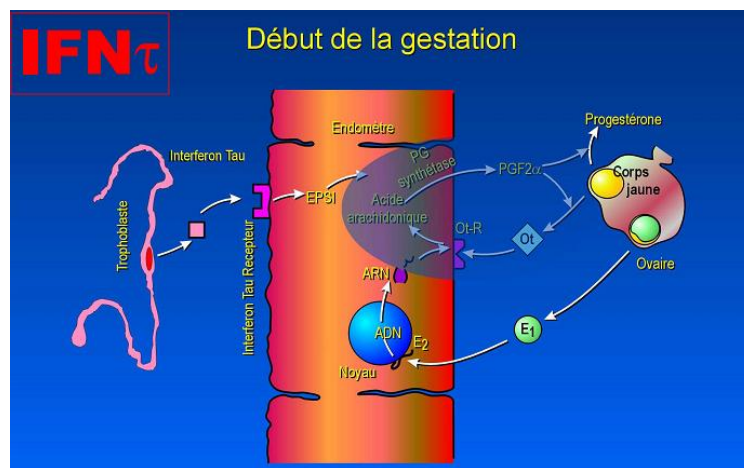


Figure 04 : Mécanisme de l'inhibition de la lutéolyse par le trophoblaste

III. Régulation endocrinienne de l'activité ovarienne

Toutes les étapes de la vie sexuelle de la femelle sont régies par des hormones qui interviennent chacune à un moment bien précis, de la sortie des premiers follicules de la réserve ovarienne jusqu'à la parturition, l'organisme de la femelle est sujet à divers influences hormonales tantôt stimulantes tantôt inhibitrices. Nous pouvons classifier ces hormones en fonction de leurs structures sécrétrices en :

III.1. Complexe hypothalamo-hypophysaire

Le fonctionnement des gonades est régi par les hormones gonadotropes hypophysaires, elles mêmes résultants d'une interaction complexe de plusieurs signaux hypothalamiques, hypophysaires et gonadiques (Driancourt, 1991). L'impact des

gonadotropines hypophysaires sur le développement et la régulation de la fonction gonadique confère à l'hypophyse un rôle de relais amplificateur dans le contrôle de la reproduction (Cournis *et al.*, 2001).

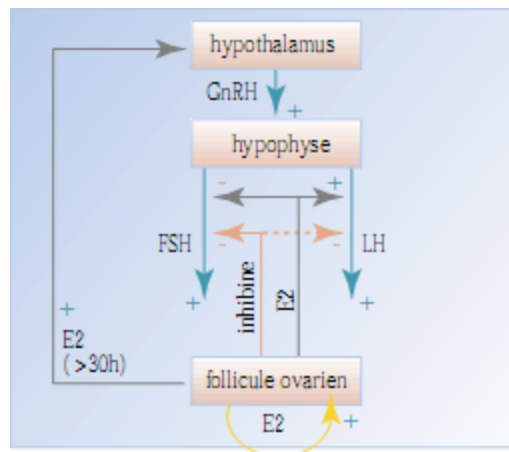


Figure 05 : Représentation schématique des interrelations de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique.

III.1.1. Gonadotropine Releasing Hormone -GnRH-

Il était admis, autrefois, l'existence d'une hormone hypothalamique spécifique à chaque hormone gonadotrope hypophysaire (FSH et LH), on ne parle désormais que d'un seul et unique facteur intervenant au niveau de l'hypophyse et régissant la libération des gonadotropines, la GnRH est considérée comme un régulateur majeur de l'expression des gènes et des sous-unités de ces derniers et de leur libération.

Sécrétée dans les capillaires du système portes hypothalamo-hypophysaire, et stimulant les cellules gonadotropes hypophysaires (Thibault et Levasseur, 2001), la GnRH est un décapeptide, d'un poids moléculaire de 1,18 KDA, (Caladani *et al.*, 1991) existant sous neuf formes variant de un à cinq acides aminés dont la GnRH, ces différentes formes sont issues de gènes différents qui, eux-mêmes, résulteraient de la duplication d'un seul gène originel. (Thibault et Levasseur, 2001).

La GnRH est libérée de manière pulsatile, chaque pulse peut être défini comme étant la somme des quantités de GnRH sécrétée par les neurones (Caraty *et al.*, 2001), il est à rappeler, qu'un pulse est un bref épisode de libération d'une hormone dans le sang, caractérisé par une montée rapide des concentrations sanguines suivie d'une diminution exponentielle conditionnée par la demi-vie de l'hormone. (Pelletier, 1983).

III.1.2. Follicle Stimulating Hormone -FSH-

Les gonadotropines jouent un rôle crucial dans la régulation de la fonction de reproduction tant chez le mâle que chez la femelle, elles sont considérées comme étant un intermédiaire essentiel entre le SNC (Système nerveux central) et les gonades (Medan *et al.*, 2005).

Secrétée par le lobe antérieur de l'hypophyse, la FSH est une glycoprotéine dont la sécrétion est sous la dépendance de la GnRH, l'existence d'un facteur hypothalamique (FSH-RH) responsable d'une libération préférentielle de FSH est loin de faire l'unanimité.

La demi-vie de la FSH, relativement courte, 20 à 70 minutes (Lafri, 2003) est due à sa faible teneur en acide sialique (5%), la sécrétion de la FSH est dite basale, continue tout au long du cycle et cyclique, caractérisée par des pics, au moment des chaleurs et de l'ovulation, ces sécrétions sont régulées par la synthèse d'œstradiol et d'inhibine par le follicule. (Petters et Mc Natty, 1980)

La FSH stimule, durant la phase terminale de la croissance folliculaire, l'expression de son propre récepteur, induit l'expression du récepteur de LH, des enzymes de la stéroïdogenèse sous la médiation de l'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique) et l'activation de la protéine kinase A, (Thibault et Levasseur, 2001), on lui attribue également l'aromatation des androgènes en œstrogènes à la suite de l'activation de l'aromatase des cellules de la granulosa (Erickson *et al.*, 1979).

III.1.3. Luteinizing Hormone -LH-

Aussi appelée, chez le mâle *Interstitial Cellular Stimulating hormone* (ICSH), elle intervient chez ce dernier au niveau des cellules interstitielles et stimule la production de testostérone (Derivaux et Ectors, 1980 ; Afri- Bouzebda, 1985). Chez la femelle, la LH revêt d'une importance capitale dans le maintien d'une sécrétion normale de P₄ par le corps jaune (Mitter, 1999 ; Niswender *et al.*, 2000), durant la phase finale de la maturation folliculaire et de l'ovulation (Monniaux, 2009).

III.2. Hormones ovariennes

Essentiellement représentées, chez la femelle, par les œstrogènes (E₂) et la progestérone (P₄)

III.2.1. Œstrogène -E₂

Principalement représentés par les 17β œstradiol (E₂), les œstrogènes sont issus de l'aromatisation des androgènes par le cytochrome P-450aro'. Anciennement appelés « *Folliculine* », les œstrogènes ont une demi-vie relativement courte, de l'ordre de quelques minutes, et sont dégradés au niveau hépatique, leur élimination est assurée par les urines, le lait, la bile, la peau et les selles, la cinétique des œstrogènes est caractérisée par deux pics, l'un survenant 2 à 3 jours avant l'œstrus et le second vers le 4^{ème} jour de la phase lutéale. (Labussiere, 1979). Situé dans le réticulum endoplasmique des cellules de la thèque interne et des cellules interstitielles, ce phénomène clé comprend deux phases d'hydroxylation et une phase de décarboxylation. (Hall, 1986).

Au début de la phase folliculaire, les œstrogènes exercent un feed-back négatif sur l'axe hypothalamo-hypophysaire du fait de leur faibles taux circulants, vers la fin de cette phase, le phénomène inverse est observé, les œstrogènes, à la faveur de l'augmentation de leurs taux, stimulent la sécrétion hypothalamique de GnRH, et donc, celle des gonadotropines. (Drion et Backers, 1996).

Sont attribués aux œstrogènes, le développement des ébauches des organes génitaux dérivant des canaux de Müller et l'inhibition du développement de ceux dérivant des canaux de Wolf, ainsi que les manifestations œstrales observées au moment des chaleurs.

III.2.2 Progestérone -P₄

Principale hormone sécrétée par le corps jaune et le placenta, la progestérone est le produit final d'une série de réactions biochimiques dont le précurseur est le cholestérol sanguin, qui pénètre les cellules lutéales via les récepteurs des lipoprotéines présents à la surface de ces dernières et est transformé, dans un premier temps, en prégnénolone dans les mitochondries puis en progestérone après action de la 3βHSD (3β *hydroxy stéroïde déshydrogénase*) (Drion et Backers, 1996).

Divers rôles sont attribués à la progestérone, elle permet l'établissement et le maintien de la gestation, l'inhibition de la prolifération cellulaire induite par les œstrogènes dans l'endomètre lors de la décidualisation, la régulation hydrique de l'unité fœto-maternelle et le blocage de la contractilité du myomètre permettant ainsi l'atonie utérine favorisant ainsi l'établissement de la gestation (Thibault et Levasseur, 2001).

III.2.2.1. Méthodes de dosage

Le dosage de progestérone peut s'opérer par la méthode radio-immunologique (RIA) ou immuno-enzymatique (ELISA). Ces dosages peuvent être réalisés soit sur des prélèvements de sang ou sur de lait entier, écrémé ou sur la crème de lait (Thibier *et al* , 1976; Pennington *et al*, 1981; Nachreiner *et al*, 1992).

III.2.2.1.1. Méthode radio-immunologique

Cette méthode est basée sur la liaison anti-corps-anti-gène. Selon une quantité connue, les Ac anti-P₄ sont déposés dans un tube auquel le prélèvement (plasma ou lait) est rajouté. Il faut que la quantité des Ac soit importante de sorte qu'il reste toujours des Ac libre quelle que soit la concentration en progestérone du prélèvement. Ceci permet de saturer les Ac libres avec la progestérone marquée (H³ ou I²⁵). L'étape suivante consiste à compter la radioactivité de la fraction des Ac-Ag ou la fraction de progestérone marquée libre. Ce comptage est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre (Thibier *et al.*, 1973).

III.2.2.1.2. Méthode immuno-enzymatique

La méthode immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA) repose sur le principe de fixation d'une enzyme sur un Ac, Ag. Cette enzyme, au contact avec un substrat spécifique, entraîne une réaction qui se traduit une modification du milieu ce qui permet de détecter les complexes Ac-Ag (Hanzen *et al.*, 2004).

III.3. Régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires

La régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires revête d'une importance capitale au cours du cycle sexuel, que ce soit à son début (démarrage d'une cohorte de follicules à antrum assuré par la FSH), ou lors de l'ovulation (pic ovulatoire de LH).

III.3.1. GnRH

La libération de la FSH e de la LH est directement régie par la décharge pulsatile de la GnRH. L'administration pulsatile de GnRH exogène lors des troubles induits est de nature à restaurer une sécrétion normale des cellules gonadotropes, le rôle de la GnRH a aussi été mis en évidence *In-Vivo* sur des cellules hypophysaires en culture primaire ou sur des lignées de cellules gonadotropes aboutissant à une augmentation de la transcription des ARNm et une synthèse accrue des sous-unités constitutives des deux gonadotropines. (Thibault et Levasseur, 2001).

III.3.2 Stéroïdes gonadiques

Les stéroïdes gonadiques inhibent, de façon indirecte, l'activité des gènes des gonadotropines, et ce, en réduisant la sécrétion de la GnRH :

L'œstradiol exerce une rétroaction positive sur l'hypothalamus (induction du pic de la libération de la GnRH) et par ricochet sur l'hypophyse permettant ainsi le pic préovulatoire des gonadotropines, chez des primates souffrant d'une atteinte hypothalamique affectant la libération de la GnRH, l'administration d'œstradiol induit un pic de gonadotropines identique au pic préovulatoire observé lors de cycle sexuel normal (Thibault et Levasseur, 2001).

Chapitre Second

Principes de l'image ultrasonore

I. Bases physiques et techniques :

I.1. Les ondes ultrasonores

Les ondes ultrasonores possèdent des propriétés voisines de celles des ondes sonores. Par définition, les ultrasons ont une fréquence supérieure à 20 000 Hertz (Hz), ils sont donc inaudibles pour l'Homme qui ne perçoit que des fréquences de 30 à 15 000 Hz. En échographie clinique vétérinaire, les fréquences utilisées oscillent entre 2 et 15 millions d' Hertz (2 et 15 MHz) (Valon et Legrand, 1981).

Le son résulte de la vibration des molécules d'un milieu. Il se propage sous forme d'onde mécanique susceptible de subir des réflexions (échos), des réfractions et des interférences. La propagation du son ne peut se faire que dans la matière. Ainsi, le son n'est pas transmis par le vide, contrairement aux rayons X (Barthez 2002).

L'onde sonore est caractérisée par les paramètres suivants :

I.1.1. La fréquence :

La fréquence (F) de l'onde sonore correspond au nombre de compressions et d'expansions que subissent les molécules du milieu en une seconde. Elle s'exprime en Hertz (Hz) ou cycle/ seconde (Jaudon et al., 1991).

La nature de l'onde sonore (infrasons, sons, ultrasons, hypersons) est définie par sa fréquence. Seuls les sons, ayant une fréquence comprise entre 16 Hz et 18 kHz, sont audibles par l'oreille humaine (Moretti, 1982).

I.1.2. La longueur d'onde :

La longueur d'onde (λ) d'un faisceau ultrasonore représente la distance entre deux ondes successives (Figure 06).

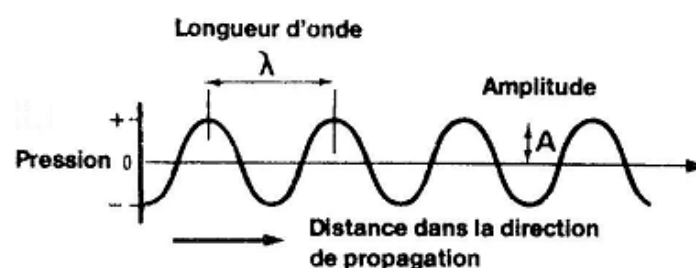


Figure 06: Longueur d'onde (λ) (Penninck et Cuvelliez 1985).

I.1.3. La célérité de l'onde :

La célérité de l'onde (C) correspond à la vitesse de propagation de l'onde dans le milieu. Elle varie en fonction du milieu considéré (*Tableau 01*). La vitesse de propagation des ultrasons est de 1540 m/s environ dans les tissus mous, 332 m/s dans l'air et 4080 m/s dans l'os. Elle s'accroît avec la cohésion moléculaire du milieu traversé. Généralement, puisque les vitesses de propagation des sons dans les différents tissus mous sont très proches, la valeur de 1540 m/s (vitesse moyenne des ultrasons dans les tissus mous) est retenue pour étalonner les échographes.

Tableau 01: Vitesse de propagation des sons dans les différents tissus (Nyland et al., 1995)

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

I-1-4.L'intensité :

L'intensité d'un ultrason correspond à la puissance du faisceau par unité de surface. Elle est exprimée en watt par cm^2 (W/cm^2).

Pour le diagnostic échographique, l'appareil émet un faisceau d'ultrasons dont l'intensité varie entre 0,1 et 0,001 W/cm^2 (Legrand et Carlier, 1981).

I.2. Formation des échos :

I.2.1. La réflexion spéculaire :

Lorsque le faisceau d'ultrasons rencontre un obstacle (interface), il subit simultanément une réflexion et une réfraction (*Figure 07*). L'écho représente la partie réfléchi de l'onde incidente.

La réfraction correspond à l'onde qui traverse cette interface et qui peut atteindre l'interface suivante (Carniel, 1987).

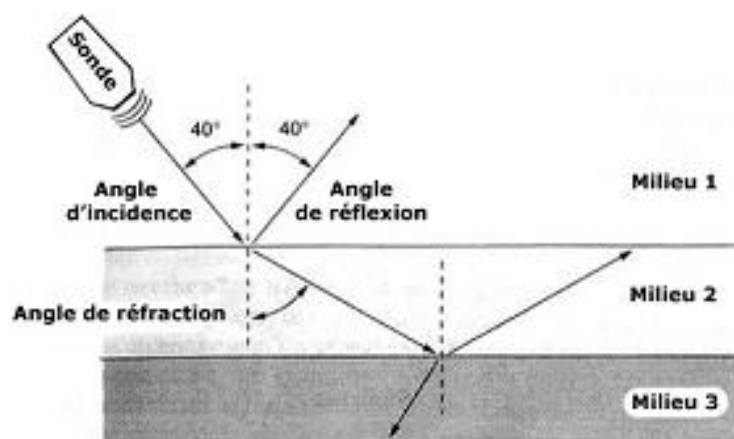


Figure 07 : La réflexion et la réfraction de l'onde ultrasonore incidente (Boon, 1998)

Lors de réflexion spéculaire, encore appelée réflexion de type miroir, deux cas sont possibles (Carniel, 1987):

- l'obstacle se comporte comme un écran et toute l'onde ultrasonore incidente est réfléchi si bien que le faisceau réfracté est nul, ce qui entraîne une perte d'information des structures sous-jacentes à l'obstacle. C'est par exemple le cas quand l'obstacle est un os ou du gaz,
- l'obstacle est franchi par une partie du faisceau ultrasonore (onde réfractée), l'autre partie est réfléchi et constitue l'écho. L'onde réfractée permet de recevoir des échos des structures plus profondes.

I.2.2. La réflexion non spéculaire :

La réflexion non spéculaire est également appelée diffusion (Legrand et Carlier 1981), dispersion des ultrasons (Barthez 2001) ou réflexion multidirectionnelle parlant (Jaudon et al., 1991).

Elle se produit lorsque le faisceau d'ultrasons rencontre une structure réfléchissante irrégulière ou de très petite dimension par rapport à la longueur d'onde ultrasonore, comme des cellules, des capillaires, du tissu conjonctif (Ginther 1995).

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 08).

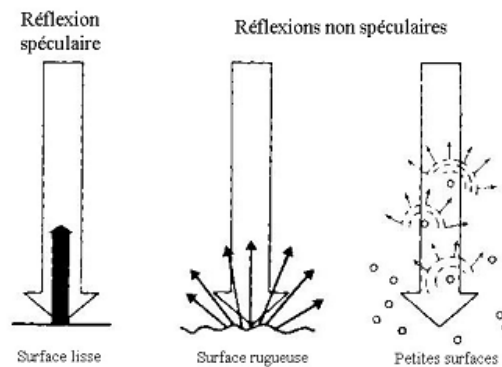


Figure 08 : Les différents types de réflexion des échos (Ginther, 1986)

I.2.3. Impédance :

L'impédance acoustique est la mesure de la résistance à la propagation des ondes sonores.

Tableau 02: Impédance acoustique de différents milieux (Chetboul, 1999).

Milieu	impédance acoustique Z (g.cm ⁻² .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

I.3. Pénétration des ultrasons :

La pénétration des ultrasons dans les tissus de l'organisme dépend de la fréquence de l'onde ultrasonore (Tableau 03). Plus la fréquence de la sonde est élevée, moins le faisceau d'ultrasons pénètre dans les tissus.

Tableau 03 : Relation entre profondeur d'exploration et fréquence de la sonde (Carniel 1987)

Fréquence de la sonde (MHz)	Profondeur d'exploration (cm)
2,5	29
3,5	22
5,0	14
7,5	07

II. Emission et réception des ultrasons

Schématiquement, un échographe est composé d'une sonde et d'un oscilloscope capable de transcrire les images. Le principe de base de la formation de l'image échographique repose sur un phénomène physique appelé la transduction. La transduction correspond à la transformation d'une énergie en une énergie d'une autre nature. En échographie, le type de transduction utilisé est l'effet piézoélectrique, par lequel une énergie mécanique de type vibratoire est transformée en une énergie électrique (Penninck et Cuvellez, 1985).

Ainsi, la sonde comporte des cristaux piézoélectriques qui vibrent sous l'effet d'un courant de haut voltage et de courte durée et génèrent alors des ultrasons. Le cristal est alors émetteur d'ultrasons (Moretti, 1982).

Par ailleurs, ces cristaux sont capables de recevoir des ultrasons et de les transformer en courant électrique, visualisable après amplification sur l'écran d'un oscilloscope. C'est ce qui se produit entre deux stimulations électriques successives : le cristal est alors récepteur. L'échographie diagnostique repose sur le principe de l'écho pulse.

III. Modes de traitement des échos

Ces modes correspondent à la façon dont sont traités les échos reçus. Il existe quatre modes de traitement des échos :

III.1. Mode A (Mode Amplitude)

Il permet d'afficher l'amplitude du signal reçu par la sonde en fonction de la profondeur observée.

Les « pics » d'amplitude dépendent de l'intensité de l'onde réfléchi. Un faisceau unique de direction constante est utilisé (*Figure 09*).

Ce mode était utilisé en ophtalmologie, neurologie pédiatrique et en expertise des viandes pour mesurer les masses musculaires (Mercier, 1989).

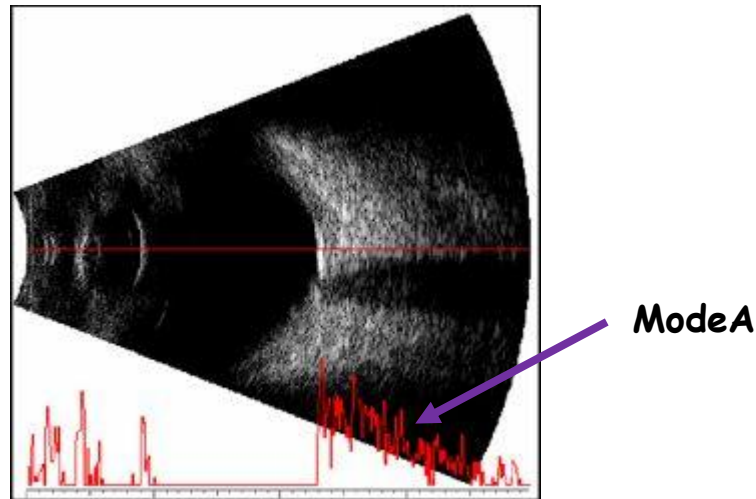


Figure 09: Illustration du Mode A (Block, 2004)

III.2. Mode B (Mode Brilliance)

Les « pics » d'amplitude du mode A sont remplacés par des points lumineux plus ou moins brillants. La brillance des points augmente avec l'intensité du faisceau ultrasonore réfléchi (*Figure 10*). Sur l'écran, les points varient du noir (pas de réflexion) au blanc (très forte réflexion) en passant par toute une gamme de gris, nommée « échelle de gris » (Penninck et Cuvellez, 1985).

Dans ce mode aussi, un seul faisceau, dans une direction unique, est utilisé. Il est possible d'obtenir une image dite « image en temps différé » après avoir déplacé la sonde manuellement. L'appareil mémorise tous les points représentant des échos et reconstruit ensuite une image.

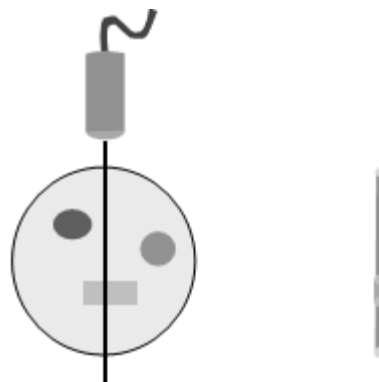


Figure 10: Illustration du Mode B (Barthez, 2002)

III.3. Mode BD (Mode Bidimensionnel)

Le mode bidimensionnel, encore appelé mode dynamique ou temps réel, permet d'obtenir une image en deux dimensions d'un plan de coupe. Ce mode correspond à la juxtaposition d'une multitude d'images en mode B (*Figure 09*), obtenue (Penninck et Cuvellez 1985 ; Jaudon *et al.*, 1991)

- Soit par balayage mécanique d'un seul cristal ou rotation d'un petit nombre de cristaux, dans le plan de coupe désiré, sans déplacer la sonde à la différence du mode B : c'est le type sectoriel mécanique,
- Soit par excitation de proche en proche de nombreux cristaux disposés côte à côte en ligne droite : c'est le type électronique linéaire,
- Soit par décalage électronique de nombreux cristaux disposés côte à côte en arc de cercle : c'est le type sectoriel électronique.

Ces moyens d'obtention de l'image en mode BD définissent les différents types de sondes échographiques qui seront abordés plus loin.

L'échographie en mode bidimensionnel est de loin la plus employée actuellement.

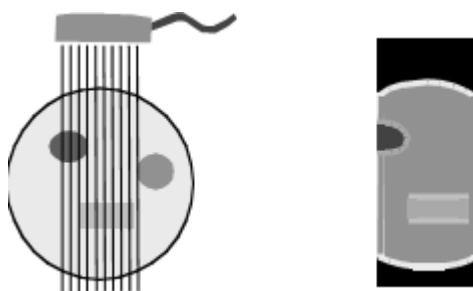


Figure 11: Mode BD (Barthez, 2002)

III.4. Mode TM (Mode Temps Mouvement)

Le mode « mouvement ». Il permet à la sonde de recueillir les différentes intensités des ultrasons au cours du temps. Ce mode est uniquement utilisé en échocardiographie, pour observer les mouvements des différentes parois et valvules du cœur (Mai, 1999).

A l'écran, les structures en mouvement apparaissent comme des courbes ondulantes et des structures fixes comme des lignes horizontales (*Figure 12*).

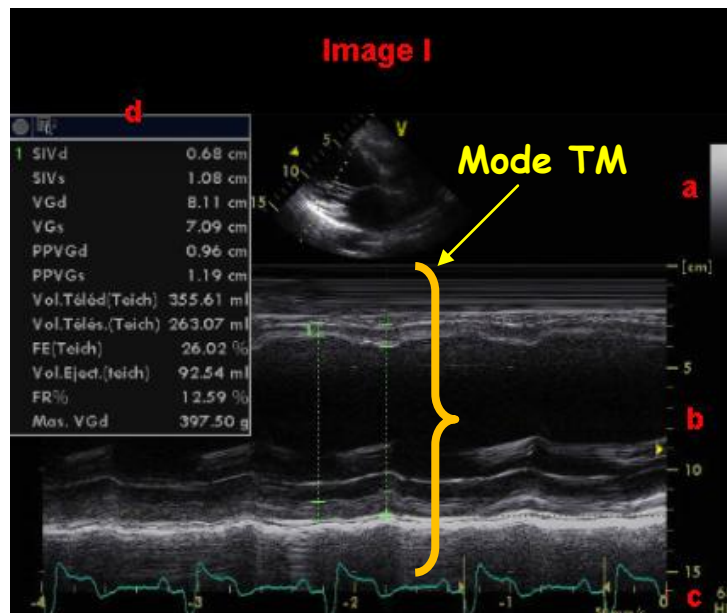


Figure 12: Illustration du Mode TM(Block.2004)

IV. Choix de la fréquence des ultrasons

En médecine vétérinaire, les sondes de 3,5 MHz, 5 MHz et 7,5 MHz sont majoritairement utilisées. La pénétrance d'une sonde de 7,5 MHz n'est que de 4 à 5 cm, seules les structures proches de la sonde peuvent donc être examinées précisément (follicules, corps jaune, petits embryons). Une sonde de 5 MHz a une pénétrance de 8 à 10 cm, permettant de visualiser les ovaires, l'utérus et les éléments structuraux de début de gestation. La pénétrance de la sonde de 3,5 MHz est de 12 à 15 cm, elle permet d'examiner des gestations plus avancées et les états pathologiques de l'utérus tel que le pyomètre.

Lorsque la fréquence diminue, la pénétrance devient plus importante mais la résolution diminue, c'est-à-dire que pour distinguer deux structures, il faut que leur distance soit accrue (Pierson et al., 1988).

Tableau 04 : Fréquence des sondes en fonction des indications en reproduction chez les bovins (<http://reprology.com>)

Indications	Fréquence conseillée en MHz
Diagnostic de gestation	5-6 ; 7,5
Gynécologie	5-6 ; 7,5
Sexage	5-6 ; 7,5
Ponction follicule ovarien	7,5
Suivi de gestation par voie externe transcutanée	3,5

V. Différents types de sondes :

V.1. Sonde linéaire:

C'est une sonde électronique multicristaux. Ceux-ci sont alignés et stimulés en série. Elle permet un balayage permanent sur une longueur de 10cm ou plus. On obtient une image rectangulaire de bonne résolution, fine (*Figure 13*).

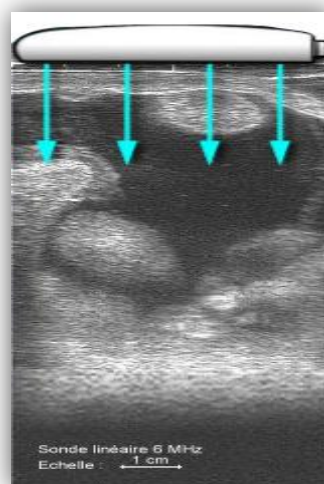


Figure 13 : Sonde linéaire (<http://reprology.com>).

V.2. Sonde sectorielle

La sonde sectorielle ou rotative: c'est une sonde mécanique qui balaie un secteur de l'espace et comprend soit un seul cristal qui fait des mouvements oscillants, soit quelques cristaux en mouvement rotatif. La surface de contact est faible, l'image est triangulaire avec une perte d'information sur les premiers cm et sur les côtés à compenser en déplaçant la sonde (*Figure 14*). Son avantage réside dans le rapport entre la surface de contact balayée et le champ observé (Mialot et al., 1991).

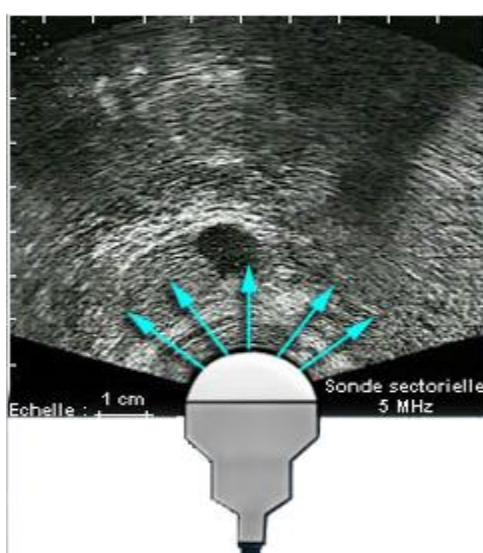


Figure 14 : Sonde sectorielle (<http://reprology.com>).

VI. Artefacts :

VI.1. La réverbération :

C'est l'artéfact le plus fréquent. Lorsque les échos rencontrent une interface très réfléchissante (tissu mou/air par exemple), ils sont presque tous réfléchis. Ceci peut se produire avec une structure digestive remplie de gaz, ou de manière artificielle, lorsque le contact sonde-muqueuse rectale est insuffisant et que l'air s'insinue dans cet espace.

Les ultrasons effectuent des allers-retours entre la sonde et l'interface réfléchissante : l'image obtenue est constituée de lignes échogènes parallèles dont seule la première correspond réellement à la surface échogène (*Figure 15*), les autres étant des échos issus de la réverbération (Maï, 1994).

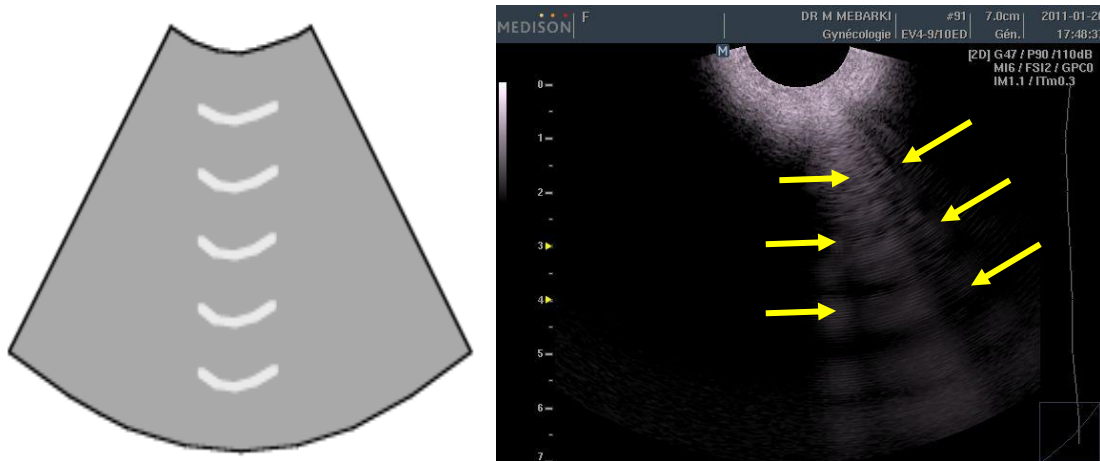


Figure 15 : Photo et Représentation schématique de l'artéfact réverbération (flèches jaunes) (Barthez, 2002).

VI.2. Interférences :

Il s'agit de lignes blanches verticales discontinues, provoquées par un mauvais réglage, ou encore par le dysfonctionnement simultané de plusieurs appareils sur une même ligne électrique.

VI.3. 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 (*Photo 16*). 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 (Ginther, 1986).

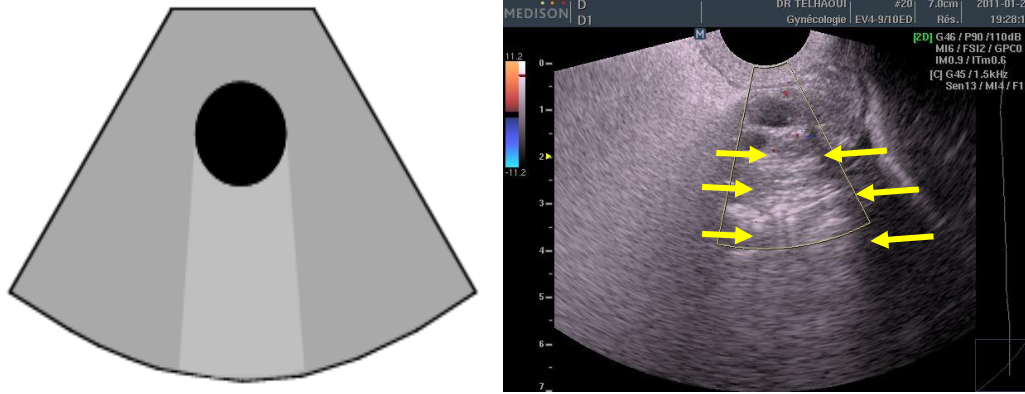


Photo 16: photo et Représentation schématique du renforcement postérieur (flèches jaunes) (Barthez 2002)

VI.4.Cône d'ombre acoustique

L'os comme l'air, est à l'origine d'interfaces très réfléchissantes ; peu d'ondes sonores traversent les tissus situés en aval de ces interfaces. Il en résulte une image très échogène (os ou air), suivie d'une zone où pratiquement aucun écho n'est parvenu, apparaissant très noire (*Photo 17*).

Dans le cas de l'air, l'interface étant réfléchissante à 99%, il existe un phénomène de réverbération entre la sonde et l'interface donnant un cône d'ombre hétérogène, dit « sale ».

Dans le cas de l'os, l'interface est moins réfléchissante, il existe une certaine absorption des ultrasons, il n'y a quasiment pas de réverbération : le cône d'ombre est noir homogène, dit « propre » (Ginther, 1986 ; Maï, 1994).

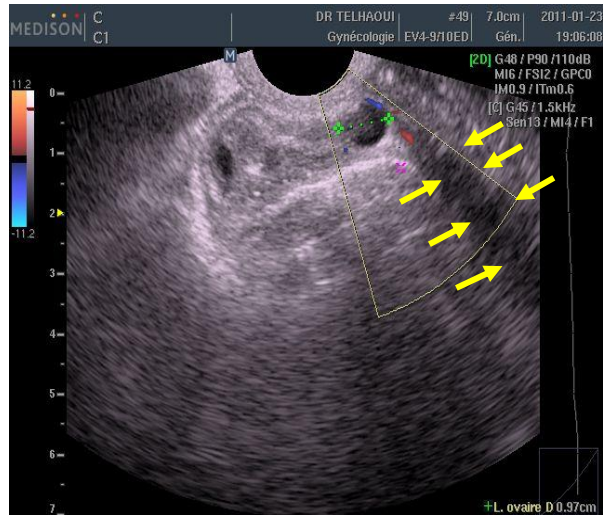
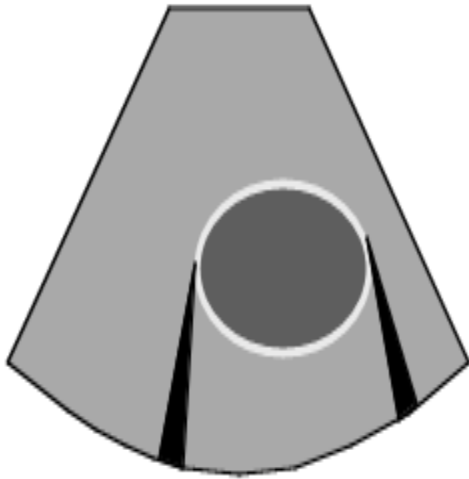


Photo 17: Photo et Représentation schématique du cône d'ombre (flèches jaunes) (Barthez 2002).

VI.5. L'image en miroir :

L'image en miroir correspond à l'apparition sur l'écran de deux images identiques, symétriques par rapport à une ligne très échogène (Photo18). Elle se produit souvent au niveau d'interfaces arrondies très réfléchissantes (Penninck 1995 ; Barthez 2002).

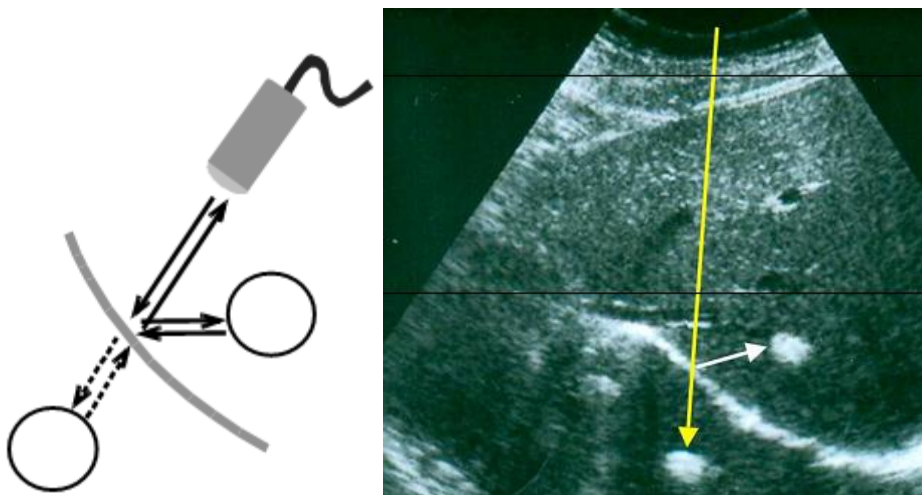


Photo18: Photo et Représentation schématique de l'image en miroir (Barthez 2002).

Chapitre Troisième

Principes De L'échographie Doppler

I. Principes physiques :

L'effet Doppler a été décrit pour la première fois par Christian Johann Doppler (1803-1853). Il a montré que tout type d'onde (lumière, son...) change de longueur d'onde quand la position entre la source de l'onde et le récepteur d'onde change. Par exemple, quand un individu se déplace vers la source d'un son, le ton et la fréquence de ce son augmentent. A l'inverse, lorsqu'il s'éloigne de la source du son, la fréquence diminue. Le changement de fréquence entre le son transmis et le son reçu est l'effet Doppler.

La chauve-souris utilise l'effet Doppler pour rechercher ses proies (*Figure 19*). Ainsi, lorsque la chauve-souris (à la fois émetteur et récepteur d'ondes) et sa proie (surface de réflexion) sont immobiles, les longueurs d'ondes transmises et réfléchies sont identiques. Quand la proie se déplace vers la chauve-souris, les ondes sonores rencontrent plus souvent la proie, augmentant le nombre d'ondes réfléchies vers la chauve-souris (augmentation de la fréquence). Inversement, lorsque la proie s'éloigne de la source, le nombre d'ondes réfléchies vers la chauve-souris et la fréquence du signal diminuent (Boon, 1998).

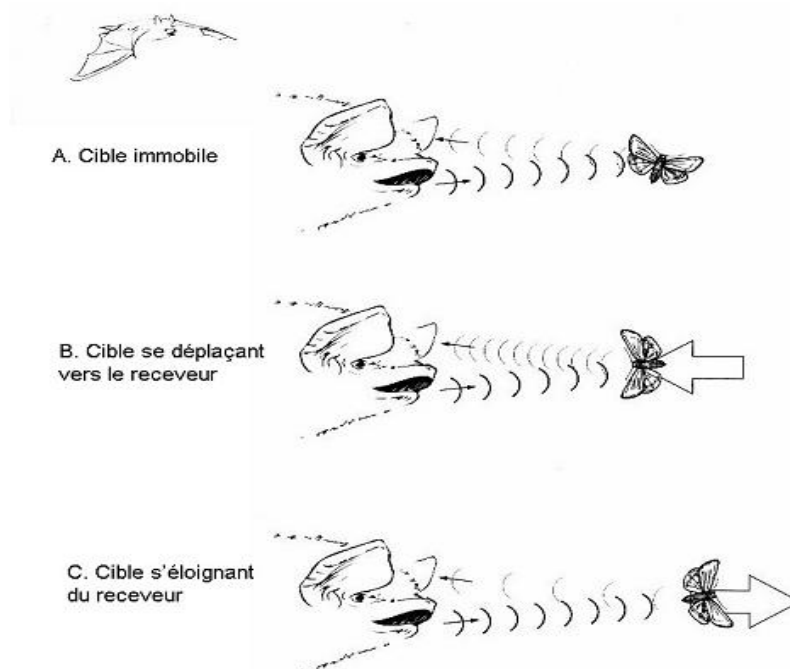


Figure 19 : Illustration de l'effet Doppler. (Boon, 1998)

Le mode Doppler permet de visualiser et d'analyser le flux sanguin. Il nous donne des informations sur la direction (*Figure 20*), la vitesse, et les caractéristiques du flux sanguin.

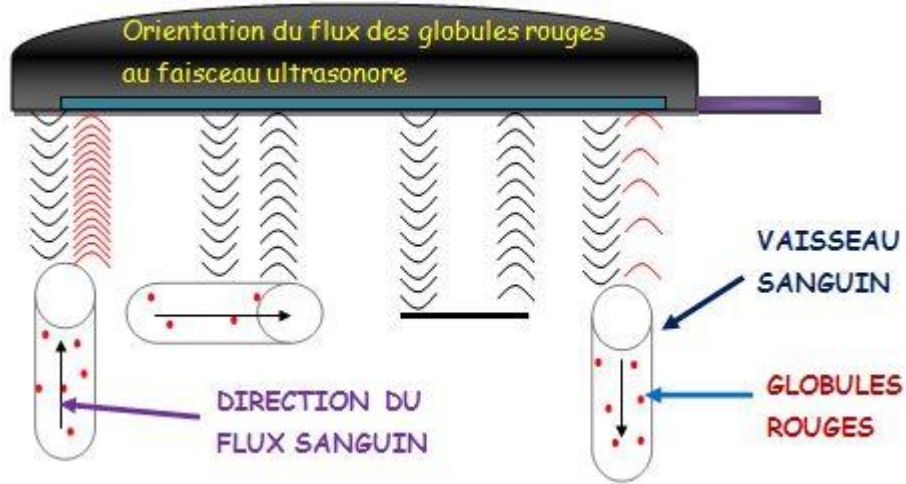


Figure 20 : Illustration de la fréquence Doppler (Ginther et Matthew, 2004)

Dans le cas d'études de la vascularisation, l'émetteur et le récepteur final d'ultrasons est la sonde, la surface réfléchissante est le flux sanguin ou plus précisément les globules rouges présents dans le vaisseau étudié. La valeur de la variation de fréquence (encore appelée glissement de fréquence ou fréquence Doppler) est déterminée par la vitesse du flux sanguin, qui peut être calculée à l'aide de l'équation Doppler :

$$V = [C (+/- \Delta f)] / [2f_0 \cos \theta]$$

Où V est la vitesse du flux sanguin (m/sec), C la vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1540 m/sec), $+/-\Delta f$ la variation de fréquence (en Hz), f_0 la fréquence émise et $\cos \theta$ la fonction cosinus de l'angle entre le faisceau d'ultrasons et le vecteur du flux sanguin (Figure 21) (Reef, 1998).

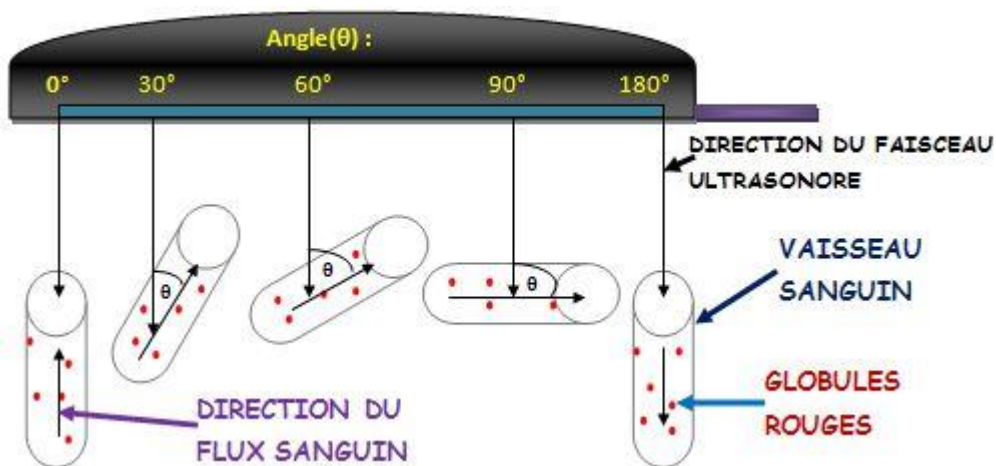


Figure 21 : Illustration de l'angle θ (Ginther et Matthew, 2004)

Par cette formule, il est aisé de comprendre que pour mesurer la vitesse maximale, le faisceau émis doit être parallèle au flux récepteur de telle sorte que θ soit nul et son cosinus égal à 1. Plus θ augmente, plus la vitesse du flux sanguin est sous estimée : un angle de 20° provoque ainsi un facteur d'erreur de 6% et un angle de 35° engendre une erreur de 18%. Ainsi, en pratique, l'angle θ doit être compris entre 0 et 20° . Ceci différencie l'image Doppler de l'image échographique simple. En effet, pour obtenir les meilleures images en échographie classique, il est conseillé d'avoir un faisceau d'ultrasons arrivant perpendiculairement aux structures examinées. En mode Doppler en revanche, le faisceau d'ultrasons doit être le plus parallèle possible au flux sanguin pour en mesurer la vitesse maximale. Il est donc difficile d'obtenir simultanément une image échographique de bonne qualité associée au meilleur signal Doppler (Chetboul et al., 1999).

II. Analyse de l'effet Doppler

II-1. Analyse auditive

Le signal Doppler peut être transformé en signal acoustique, car il se situe en zone audible entre 20 et 20 000 Hz. Ce signal est amplifié puis envoyé à un haut-parleur. La tonalité est douce pour un flux sanguin laminaire, au contraire rude et intense pour un flux turbulent (Figure 22) (sténose, fuite, shunt) (Chetboul et al., 1999).

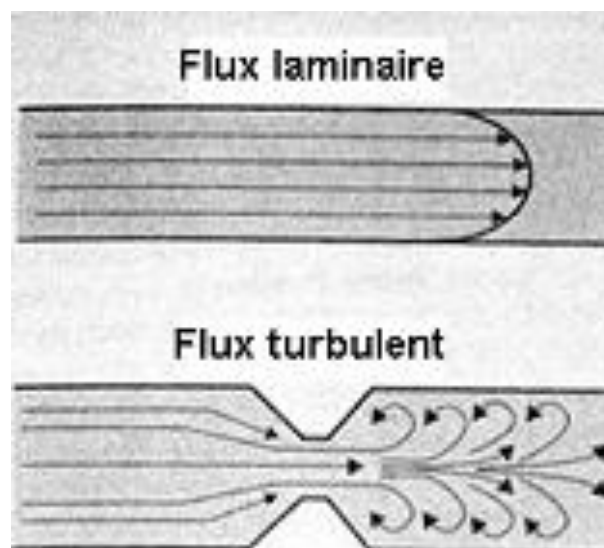


Figure 22 : Flux laminaire et flux turbulent. (Chetboul et al., 1999)

Le signal acoustique est un excellent guide pour obtenir le meilleur spectre de vitesses (le plus clairement audible, correspondant à la vitesse maximale du flux sanguin). L'oreille humaine arrive à percevoir nettement les différences entre flux normal et anormal et cela sera plus aisé que de repérer des zones de turbulences sur un tracé (Reef, et al. 1998).

II.2. Analyse graphique

Les différentes vitesses des flux sanguins peuvent être représentées sous forme de graphiques dans les modes Doppler continu et pulsé.

deux modes de représentation graphique des vitesses :

- la représentation de la moyenne des vitesses du ou des flux sanguin(s) traversé(s) en fonction du temps. Ce mode de représentation est source d'erreur car en présence de deux flux inverses, la vitesse moyenne devient nulle et ne reflète donc pas la réalité hémodynamique. (Chetboul et al, 1999).

- la représentation du spectre de l'ensemble des vitesses sanguines en temps réel. Cette représentation est rendue possible par la technique de transformation rapide de Fourier. Le signal Doppler est ainsi transformé en un spectre de vitesses. Ces vitesses sont enregistrées sous forme de courbes selon leur valeur absolue (exprimée en m/sec) et selon leur direction, de part et d'autre de la ligne du zéro (*Figure 23*). Un flux s'éloignant de la sonde (flux rétrograde) est par convention négatif, donc situé au dessous de la ligne du zéro. Inversement, un flux s'approchant de la sonde (antérograde) est positif, donc situé au dessus de la ligne du zéro. A l'analyse spectrale par transformation de Fourier, s'ajoute un codage en modulation de brillance : les vitesses les plus représentées sont les plus lumineuses et les plus brillantes (Chetboul et al., 1999 ; Ginther et Matthew, 2004).

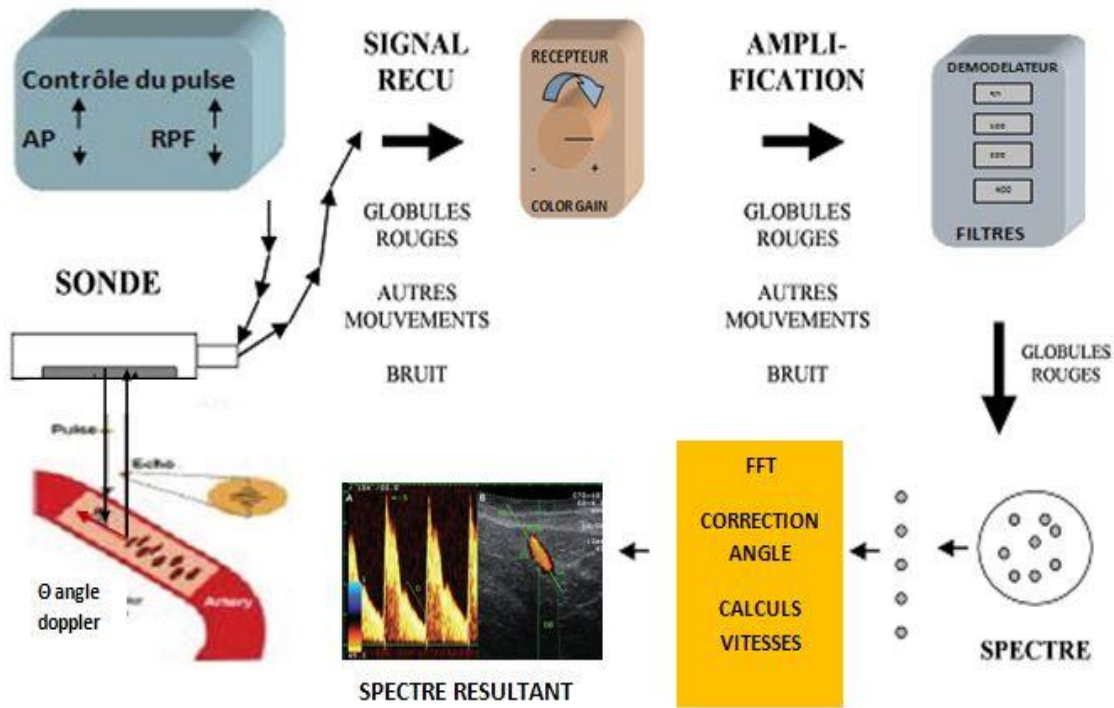


Figure 23 : Représentation schématique du fonctionnement d'un système d'échographie Doppler pulsé pour la production d'un spectre de vitesses (Ginther et Matthew, 2004)

II-3. Analyse colorimétrique

Les signaux Doppler peuvent être codés en couleur. Conventionnellement, les instruments Doppler couleur sont codés de sorte que les flux laminaires antérogrades apparaissent en rouge et les flux laminaires rétrogrades en bleu. Les turbulences sont codées en vert. Le ton de la couleur est fortement influencé par la qualité du signal et la vitesse du flux : la brillance est proportionnelle à la valeur absolue de la vitesse. Cependant, sur la plupart des instruments, ces couleurs peuvent être changées selon les préférences de l'opérateur. Cette technique permet d'apprécier directement à l'écran la vascularisation d'un territoire (Chetboul et al., 1999 Ginther et Matthew, 2004).

III. Les différents modes Doppler

III.1. Doppler pulsé

Dans ce mode, les ultrasons sont émis par pulses dans les tissus vers une profondeur déterminée. Les échos réfléchis provenant de cette profondeur sont reçus par la sonde avant l'émission du pulse suivant. En effet, la sonde utilisée comporte un seul cristal piézo-électrique à la fois émetteur et récepteur d'ultrasons. La fréquence de répétition des pulses ou PRF représente le nombre d'émissions-réceptions par seconde. La PRF est déterminée par la distance entre la sonde et le flux sanguin à analyser (Reef, 1998). En raison de cette PRF, les vitesses ne sont mesurées que dans un volume échantillon ou « porte Doppler » (*Figure 24*) dont on peut choisir à la fois la taille et la profondeur par rapport aux repères échographiques en 2 dimensions (2D).

La PRF est inversement proportionnelle à la profondeur du flux sanguin que l'on veut analyser : plus le volume échantillon est situé loin de la sonde, plus la PRF est faible et inversement. Plus une structure est située en profondeur, plus le temps d'aller et retour du signal ultrasonore est long. Comme le signal transmis doit être reçu avant qu'un suivant ne soit émis, la PRF est abaissée. En pratique, la profondeur et la taille de l'échantillon sont choisies par l'opérateur sur l'image 2D. Ceci détermine respectivement la valeur de la PRF et la durée de l'impulsion et du temps d'écoute (Chetboul et al., 1999).



**Porte
Doppler**

Figure 24 : Image échographique illustrant la « porte Doppler » (Luc Des Côteaux et al)

III.2.Doppler continu :

En Doppler continu, la sonde utilisée comporte deux cristaux spécialisés dans deux fonctions différentes :

- un cristal émetteur dont le rôle est de produire de façon continue des ondes ultrasonores. Ces ondes vont se propager et se réfléchir sur les différentes structures rencontrées,

- un cristal récepteur dont le rôle est de recevoir de façon continue les ondes ultrasonores émises et de transformer les variations de pression ultrasonique en variations de potentiels électriques (Chetboul et al., 1999).

L'avantage du Doppler continu est de mesurer toutes les vitesses, même les plus élevées.

Le Doppler continu ne permet pas de connaître la profondeur de la surface réfléchissante. La technique de Doppler peut être couplée à l'imagerie bidimensionnelle, qui permet de positionner un curseur représentant le faisceau d'ultrasons le long duquel le manipulateur désire calculer les fréquences Doppler. Un spectre complet de toutes les vitesses le long du faisceau est obtenu. Le Doppler continu peut aussi être utilisé seul, sans repérage échographique anatomique. Il nécessite alors une bonne connaissance des caractéristiques des flux étudiés (Boon, 1998).

Le Doppler continu n'a pas aujourd'hui d'utilisation en échographie ovarienne, quelle que soit l'espèce. Dans la suite de l'exposé, nous ne détaillerons donc pas les caractéristiques de ce mode.

III-3.Doppler couleur

En Doppler couleur, des images 2D en temps réel et la cartographie des flux sanguins sont visualisées au même moment grâce à une alternance d'ultrasons dédiés à l'image 2D et d'autres consacrés au signal Doppler. Il peut cependant y avoir un décalage entre l'image 2D et l'image Doppler (Boon, 1998).

Le Doppler couleur est une forme de Doppler pulsé : une cartographie des flux est possible grâce à l'utilisation de plusieurs lignes de tir (contre une seule en Doppler pulsé) comprenant chacune plusieurs « portes Doppler » (Chetboul et al., 1999). Le Doppler couleur est aussi appelé Doppler « multiligne-multiporte » (*Figure 25*). L'image

obtenue à l'écran est le résultat de l'analyse simultanée de ces « portes Doppler ». Les échos produits dans les « portes Doppler » de chaque ligne de tir, proviennent de surfaces immobiles (sans effet Doppler) et de surfaces mobiles. Les échos sans effet Doppler sont éliminés tandis que ceux provenant des surfaces mobiles sont soumis à une analyse par autocorrélation qui calcule la vitesse moyenne et la variance au sein de chaque groupe de pulses (*Figure 26*) (Ginther et Matthew, 2004).

Les signaux Doppler sont codés en couleur. La cartographie des flux sanguins est superposée à l'image 2D.

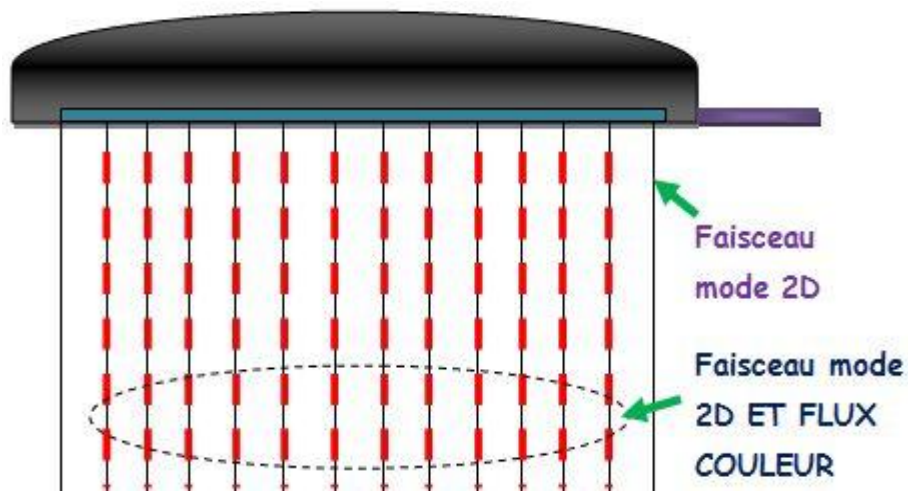


Figure 25 : Schématisation du Doppler couleur (Ginther et Matthew, 2004)

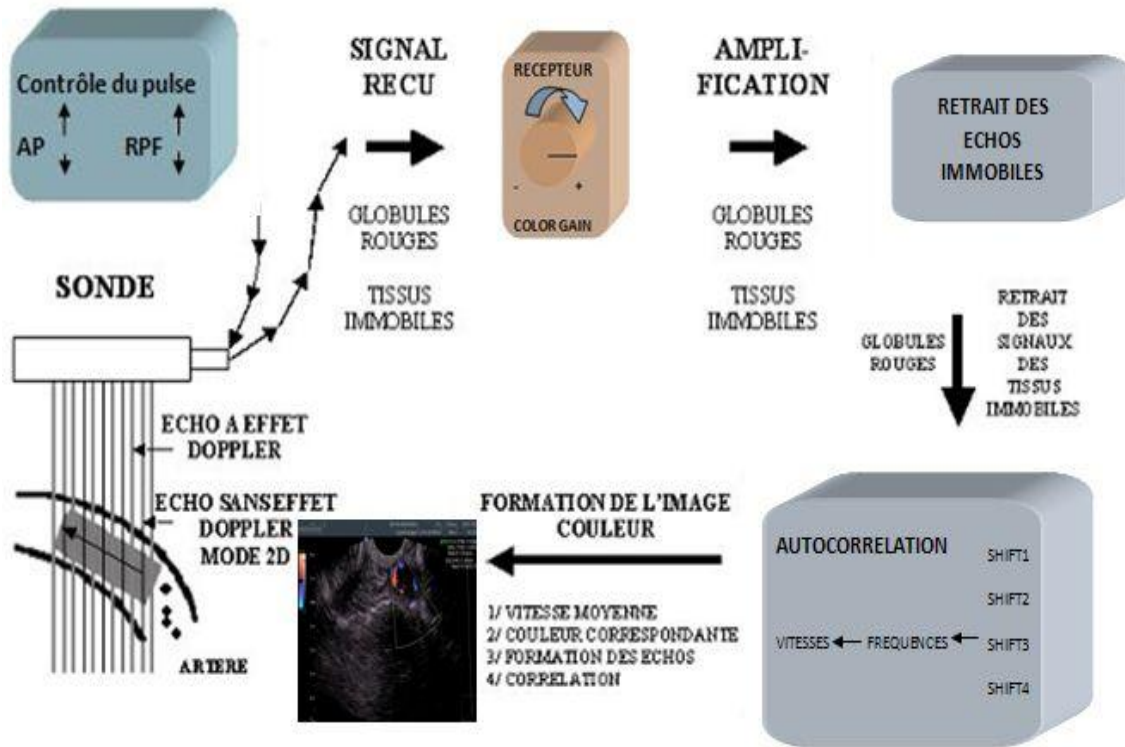


Figure 26 : Représentation schématique du fonctionnement d'un système d'échographie Doppler couleur pour la production d'une image combinant les modes 2D et couleur (Ginther et Matthew, 2004)

III.4. Doppler puissance

Ce système est un mode Doppler récent qui permet de visualiser les flux sanguins circulant à basse vitesse et à faible énergie. Les données relatives à la fréquence, c'est-à-dire à la vitesse d'écoulement du sang et à son sens ne sont pas prises en compte (Images 27). Seule est retenue la puissance du signal Doppler, qui est proportionnelle au nombre de globules rouges dans le volume de sang mesuré, quelle que soit leur vitesse et leur direction (Singh et al., 2003). Le Doppler puissance est moins dépendant de l'angle d'incidence des échos et a un meilleur rapport signal/bruit que le Doppler couleur conventionnel. Mais il ne donne pas de renseignement sur le sens d'écoulement du sang, il est très sensible aux mouvements et s'atténue en profondeur. (Reef, et al., 1998)

Le Doppler puissance est très utile dans l'évaluation du flux sanguin d'un organe et de la vascularisation associée à une néoplasie (Reef, et al., 1998).

Le Doppler puissance est donc un outil qui permet de privilégier l'information morphologique du flux sanguin. Il permet de quantifier la vascularisation d'un organe (Rubin et al., 1995).

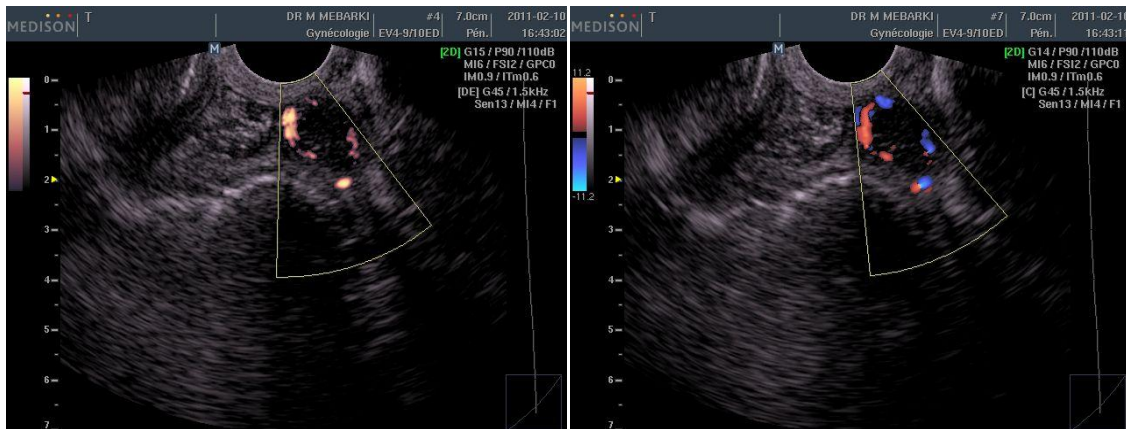


Figure 27 : Deux images échographiques de corps jaune observés à l'aide d'un mode Doppler couleur (droite) et d'un mode Doppler puissance (gauche).

IV. Les artefacts de l'échographie doppler

Les artefacts du mode Doppler sont nombreux. Certains sont particuliers à ce mode, d'autres ont déjà été détaillés dans l'échographie en mode 2D.

IV-1. Les artefacts de mouvement

IV-1-1. Les mouvements du patient

Les artefacts dus aux mouvements du patient sont surtout problématiques lors de l'échographie d'animaux (Figure 28).

En effet, leur coopération est souvent difficile à obtenir. Il est parfois nécessaire de les tranquiliser.

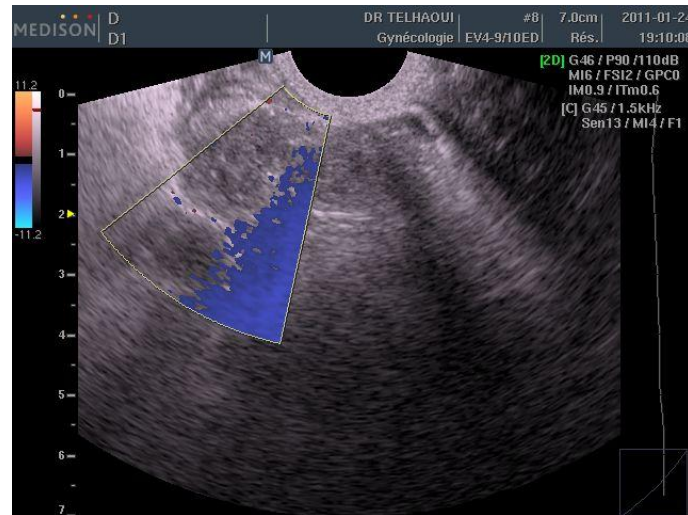


Figure 28: Image échographique montrant un artefact dû au mouvement de l'animal : taches bleues dispersées sur la gauche de l'image

IV.1.2. Le mouvement des organes du patient

Les mouvements des organes peuvent gêner l'interprétation des images obtenues en Doppler couleur. Ainsi, la respiration peut gêner l'interprétation des images obtenues en échocardiographie Doppler. De même, le péristaltisme intestinal peut provoquer des artefacts de mouvement lors d'échographie Doppler transrectale (Ginther et Matthew, 2004).

Lors d'artefacts dus aux mouvements, des plages colorées dispersées qui ne correspondent pas à des images de vaisseaux sanguins apparaissent sur les images échographiques (Figure 28) et (Figure 29).



Figure 29 : Image échographique Doppler montrant un artefact dû au péristaltisme intestinal : grandes taches colorées en rouge et bleu.

IV.2.L'effet « aliasing »

En Doppler pulsé, toutes les vitesses ne peuvent être enregistrées ; à partir d'un certain seuil déterminé par le physicien Nyquist, les vitesses les plus élevées ne sont plus détectées. En effet, en Doppler pulsé, la profondeur explorée détermine et limite la fréquence de répétition (PRF). La vitesse maximale mesurable est d'autant plus haute que la PRF est élevée. Lorsque la PRF est basse (inférieure à deux fois la fréquence Doppler analysée), il se produit sur le graphique une inversion artéfactuelle de la vélocité du flux sanguin. Ce repliement spectral est aussi nommé « aliasing » (Chetboul et al., 1999). Pour s'affranchir de l'« aliasing », il s'agit de choisir une PRF au moins égale au double de la fréquence du signal Doppler (Ginther et Matthew, 2004).

Plus une structure est située en profondeur, plus le temps d'aller et retour du signal ultrasonore est long. Comme le signal transmis doit être reçu avant qu'un suivant ne soit émis, la PRF est abaissée. Ceci conduit à diminuer la valeur de la vitesse maximale mesurable sans « aliasing » (Chetboul et al., 1999) .

De surcroît, sachant que $V = \Delta f C / (2f_0 \cos\theta)$, la vitesse maximale mesurable sans « aliasing » est d'autant plus élevée que la fréquence d'émission est basse. Le mode Doppler couleur étant basé sur le Doppler pulsé, l'« aliasing » est aussi présent dans ce mode. Sur la cartographie des flux, l'« aliasing » se rencontre à partir d'une fréquence Doppler égale à PRF/2 et se manifeste par une inversion de couleur, le flux semblant emprunter une direction inverse de celle qu'il a réellement.

Si la limite de Nyquist est atteinte, une échelle complète de codage est shuntée : une vitesse rétrograde élevée peut alors apparaître rouge sombre (basse vitesse antérograde) au lieu de bleu clair .En pratique, lorsque l'opérateur ne parvient pas à s'affranchir de l'effet d' « aliasing » (en cardiologie, lors d'études de flux à grande vitesse), il utilise le Doppler continu pour faire les mesures de vitesses maximales. En échographie ovarienne, le phénomène d' « aliasing » est habituellement géré par les réglages de PRF et le changement de sonde (fréquence moindre) (Boon, 1998). (Figure 30)

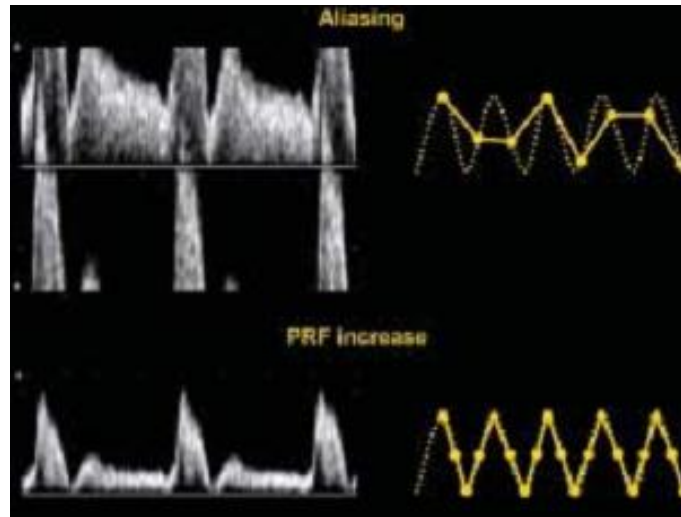


Figure 30 : Représentation de l'effet « aliasing » et résolution de l'artéfact par l'augmentation de la PRF (Ginther et Matthew, 2004)

IV.3. Le décalage temporel entre l'image bidimensionnelle et la cartographie Doppler

Le mode Doppler couleur associe une image bidimensionnelle à une image Doppler. Ces deux images sont décalées dans le temps. Ce décalage peut parfois devenir important et donner des images aberrantes. Ainsi, lors d'échocardiographie, l'opérateur peut avoir l'impression que le flux n'est pas contenu dans les cavités cardiaques lorsque la fréquence cardiaque est très élevée (Chetboul et al., 1999).

IV.4. Les artéfacts d'image-miroir

Les artéfacts d'image-miroir se produisent fréquemment lors de l'utilisation de gains Doppler élevés ou lorsque l'angle Doppler approche 90° (Ginther et Matthew, 2004). Le spectre Doppler obtenu est situé de part et d'autre de la ligne de base. En fonction de la localisation de la « porte Doppler », il est toujours possible de distinguer le spectre réel de celui « miroir ». Le spectre « miroir » est symétrique et de faible intensité par rapport au spectre réel (Boon, 1998). (Figure 31)



Figure 31 : Artéfacts d'image-miroir (flèches jaunes).

V. Les paramètres étudiés en échographie Doppler

V.1.La vitesse du flux sanguin

La fréquence Doppler est transformée en vitesse du flux puis, un spectre des vitesses du flux sanguin étudié est dessiné à l'écran. L'échelle des vitesses étudiées est réglée par l'opérateur pour minimiser les artéfacts et pour optimiser le signal de l'écran. A partir du spectre, l'appareil nous permet de mesurer :

- la vitesse maximale du flux au cours du cycle cardiaque étudié, qui correspond au pic de vitesse systolique,
- la vitesse minimale du flux au cours du cycle cardiaque étudié, qui correspond à la vitesse de fin de diastole,
- la moyenne des vitesses maximales du flux sur plusieurs cycles cardiaques. Certains appareils tracent automatiquement le spectre des vitesses pour effectuer les mesures. D'autres nécessitent un tracé manuel du spectre étudié.

Comme nous l'avons vu dans les principes physiques du Doppler, l'angle d'incidence des rayons ultrasonores (θ) a une importance capitale dans la mesure des vitesses. Ainsi, sur un même vaisseau, des vitesses maximales très différentes peuvent être obtenues en changeant cet angle. Il est conseillé de toujours avoir un angle θ compris entre 0 et 20° pour limiter l'erreur (Reef, 1998).

V.2. Les index de résistance

Les index Doppler sont une alternative à la mesure des vitesses Doppler. Ils sont particulièrement intéressants lorsque l'échantillon est petit, sur des vaisseaux tortueux pour lesquels la visualisation d'une portion rectiligne est impossible et ne permet donc pas d'estimer l'angle Doppler. En effet, les index Doppler sont des ratios des mesures de vitesse, ils sont donc indépendants de l'angle Doppler (Dickey, 1997) (Figure 32).

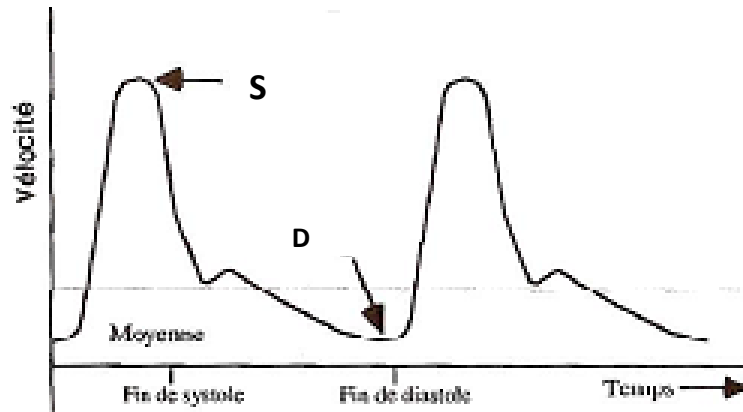
V.3. L'index de résistivité (IR)

Cet index, aussi connu sous le nom d'index de Pourcelot étudie la différence entre le pic de vitesse systolique et le pic de vitesse diastolique. Il s'exprime ainsi :

$IR = (S - D) / S$ où S représente la vitesse maximale en systole, D la vitesse minimale ou de fin de diastole. L'IR convient parfaitement à l'étude des lits vasculaires à faible résistance avec un flux continu durant la diastole. Si D s'approche de zéro, le ratio converge vers 1. Plus l'IR du flux étudié est élevé, plus la perfusion des tissus est faible et inversement (Rivers et al., 1997).

V.4. L'index de pulsativité (IP)

Il s'exprime ainsi : $IP = (S - D) / \text{moyenne des vitesses maximales}$ où S représente la vitesse maximale en systole, D la vitesse minimale ou de fin de diastole. La moyenne des vitesses maximales est obtenue sur trois ou quatre cycles cardiaques. L'IP est souvent utilisé pour caractériser le flux dans les vaisseaux où le flux est absent durant une partie de la diastole. L'IP n'est pas aussi précis que l'IR du fait de la mesure de la moyenne des vitesses maximales, qui est fonction des programmes disponibles dans chaque échographe. Une augmentation de l'IP indique une diminution de la perfusion des tissus (Dickey, 1997).



$$IR = (S - D) / S$$

$$IP = (S - D) / \text{moyenne}$$

Figure 32 : Méthode de calcul des index de résistance et de pulsatilité
(Luc Des Côteaux et al, 2005)

V.5.La mesure de l'aire colorée

Les index de résistance sont déterminés dans les artères qui irriguent les tissus, et donnent une information sur l'étendue de la perfusion tissulaire après interprétation. Une autre possibilité d'estimer l'étendue de la perfusion locale ou de l'aire du flux sanguin est donnée par la cartographie du flux sanguin obtenue par Doppler couleur. La quantification de l'aire colorée peut être réalisée selon différentes méthodes.

Tout d'abord, des scores sur les images enregistrées peuvent être utilisés. Ils vont par exemple de 0 (absence de pixel coloré) à 4 (beaucoup de pixels colorés). Le système du score a l'inconvénient majeur d'être subjectif. Une quantification objective peut être réalisée par le calcul de l'aire des pixels colorés sur une image enregistrée à l'aide de logiciels de traitement d'images. A partir de l'image échographique, les pixels colorés de la région étudiée sont extraits avec un logiciel de traitement d'images (par exemple Adobe Photoshop 8.0. Puis, le logiciel ImageJ 1.31 peut être utilisé pour le calcul de l'aire des pixels colorés sur l'image (Ginther et Matthew, 2004) (Figure 33).

Dans tous les cas de mesure de l'aire colorée, un biais peut intervenir durant la sélection des images par l'échographiste. Les différents modes Doppler peuvent être associés entre eux. Le résultat est une caractérisation très précise du flux sanguin étudié.

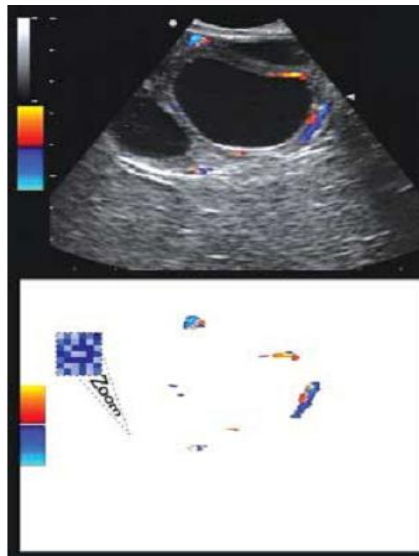


Figure 33 : Extraction des aires colorées à partir d'une image échographique obtenue au Doppler couleur (Ginther et Matthew, 2004)

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

I. Matériel et Méthodes

I.1. Objectif de l'étude

Dans la présente étude, nous évaluons, l'intérêt de l'échographie doppler couleur comme méthode permettant :

- ✓ la détermination du stade de croissance folliculaire ;
- ✓ l'évaluation de la fonction sécrétoire du corps jaune : afin d'en déceler les dysfonctionnements éventuels
- ✓ Un diagnostic précoce de gestation : qui sera de nature à optimiser la gestion des élevages.

I.2. Lieu et période de l'essai

I.2.1. Lieu de l'essai

Notre étude a été menée sur des vaches de trois fermes privées situées toutes dans la daïra de Kaïs, wilaya de Khenchela, à 480 km à l'Est d'Alger. Avec une altitude de 800 m, cette région est comprise entre 34° et 35,5° de latitude nord et 5,55° et 7° de longitude Est (Figure 34).



Figure 34 : Vue aérienne des fermes de l'étude expérimentale

L'élevage bovin dans ces fermes est de type extensif, avec une moyenne quotidienne de 6h de parcours sur des pâturages naturels. En hiver, et en raison des conditions climatiques rigoureuses, une supplémentation de son gros, d'orge aplati, et de paille est effectuée ; l'eau est disposée à volonté.

I.2.2. II.2. Période de l'essai

Notre étude a été scindée en 2 périodes :

→ **Une Période pré-expérimentale**, étalée sur une durée de 3 semaines comprise entre le 20 décembre 2010 et le 9 janvier 2011 et qui avait pour but d'homogénéiser les animaux avant la synchronisation. Ainsi, une supplémentation en aliment concentré à base de son de blé, d'orge, de maïs aplati et d'un complexe minéralovitaminé a été distribuée à l'ensemble des femelles de l'étude (5 kg/ tête et par jour). Un déparasitage externe et interne a été également effectué. Cette étape a aussi permis d'habituer les femelles de l'étude aux différentes manipulations nécessaire au bon déroulement de l'essai (contention, fouilles rectales et utilisation de la sonde de l'échographe).

→ **La période expérimentale**, allant du 10 janvier au 26 juin 2011, soit une durée de 6 mois, au cours desquels ont été réalisés l'ensemble des manipulations décrites ci-après.

I.3. Animaux

Pour cette étude, un effectif global de 18 vaches a été mis à notre disposition et dont les caractéristiques sont présentés dans le tableau 5. L'ensemble des vaches étaient de population locale (Brune de l'Atlas), cyclées et hors lactation. Après la période d'homogénéisation, quatre vaches ont été exclues de l'étude dont deux particulièrement difficiles à examiner et dangereuses, une présentant une anomalie de tractus génital et la dernière atteinte de brucellose. Les 14 vaches sélectionnées (1 nullipare, 2 primipares et 11 multipares) présentaient une moyenne d'âge de $5,29 \pm 2,44$ ans (minimum = 18mois et maximum = 10 ans), un poids moyen de 285 ± 65 kg et une note d'état corporel homogène (2 à 3).

Tableau 5 : caractéristiques des femelles de l'étude.

N° de Vache	Age (ans)	Parité	BCS
1	1,5	nullipare	3,0
2	2,5	primipare	3,0
3	2,0	primipare	2,5
4	7,0	multipare	2,5
5	9,0	multipare	2,0
6	6,0	multipare	2,5
7	6,0	multipare	2,5
8	4,0	multipare	3,0
9	5,0	multipare	3,0
10	6,0	multipare	3,0
11	10,0	multipare	2,5
12	7,0	multipare	3,0
13	5,0	multipare	2,5
14	3,0	multipare	3,0

I.4. Protocole expérimental

Brièvement, et tel décrit dans la figure 35, notre démarche a consisté à réaliser les opérations suivantes :

- De J_0 à J_9 → Synchronisation des cycles œstraux à l'aide du protocole Ovsynch® (G-P-G).

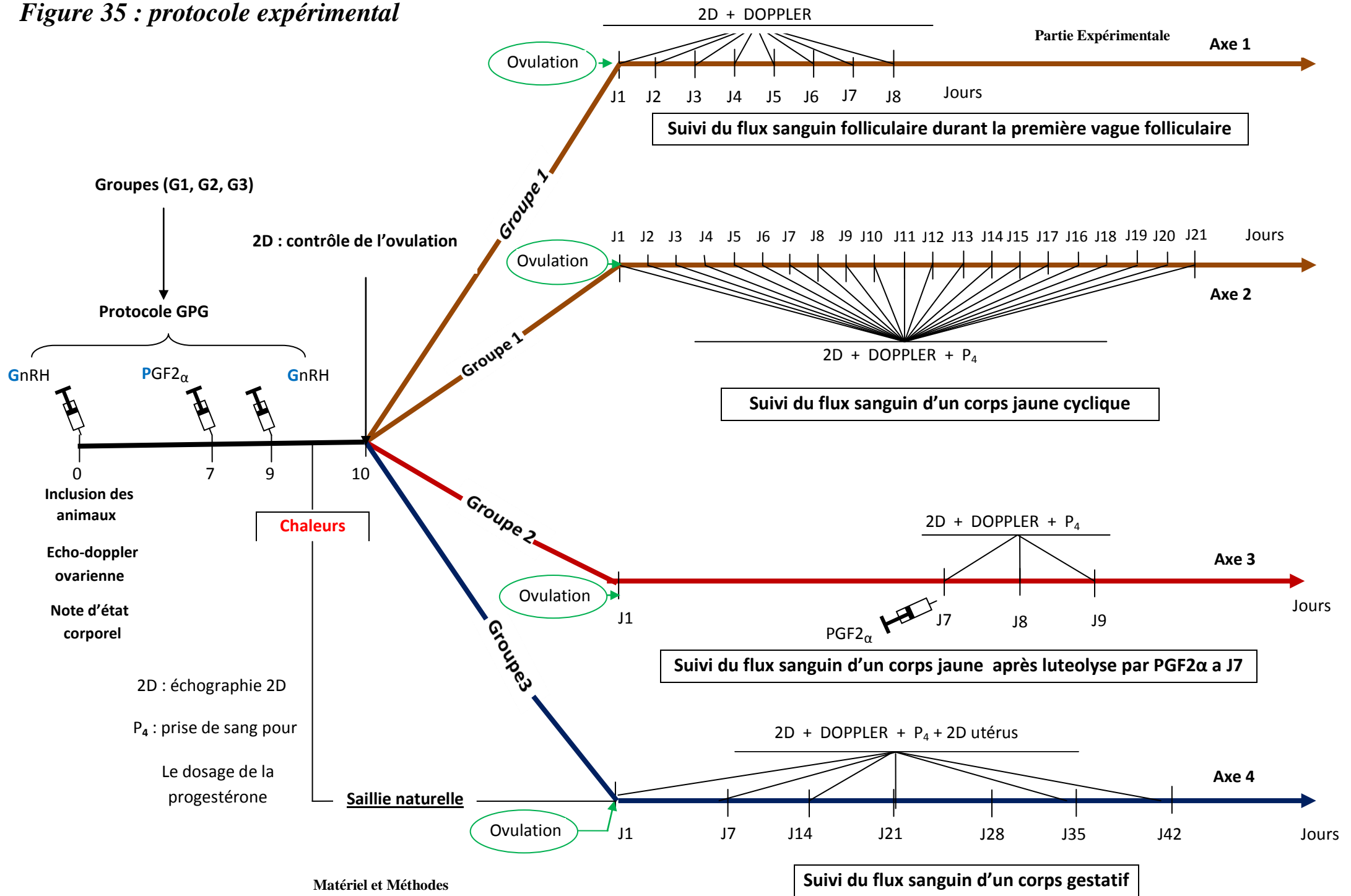
- De J_{10} à J_{11} → Contrôle de l'ovulation par échographie 2D (J_1 post ovulation).

- **A partir du J₁ post-ovulation** → Examen de l'activité ovarienne par échographie 2D et Doppler, en réalisant le suivi du flux sanguin :

- a. Des follicules de la 1^{ère} vague folliculaire (axe 1, n=10) ;
- b. Des corps jaunes cycliques (axe2 ; n=10) ;
- c. Des corps jaunes après induction d'une lutéolyse (axe3, n=7) ;
- d. Des corps jaunes gestatifs (axe 4, n=5).

Pour les axes 2, 3 et 4 une progestéronémie a été associée aux examens décrits ci-dessus.

Figure 35 : protocole expérimental



I.4.1. Synchronisation des cycles œstraux

Le protocole de synchronisation G-P-G (OVSYNCH®, CEVA Santé Animale, France) a été appliqué à l'ensemble des vaches sélectionnées pour l'essai. En pratique, une première injection intramusculaire, de 100 µg de GnRH (soit 2 ml de solution de CYSTORELINE®), est effectuée, suivie, 7 jours plus tard, d'une 2^{ème} injection intramusculaire de 25 mg de Prostaglandine (soit 5 ml de solution de DINOPROST®) puis d'une dernière injection intramusculaire de 100 µg de GnRH 48 h après (*Figure 36*).

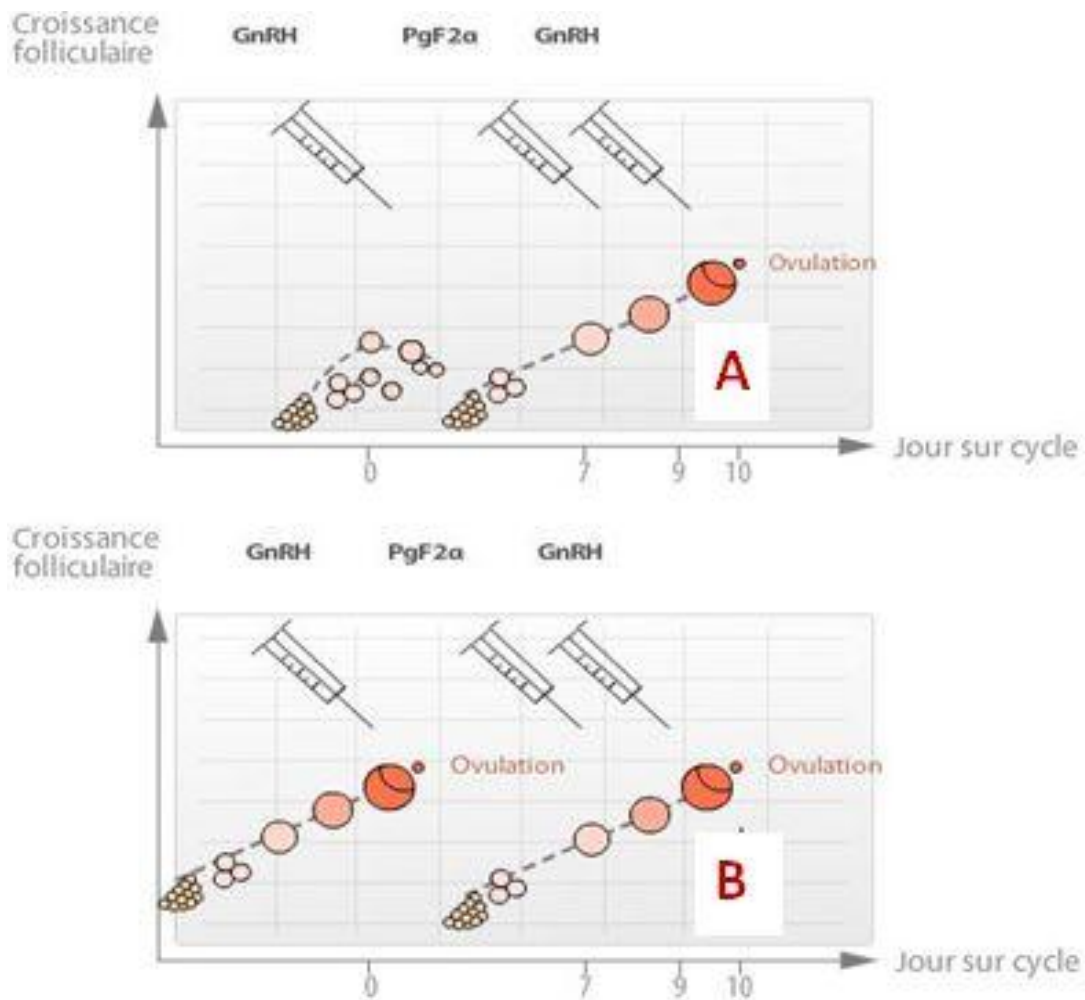


Figure 36: Le protocole GPG (Ovsynch) de synchronisation des cycles œstraux.
 (A) première injection en début de vague folliculaire.
 (B) première injection en milieu ou fin de vague folliculaire. (<http://www.reprology.com>)

I.4.2. Contrôle de l'ovulation par échographie

Le contrôle de l'ovulation est réalisé à 24 et 48h après la dernière injection de GnRH au moyen d'un échographe (MEDISON®, modèle SONOACE X6) équipé d'une sonde endocavitaire de 6 à 8MHz ; réglée à 7,5MHz (*Figure 37*).

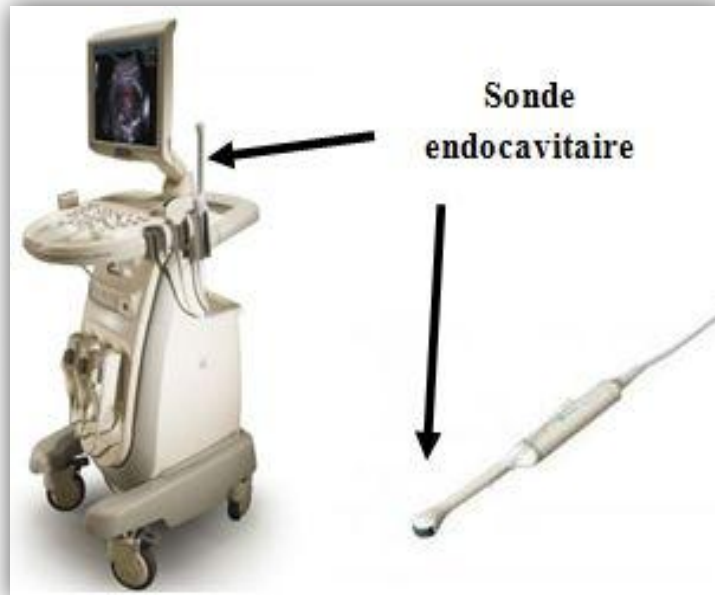


Figure 37: Echographe (MEDISON®, SONOACE X6) et sonde endocavitaire.

Un aide assure la contention des vaches tout au long de l'examen au moyen d'une prise nasale ou en utilisant une pince-mouquette. Une légère sédation par une injection intraveineuse de 0,02mg/kg d'Acépromazine®, peut être envisagée pour les vaches les plus anxieuses. Une vidange préalable du rectum de son contenu en matières fécales est réalisée à la faveur d'une première palpation transrectale qui permet aussi d'examiner l'état de l'appareil génital en commençant par le col puis le corps de l'utérus, les cornes utérine et enfin les ovaires qui demeurent maintenus entre les doigts tout au long de l'examen échographique.

Avant l'introduction vaginale de la sonde, un nettoyage et une désinfection minutieux de la région péri-vulvaire sont effectués. La sonde de l'échographe, maintenue par un manchon rigide, est introduite et placée délicatement dans le cul de sac dorsal vaginal. L'ovaire peut ainsi être placé quasiment au contact de la sonde ; il n'en est séparé que par l'épaisseur de la paroi vaginale et du péritoine (figure 38).

Un balayage de la surface de l'un des ovaires est alors effectué afin d'obtenir la vision la plus complète possible des structures de l'organe. Une fois l'examen réalisé, nous procédons de la même manière pour le deuxième ovaire (*Figure 38*).

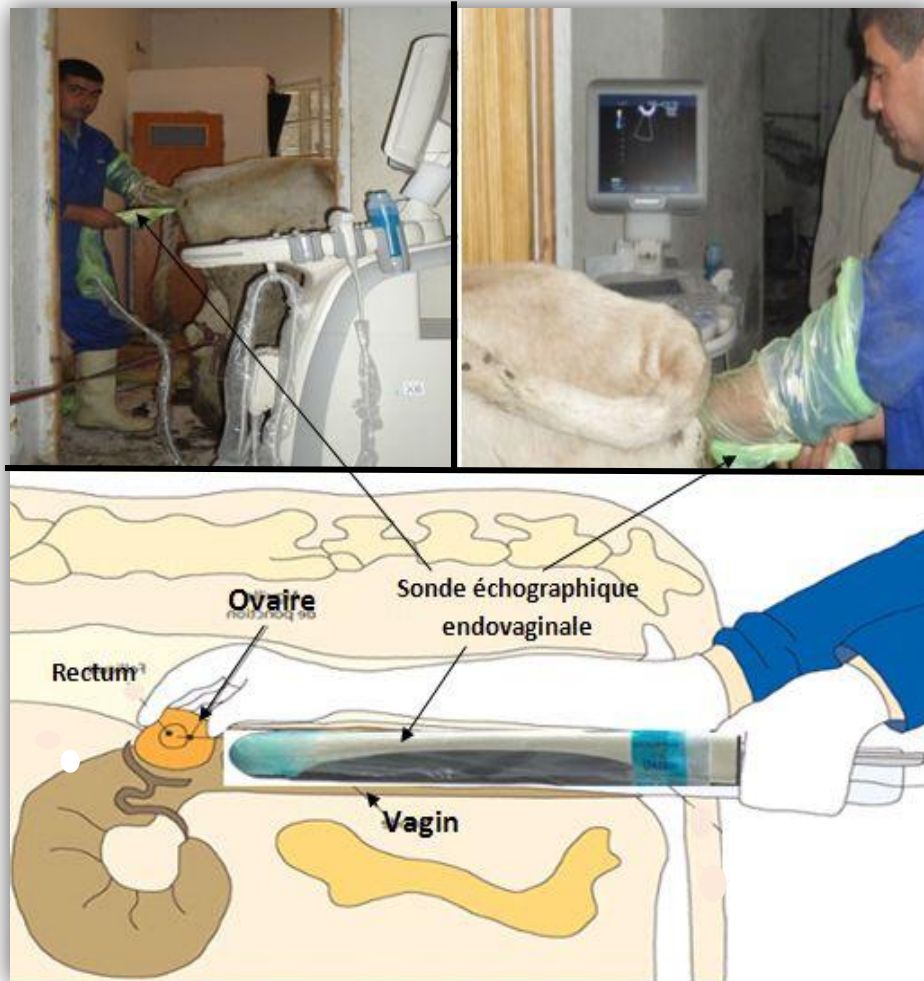


Figure 38: Représentation schématique et réelle de l'échographie endovaginale

I.4.3. Examen de l'activité ovarienne par échographie 2D et Doppler

Une fois l'ovulation constatée, cette dernière constituera le point de départ (J_1) du suivi des paramètres décrits ci-dessous :

a. Suivi du flux sanguin folliculaire par écho-doppler couleur de la première vague folliculaire (Axe 1) :

Ce suivi a concerné 10 vaches et a été réalisé de J_1 à J_8 *post ovulation* à l'aide du mode 2D de l'échographe en prenant en considération tout les follicules dont le diamètre était supérieur ou égal à 2,5 mm. Les mesures des grands follicules, des follicules moyens (seconds plus grands) et des petits follicules sont retenues à chaque fois pour définir le jour de la déviation (jour où le grand follicule atteint un diamètre $\geq 8,5$ mm).

Après chaque évaluation morphologique, le mode doppler couleur est activé pour voir et apprécier le flux sanguin détectable sur chaque follicule.

b. Suivi du flux sanguin du corps jaune cyclique par écho-doppler couleur (Axe2) :

Ce paramètre est apprécié, chez les mêmes femelles, simultanément au premier et a concerné les corps jaunes résultants des ovulations induites par la seconde injection de GnRH du protocole de synchronisation (Ovsynch[®]). Ce suivi est réalisé depuis l'ovulation (J_1) jusqu'à J_{21} . Le mode 2D est d'abord utilisé pour apprécier l'évolution morphologique du corps jaune (calcul de la superficie); puis le mode doppler couleur est activé pour calculer la surface du flux sanguin détectable. En parallèle, des prises de sang sont réalisées après chaque examen afin de mesurer la progestéronémie.

c. Suivi du flux sanguin d'un corps jaune par écho-doppler couleur après induction de la luteolyse par injection de PGF2 α à J_7 (Axe3):

Durant cette expérimentation, les corps jaunes des vaches utilisées (n=7) ont subis une lutéolyse induite par l'injection de PGF2 α , un suivi échographique a été réalisé à partir de J_7 (juste avant l'injection) jusqu'au J_9 . Les mêmes paramètres étaient mesurés (superficie, flux sanguin du corps jaune, et progestéronémie).

d. Suivi du flux sanguin d'un corps jaune gestatif par écho-doppler couleur (Axe4)

Seules les vaches devenues gestantes après saillie naturelle par des taureaux de même race ont été retenues dans cette expérimentation. Ces vaches ont fait l'objet d'un examen échographique 2D de leurs utérus et d'un suivi par échographie doppler couleur de leurs corps jaunes durant le stade embryonnaire (J₁, J₇, J₁₄, J₂₁, J₂₈, J₃₅ et J₄₂), étaient alors mesurés les paramètres suivants (superficie, flux sanguin du corps jaune gestatif, et progestéronémie).

I.5. Mesures réalisées

III.4.1. Mesures en mode 2D

➤ *Mesure du diamètre folliculaire :*

Sur une image figée, les diamètres horizontal et vertical de chaque follicule sont mesurés, l'image est ensuite enregistrée en mentionnant les mesures faites (*Figure 39*).

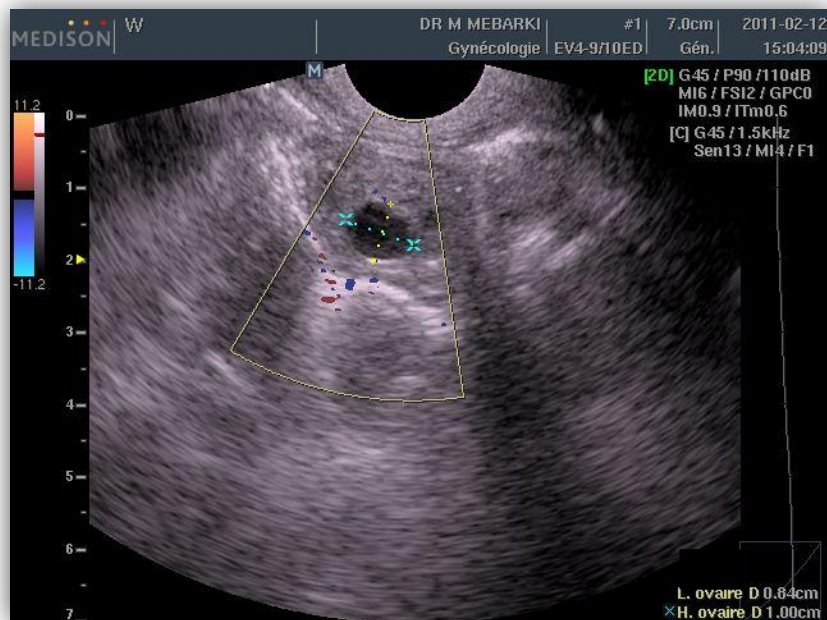


Figure 39 : Mesure des diamètres horizontal et vertical d'un follicule (Cliché personnel)

➤ *Mesure de la surface du corps jaune :*

Sur une image enregistrée du corps jaune, la zone d'intérêt (ROI), qui représente sa section ayant le diamètre maximal, est sélectionnée, la surface est ensuite calculée à l'aide du logiciel Image J version 1.43 (disponible sur le site internet du National Institute of Health (NIH) <http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Dans les cas des corps jaunes cavitaires, la surface de la cavité sera d'emblée éliminée de la surface totale (Figure 40).

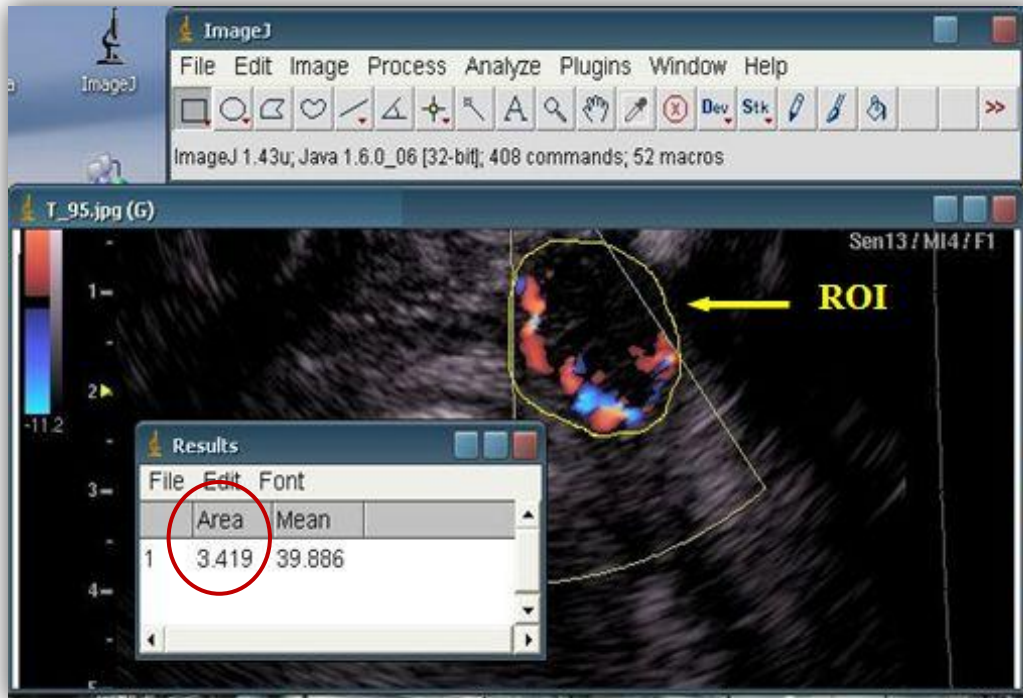


Figure 40: *Sélection de la zone d'intérêt (ROI) sur une image enregistrée d'un corps jaune avec calcul de la surface au moyen du logiciel Image J version 1.43*

a. Mesures en mode Doppler couleur :

Afin d'observer le flux sanguin détectable, le mode Doppler couleur (Color-Flow-Mapping) est activé. Une fois une image nette et sans artefacts du flux sanguin obtenue, elle est enregistrée, plusieurs images d'un même corps jaunes ont été prises, les mesures réalisées l'ont été sur des images avec le maximum de pixels colorés. A l'aide du logiciel Image J, nous avons sélectionné les pixels colorés dans la surface du corps jaune des images enregistrées. L'aire occupée par les pixels colorés a été ensuite calculée.

b. Dosage de la progestérone :

Le sang prélevé des veines jugulaire, dans des tubes secs de 5 ml (BD Vacutainer), est centrifugé à 30.000 tours /minute pendant 15 minutes. Les sérums ainsi obtenus sont prélevés avec puis congelés à -20°C pour un dosage ultérieur.

Le dosage de la progestérone est effectué au moyen d'un automate d'immunoanalyse (ABBOTT, AXSYM) (*Figure 39*) munie de kits AxSYM Progestérone® (*Figure 41*).



Figure 41 : L'automate d'immunoanalyse AxSYM-Abbott ®

I.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Stat View ® (SAS Institute Inc. Cary, NC 27513, USA).

Les données sont exprimées en moyenne \pm écart type. La comparaison entre les pourcentages des follicules avec flux sanguin détectable dans les grands, second plus grands (moyens) et petits follicules ; avant et après déviation a été par ANOVA , suivie par le test PLSD (Protected Least Sig. Difference) de Fisher pour les comparaisons deux à deux.

Les corrélations statistiques entre la progestéronémie et la taille du corps jaune et entre la progestéronémie et le flux sanguin lutéal sont calculées par le coefficient de corrélation de Bravais-Pearson.

Le seuil de signification retenu est de 5% ($p < 0.05$)

II. Résultats

a. Axe 1 : Suivi du flux sanguin folliculaire par écho-doppler couleur durant la première vague folliculaire :

Au total, sur l'ensemble des vaches soumises à ce suivi (n=10), 10 grands follicules étaient dénombrés dont 6 sur l'ovaire gauche et 4 sur l'ovaire droit.

Le jour de la déviation variait d'une femelle à une autre et survenait à J₂ ou J₄ post-ovulation, soit 3 ou 5 jours après l'injection de GnRH. Nous avons pris ce jour de déviation comme repère, pour comparer les changements du flux sanguin entre les grands follicules et les follicules subordonnés et ce, durant la période précédant la déviation (le jour de la déviation folliculaire et 2 jours avant); et la période après la déviation (3 jours après le jour de la déviation folliculaire).

Avant la déviation, le flux sanguin est détectable sur la plus part des grands follicules, des follicules moyens et quelques petits follicules (*Figure 42*). Après la déviation folliculaire, le flux sanguin n'est plus détectable sur la plupart des petits follicules et certains follicules moyens alors qu'il le reste sur les grands follicules.

Nous ne notons aucune différence significative entre le pourcentage des grands follicules et le pourcentage des follicules moyens avant la déviation ($p>0.24$), aucune différence n'est aussi notée entre le pourcentage des grands follicules avec flux sanguin détectable entre eux avant et après la déviation folliculaire ($p>0.24$).

Alors que le pourcentage des petits follicules avec flux sanguin détectable est significativement inférieur à celui des grands follicules et des follicules moyens ($p<0.0001$) avant la déviation.

Après la déviation il y a une chute de pourcentage des follicules moyens, et des petits follicules avec flux sanguin détectable, avec une différence significative ($p<0.0001$) entre leurs pourcentages et le pourcentage des grands follicules avec flux sanguin détectable.

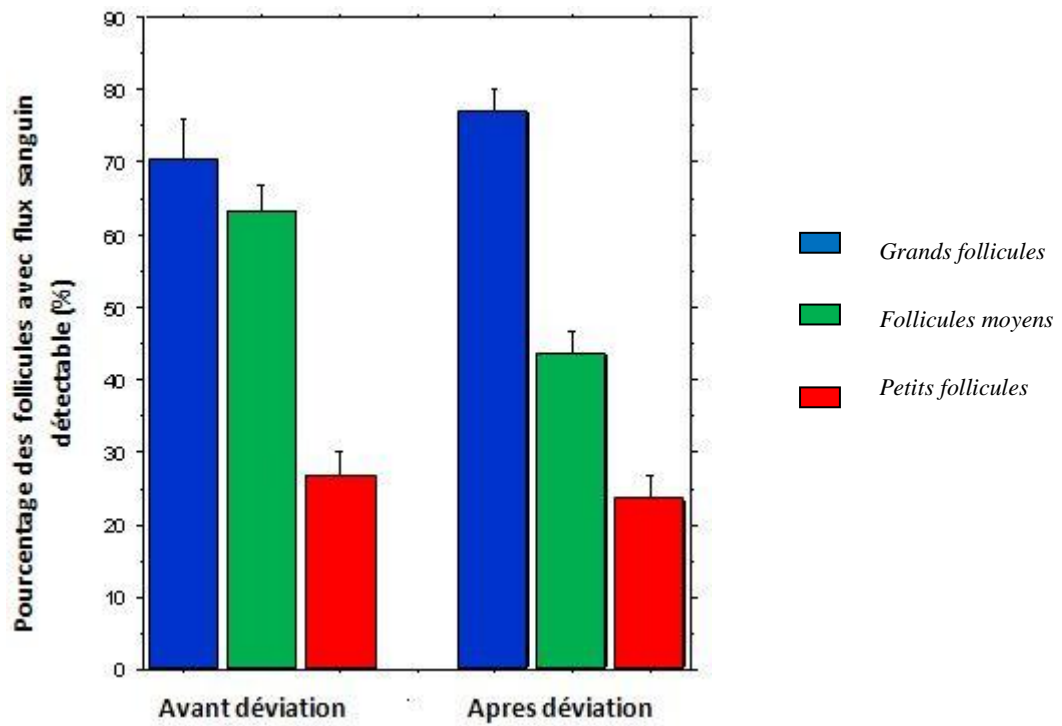


Figure 42 : les changements du pourcentage des follicules avec flux sanguin détectable dans les grands, les moyens et les petits follicules ; autour du jour de la déviation folliculaire ; moyen \pm écart type.

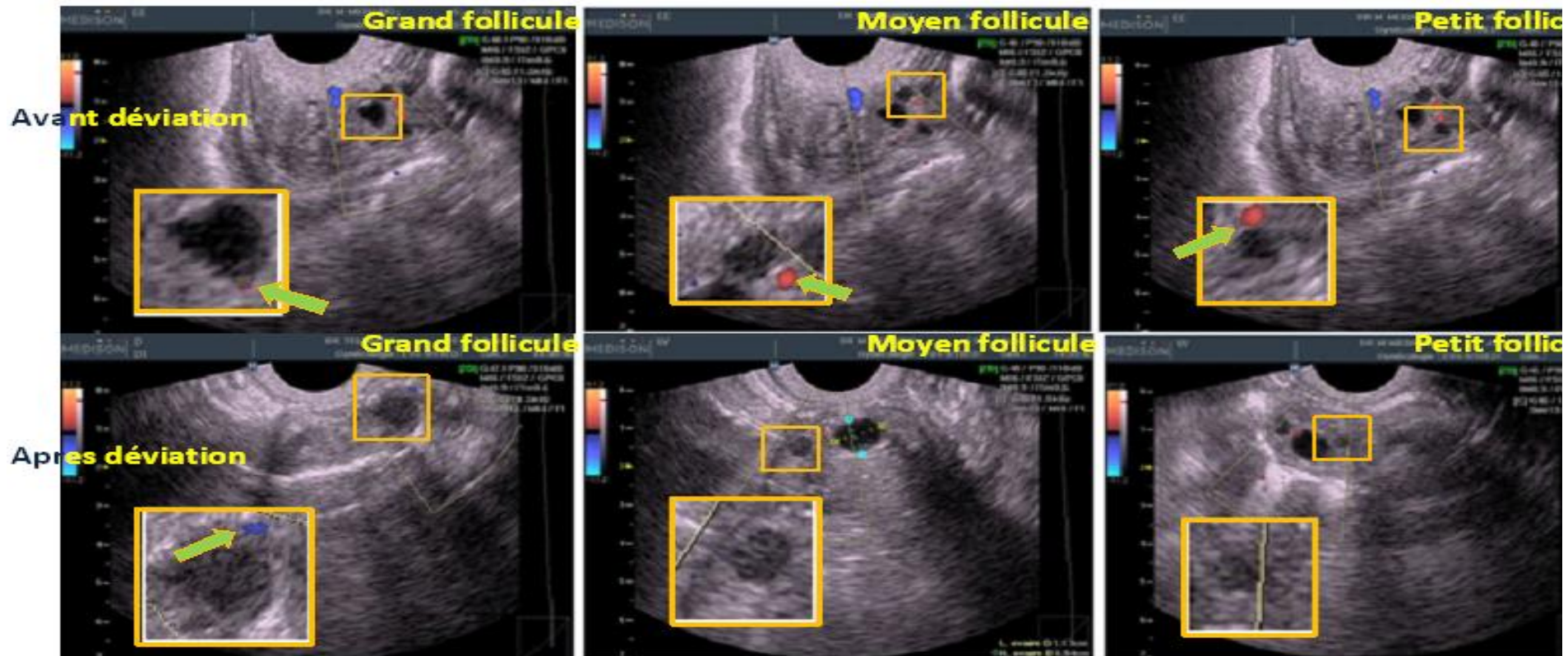


Figure 43 : Images échographiques Doppler couleur de l'ovaire avant et après la déviation du diamètre lors de la vague de croissance folliculaire primaire (clichés personnels).

Les structures encadrées montrent: le plus grand follicule (à gauche), le follicule moyen (au milieu) et l'un des petits follicules (à droite) avant (images de haut) et après la déviation (images du bas). Les flèches indiquent les aires où le flux sanguin est détectable dans la paroi de ces follicules.

b. Axe 2 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune cyclique par écho-doppler couleur :

La totalité des vaches examinées (n=10) ont eu une ovulation unique qui a aboutie à la formation de 10 corps jaunes, 8 sur l'ovaire gauche et 2 sur l'ovaire droit. Il est à noter que 2 corps jaune cavitaires étaient trouvés.

- Les changements cycliques :

Le suivi des modifications morphologiques du corps jaune, les changements dans le flux sanguin détectable par échographie-doppler (Figure 44) et le dosage de la progestérone sérique nous ont permis d'établir une courbe récapitulative des changements relatifs de la progestéronémie, de la superficie du CJ, et du flux sanguin lutéale durant le cycle œstrale (Figure 45).

La concentration de la progestérone plasmatique augmente significativement durant la phase de croissance lutéale de 0.57 (ng/ml) à J₁, à 5.72 (ng/ml) à J₇ ;(p< 0.01). Une autre augmentation significative durant la phase statique de 8.02 ng/ml à J₈ ; à 15.03 ng/ml à J₁₆. ;(p< 0.001). Puis une phase de régression significative est observée entre J₁₇ et J₂₁ de la progestéronémie qui passe de 10.83 ng/ml à 0.69 ng/ml respectivement (p< 0.0001).

La taille du corps jaune augmente significativement durant la phase de croissance lutéale de 2.46 cm² à J₁ à 3.82cm² à J₇. ;(p < 0.05). Durant la phase statique, le corps jaune continue à augmenter de taille pour passer de 4.297cm² à J₈ à 6.371cm² à J₁₆. ;(p< 0.01). Pendant la phase de régression, une baisse significative de la superficie est relevée, le corps jaune passe ainsi de 7.15 cm² à J₁₇ à moins de 3.12 cm² à J₂₁ (p< 0.0001).

Le flux sanguin détectable augmente significativement aussi durant la phase de croissance lutéale de 0.12 cm² à J₁ à 0.27 à J₇ (p < 0.05) et de 0.39 cm² à J₈ à 0.65 à J₁₆ (p < 0.01) avec un pic de 1.05 cm² à J₁₃ en phase statique.

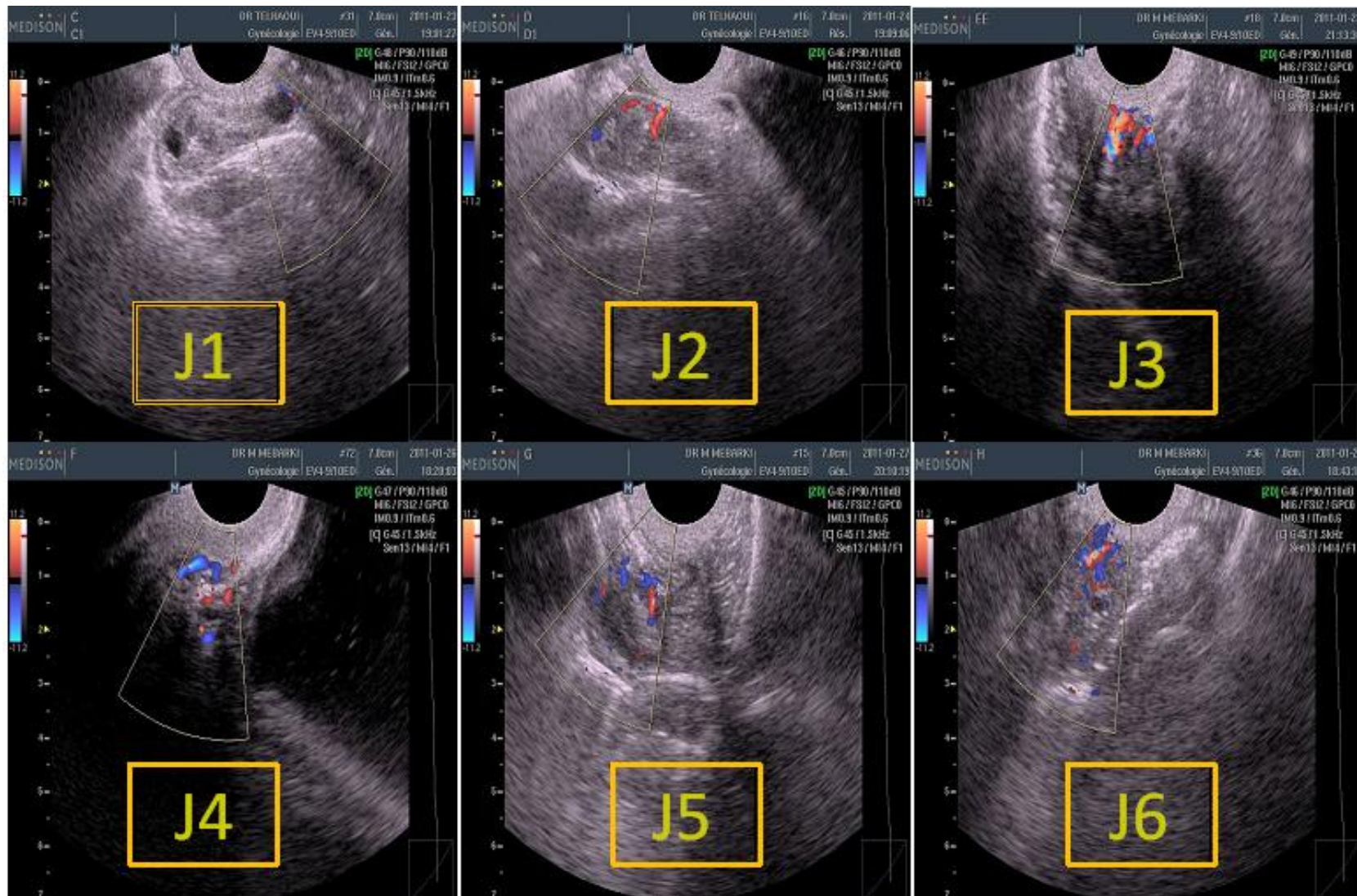
Enfin une chute significative est observée entre J₁₇ et J₂₁ de 0.74 cm² à 0.14 cm² (p< 0.0001).

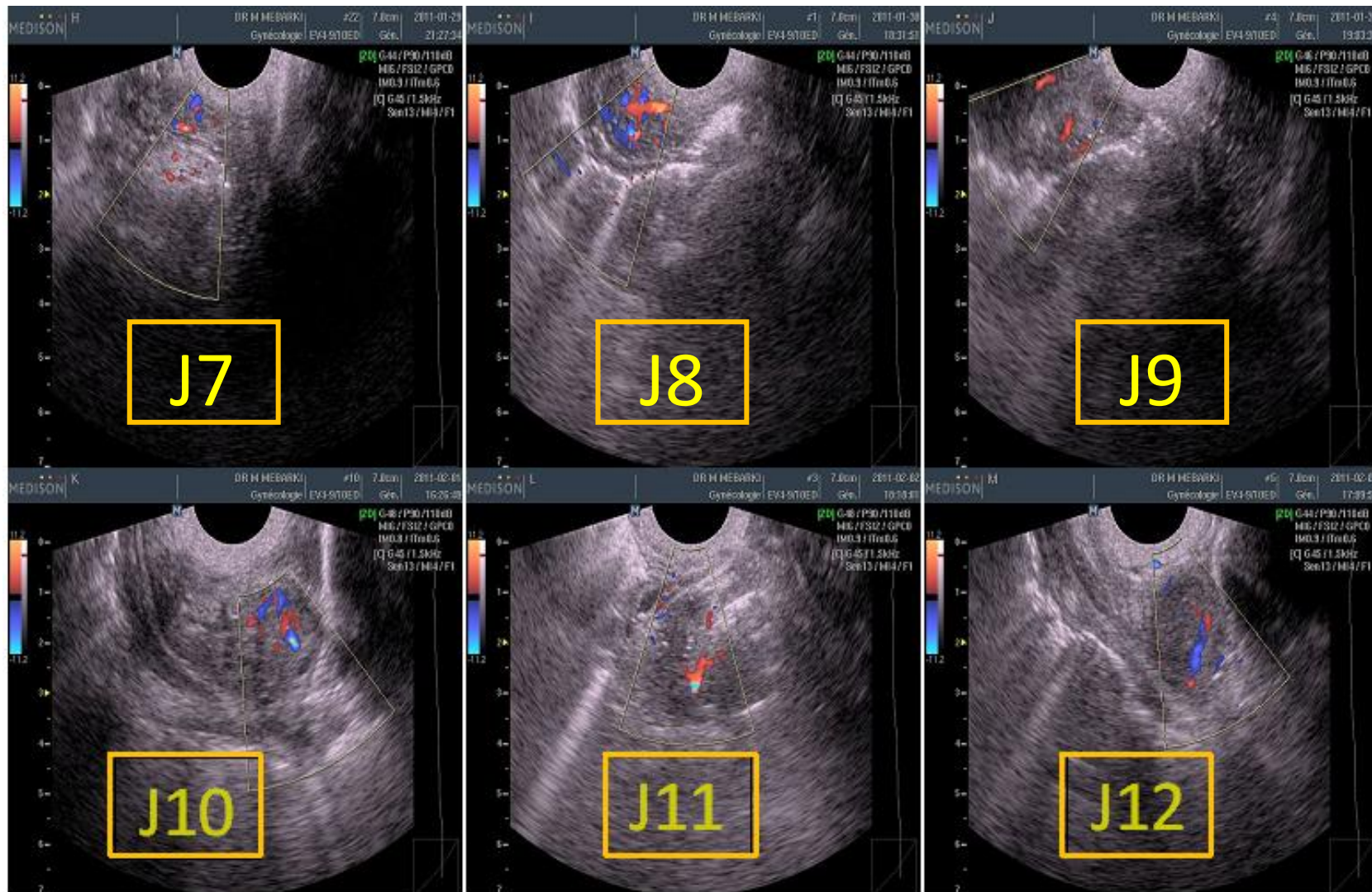
- La corrélation :

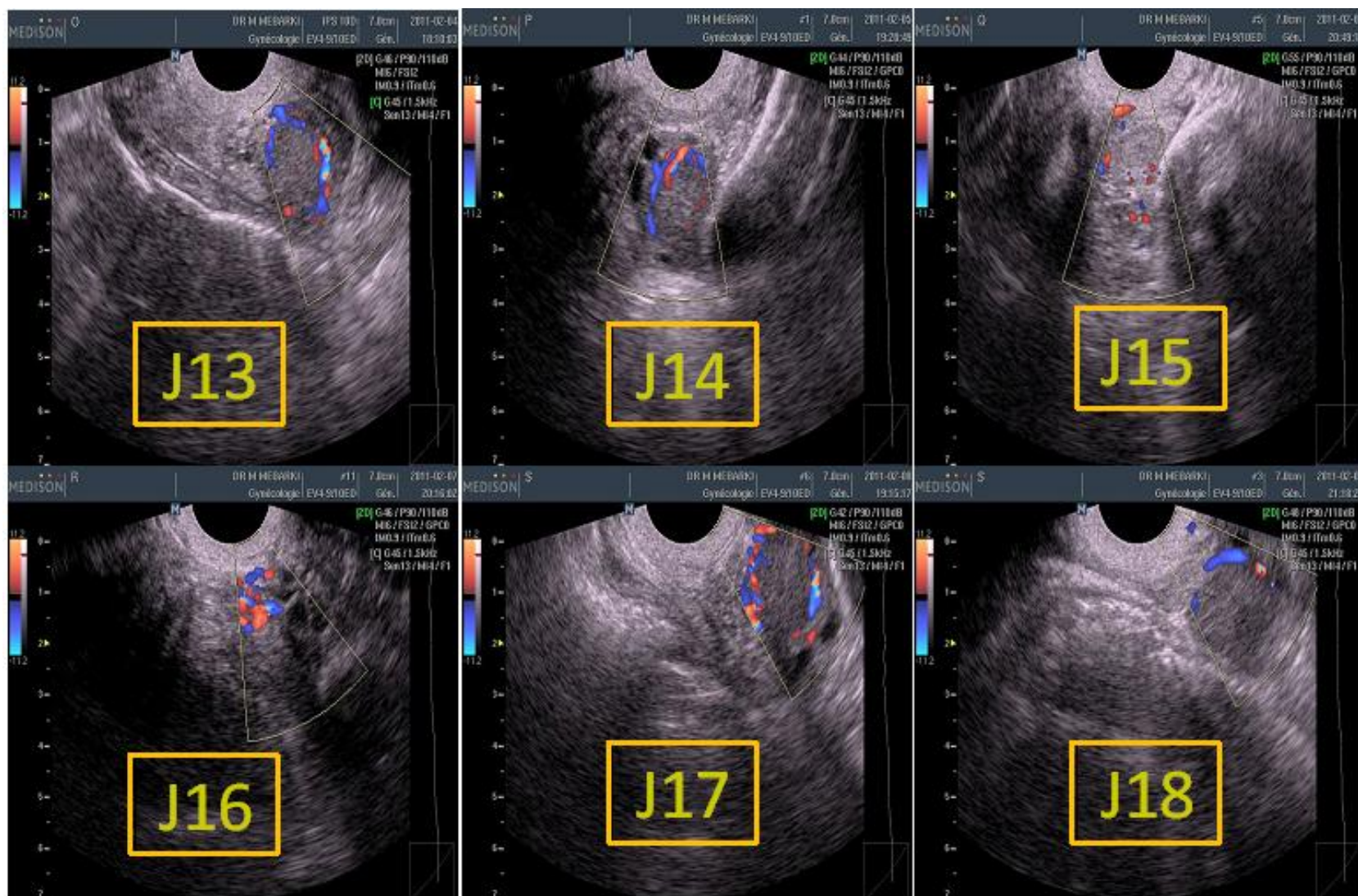
Une forte corrélation est observée entre TL (taille lutéale) et P₄ (progesteronémie) (0.67 ; p< 0.001) (*Figure 46*) et entre FSL (flux sanguin lutéale) et P₄ (0.93 ; p< 0.001) (*Figure 47*) respectivement.

Les corrélations entre TL et P₄ durant la phase de croissance lutéale, la phase statique et la phase de régression sont 0.73 ; (p< 0.001) (*Figure 48*) ,0.69 ;(p< 0.001) (*Figure 49*), et 0.77 ; (p< 0.001) (*Figure 50*) respectivement.

Les corrélations entre FSL et P₄, durant les phases de croissance, la phase statique et la phase de régression sont de 0.87 ; (p< 0.001) (*Figure 51*), 0.78 ;(p< 0.001) (*Figure 52*) et 0.97 ; (p< 0.001) (*Figure 53*) respectivement.







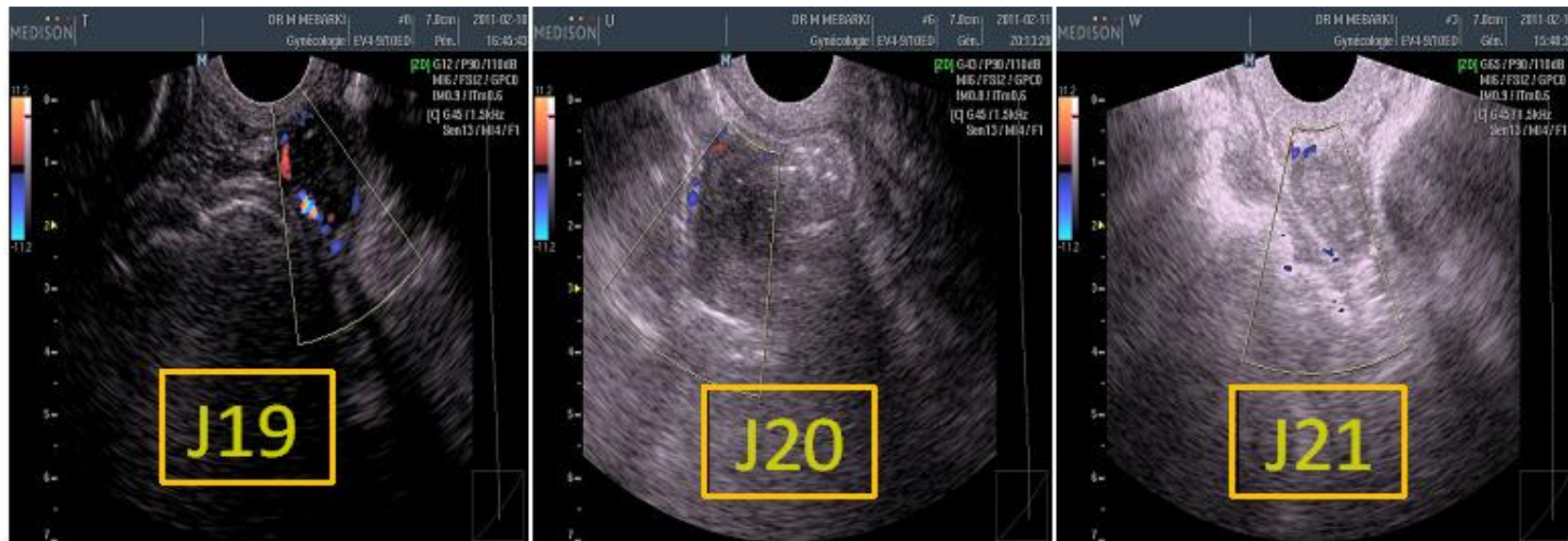


Figure 44 : Images échographiques Doppler couleur montrant l'évolution du flux sanguin d'un Corps jaune de vache au cours du cycle œstral (clichés personnels).

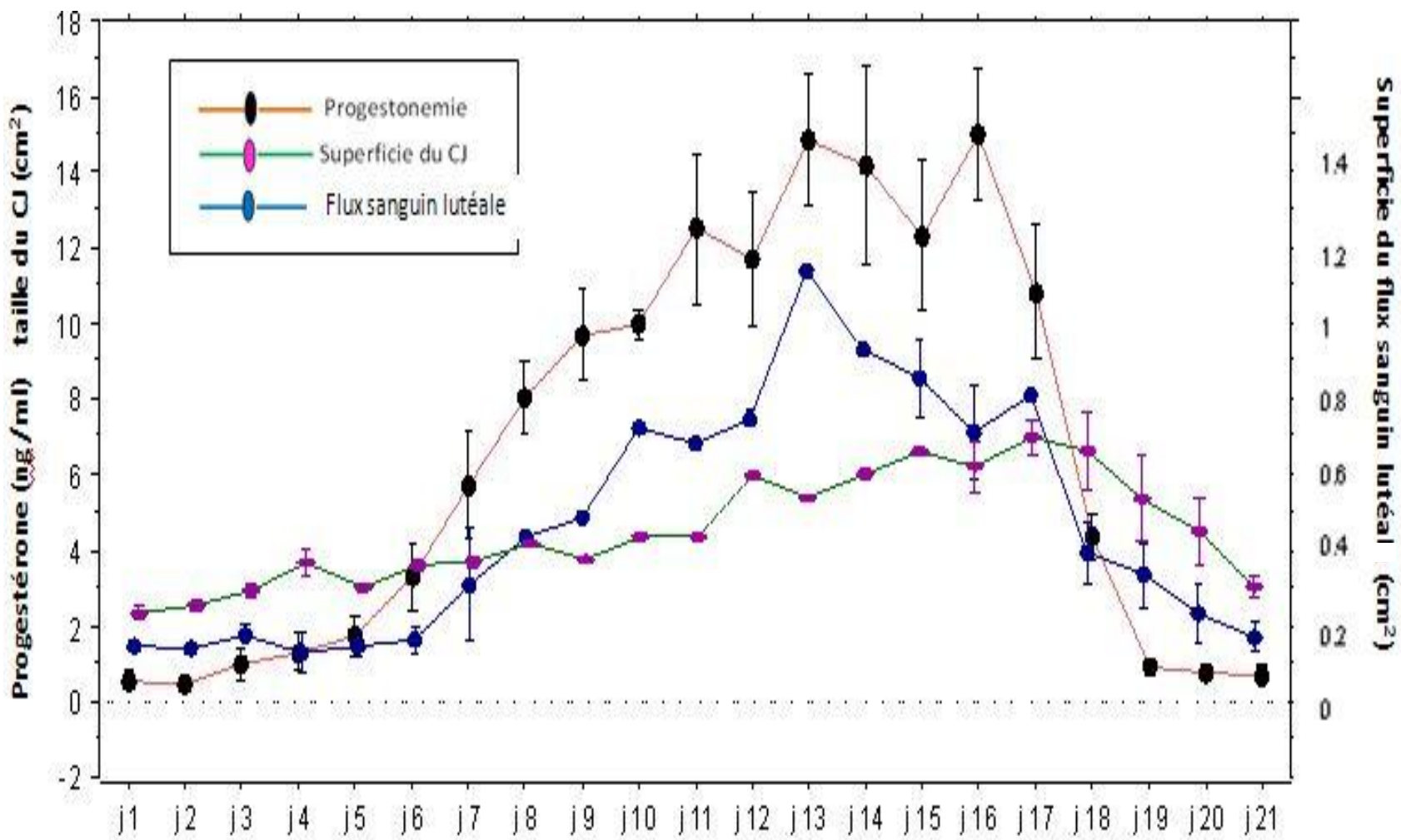


Figure 45: les changements relatifs de la progestéronémie, superficie du CJ et flux sanguin lutéale durant le cycle œstral ; moyenne \pm écart type.

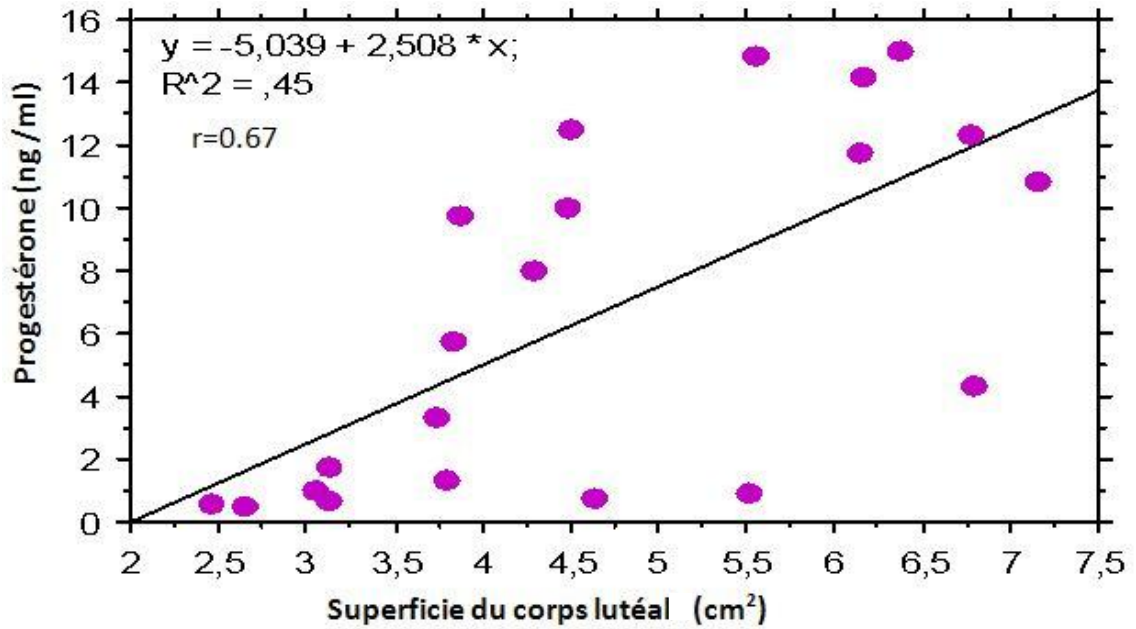


Figure 46: Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique durant le cycle œstral.

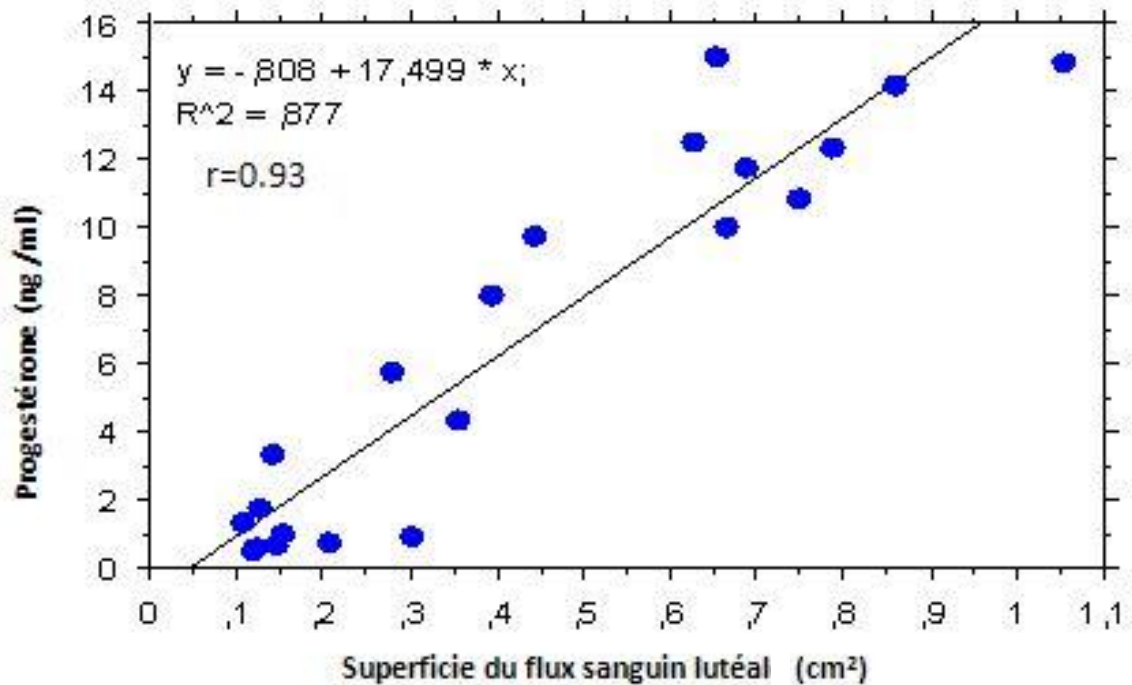


Figure 47: Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique durant le cycle œstral.

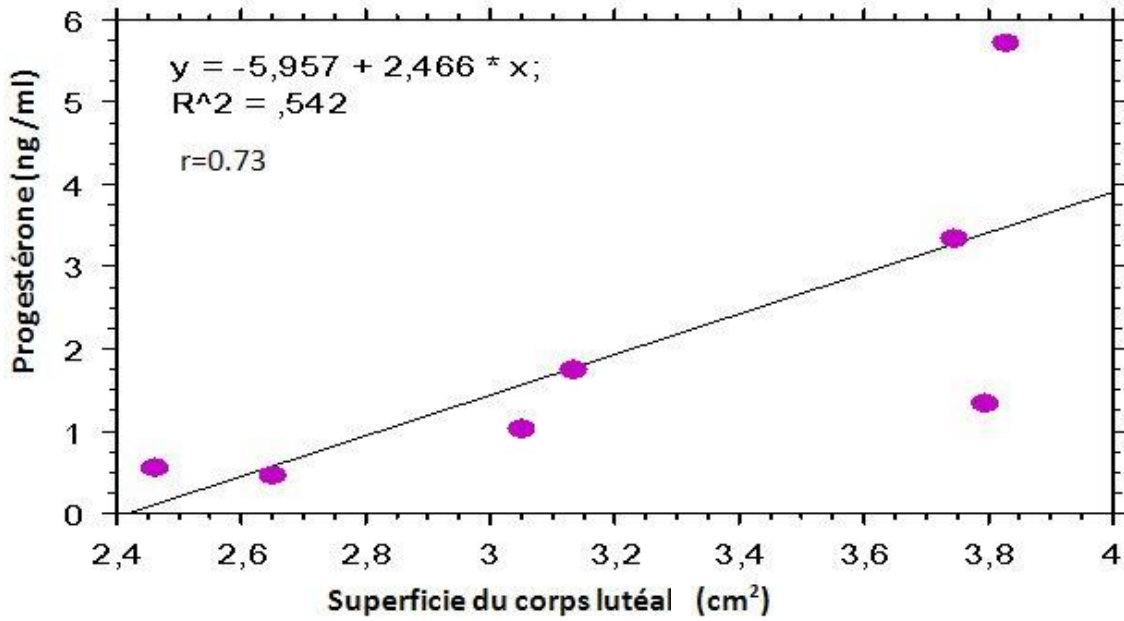


Figure 48 : Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase de croissance lutéale (luteogenèse).

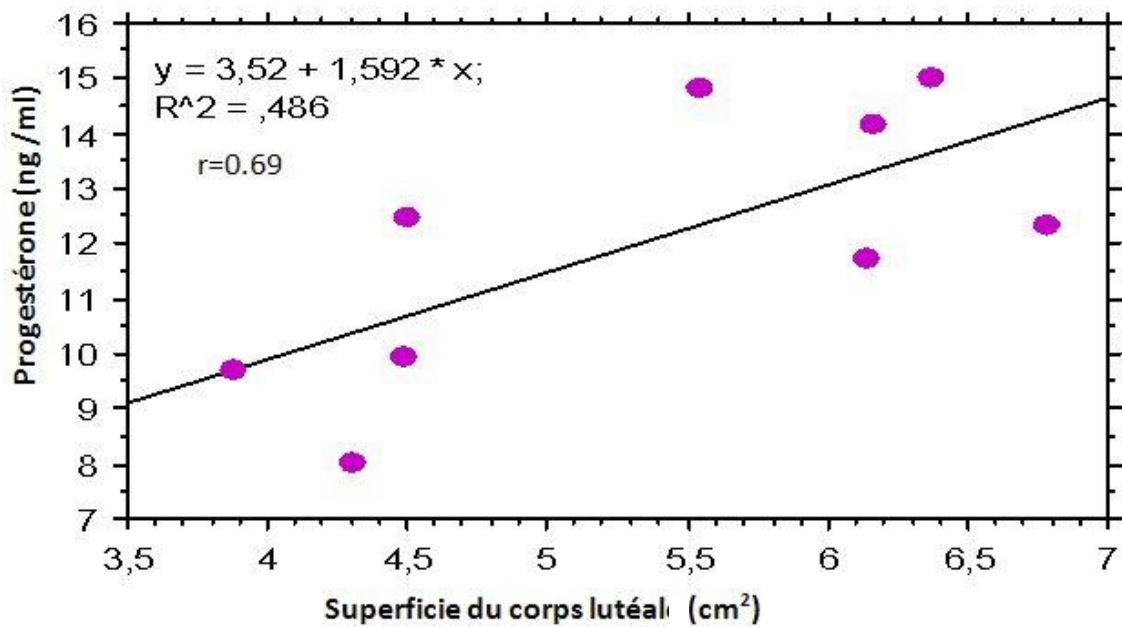


Figure 49: Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase statique (luteotropie).

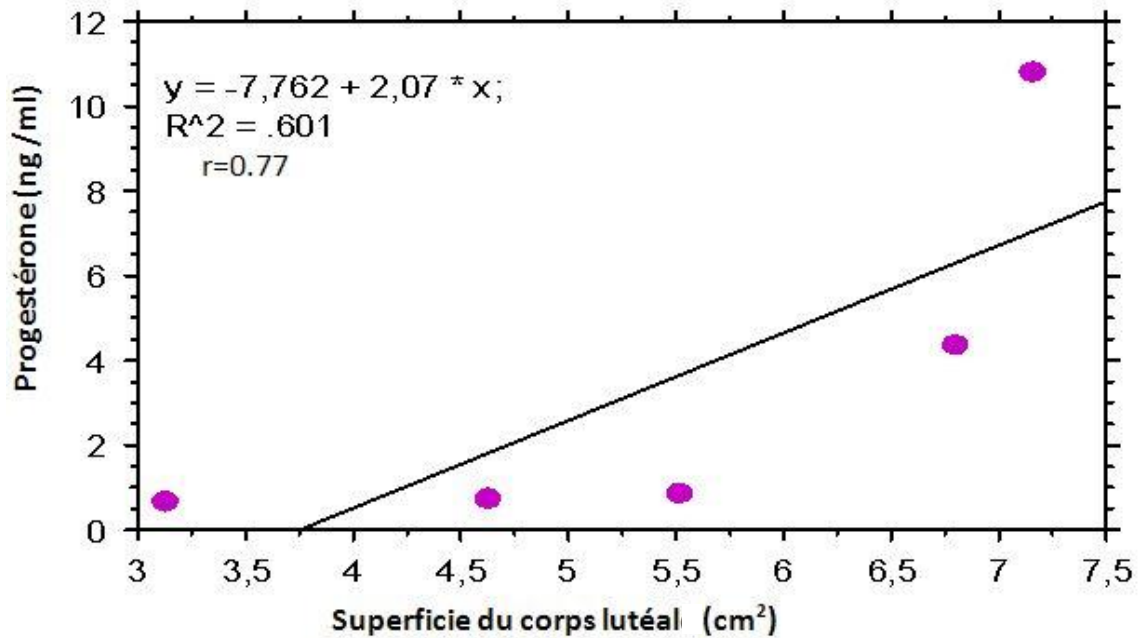


Figure 50: Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase de régression lutéale (luteolyse).

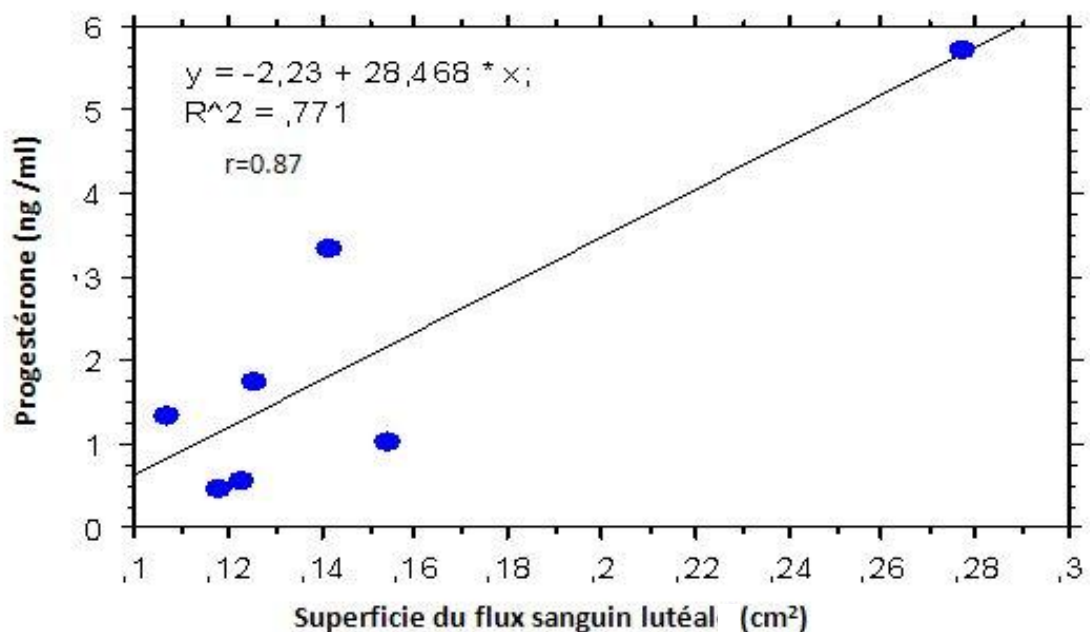


Figure 51: Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase de croissance lutéale (luteogenèse).

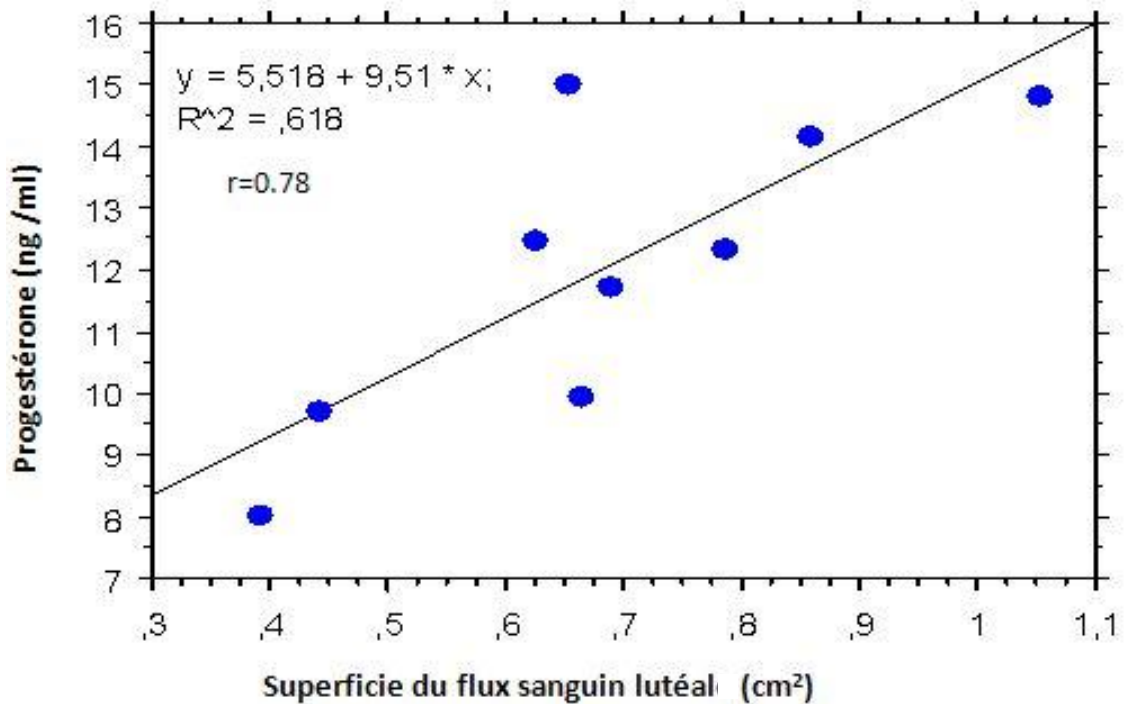


Figure 52 : Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase statique (luteotropie).

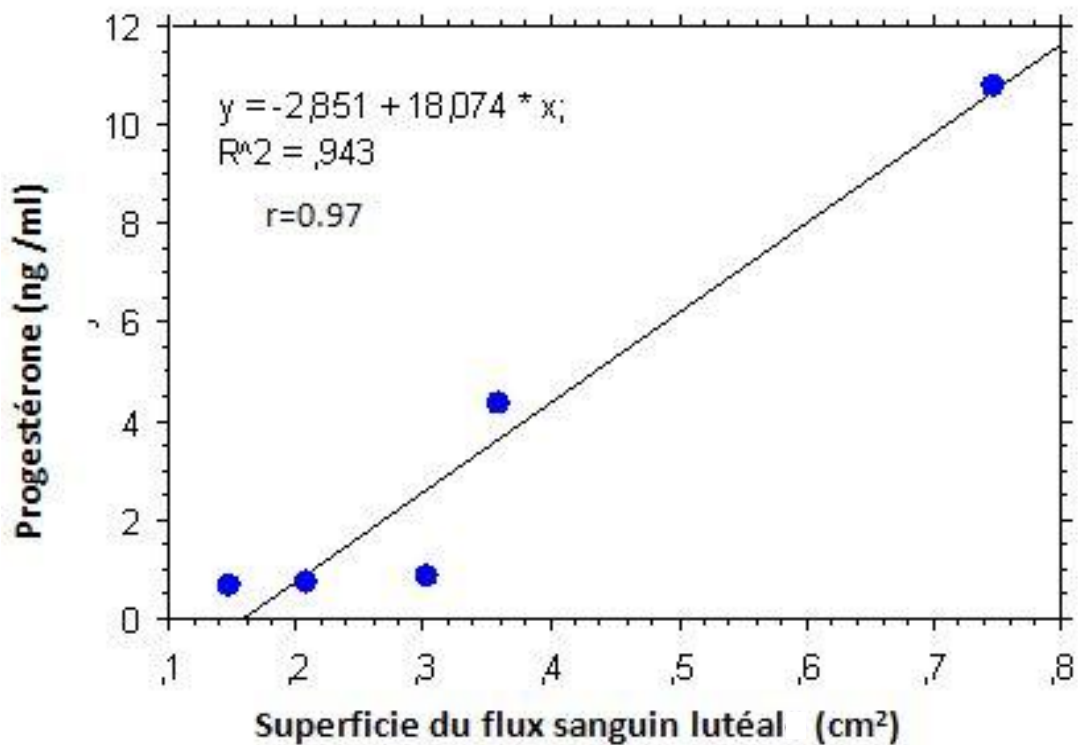


Figure 53 : Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique durant la phase de régression lutéale (luteolyse).

c. Axe 3 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune par écho-doppler couleur après luteolyse induite par injection de PGF2 α à J7:

Les vaches soumises à cet essai (n=7) ont toutes eu une ovulation unique, trois sur l'ovaire gauche, et quatre sur l'ovaire droit dont un était cavitaire.

- **Les changements de paramètres:**

Durant les 48h suivant l'injection de PGF2 α (*Figure 54*); nous avons pu observer une chute rapide de :

- *La concentration plasmatique en progestérone* : qui diminue rapidement de plus de 96% (p< 0.0001) (*Figure 55*).
- *La taille du corps jaune* : de 62 %;(p< 0.05).
- *Le flux sanguin lutéal* : de 74 %;(p < 0.05)

- **La corrélation :**

La corrélation entre FSL et P₄ après luteolyse induite par la PGF2 α est de 0.99 (p< 0.001) (*Figure 56*) ; alors que la corrélation entre TL et P₄ est de 0.75 (p< 0.001) (*Figure 57*).



Figure 54 : Images échographiques Doppler couleur montrant les changements du flux sanguin d'un corps jaune de vache à J_7 (J_1 =jour de l'ovulation) juste avant l'injection de la $PGF_{2\alpha}$, 24 et 48 heures après l'injection (Clichés personnels).

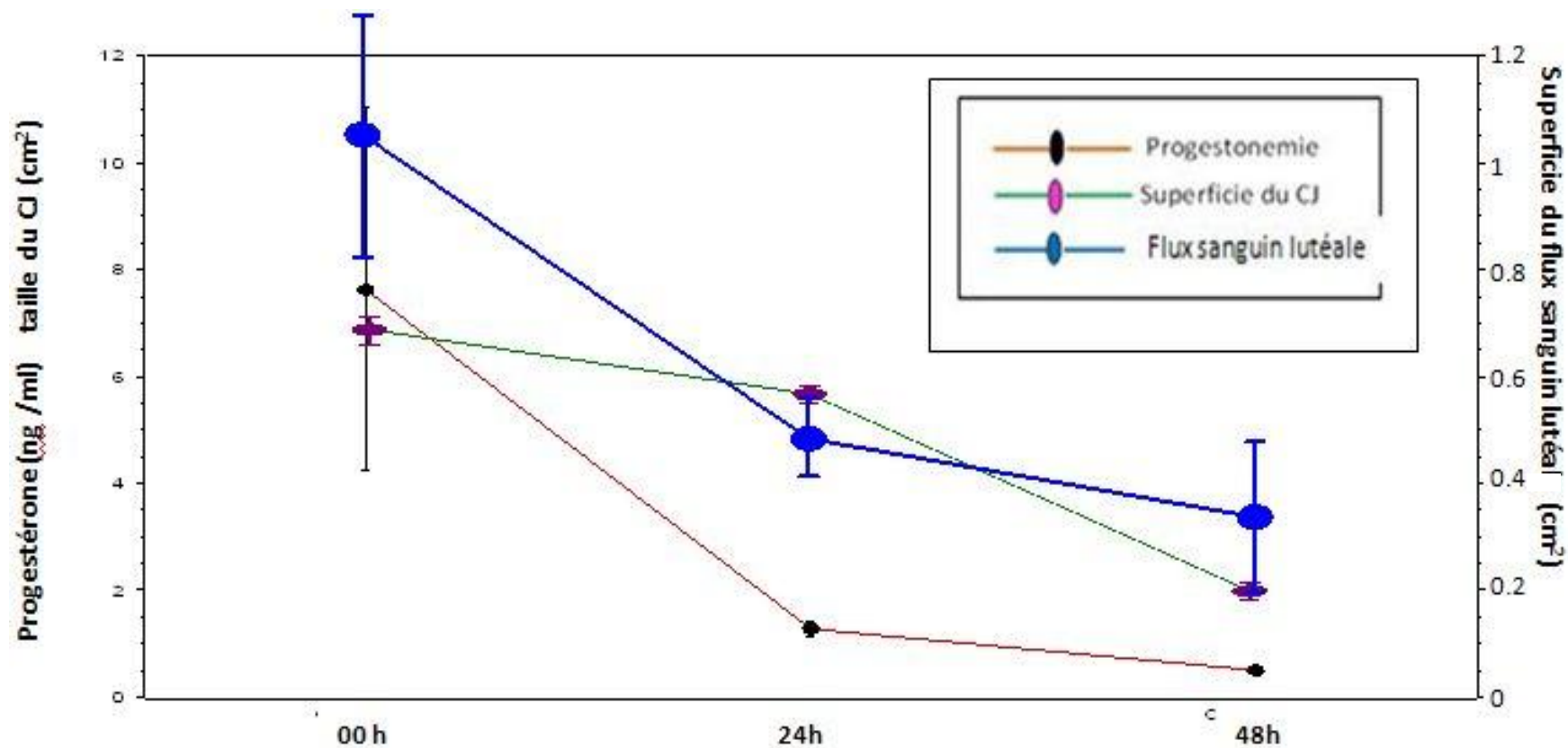


Figure 55: les changements relatifs à la progestéronémie, à la superficie du CJ et au flux sanguin lutéal juste avant l'injection de PGF2 α (00h), 24h et 48heures après; à J₇ (J₁=jour d'ovulation); moyen \pm écart type.

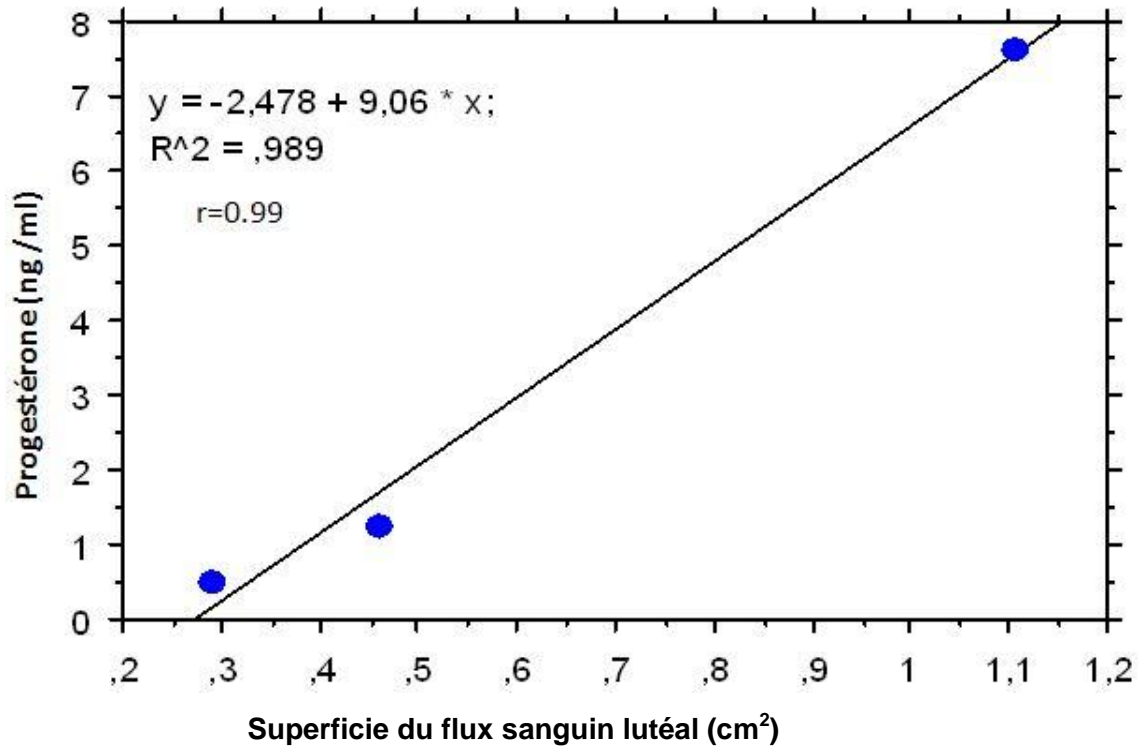


Figure 56: Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique après injection de PGF2 α .

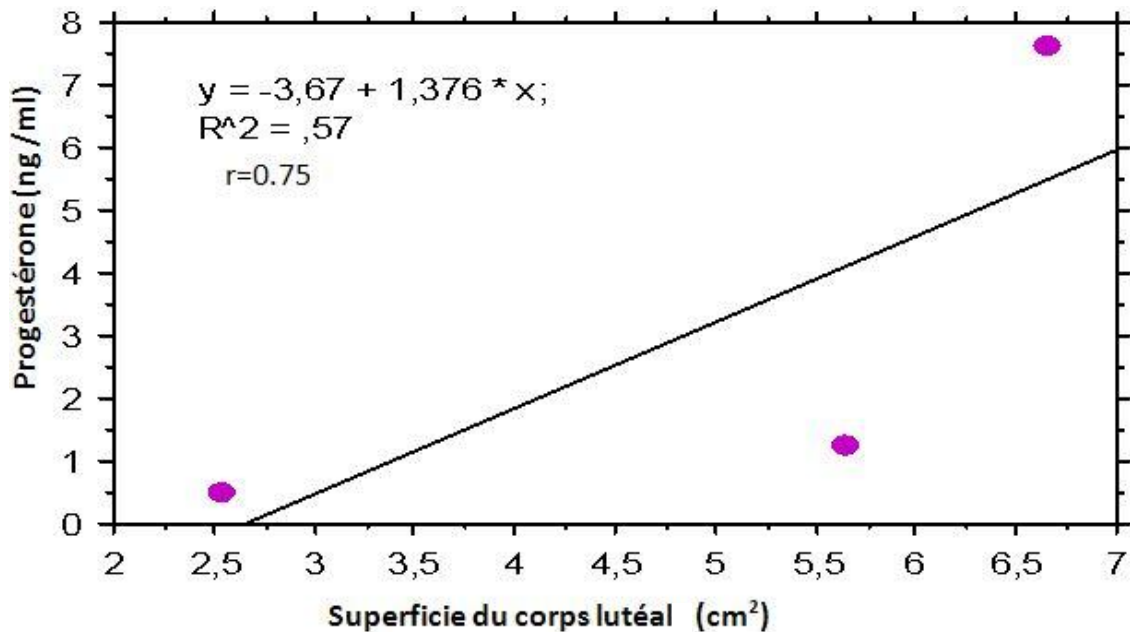


Figure 57: Corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique après injection de PGF2 α .

d. Axe 4 : Suivi du flux sanguin d'un corps jaune gestatif par échodoppler couleur et son intérêt dans le diagnostic précoce de la gestation :

Les cinq vaches ont eu une ovulation unique, quatre sur l'ovaire gauche, et une sur l'ovaire droit, avec un CJ cavitaire sur chacun des deux ovaires.

- Les changements des paramètres:

Durant les deux premières semaines de gestation, nous avons pu relever l'augmentation significative de :

- ✓ la concentration de la progestérone plasmatique qui est passée de 0.43ng/ml à J₁ à 12.46 ng/ml à J₁₄ ($p < 0.01$) (*Figure 59*).
- ✓ la taille (superficie) du corps jaune de 2.46 cm² à J₁ à 6.16 cm² à J₁₄ ($p < 0.0001$).
- ✓ le flux sanguin lutéal, passant de 0.12 cm² à J₁ à 8.58 cm² à J₁₄ ($p < 0.0001$).

Au-delà du 14^{ème} jour et jusqu'au 42^{ème} jour de gestation, aucune différence significative n'a été observée entre les différents paramètres où l'on note que :

- la concentration de la progestérone plasmatique à J₁₄ est de 12.46 ng/ml, et de 14.57 ng/ml à J₄₂ ($p = 0.52$).
- la taille (superficie) du corps jaune à J₁₄ est 6.16 cm², et 5.77 cm² à J₄₂ ($p = 0.20$).
- le flux sanguin lutéale à J₁₄ est 8.58 cm², et 6.99 cm² à J₄₂ ($p = 0.20$).

- La corrélation :

Une corrélation forte est observée durant la gestation entre FSL et P₄ (0.95 ; $p < 0.001$) (*Figure 60*) ; et entre TL et P₄ (0.84 ; $p < 0.001$) (*Figure 61*), respectivement.

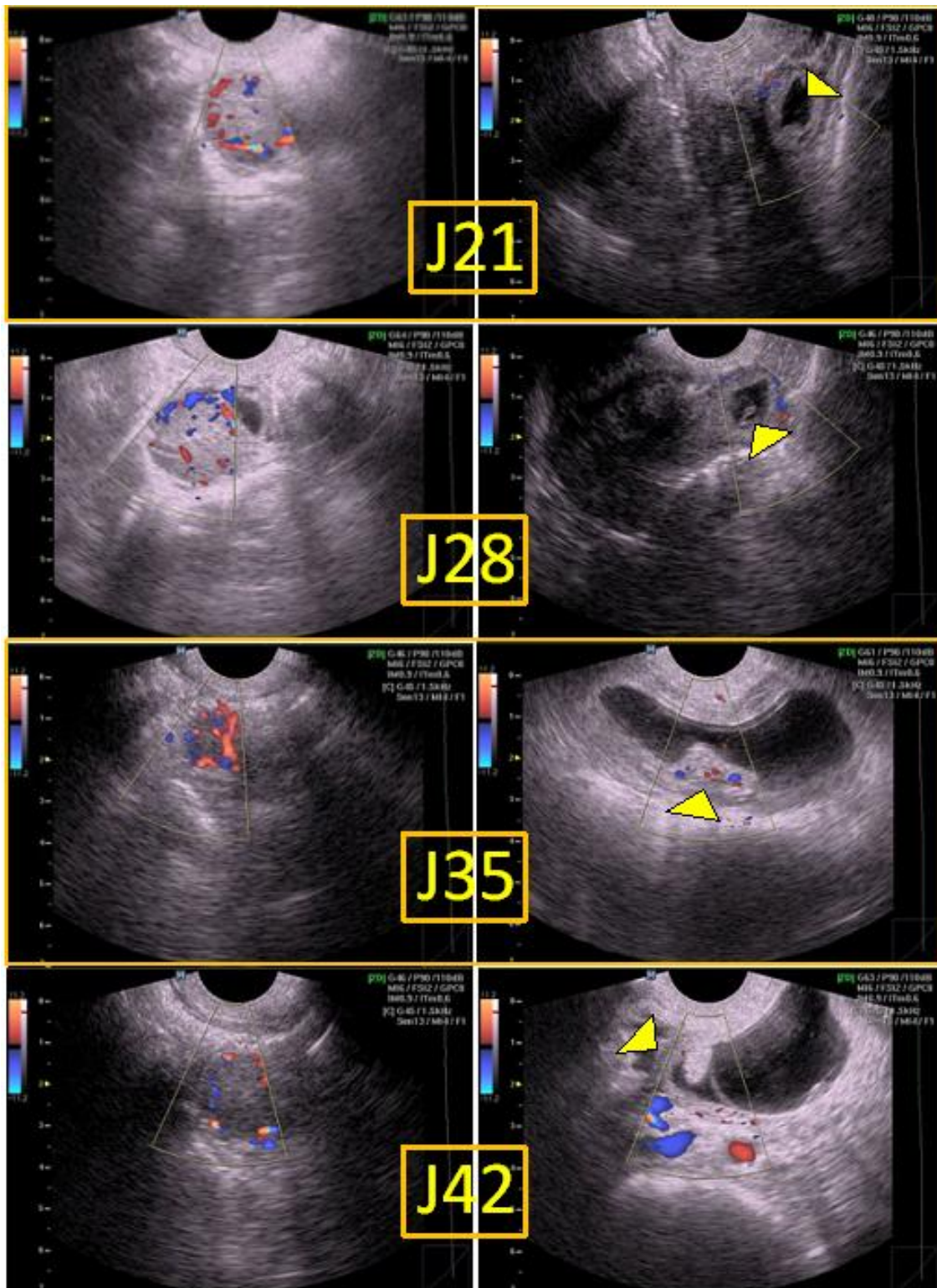


Figure 58 : Images échographiques Doppler couleur montrant l'évolution du flux sanguin d'un Corps jaune de vache au 21^{ème}, 28^{ème}, 35^{ème} et au 42^{ème} jour de gestation (images gauche) et les images des embryons correspondants (images à droite).

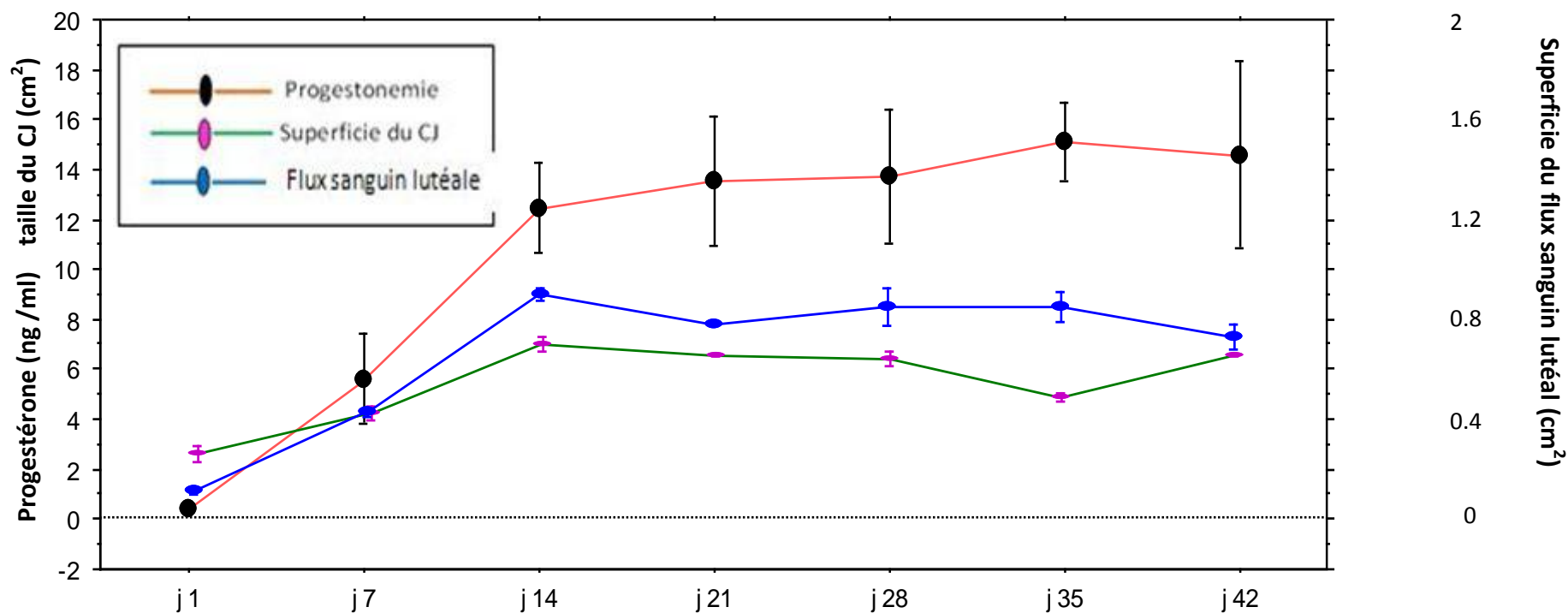


Figure 59: Les changements relatifs à la progestéronémie, à la superficie du CJ et au flux sanguin lutéal durant les six premières semaines de gestation; moyen \pm écart type

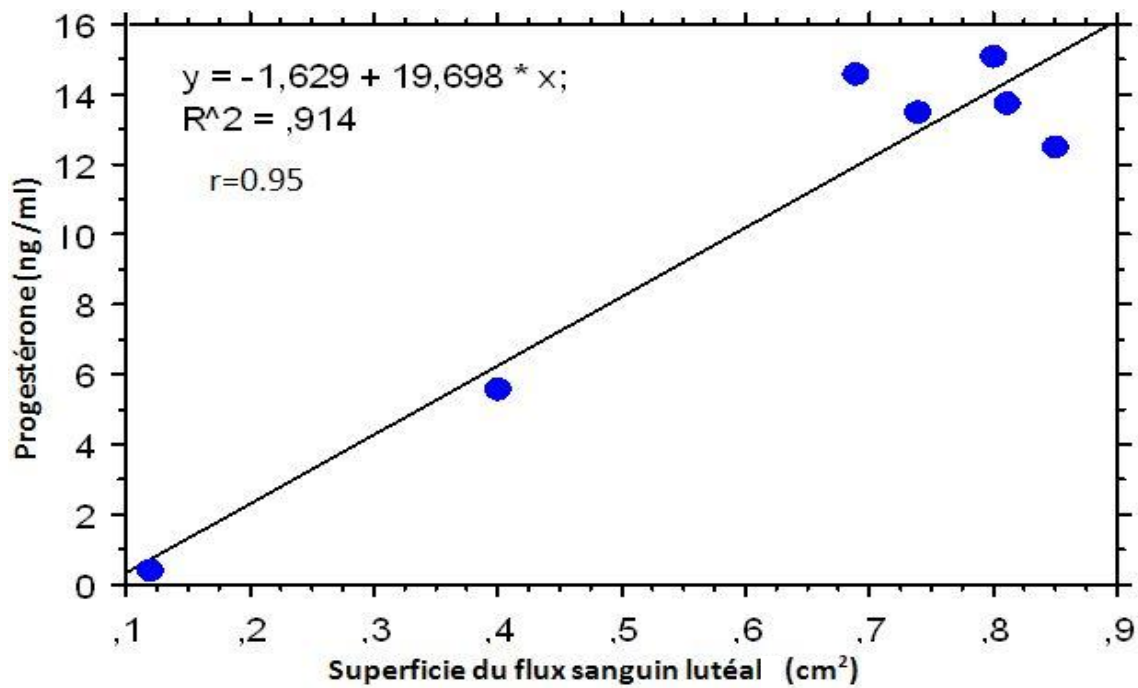


Figure 60: Corrélation entre le flux sanguin lutéal et la concentration de la progesterone plasmatique durant les six premières semaines de gestation.

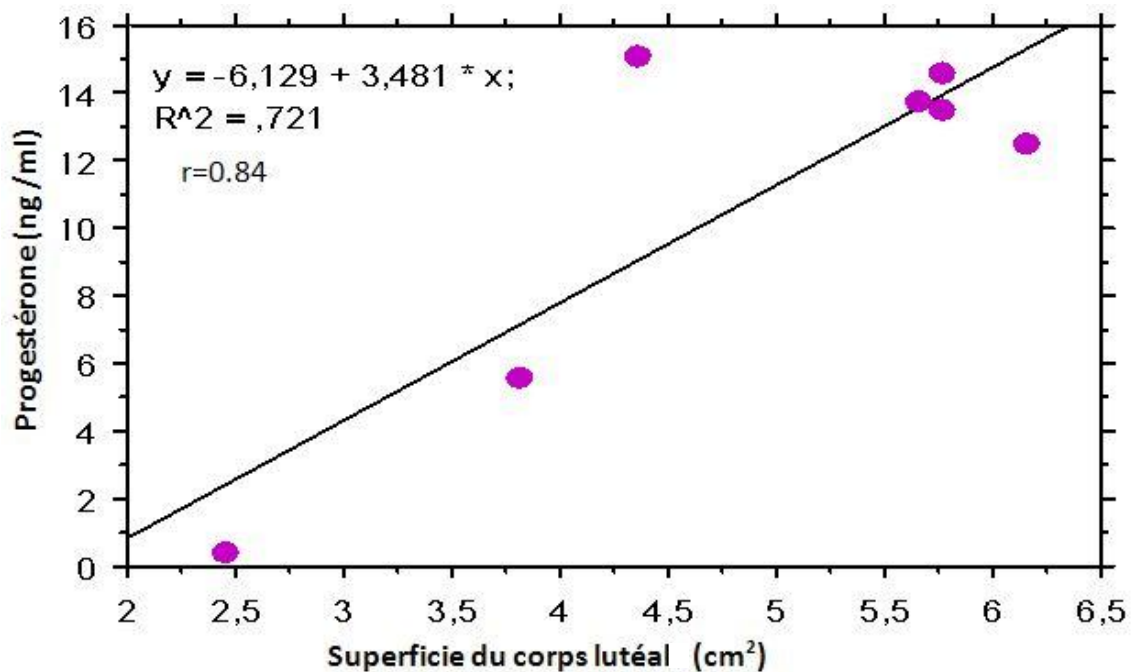


Figure 61: corrélation entre la taille (superficie) du corps jaune et la concentration de la progesterone plasmatique durant les six premières semaines de gestation.

III. Discussion

III.1. Choix de la race

Le faible nombre de travaux de recherche s'intéressant à notre race locale « Brune de l'Atlas » et la disponibilité des effectifs au niveau de notre région d'étude nous ont dictés le choix de cette race.

La race locale « Brune de l'Atlas » renferme un potentiel génétique de rusticité avérée (adaptation aux faibles ressources alimentaires, résistance aux maladies et aux variations climatiques), un potentiel de production non négligeable (Aissaoui et al., 2003).

La race locale n'est, certes, pas compétitive aux races améliorées en termes de productions mais semble présenter un potentiel de production non-négligeable. Avec un taux de fertilité de 90 % (Amrane ; 1990) un rendement moyen de carcasse de 48,77% (Bouzebda et al., 2007) dont 61% de muscle et 11% de gras. La production moyenne de lait est estimée à 700 Kg de lait/lactation (destinée à l'allaitement du veau et éventuellement à l'autoconsommation familiale).

III.2. Préparation alimentaire des femelles

La préparation alimentaire des sujets d'étude est un préalable essentiel qui vise à corriger d'éventuelles carences alimentaires, sources d'échec des protocoles expérimentaux.

C'est ainsi qu'une supplémentation alimentaire de 5 kg de concentré par vache et par jour nous a permis d'homogénéiser les lots expérimentaux et d'avoir une moyenne de poids assez proche au début de l'essai 285 ± 65 kg.

III.3. Protocoles expérimentaux

III.3.1. Traitement de synchronisation des chaleurs

La précision requise en ultrasonographie nous a dicté le choix du moyen de synchronisation des vagues folliculaires des femelles soumises à l'étude, le protocole Ovsynch®(G-P-G) présente, en effet, l'avantage d'une grande exactitude dans les phénomènes physiologiques, rapportée dans par divers auteurs, Acosta et al., 2005 ; Herzog et al., 2009 et Myamoto et al., 2009.

III.3.2. Suivi de l'ovulation

Ce suivi a pour but de déterminer le jour de l'ovulation du follicule pré-ovulatoire, synonyme du début (J₁) des axes expérimentaux (Ginther et al., 2006 et Herzog et al., 2009).

III.3.3. Echographie 2D et Doppler couleur

III.3.3.1. De la première vague folliculaire

Du fait de l'hyperechogénéité de leur liquide, les follicules sont facilement identifiables par échographie. Néanmoins, l'image du follicule peut être confondue avec celle d'un vaisseau sanguin, les deux étant sphériques et de même échogénéité. Un balayage de l'ovaire est de nature à permettre la différenciation entre les deux structures, en effet, et contrairement au follicule qui disparaît progressivement en gardant sa forme sphérique, le vaisseau sanguin devient ovale au fur et à mesure du balayage de l'ovaire. Le mode Doppler, donnant une couleur caractéristique au sang contenu dans le vaisseau, permet une moindre confusion entre les deux structures en permettant une lecture plus fiable (Figure 62).

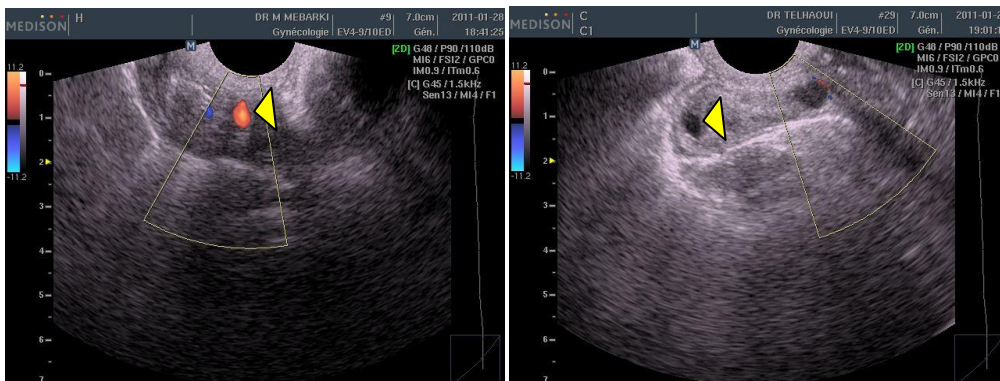


Figure 62 : Image échographique 2D (droite), et échographique Doppler (gauche) d'un vaisseau sanguin (flèches jaunes) (Clichés personnels).

La cinétique continue des vagues de croissance folliculaire au niveau des ovaires rend difficile voir impossible de différencier entre des follicules en croissance et ceux en voie d'atréisie ce qui compromet les résultats des ponctions écho-guidées, en effet, les ponctions faites sur des follicules en croissance permet l'obtention d'embryons de bonne qualité après FIV, en revanche, la ponction des follicules en voie d'atréisie aboutit à des embryons de très mauvaise qualité voir même des ovocytes inutilisable (Machatkova et al., 1995 ; Boediono et al., 1995).

En raison de la présence constante, au niveau de la surface des ovaires, de grands follicules (dont le diamètre est ≥ 8 mm) et en absence de données relatives aux dernières chaleurs ou lors de l'utilisation de femelles gestantes, la connaissance du stade de la vague folliculaire est rendue difficile. D'où la nécessité de trouver un moyen de différencier entre les follicules en croissance et ceux en voie d'atrésie.

Ces phénomènes sont observables sur des vagues folliculaires consécutives, la première vague folliculaire présente l'avantage d'avoir une cinétique indépendante de la vague qui l'a précédée en raison de l'ovulation de son follicule (Des Côtéaux et al., 2010).

III.3.3.2. Du corps jaune cyclique

L'un des facteurs de risque majeurs d'avortement en élevage et d'échecs des protocoles de transfert embryonnaires est l'insuffisance lutéale des receveuses, en résultent des pertes économiques considérables surtout s'il s'agit d'embryons de haute valeur génétique (clonés, transgénique....etc).

Le diagnostic de ces anomalies se fait principalement par dosage de la P₄ sérique qui comprend une ponction vasculaire, souvent source de stress pour l'animal, et le recourt à un laboratoire équipé d'automates, ce qui n'est pas toujours disponible en routine. Le fouiller rectal est aussi l'un des moyen de mise en évidence des corps jaunes au niveau des ovaires surtout chez les receveuses d'embryons, car cet examen nous permet de choisir les femelles dont les ovaires sont porteurs des corps jaunes les plus saillants.

Cependant, la palpation à elle seule ne peut nous permettre de juger de la qualité des corps jaunes, en effet, certaines receveuses peuvent se voir exclues des programmes de transfert en raison de leurs corps jaunes peu saillants en dépit de sa bonne qualité (Figure 63).

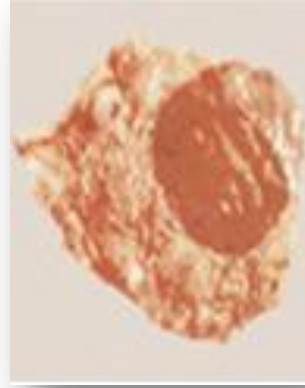


Figure 63 : Corps jaune fonctionnels peu saillants à la palpation
(<http://reprology.com>)

A l'inverse, certains corps jaunes, très saillants mais de moindre qualité, peuvent induire en erreur lors de palpations rectales et faire choisir des receveuses dont la progestéronémie n'assurera pas le maintien de gestation (Figure 64).



Figure 64 : Corps jaune cavitaires perceptibles à la palpation (<http://reprology.com>)

Le recours à l'imagerie médicale 2D peut s'avérer être une solution très intéressante car elle permet de mieux mettre en évidence les corps jaunes intra-ovariens ainsi que les corps

jaunes cavitaires. Cependant, cette technique n'est pas exempte d'erreurs car certains corps jaunes apparaissant de bonne qualité en imagerie 2D produisent très peu de P₄ (Figure 65)

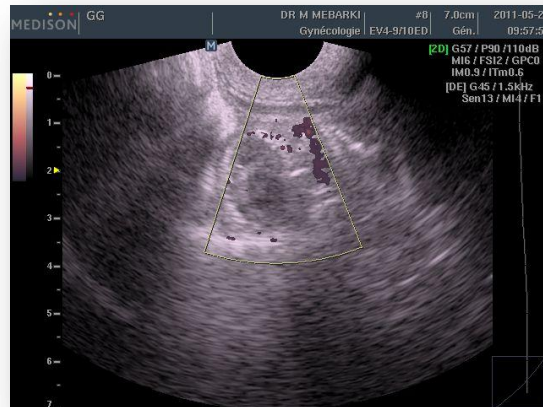


Figure 65: Corps jaune fonctionnel à J₁₃ du cycle œstral sécrétant peu de progestérone (1.75 ng/ml)

Sachant que le corps jaune est l'organe le plus vascularisé de l'organisme par unité de tissu (Wiltbank et al., 1988 ; Gaytan et al., 1999), le recours à l'examen de sa vascularisation peut s'avérer être un meilleur révélateur de son activité sécrétoire au vue de la forte corrélation observée entre la vascularisation et le taux de progestéronémie au cours des 3 phases (lutéogénèse, lutéotropie et lutéolyse) (Ginther et al., 2006 et Herzog et al., 2009).

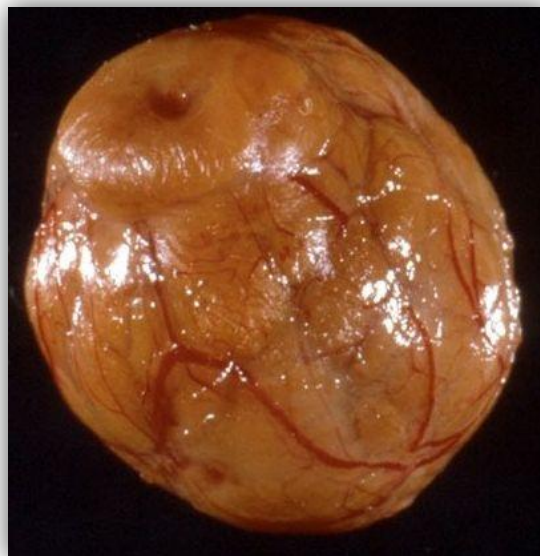


Figure 66 : Corps jaune entier de vache en diœstrus .notez sa riche vascularisation. (<http://drostproject.org>).

III.3.3.3. Du corps jaune après induction de la lutéolyse

A l'issue de la lutéolyse, nous observons une régression de la taille et de la vascularisation du corps jaune. Afin de mieux contrôler ce phénomène, une injection de PGF2 α est effectuée à J₇ (phase lutéotrope) (Acosta et al., 2001). Cette régression de la taille et du flux sanguin lutéal seraient corrélées avec la chute de la progestéronémie.

III.3.3.4. Du corps jaune gestatif et diagnostic précoce de gestation

Le diagnostic précoce de gestation permet de remettre très rapidement en cycle de reproduction toute femelle n'ayant pas donné suite à la saillie, rentabilisant ainsi la gestion de la reproduction et donc de l'élevage.

Différents moyens sont mis en œuvre dans le diagnostic de gestation, leur efficacité va avec leur précocité, c'est ainsi qu'une palpation transrectale ne permet un diagnostic de gestation, au mieux, qu'au bout de 35 jours de gestation, une échographie 2D utilisant une sonde réglée à 3 MHz, permet quant à elle, un diagnostic plus précoce (25 jours) tandis qu'une sonde réglée à 5 ou 7,5 MHz permet un diagnostic allant jusqu'à 19 à 22 jours de gestation (Utt et al., 2007).

III.4. Résultats

III.4.1. Axe 1

Avant la déviation, aucune différence significative ($p > 0.24$) n'a été constatée entre le pourcentage des grands follicules avec une vascularisation détectable (70%) et celui des follicules moyens (63%). Cette vascularisation pourrait être expliquée par les besoins nutritifs et hormonaux, principalement, les gonadotropines, de toutes les catégories de follicules pour leur développement.

Après la déviation, aucune différence significative ($p > 0.24$) n'est notée entre le pourcentage des grands follicules avec flux sanguin détectable (78%) entre eux, tandis que le pourcentage des autres catégories (moyens et petits) est significativement inférieur à celui des grands follicules ($p < 0.0001$). Ceci pourrait être expliqué par un maintien de croissance pour la première catégorie et une tendance vers l'atrésie des autres.

Tout comme les résultats trouvés dans notre essai, Acosta et al., en 2001 ne trouvent aucune différence significative entre le pourcentage de grands follicules à flux sanguin détectable et les follicules moyens. Ce pourcentage devient significativement supérieur après le phénomène de déviation.

En conclusion ; nos résultats démontrent que le changement du nombre de follicules avec vascularisation détectable est étroitement en relation avec la dynamique de la croissance folliculaire, sélection, et atresie dans la première vague folliculaire chez la vache.

III.4.2. Axe 2

La mise en évidence, sur le terrain, des corps jaunes se fait principalement à la faveur des palpations transrectales. La corrélation entre la taille du corps jaune et la concentration en P₄ sérique a été démontrée par Pieterse et al., en 1990 et Tom et al., en 1998.

Durant la phase de la lutéolyse, la chute du taux de P₄ sérique a lieu plus rapidement que la régression de la taille du corps jaune, induisant ainsi en erreur les manipulateurs les plus expérimentés, car, à ce stade, il est impossible de faire la différence entre un corps jaune en phase lutéotrope et un corps jaune ayant entamé sa lutéolyse (Herzog et al., 2012).

Dans notre travail, le taux de P₄ sérique est proportionnel à l'évolution de la taille du corps jaune, tout comme décrit par Ginther et al., 2006.

La vascularisation du corps jaune présente, elle aussi, une évolution proportionnelle à celle de la taille du corps jaune, ce constat corrobore celui rapporté par Herzog et al., en 2009 sur des vaches de race Holstein-Friesian cows.

III.4.3. Axe 3

Il est bien connu que la lutéolyse induit la régression de la taille du corps jaune, elle-même à l'origine de la chute de la progestéronémie et de la relance d'un nouveau cycle folliculaires (Hanzen et al., 2003).

Les résultats obtenus, dans le présent travail, confirment ceux obtenus par Acosta et al., 2005, Miyamoto et al., 2009 et qui mettent en évidence une meilleure corrélation entre la chute de la progestéronémie et les changements du flux sanguin comparée à celle de la chute de la progestéronémie et la régression de la taille du corps jaune.

Durant les 48 qui ont suivies l'injection de PGF2 α , nous avons pu noter une chute de la progestérone sérique (96%), de la taille du corps jaune (62 %) et du flux sanguin lutéal (74 %). La corrélation entre le flux sanguin lutéal et la progestéronémie était plus forte que celle noter entre la taille du corps jaune et de la progestéronémie, 0,99 et 0,75 respectivement avec des $p < 0,001$ pour les deux cas de figure, nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux obtenus par Kayacik et al., en 2005 qui ont notés une corrélation de 0,69 entre la progestéronémie et la taille du corps jaune.

Certains auteurs rapportent que 30 mn à 2 h après l'injection de PGF2 α , une vasodilatation locale, au niveau lutéal, précède la vasoconstriction à l'origine du début de l'apoptose cellulaire qui aboutira à la diminution de la taille du corps jaune (Miyamoto et al., 2009 ; Acosta et al., 2004). En raison de l'espacement de la fréquence de nos examens, nous n'avons pu vérifier ce constat rapporté par ces derniers.

Il ressort clairement de cet essai que le flux sanguin lutéal semble être u meilleur indicateur de l'activité lutéal que la taille du corps jaune.

III.4.1. Axe 4

Le diagnostic de gestation est l'un des moyens les plus importants de l'optimisation des performances d'élevage, il permet, en effet, de remettre en reproduction les femelles diagnostiquées négatives, réduisant ainsi leurs séjours improductifs au sein de l'élevage (Thibault et Levasseur, 2001).

Diverses méthodes ont été mises à contribution pour poser un diagnostic de gestation aussi précoce que possible, le suivi des modifications vasculaires au niveau du corps jaune peut être d'un intérêt certain afin de mettre en évidence l'éventuel passage du corps jaune cyclique en corps jaune gestatif, témoin potentiel d'une gestation.

La forte corrélation entre le taux de P₄ sérique et le flux sanguin lutéal, comparé à la corrélation entre la P₄ sérique et la taille du corps jaune, est de nature à faire du suivi du flux sanguin un témoin indirect de la P₄ sérique (Utt et al., 2008 ; Ginther et al., 2006).

Tout comme la progestéronémie, la chute du flux sanguin lutéal peut confirmer la non-gestation mais ne peut en aucun cas confirmer à elle seul, lors de sa persistance, un état gestatif.

L'utilisation du flux sanguin lutéal doit être associée un examen 2D de l'utérus en vue d'un diagnostic de gestation plus précis et surtout plus fiable (Utt et al., 2008).

IV. Conclusion

Associé à un examen 2D du tractus génital, le mode doppler couleur peut s'avérer être un moyen très pratique de suivi des variations du flux sanguin des différentes structures ovariennes, ces deux moyens de diagnostic contribueraient de manière efficace dans la gestion de la reproduction chez les vaches et donc de l'élevage en donnant une estimation du stade physiologique des développements folliculaire et lutéal.

Un schéma récapitulatif, des différents événements qui animent le microclimat ovarien durant un cycle, a été dressé dans la figure 67.

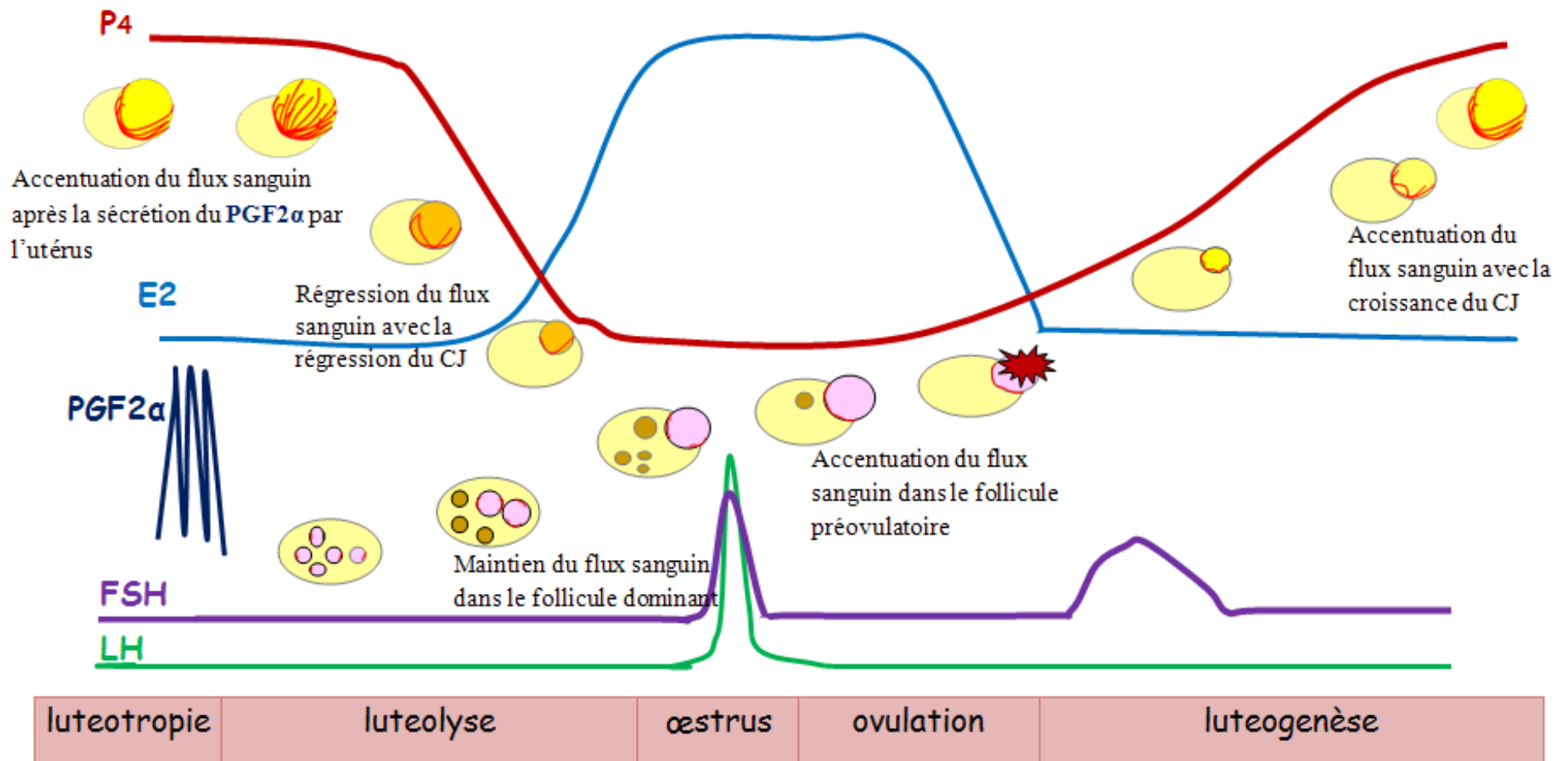


Figure 67 : Schéma récapitulatif de l'évolution de la vascularisation ovarienne, et des concentrations hormonales au cours du cycle œstral de la vache.

Conclusion générale et perspectives

L'optimisation de la reproduction en élevage passe inéluctablement par le recours à des moyens de plus en plus précis mais aussi et surtout précoce afin de rentabiliser la présence de chaque individu dans l'élevage.

La gestion de la reproduction est tributaire des connaissances acquises des phénomènes physiologiques régis au rythme des différentes phases folliculaire et lutéale qui se succèdent.

L'échographie-doppler a, récemment, fait son apparition dans le domaine de la gynécologie animale et se propose d'être une méthode non-invasive permettant de visualiser et d'analyser le flux sanguin des différents organes en général et ceux de la sphère génitale en particulier, plus précisément, les structures ovariennes.

Cette technique émergente a permis d'établir des modèles de flux sanguin des organes lors des étapes clés de l'activité sexuelle de la vache, grâce aux valeurs de référence obtenues chez des patientes saines, un pronostic sur les chances d'avoir une gestation peut ainsi être établi.

La disponibilité des échographes doppler et à des prix plus en plus compétitif est de nature à permettre une diffusion plus large de l'utilisation de cet outil que ce soit en diagnostic ou en biotechnologie de la reproduction.

A

ACOSTA TJ, BEG MA and GINTHER OJ. 2004a. Aberrant blood flow area and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory follicles in mares. *Biol Reprod.* 71, 637-642

ACOSTA TJ and MIYAMOTO A. 2004. Vascular control of ovarian function : ovulation, corpus luteum formation and regression. *Anim Reprod Sci.* 82-83, 127-140

ACOSTA TJ, GASTAL EL, GASTAL MO, BEG MA and GINTHER OJ. 2004b. Differential blood flow changes between the future dominant and subordinate follicles precede diameter changes during follicle selection in mares. *Biol Reprod.* 71, 502-507

ACOSTA TJ, HAYASHI KG, MATSUI M and MIYAMOTO A. 2005. Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows. *J Reprod Dev.* 51, 273-280

ACOSTA TJ, HAYASHI KG, OHTANI M and MIYAMOTO A. 2003. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. *Reprod.* 125, 759-767

ACOSTA, T.J., YOSHIZAWA, N., OHTANI, M., MIYAMOTO, A., 2002. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F2a injection in the cow. *Biology of Reproduction* 66, 651–658.

AISSAOUI C., BENAKHLA A., AOUADI H., (2003), Caractérisation Du Bovin Race Locale Dans L'est Algérien : Etude Biométrique Et Structurale Du Troupeau, Rencontre-Recherche-Ruminants

ALEEM FA , PREDANIC M. 1996. Transvaginal color Doppler determination of the ovarian and uterine blood flow characteristics in polycystic ovary disease. *Fertil Steril.* 65, 510-516

ALEXANDER SL , IRVINE CHG. 1993. FSH and LH. In : MCKINNON A and VOSS JL, editors. *Equine reproduction.* Philadelphia : Williams & Wilkins, 45-56

ALLEN WR, COOPER MJ. 1993. Prostaglandins. In : MCKINNON A and VOSS JL, editors. *Equine reproduction.* Philadelphia : Williams & Wilkins, 69-80

Références bibliographiques

AMRANE A.K., (1990). Recueil des travaux sur les populations bovines locales effectués à l'Institut Technique des Elevages –Ferme démonstratives et de production de semences-station de Fetzara –Annaba-.

ARDAENS Y, GOUGEON A, LEFEBVRE C, THOMAS P, LEROY M, LEROY JL et al. 2002. Apport du Doppler couleur ovarien et utérin dans l'assistance médicale à la procréation. *Gynécol Obstet Fertil.* 30, 663-672

ARDAENS Y. 1997. Doppler couleur ovarien endovaginal en pratique gynécologique. *J échogr med ultrason.*, 18, 36-44

ARMSTRONG D.T., ZAMESNIK J., Preovulatory Elevation Of Rat Ovarian Prostaglandins And Its Blockade By Indomethacin. *Molecular Cellular Endocrinology*, (1975), 2, 125-131.

B

BARTHEZ P-2002-03 - L'image Ultrasonore Unité pédagogique de Radiologie – Imagerie médicale

BATTOCCHIOM, GABAI G, MOLLOA, VERONESIMC, SOLDANO F, BONO G, CAIROLI F. Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology* 1999;51:1059–69.

BEINDORFF .N,A. HONNENS, Y. PENNO ,V.PAUL, H. BOLLWEIN /Effects of human chorionic gonadotropin on luteal blood flow and progesterone secretion in cows and in vitro–microdialyzed corpora lutea *Theriogenology* 72 (2009) 528–534

BERISHA .B, D. SCHAMS, Ovarian function in ruminants / *Domestic Animal Endocrinology* 29 (2005) 305–317

BICALHO. R.C, K.N. GALVA~O, C.L. GUARD, J.E.P. SANTOS Optimizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows / *Theriogenology* 70 (2008) 199–207

BOON J.A. (1998) *Manual of Veterinary Echography*. Williams and Wilkins, USA, 478 p.

BOUZEBDA.AFRI F., BOUZEBDA Z., BAIRI A., FRANC M., (2007), Etude Des Performances Bouchères Dans La Population Bovine Locale Dans L'est Algérien, Science et Technologies, 26, 89-97.

C

CALY .H, P PIVER , S DELCLEVE-PAULHAC , JC PECH , S GAURIAT , PM PREUX ET HJ PHILIPPE, Doppler utérin dans le pronostic préimplantatoire de l'embryon /J Radiol 2001 ;82 :843-6

CARNIEL P. (1987) Données de base de l'échographie. Le Point Vétérinaire, 19, (105), 199-212

CHETBOUL V, POUCHELON JL, BUREAU-AMAGLIO S and TESSIER D. 1999. Echocardiographie et écho-Doppler du chien et du chat. Paris : Masson, 169p

CHICOTAEU P., CLOE L., BASSINGAA. : Essais préliminaires de synchronisation des chaleurs chez la vache Baoulé. Rév. Elev. Méd. Vét. Pays Trop., 1986, 3 39 9, 1961-1963.

CISSE A.B. : Synchronisation des chaleurs chez des vaches Ndama et Zébu Maure avec la prostaglandine F_{2α}. In : Maîtrise de la reproduction et Amélioration génétique des ruminants. NEAS, 1993, 290p.

COLY R. : Etude comparative de trois méthodes de détection de l'oestrus chez la femelle zébu Gobra (*Bos indicus*) au Sénégal. Thèse : Méd. Vét. Dakar, 1985, n°13.

COMBARNOUS Y., -(1994)-Structures et relations structure-activité des médiateurs. In :Biochimie des communications cellulaires, Lavoisier Tec and Doc. Eds Médicales Internationales, Cachan CEDEX, France, (1994):33-61.

COURNIS R., COMBARNOUS Y., CHABOT V, TARAGNAT C. (2001), La régulation de la synthèse et de la libération des gonadotropines hypophysaires. In : La reproduction chez les mammifères et l'homme. Editions INRA Ellipses, 65-84.

CUQ P., FERNEY J., VANCRAYNEST P. : Le cycle génital de la femelle Zébu (*Bos indicus*) en zone soudano-sahélienne du Sénégal. Rév. Elev. Méd. Vét. Pays Trop, 1974, 3 37 7, 147-173.

D

DHALI .A, D.P. MISHRA , A. MECH , M. KARUNAKARAN , C. RAJKHOWA, Role of LH and prostaglandin F2 on the development and regression of corpus luteum in mithun (*Bos frontalis*) estrous cycle / *General and Comparative Endocrinology* 149 (2006) 173–181

DIOP P.E.H ., FAYE L., FALL R., LY O., SOWA.M., MBAYE M., FAYE A., BOYE C. : Caractéristiques de l'œstrus chez les femelles Ndama et Jersiaise au Sénégal, après maîtrise du cycle sexuel par la Norgestomet. *Rév. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1998, 51 1, 69-73.

DRIANCOURT M.A., Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology*, (1991), 35, 55-79.

DRION P.V. et al,(2000), Le développement folliculaire chez la vache, Mécanismes hormonaux au cours du cycle et du post-partum, Article de synthèse, *Annale de Médecine vétérinaire.*, (2000), 144, 385-404.

DRION P.V., BACKERS J.F., (1996). Régulation de la croissance folliculaire et lutéale. *Point Vétérinaire*, Volume 28, numéro spécial, 37-47

E

ELVIN J.A., YAN C., WANG P., (1993), Molecular characterization of the follicle defects in the growth differentiation factor-9 deficient ovary. *Molecular Endocrinology* (1999), 13, 1018-1034.

G

GAO X., GREENBAUM L.M., MAHESH V.B. et coll, Characterization of kynine system in the ovary during ovulation in the rat, *Biology of Reproduction*, (1992), 47, 945-951.

Références bibliographiques

GASTAL E.L ,M.O. GASTAL , F.X. DONADEU, T.J. ACOSTA , M.A. BEG , O.J. GINTHER, Temporal relationships among LH, estradiol, and follicle vascularization preceding the first compared with later ovulations during the year in mares / *Animal Reproduction Science* 102 (2007) 314–321

GINTHER O.J. (1986) *Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare*. Equiservices, Cross Plains, USA, 378 p.

GINTHER O.J. (1995) *Waves and Echoes*. In: *Ultrasound imaging and animal reproduction: Fundamentals*. Book 1. Equiservices, Cross Plains, USA, 225 p., 27-36

GINTHER OJ and MATTHEW D. 2004. Doppler ultrasound in equine reproduction : principles, techniques and potential. *J Eq Vet Sci*. 24, 516-526

GINTHER OJ and PIERSON RA. 1989. Regular and irregular characteristics of ovulation and the interovulatory interval in mares. *J Equine Vet*. 9, 4-12

GINTHER OJ, DOUGLAS RH and LAWRENCE JR. 1982. Twinning in mares : a survey of veterinarians and analyses of theriogenology records. *Theriogenology*. 18, 333-347

GINTHER OJ, BEG MA, BERGFELT DR, DONADEU FX and KOT K. 2001. Follicle selection in monovular species. *Biol Reprod*. 65, 638-647

GINTHER OJ, E.L. Gastal, M.O. Gastal,M.D. Utt, M.A. Beg Luteal blood flow and progesterone production in mares/ *Animal Reproduction Science* 99 (2007) 213–220

GINTHER OJ. 1986. *Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare*. 2nd ed. Cross Plains, Wisconsin : Equiservices, 378p.

GINTHER OJ. 1990. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. *J Reprod Fertil*. 90, 311-320

GINTHER OJ. 1992. *Reproductive biology of the mare : basic and applied aspects*. 2nd ed. Cross Plains, Wisconsin : Equiservices, 642p

GREENWALD G.S., (1972), Maturation of eggs and follicles (Editorial). *Am. J. Anat*, 137p, 1-4.

H

HADDADA. B, PONTER .A. A, GRIMARD.B, CONSTANT.F, DELETANG.F ET MIALOT.J-P. Induction et synchronisation des chaleurs par le PRID® chez des vaches Santa Gertrudis après vêlage tardif au Maroc. Revue Méd. Vét., 2002, 153, 10, 647-652

HANZEN CH., DRION PV, LOURTIE O., DEPIERREUX C., CHRISTIANS E. La mortalité embryonnaire. 1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 91-118.

HANZEN CH. Applications des ultrasons et de l'effet Doppler à la physiopathologie de la reproduction en médecine vétérinaire. Ann.Méd.Vét., 1980, 124, 477-488.

HANZEN CH., LOURTIE O., DRION P.V.. (2000), Le développement folliculaire chez la vache. 1. aspect morphologique et cinétique, Annales de Médecine vétérinaire, 144, 223-235

HANZEN CH., DELSAUX B. Use of transrectal B-Mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. Vet.Rec., 1987, 121, 200-202.

HANZEN CH., LAURENT Y. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. Ann.Méd.Vét., 1991, 135, 481-487.

HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVLJEVIC S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 1. L'examen des ovaires. Ann.Méd.Vét., 1992, 137, 13-18.-

HANZEN CH., LAURENT Y., JAKOVLJEVIC S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 1. L'utérus gestant et non-gestant. Ann.Méd.Vét., 1993, 137, 93-101.

HANZEN CH., LOURTIE O., DRION PV, DEPIERREUX C., CHRISTIANS E. La mortalité embryonnaire. 2. Implications hormonales. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 179-189).

HENDRIKS. W.K, B. COLENBRANDER, T.A.E. STOUT, Effect of administering PGF2 or hCG on day 7 after ovulation on ovarian, uterine and luteal blood flow in the mare / Animal Reproduction Science 94 (2006) 223–225

Références bibliographiques

HERZOG. K , M. BROCKHAN-LU "DEMANN, M. KASKE, N. BEINDORFF,V. PAUL, H. NIEMANN, H. BOLLWEIN, Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size/ *Theriogenology* 73 (2010) 691–697

HONNENS A, C. VOSS, K. HERZOG A, H. NIEMANN, D. RATH, H. BOLLWEIN, Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows / *Theriogenology* 70 (2008) 1048–1056

HUSSEIN FM, PACCAMONTI DL, EILTS BE, YOUNISMY. Comparison of ovarian palpation, milk progesterone and plasma progesterone in the cow. *Theriogenology* 1992;38:431–9.

I

ITSKOVITZ J., SEALEY J.E., GLORIOSO N. et coll, Plasma protein response to human chorionic gonadotropin in ovarian hyper stimulated women: Correlation with the number of ovarian follicles and steroid hormones concentration. *Proc. Natural Academic Science*, (1987), 84, 7285-7289.

J

JAUDON J.P., PERROT C., VIAUD F. et CADORE J.L. (1991) Bases physiques, technologiques et sémiologiques de l’ultrasonographie médicale. *Le Point Vétérinaire*, 23, (135), 11-18.

K

KARAMI SHABANKAREH , J. HABIBIZAD, M. TORKI Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes / *Animal Reproduction Science* 114 (2009) 362–369

KASTELIC JP, PIERSON RA, GINTHER OJ. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology* 1990;34:487–98.

L

LAFRI M., (2003) Optimisation Des Traitements De Superovulation Dans Le Cadre Du Transfert Embryonnaire Chez Les Bovins (Thèse doctorat). Institut National Agronomique – Alger- (Algérie). 188p.

LEGRAND J.J. et CARLIER B. (1981) Bases physiques de l'échotomographie. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 157, (7-8), 553-559

LUC DESCOTEAUX, GIOVANNI GNEMMI AND JILL COLLOTON, 2010 *Practical Atlas of Ruminant and Camelid Reproductive Ultrasonography* ;Blackwell Publishing

LUIZ GUSTAVO B. SIQUEIRA, CIRO A.A. TORRESA, LINCOLN S. AMORIMA, ELIZA D. SOUZAB, LUIZ SERGIO A. CAMARGOB, CARLOS A.C. FERNANDESC ,JOÃO HENRIQUE M. VIANAB/Interrelationships among morphology, echotexture, and function of the bovine corpus luteum during the estrous cycle *Animal Reproduction Science* 115 (2009) 18–28

M

MAMADOU M. BAH, TOMAS J. ACOSTA , WOJCIECH PILAWSKI, KATARZYNA DEPTULA, KIYOSHI OKUDA , DARIUSZ J. SKARZYNSKI, Role of intraluteal prostaglandin F₂, progesterone and oxytocin in basal and pulsatile progesterone release from developing bovine corpus luteum/ *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 79 (2006) 218–229

MANN .G.E, Corpus luteum size and plasma progesterone concentration in cows / *Animal Reproduction Science* 115 (2009) 296–299

Références bibliographiques

- MATSUI .M, MIYAMOTO. A, Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow / *The Veterinary Journal* 181 (2009) 232–240
- MC GEE. E.A, HSUEH. A.J, (2000), Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. *Endocrine review*, 21, 2000
- MCDOUGALL S, RHODES FM. Detection of a corpus luteum in apparently anoestrous cows by manual palpation, transrectal ultrasonography and plasma progesterone concentration. *N Z Vet J* 1999;47:47–52.
- MEDAN M.S., WATANABE G., SASAKI K., GROOME N.P., SHARAWY S. ET TAYA K., (2005). Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats. *Journal of Reproduction*, 51, 455-63.
- MERCIER P. (1989) Echographie et gynécologie des femelles domestiques de rente. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon,
- MIYAMOTO .A, K. SHIRASUNA , M.P.B. WIJAYAGUNAWARDANE ,S. WATANABE, M. HAYASHI, D. YAMAMOTO A, M. MATSUI, T.J. ACOSTA, Blood flow: A key regulatory component of corpus luteum function in the cow / *Domestic Animal Endocrinology* 29 (2005) 329–339
- MIYAMOTO. A, K. SHIRASUNA, K. SASAHAR, Local regulation of corpus luteum development and regression in the cow: Impact of angiogenic and vasoactive factors / *Domestic Animal Endocrinology* 37 (2009) 159–169
- MONNIAUX D. et al.,(2009), Développement folliculaire ovarien et ovulation chez les mammifères, *INRA, Production animale*, 22 (2), 56-79.
- MONNIAUX D., MANDON-PEPIN B., MONGET P. (1999)Follicular atresia, a programmed wastage. *Medicine science, Paris*, 15, 157-166.
- MOTOZUMI MATSUI, AKIO MIYAMOTO, Evaluation of ovarian blood flow by colour Doppler ultrasound: Practical use for reproductive management in the cow / *The Veterinary Journal* 181 (2009) 232–240
- MURDOCH W.J., Localization and hormonal regulation of ovarian production of histamine in sheep, *Life Science*, (1990), 46, 1961-1965.

N

NYLAND T.G., MATTOON J.S. et 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

O

OKUDA Y., OKAMURA H, KANZAKI H ET COLL, (1983), Capillary permeability of rabbit ovarian follicles prior to ovulation, Journal of Anatomy, (1983), 138, 757-769.

P

PALMER E., DRIANCOURT M. A., 1980. Use of ultrasonic echography in equine gynecology. Theriogenology, 13, 203-216.

PANARACE, M., GARNIL, C., MARFIL, M., JAUREGUI, G., LAGIOIA, J., LUTHER, E., MEDINA, M., 2006. Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. Theriogenology 66, 2113–2119.

PANARACE. M, C. GARNIL, M. MARFIL, G. JAUREGUI, J. LAGIOIA, E. LUTHER, M. MEDINA Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows / Theriogenology 66 (2006) 2113–2119

PENNINCK D. CUVELLIEZ S. (1985) Principes physiques et méthodes d'exploration échographique. Annales de Médecine Vétérinaire, 129, (6), 381-391

PETER, A.T., 2004. An update on cystic ovarian degeneration in cattle. Reproduction in Domestic Animals 39, 1–7.

PETERS H.. ET MC NATTY K.P. (1980), The Ovary. In Reproductive Biology Handbooks, Ed Elek. Granada Press, New York, 175pp.

PIETERSE, M.C., TAVERNE, M.A., KRUIP, T.A., WILLEMSE, A.H., 1990. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Veterinary Record* 126, 552–554.

R

REEF VB. 1998a. Physics and instrumentation. In : *Equine diagnostic ultrasound*. Philadelphia : WB Saunders,

REEF VB. 1998b. Artifacts. In : *Equine diagnostic ultrasound*. Philadelphia : WB Saunders,

RIBADU AY, WARD WR, DOBSON H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet Rec* 1994;135:452–7.

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. *Veterinary Record* 135, 452–457.

RICARDA MARIA DOS SANTOS, MARCELO DEMARCHI GOISSIS, DAVID AUGUSTO FANTINI, CLAUDIA MARIA BERTAN, JOSÉ LUIZ MORAES VASCONCELOS, MARIO BINELLI, Elevated progesterone concentrations enhance prostaglandin F₂ synthesis in dairy cows / *Animal Reproduction Science* 114 (2009) 62–71

ROCHA A., RANDEL R.D., BROUSSARD J.R., LIM J.M., BLAIR R.M., ROUSSEL J.D., GODK R.A. ET HANSEL W. (1998). High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, 49 (3), 657-665.

S

SANTOS, J.E., THATCHER, W.W., CHEBEL, R.C., CERRI, R.L., GALVAO, K.N., 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 513–535.

SHIRASUNA, K., WIJAYAGUNAWARDANE, M.P., WATANABE, S., YAMAMOTO, D., MATSUI, M., OHTANI, M., MIYAMOTO, A., 2004. A blood flow in the corpus luteum acutely increases together with endothelin-1 mRNA expression at early stage of regression during spontaneous luteolysis in the cow. In: *Proceedings of the 37th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction*, Vancouver, Canada, p. 137 (Abstract 194).

SIDDIQUI M.A.R. ET AL. Blood flow in the wall of the preovulatory follicle and its relationship to pregnancy establishment in heifers / *Animal Reproduction Science* 113 (2009) 287–292

SINGH, J., DOMINGUEZ, M., JAISWAL, R., ADAMS, G.P., 2004. A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology* 62, 227–243.

SINGH, J., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P., 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *Journal of Reproduction and Fertility* 109, 35–44.

SMITH M.F, G.A. PERRY, J.A. ATKINS, E.M. JINKS, K.G. POHLER, AND D.J. PATTERSON, physiological principles underlying synchronization of estrus, *Applied Reproductive Strategies Conference Proceedings August 5 & 6 Nashville, TN 2010*.

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.

T

TANIKAWA .M, ACOSTA, T.J, T. FUKUI, S. MURAKAMI,A. KORZEKWA, D.J. SKARZYNSKI, K.K. PIOTROWSKA ,C.K. PARK C, K. OKUDA, Regulation of prostaglandin synthesis by interleukin-1 in bovine endometrium during the estrous cycle / Prostaglandins & other Lipid Mediators 78 (2005) 279–290

THIBAUT C., LEVASSEUR MC.,-(2001)- La reproduction chez les mammifères et l'homme, INRA éditions : Paris 928p.

TOM JW, PIERSON RA, ADAMS GP. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. Theriogenology 1998;49:1345–52

TOM, J.W., PIERSON, R.A., ADAMS, G.P., 1998. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. Theriogenology 49, 1345–1352.

U

UTT. M.D, T.J. ACOSTA A, M.C. WILTBANK , O.J. GINTHER, Acute effects of prostaglandin F2on systemic oxytocin and progesterone concentrations during the mid- or late-luteal phase in mares / Animal Reproduction Science 97 (2007) 63–73

V

VALON F. LEGRAND J.J. (1981) Les ultra-sons : leur utilisation pour le diagnostic médicale des équidés. Pratique Vétérinaire Equine, 13, (2), 89-95

W

WAITE, L.R., FORD, S.P., YOUNG, D.F., CONLEY, A.J., 1990. Use of ultrasonic Doppler waveforms to estimate changes in uterine artery blood flow and vessel compliance. *Journal of Animal Science* 68, 2450–2458.

WETTEMANN, R. P, H. D. HAFS, L. A. EDGERTON AND L. V. Swanson Estrous Cycle Estradiol and Progesterone in Blood Serum during the Bovine *JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE*, vol. 34, no. 6, 1972

WILTBANK, M.C., DYSKO, R.C., GALLAGHER, K.P., KEYES, P.L., 1988. Relationship between blood flow and steroidogenesis in the rabbit corpus luteum. *Journal of Reproduction and Fertility* 84, 513–520.

WOCLAWEK-POTOCKA.I , K. OKUDA, T.J. ACOSTA, A. KORZEKWA,W. PILAWSKI, D.J. SKARZYNSKI, Phytoestrogen metabolites are much more active than phytoestrogens themselves in increasing prostaglandin F2 synthesis via prostaglanin F2 ynthase-like 2 stimulation in bovine endometrium / *Prostaglandins & other Lipid Mediators* 78 (2005) 202–217

Sources Internet utilisées

- <http://reprology.com>
- <http://rsb.info.nih.gov/ij>
- <http://drostproject.org>
- <http://earth.google.com>

Annexes

Abbott
AXSYM
 SYSTEM


fr

Progesterone

REF 1L88

48-9302/R4

B1L882

Faire attention aux modifications
 Révision de novembre 2009







Progesterone

(Progesterone)


Service Clients : Retrouvez le contact de votre Service Clients Abbott sur
www.abbottdiagnostics.com

Suivre scrupuleusement les instructions de cette notice. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

Légende des symboles utilisés

REF	Référence	LOT	Numéro de lot
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Date d'expiration
	Conservé entre 2 et 8 °C	STANDARD CAL A	Calibrateur standard (A à F)
	Conservé entre 15 et 30 °C	CONTROL L	Contrôle bas, moyen, haut (L, M, H)
	Consulter les instructions d'utilisation	REAGENT PACK	Coffret-réactifs
	ATTENTION : Consulter les documents joints	REACTION VESSELS	Cartouches de réaction
	Fabricant	SAMPLE CUPS	Godets-échantillons
		MATRIX CELLS	Matrices
		EC REP	Mandataire

L'explication complète des symboles utilisés pour la dénomination des composants se trouve au paragraphe **REACTIFS**.

 Abbott

DENOMINATION

AxSYM Progesterone

DOMAINE D'APPLICATION

AxSYM Progesterone est un dosage immunoenzymatique microparticulaire (MEIA) pour la détermination quantitative de la progesterone dans le sérum ou le plasma humain (prélevé sur héparinate de sodium et sur EDTA tripotassique).

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

La progesterone (4-prégnène-3, 20-dione) est une hormone stéroïde à 21 carbones dérivée du cholestérol. La progesterone est principalement sécrétée par le corps jaune de l'ovaire chez les femmes qui ont un cycle menstruel normal et dans une moindre mesure par le cortex surrénal.¹ Vers la sixième semaine de la grossesse, le placenta devient la principale source de progesterone.^{2,3} Dans la circulation sanguine, environ 97 à 98 % de la progesterone est liée à l'albumine ou à la protéine de liaison du cortisol.⁴ La progesterone est métabolisée, principalement dans le foie, en prégnanediol et en ses dérivés sulfatés et glucuroniques solubles dans l'eau, puis excrétée dans l'urine.⁵

Les principales fonctions de la progesterone sont la préparation de l'utérus pour la nidation et le maintien de la grossesse. Pendant la phase folliculaire du cycle, les taux de progesterone restent faibles.^{1,6,7} Après le pic de LH et l'ovulation, les cellules lutéales du follicule rompu sécrètent de la progesterone en réponse à la LH. Pendant cette phase lutéale, le taux de progesterone augmente rapidement jusqu'à un maximum de 10 à 20 ng/ml entre les 5^e et 7^e jours après l'ovulation. Durant cette phase, la progesterone transforme l'endomètre préparé par les estrogènes d'un état de prolifération en un état de sécrétion.⁸ Si la fécondation n'intervient pas, les taux de progesterone diminuent au cours des 4 derniers jours du cycle, du fait de la régression du corps jaune.^{1,8-11}

Si il y a fécondation, les taux de progesterone sont maintenus égaux à ceux du milieu de la phase lutéale par le corps jaune jusqu'à la 6^e semaine environ. Ensuite, le placenta devient la principale source de progesterone et les taux augmentent d'environ 10 à 50 ng/ml au cours du premier trimestre jusqu'à environ 50 à 280 ng/ml au cours du troisième trimestre.^{1,12,13}

La progesterone sérique est un indicateur fiable de l'ovulation naturelle ou induite du fait de son augmentation rapide suite à l'ovulation.¹⁴⁻¹⁶ Les anomalies ovulatoires, y compris l'anovulation sont relativement fréquentes et sont responsables de l'infertilité chez 15 à 20 % des patientes environ. Les taux de progesterone de ces patientes sont anormalement faibles au cours de la phase lutéale.

Une déficience de la phase lutéale est une anomalie de la reproduction associée à l'infertilité et aux fausses couches. On estime qu'elle touche 10 % des femmes infertiles.¹⁷⁻¹⁹ L'infertilité et les fausses couches liées à cette anomalie sont sans doute dues à une maturation et à un développement insuffisants de l'endomètre.²⁰ Ce défaut de l'endomètre est attribué à une production insuffisante de progesterone par le corps jaune. Les taux de progesterone sérique au cours de la phase lutéale sont inférieurs à la normale chez les femmes présentant une déficience de la phase lutéale.^{21,22} Les mesures de progesterone effectuées au cours des 10 premières semaines de la grossesse se sont avérées être un indicateur fiable et un outil efficace pour le diagnostic et le traitement des patientes risquant une fausse couche²³ et des grossesses ectopiques. Des taux de progesterone faibles (10 à 15 ng/ml) en présence de quantités décelables d'hCG indiquent une forte probabilité de risque de fausse couche ou de grossesse ectopique, quel que soit le stade de la grossesse.^{24,25}

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA METHODE

Le dosage AxSYM Progesterone est basé sur la technologie de dosage immunoenzymatique microparticulaire (MEIA). Les réactifs AxSYM Progesterone et l'échantillon sont pipetés dans l'ordre suivant :

UNITE D'ÉCHANTILLONNAGE

- L'échantillon, le conjugué d'anticorps anti-progesterone : phosphatase alcaline et le tampon Progesterone sont mis en présence dans un puits de la cartouche de réaction (CR), formant un complexe antigène-anticorps.
- Le réactif de microparticules Progesterone est ajouté dans un second puits de la CR.

La CR est immédiatement transférée dans l'unité de traitement, où le pipetage continue à l'aide de l'aiguille de traitement.

UNITE DE TRAITEMENT

- Le mélange réactionnel est incubé. La progesterone de l'échantillon se lie au conjugué d'anticorps anti-progesterone : phosphatase alcaline.
- Une partie aliquote du mélange réactionnel est transférée dans le puits contenant le réactif de microparticules Progesterone. Ce dernier se lie au conjugué d'anticorps anti-progesterone : phosphatase alcaline non lié à la progesterone de l'échantillon, formant ainsi le mélange réactionnel final.
- Une partie aliquote du mélange réactionnel final est ensuite transférée sur la matrice. Les microparticules se lient irréversiblement à la matrice en fibres de verre.
- La matrice est lavée afin d'éliminer le matériel non lié.
- Le substrat, du phosphate de méthyl-4-ombelliféryl, est ajouté sur la matrice et le produit fluorescent est mesuré par le système optique MEIA.

REACTIFS

COFFRET-REACTIFS

AxSYM Progesterone Reagent Pack, 100 tests (1L88-20)

- 1 flacon (9,3 ml) de tampon Progesterone. Tampon phosphate contenant des stabilisants de protéines (bovines, murines et ovines). Conservateur : azide de sodium. (Flacon réactif 1)
- 1 flacon (9,3 ml) de conjugué d'anticorps anti-progesterone (mouton, monoclonaux) : phosphatase alcaline dans du tampon TRIS contenant des stabilisants de protéines (bovines). Concentration minimale : 0,02 µg/ml. Conservateur : azide de sodium. (Flacon réactif 2)
- 1 flacon (12,6 ml) de microparticules Progesterone dans du tampon TRIS contenant des stabilisants de protéines (bovines et murines). Conservateur : azide de sodium. (Flacon réactif 3)

CALIBRATEURS

AxSYM Progesterone Standard Calibrators (1L88-01)

6 flacons (4 ml chacun) d'AxSYM Progesterone Standard Calibrators. Le calibrateur standard A contient du sérum (humain) dont la progesterone a préalablement été éliminée. Les calibrateurs standard B à F contiennent de la progesterone dans du tampon TRIS avec des stabilisants chimiques pour obtenir les concentrations suivantes :

Flacon	Concentration en progesterone (ng/ml)
STANDARD CAL A	0
STANDARD CAL B	0,7
STANDARD CAL C	2
STANDARD CAL D	7
STANDARD CAL E	20
STANDARD CAL F	40

Conservateur : azide de sodium.

Les calibrateurs correspondent à un standard de référence interne Abbott. Ce standard de référence interne est fabriqué à l'aide de méthodes gravimétriques en utilisant de la progesterone USP à chaque niveau de concentration.

CONTROLES

AxSYM Progesterone Controls (1L88-10)

6 flacons (2 flacons par concentration, 4 ml chacun) d'AxSYM Progesterone Controls contenant de la progesterone dans du tampon TRIS avec des stabilisants chimiques pour obtenir les limites de concentration indiquées ci-dessous.

Flacon	Concentration en progesterone		
	Concentration (ng/ml)	(ng/ml)	Limites (nmol/l)
CONTROL L	1	0,60 - 1,40	1,91 - 4,45
CONTROL M	5,5	3,83 - 7,17	12,18 - 22,80
CONTROL H	22	14,95 - 29,05	47,54 - 92,38

Conservateur : azide de sodium.

L'unité par défaut du résultat du dosage AxSYM Progesterone est le ng/ml. Il est également possible de programmer l'analyseur pour que le résultat soit exprimé en nmol/l (paramètre de dosage 45). Le facteur de conversion utilisé par l'AxSYM est de 3,18.

DILUANT POUR ECHANTILLONS

AxSYM Progesterone Specimen Diluent (1L88-50)

SPECIMEN DILUENT 1 flacon (10 ml) d'AxSYM Progesterone Specimen Diluent contenant du sérum (humain) dont la progésterone a préalablement été éliminée. Conservateur : azide de sodium.

AUTRES REACTIFS

Solution 1 (MUP) (8A47-04)

SOLUTION 1 [MUP] 4 flacons (230 ml chacun) de solution 1 (MUP) contenant du phosphate de méthyl-4-ombelliféryl à 1,2 mmol/l dans du tampon AMP. Conservateur : azide de sodium.

Solution 3 (solution de lavage pour matrices) (8A81-04)

SOLUTION 3 [MATRIX CELL WASH] 4 flacons (1 000 ml chacun) de solution 3 (solution de lavage pour matrices) contenant 0,3 mol/l de chlorure de sodium dans du tampon TRIS. Conservateurs : azide de sodium et agents antimicrobiens.

Solution 4 (diluant) (8A48)

SOLUTION 4 [LINE DILUENT] 1 bidon (10 l) de solution 4 (diluant) contenant 0,1 mol/l de tampon phosphate. Conservateurs : azide de sodium et agent antimicrobien.

AxSYM Probe Cleaning Solution (9A35-05)

PROBE CLEANING SOLUTION 4 flacons (110 ml chacun) d'AxSYM Probe Cleaning Solution contenant de l'hydroxyde d'ammonium tétraéthyle (TEAH) à 2 %.

PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

• **[IVD]**

- Pour diagnostic *in vitro*.

Suivre scrupuleusement les instructions de cette notice. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

MESURES DE SECURITE

- **ATTENTION** : Ce produit contient des composants d'origine humaine et/ou potentiellement infectieux. Se référer au paragraphe **REACTIFS** de cette notice. Aucune des méthodes d'analyse actuellement connues ne peut garantir de façon absolue que les produits d'origine humaine ou provenant de microorganismes inactifs ne transmettront pas d'infections. Par conséquent, tous les produits d'origine humaine doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Il est recommandé de manipuler ces réactifs et les échantillons humains selon les règles "OSHA Standard on Bloodborne Pathogens"²⁶. Les produits contenant ou susceptibles de contenir des agents infectieux doivent être manipulés selon les règles de biosécurité de niveau 2²⁷ ou autres règles de biosécurité en vigueur^{28,33}.
- Le sérum (humain), dont la progésterone a préalablement été éliminée, utilisé dans le calibrateur standard A et le diluant pour échantillons est non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH-1 ou l'Ag VIH-1 et pour les anticorps anti-VHC et anti-VIH-1/VIH-2.
- Ce produit contient de l'azide de sodium ; se référer au paragraphe **REACTIFS** pour une liste détaillée. Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes précautions d'usage.
- Pour les produits non classifiés comme dangereux par la Directive européenne 1999/45/EC, une fiche de données de sécurité est disponible pour les professionnels sur simple demande.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Les réactifs AxSYM Progesterone sont susceptibles de former des bulles/de la mousse. Vérifier l'absence de bulles. Si des bulles sont présentes, les éliminer avant de charger les réactifs. Se référer au Chapitre 9 "Entretien et maintenance", sous-chapitre "Maintenance quotidienne" du Manuel Technique AxSYM.
- Ne pas utiliser la solution 1 (MUP) au-delà de la date d'expiration et ne pas la conserver plus de 14 jours à bord de l'AxSYM. Lors du chargement d'un nouveau flacon de solution 1 (MUP), il est important de revisser immédiatement le bouchon du flacon afin de minimiser l'exposition de la solution MUP à l'air. Une exposition prolongée de la solution MUP à l'air peut entraîner une diminution de sa performance.
- Ne pas utiliser le coffret-réactifs au-delà de la date d'expiration et ne pas le conserver au-delà de 224 heures d'utilisation à bord de l'AxSYM.

- Il a été démontré que certains types de plastique provoquent une perte en progésterone des AxSYM Progesterone Calibrators and Controls. Afin d'éviter une altération de la concentration, ne pas redistribuer (ni remouiller l'embout de pipette) la solution contenue dans la pipette dans le flacon de calibrateur ou de contrôle. Distribuer la quantité requise du calibrateur ou du contrôle dans le godet-échantillon puis jeter tout reste de calibrateur ou de contrôle ainsi que l'embout de pipette. Les échantillons de sérum ou de plasma n'ont pas présenté de pertes de progésterone au contact de la matière plastique.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant de coffrets différents. Pour obtenir une explication plus détaillée des précautions d'emploi et des mesures de sécurité lors du fonctionnement de l'appareil, se référer aux Chapitres 7 et 8 du Manuel Technique AxSYM.

CONDITIONS DE CONSERVATION

2°C-8°C
Les AxSYM Progesterone Reagent Pack, Calibrators, Controls and Specimen Diluent doivent être conservés entre 2 et 8 °C (ne pas congeler). Ils peuvent être utilisés immédiatement après leur sortie du réfrigérateur. Les calibrateurs, les contrôles et le diluant pour échantillons doivent être remplacés entre 2 et 8 °C aussitôt après leur utilisation.

Les réactifs sont stables jusqu'à leur date d'expiration s'ils sont conservés et manipulés selon les indications du fabricant.

L'AxSYM Progesterone Reagent Pack peut être conservé au maximum pendant 224 heures d'utilisation à bord de l'AxSYM, par exemple pendant 28 jours à raison de 8 heures de fonctionnement par jour. Une recalibration peut être requise afin d'obtenir une stabilité maximale des réactifs à bord de l'appareil. Une utilisation plus fréquente des contrôles peut être requise afin de contrôler la performance des réactifs au sein d'un même lot.

Pour de plus amples informations sur le suivi de la stabilité des réactifs à bord de l'appareil, se référer aux Chapitres 2, 5 et "Annexes" du Manuel Technique AxSYM.

La solution 1 (MUP) doit être conservée entre 2 et 8 °C (ne pas congeler). Elle peut être utilisée immédiatement après sa sortie du réfrigérateur. La solution MUP peut être conservée au maximum pendant 14 jours à bord de l'AxSYM ; au-delà de ce délai, elle doit être jetée.

15°C-30°C
L'AxSYM Probe Cleaning Solution, la solution 3 (solution de lavage pour matrices) et la solution 4 (diluant) doivent être conservés entre 15 et 30 °C.

FONCTIONNEMENT DE L'APPAREIL

Installation du fichier de dosage

Avant de procéder aux dosages Progesterone, le fichier de dosage AxSYM Progesterone doit être installé sur l'AxSYM à l'aide de la disquette suivante :

- **SDS1-05** ou supérieure (stabilité des réactifs à bord de l'appareil de 224 heures)

Se référer au Chapitre 2 "Procédures d'installation et conditions spéciales" du Manuel Technique AxSYM pour les procédures d'installation appropriées.

PARAMETRES DE DOSAGE AxSYM Progesterone

Les valeurs par défaut des paramètres utilisés dans le dosage AxSYM Progesterone sont énumérées ci-dessous. Les paramètres pouvant être modifiés comportent le symbole (>). Ces paramètres peuvent être affichés à l'écran et modifiés selon la procédure décrite au Chapitre 2 "Procédures d'installation et conditions spéciales" du Manuel Technique AxSYM. Pour obtenir les valeurs des paramètres de dosage comportant un astérisque (*), se référer à l'écran spécifique des paramètres de dosage. Pour imprimer les paramètres de dosage, appuyer sur la touche IMPRESSION.

Paramètres du dosage	
2	Nom complet du dosage (français) : Progesterone
7	Abréviation du nom du dosage (français) : Prog
11	Numéro du dosage : 92
12	Version de dosage : *
13	Version de la calibration : *
14	Révision du fichier du dosage : *
15	Dosage activé > OUI
17	Type de dosage : MEIA
18	Répliques du calibrateur standard > 2
** 19	Répliques du calibrateur principal > 2
21	Concentration cal A : 0.00
22	Concentration cal B : 0.70
23	Concentration cal C : 2.00
24	Concentration cal D : 7.00
25	Concentration cal E : 20.00
26	Concentration cal F : 40.00
** 27	Concentration du calibrateur principal 1 : 0.00
** 28	Concentration du calibrateur principal 2 : 7.00
43	Protocole de dilution par défaut > UNDILUTED
44	Méthode de calibration par défaut > Standard
45	Unités de concentration du résultat > ng/mL
46	Nombre de décimales du résultat > 2
64	Ordonnée à l'origine maximale MUP : *
65	Ordonnée à l'origine minimale MUP : *
66	Limite sup. du NRMSE pour pentes faibles : *
67	Limite sup. du NRMSE pour pentes élevées : *
68	Pente max vérifiant ord. origine MUP min : *
69	Pente min seuil pour NRMSE et coef. de corr. : *
70	Coef. corrélation min. pour pentes faibles : *
71	Coef. corrélation min. pour pentes élevées : *
72	Retard MUP = retard après le MUP : *
73	Lim. inf. zone normale/thérapeutique > *
74	Lim. sup. zone normale/thérapeutique > *
80	Option d'interprétation à utiliser > *
91	Limite min pur : *
92	Limite maximale pur : *

REMARQUE : Le paramètre 45 peut être modifié pour obtenir un résultat exprimé en nmol/l.

REMARQUE : Les paramètres 43 et 80 ne peuvent pas être modifiés.

** REMARQUE : La calibration principale AxSYM Progesterone n'est pas disponible.

Pour des informations détaillées concernant le fonctionnement de l'appareil, se référer au Manuel Technique AxSYM. Se référer au Chapitre 2 "Procédures d'installation et conditions spéciales" du Manuel Technique AxSYM pour des informations détaillées concernant la configuration de la relance automatique des échantillons.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR L'ANALYSE

- Le dosage AxSYM Progesterone peut être effectué sur du sérum (y compris le sérum prélevé sur des tubes séparateurs de sérum) ou du plasma prélevé sur héparinate de sodium ou EDTA tripotassique. Aucun autre anticoagulant n'a été testé avec le dosage AxSYM Progesterone. Suivre les instructions du fabricant pour le traitement des tubes de prélèvement de sérum ou de plasma.
- L'AxSYM n'est pas configuré pour détecter le type d'échantillon utilisé dans le dosage ; il revient par conséquent à l'utilisateur de vérifier les types d'échantillons utilisés dans le dosage AxSYM Progesterone.
- S'assurer que le caillot s'est complètement formé avant de centrifuger l'échantillon. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous traitement anticoagulant ou thrombolytique, peuvent présenter des temps de coagulation élevés. Si l'échantillon est centrifugé avant la formation complète du caillot, la présence de fibrine peut entraîner des résultats erronés.
- Pour obtenir des résultats optimaux, les échantillons ne doivent pas contenir de fibrine, ni de globules rouges ou autres particules en suspension.
- Si le dosage est effectué plus de 24 heures après le prélèvement, séparer le sérum ou le plasma du caillot ou des globules rouges. Si des tubes séparateurs de sérum sont utilisés, il faut enlever le sérum du séparateur dans les 48 heures. Les échantillons peuvent être conservés au maximum pendant 25 jours entre 2 et 8 °C avant l'analyse. Si le dosage est effectué plus de 25 jours après le prélèvement, les échantillons devront être conservés congelés à une température inférieure ou égale à -10 °C. Des échantillons conservés congelés à une température inférieure ou égale à -10 °C pendant 6 mois n'ont pas présenté de différences de performance.
- Il conviendra d'homogénéiser et de centrifuger tous les échantillons de patients qui auront été congelés afin d'éliminer les globules rouges ou les particules en suspension.
- Eviter les cycles de congélation/décongélation répétés. Homogénéiser les échantillons AVEC SOIN après décongélation en les passant au Vortex à une vitesse FAIBLE ou en les retournant délicatement, puis les centrifuger avant emploi de façon à éliminer les particules en suspension et à obtenir des résultats cohérents.
- Avant l'utilisation, il faut homogénéiser les AxSYM Progesterone Calibrators and Controls en les retournant délicatement.
- Afin de minimiser les pertes par évaporation, tous les échantillons (échantillons de patients, contrôles et calibrateurs) devront être analysés dans les 3 heures qui suivent leur chargement à bord de l'AxSYM. Pour de plus amples informations sur les conditions de conservation des échantillons à bord de l'appareil, se référer au Chapitre 5 "Instructions de fonctionnement", sous-chapitre "Chargement des échantillons, des calibrateurs et des contrôles" du Manuel Technique AxSYM.
- Vérifier l'absence de bulles dans tous les échantillons. Eliminer les bulles éventuelles avant de commencer l'analyse.
- Lorsque des échantillons sont expédiés, ils doivent être conditionnés et étiquetés conformément à la législation régissant le transport des échantillons cliniques et des agents étiologiques.

VOLUME D'ECHANTILLON

Le volume d'échantillon nécessaire pour réaliser un dosage Progesterone unique sans dilution sur l'AxSYM varie selon le type de tube/godet-échantillon utilisé. Le volume minimum d'échantillon nécessaire dans un godet-échantillon est de 150 µl pour un dosage de ROUTINE et de 131 µl pour un dosage URGENT. Pour chaque dosage Progesterone supplémentaire (ROUTINE ou URGENT) effectué sur le même tube/godet-échantillon, il faut ajouter 81 µl d'échantillon.

Le volume minimal dans un godet-échantillon pour un dosage URGENT ou de ROUTINE est calculé par l'AxSYM. Il s'affiche à l'écran "Demande d'analyse patient" au moment de la programmation d'une ou de plusieurs analyses, puis est imprimé sur le "Rapport de la liste des demandes". Avec l'option "Requête des demandes à l'informatique centrale", les informations de l'écran "Demande d'analyse patient" et le "Rapport de la liste des demandes" ne sont pas disponibles. Pour une explication détaillée de l'option "Requête des demandes à l'informatique centrale", se référer au Chapitre 5 "Instructions de fonctionnement", sous-chapitre "Demandes d'analyses patients" du Manuel Technique AxSYM.

Si le dosage est configuré sur "Relance automatique", le volume d'échantillon supplémentaire nécessaire pour la réanalyse n'apparaîtra pas à l'écran des demandes au moment de la préparation d'une ou plusieurs analyses ; par conséquent, le volume d'échantillon total doit comprendre les 81 µl d'échantillon supplémentaires.

Pour de plus amples informations concernant les volumes d'échantillons nécessaires dans les tubes primaires ou aliquots, ainsi que pour obtenir le volume de calibrateur/contrôle nécessaire pour plusieurs lots de réactifs, se référer au Chapitre 5 "Instructions de fonctionnement", sous-chapitre "Chargement des échantillons, calibrateurs et contrôles" du Manuel Technique AxSYM.

PROCEDURE DU DOSAGE AxSYM PROGESTERONE

Matériel fourni

- 1L88-20 AxSYM Progesterone Reagent Kit, contenant :
AxSYM Progesterone **REAGENT PACK**

Matériel nécessaire mais non fourni

- Analyseur AxSYM
- 1L88-01 AxSYM Progesterone **STANDARD CALIBRATORS**
- 1L88-10 AxSYM Progesterone **CONTROLS**
- 1L88-50 AxSYM Progesterone **SPECIMEN DILUENT**
- 8A47-04 **SOLUTION 1 MUP**
- 8A81-04 **SOLUTION 3 MATRIX CELL WASH**
- 8A46 **SOLUTION 4 LINE DILUENT**
- 9A35-05 AxSYM **PROBE CLEANING SOLUTION**
- 8A76-01 **SAMPLE CUPS**
- 8A75-11 **REACTION VESSELS**

ATTENTION :

- Lors du pipetage manuel des échantillons dans les godets-échantillons, vérifier que le matériel n'entraîne pas de contamination croisée et qu'il distribue le volume exact d'échantillon.
- Pour obtenir une performance optimale de l'AxSYM, il est important de suivre les procédures de maintenance de routine définies au Chapitre 9 "Entretien et maintenance" du Manuel Technique AxSYM. Si le laboratoire requiert une maintenance plus fréquente, se conformer à ces exigences.

Procédure du dosage

Avant de programmer les analyses, confirmer que la quantité de matrices et de solutions communes ainsi que le niveau de remplissage des poubelles sont acceptables.

Le "Rapport de la liste des demandes" contient des informations sur la position des échantillons, ainsi que sur les volumes nécessaires dans les godets-échantillons pour tous les dosages demandés. Il est recommandé de se référer à ce rapport lors du chargement des échantillons dans les segments-échantillons. Avec l'option "Requête des demandes à l'informatique centrale", le "Rapport de la liste des demandes" n'est pas disponible. Pour une explication détaillée de l'option "Requête des demandes à l'informatique centrale", se référer au Chapitre 5 "Instructions de fonctionnement", sous-chapitre "Demandes d'analyses patients" du Manuel Technique AxSYM.

ATTENTION : Pendant le fonctionnement de l'AxSYM, les recommandations suivantes doivent toujours être suivies :

- Le statut de l'appareil doit indiquer CHAUFFAGE, PAUSE, PRET ou STOP avant d'ajouter ou d'enlever des segments-échantillons, des coffrets-réactifs ou des cartouches de réaction (CR).
- Ne pas ouvrir la porte intérieure des poubelles, ni le couvercle de l'unité de traitement AxSYM lorsqu'une série de dosages est en cours, sinon l'appareil s'arrête ; les dosages en cours sont alors interrompus et doivent être recommencés.
- Lorsque l'analyse est terminée, il est préférable d'enlever les échantillons et l'AxSYM Progesterone Reagent Pack de l'unité d'échantillonnage, afin de prolonger l'utilisation du coffret-réactifs dans l'appareil. Conserver entre 2 et 8 °C.

PROCEDURES DE DILUTION DES ECHANTILLONS

Protocole de dilution automatique

Les échantillons pour le dosage Progesterone ne peuvent pas être dilués automatiquement par l'appareil.

Protocole de dilution manuelle

Les échantillons de patients dont la concentration en progesterone est supérieure à 40 ng/ml peuvent être dilués manuellement au 1/20^e. Ajouter 50 µl d'échantillon de patient à 950 µl d'AxSYM Progesterone Specimen Diluent (1L88-50). La dilution doit être effectuée de sorte que les résultats de l'échantillon dilué soient supérieurs à la sensibilité du dosage. Afin d'obtenir la concentration finale de l'échantillon, la concentration enregistrée par l'AxSYM doit être multipliée par le facteur de dilution manuelle.

Concentration finale de l'échantillon =

Concentration enregistrée x Facteur de dilution manuelle

Facteur de dilution manuelle =

$$\frac{(\text{Volume de l'échantillon} + \text{Volume du réactif de dilution})}{(\text{Volume de l'échantillon})}$$

PROCEDURES DU CONTROLE DE QUALITE

CALIBRATION

Le dosage AxSYM Progesterone doit être calibré à l'aide d'une méthode de calibration standard (en 6 points).

Calibration standard

Pour effectuer une calibration standard du dosage AxSYM Progesterone, analyser les calibrateurs standard A, B, C, D, E et F en double. Un échantillon de chacun des contrôles Progesterone doit être analysé afin de pouvoir évaluer la calibration du dosage.

Lorsque la calibration du dosage AxSYM Progesterone a été acceptée et mémorisée, tous les échantillons suivants peuvent être analysés sans effectuer de nouvelle calibration, sauf si :

- un coffret-réactifs portant un nouveau numéro de lot est utilisé ;
- les valeurs des contrôles se situent hors des limites spécifiées.

Se référer au Chapitre 6 "Procédures de calibration" du Manuel Technique AxSYM pour :

- la calibration d'un dosage ;
- les conditions dans lesquelles une recalibration peut être nécessaire ;
- la vérification d'une calibration.

L'AxSYM vérifie que les résultats de la calibration du dosage correspondent aux spécifications des paramètres de validité sélectionnés. Un message d'erreur apparaît lorsque la calibration ne répond pas à une spécification. Les mesures correctives à prendre en cas d'apparition d'un code d'erreur sont décrites au Chapitre 10 "Dépannage et diagnostic" du Manuel Technique AxSYM. Pour une explication des paramètres de validité de la calibration pouvant être utilisés par l'AxSYM, se référer à l'Annexe E du Manuel Technique AxSYM.

CONTROLE DE QUALITE

Le contrôle de qualité recommandé pour un dosage AxSYM Progesterone consiste à analyser un échantillon de chaque niveau de contrôles Progesterone une fois toutes les 24 heures, chaque jour d'utilisation. Les contrôles peuvent être placés dans n'importe quelle position du carrousel-échantillons.

Si les procédures du contrôle de qualité du laboratoire requièrent une utilisation plus fréquente des contrôles pour vérifier les résultats d'analyses, se conformer à ces exigences.

Afin d'obtenir une stabilité maximale des réactifs à bord de l'appareil, une utilisation plus fréquente des contrôles peut être requise pour contrôler la performance des réactifs au sein d'un même lot.

S'assurer que les valeurs des contrôles du dosage se situent dans les limites de concentration spécifiées dans cette notice. Pour connaître les limites des AxSYM Progesterone Controls, se référer au paragraphe CONTROLES de la partie REACTIFS de cette notice.

INDICATIONS D'INSTABILITE OU D'ALTERATION DES REACTIFS

Un contrôle Progesterone dont la valeur se situe en dehors des limites spécifiées peut indiquer une altération des réactifs ou des erreurs de technique. Les résultats des échantillons analysés dans la même série peuvent ne pas être valides et ces échantillons devront être réanalysés. Une recalibration du dosage peut être nécessaire. Pour de plus amples informations sur le dépannage, se référer au Chapitre 10 "Dépannage et diagnostic", sous-chapitre "Problèmes observés" du Manuel Technique AxSYM.

L'AxSYM permet de créer un tracé Levey-Jennings pour chaque contrôle de qualité du dosage. Se référer au Chapitre 5 "Instructions de fonctionnement", sous-chapitre "Contrôle de qualité" du Manuel Technique AxSYM. Il revient au laboratoire d'appliquer ou non des règles particulières de contrôle de qualité aux données de ce contrôle.

Critères de tolérance du bruit de fond fluorescent

Le contrôle de qualité par rapport au blanc substrat MUP est automatiquement effectué par l'appareil et vérifié à l'aide du paramètre de dosage 64 "Ordonnée à l'origine maximale MUP", à chaque fois qu'un résultat d'analyse est calculé. Si l'ordonnée à l'origine MUP est supérieure à la valeur maximale permise, le résultat n'est pas valable. L'analyse demandée passera dans la "Liste des exceptions", où elle apparaîtra accompagnée du message "1064 Résultat de l'analyse incorrect, ordonnée à l'origine trop élevée" et de la valeur de l'ordonnée à l'origine calculée. Lorsque ce message d'erreur apparaît, se référer au Chapitre 10 "Dépannage et diagnostic" du Manuel Technique AxSYM.

Se référer au Chapitre 2 "Procédures d'installation et conditions spéciales" du Manuel Technique AxSYM pour de plus amples informations sur ce paramètre.

RESULTATS

Le dosage AxSYM Progesterone utilise une méthode de traitement des données avec un ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres (4PLC) pour créer une courbe de calibration standard. Se référer à l'Annexe F du Manuel Technique AxSYM pour de plus amples informations.

Autre unité de résultat

L'unité de résultat par défaut du dosage AxSYM Progesterone est le ng/ml. Lorsque l'autre unité de résultat, nmol/l, est sélectionnée, le facteur de conversion utilisé par l'AxSYM est de 3,18.

Annotations

La rubrique "Annotations" peut contenir des informations sur certains résultats. Une description des annotations qui apparaissent dans cette rubrique se trouve au Chapitre 1 "Usage ou fonction" du Manuel Technique AxSYM.

LIMITES DE LA METHODE

- Si le taux de progesterone ne correspond pas à l'observation clinique, il est recommandé d'effectuer d'autres analyses afin de pouvoir confirmer le résultat.
- Pour établir un diagnostic, les résultats du dosage Progesterone doivent être utilisés en association avec d'autres données ; telles que les symptômes, les résultats d'autres analyses de fécondité et de grossesse (par ex. : LH, FSH, Prolactine, β -hCG), les données cliniques, etc.
- Les échantillons prélevés sur des patients auxquels ont été administrées des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins diagnostiques ou thérapeutiques peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). De tels échantillons peuvent donner des résultats faussement élevés ou abaissés lorsqu'ils sont testés avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux de souris.^{29,30} Ces échantillons ne doivent pas être analysés par le dosage AxSYM Progesterone.
- Se référer à la partie PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR L'ANALYSE de cette notice.

VALEURS ATTENDUES

Des échantillons ont été prélevés sur 77 hommes sains, 30 femmes postménopausées, quotidiennement sur 30 femmes présentant un cycle menstruel normal et sur 25 femmes lors du premier, deuxième et troisième trimestre de grossesse. Lors de cette étude, la phase folliculaire a été définie comme étant la période allant du 10^e au 5^e jour précédant le pic de LH et FSH. La phase lutéale a été définie comme étant la période allant du 4^e au 10^e jour suivant le pic de LH et FSH. Le milieu de la phase lutéale a été défini comme étant la période allant du 5^e au 9^e jour suivant le pic de LH et FSH.³¹ Un résumé des limites de concentration attendues pour le dosage AxSYM Progesterone est présenté dans le tableau ci-dessous. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres limites.

Concentration en progesterone (ng/ml)					
		5 ^e au 95 ^e percentile		Médiane	Limites
	n				
Femmes présentant un cycle menstruel normal :					
Phase folliculaire	30	0,38 -	0,94	0,55	0,27 - 2,61
Phase lutéale	30	7,77 -	27,01	15,55	3,28 - 38,63
Milieu de la phase lutéale	30	9,48 -	27,30	16,60	5,25 - 38,63
Femmes postménopausées :					
	30	< 0,2 -	0,49	0,34	< 0,2 - 0,82
Femmes enceintes :					
Premier trimestre	25	12,36 -	80,60	22,13	12,26 - 81,80
Deuxième trimestre	25	19,59 -	77,00	35,46	11,11 - 81,40
Troisième trimestre	25	63,80 -	246,40	103,80	39,30 - 387,80
Hommes	77	< 0,2 -	1,31	< 0,2	< 0,2 - 3,37

CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

REPRODUCTIBILITE

Le dosage AxSYM Progesterone a été conçu de manière à fournir une reproductibilité totale \leq 0,15 E.T. (bas) et un CV total \leq 8,0 % (moyen et haut). Une étude basée sur le protocole EP5-T2³² du NCCLS a été effectuée pour le dosage AxSYM Progesterone. Un panel de 4 échantillons a été analysé en double, en utilisant un seul lot de réactifs et une seule calibration, 2 fois par jour, pendant 20 jours. L'échantillon 1 est à base de sérum humain et les échantillons 2, 3 et 4 sont à base de tampon TRIS contenant un stabilisant chimique. Les données de cette étude sont résumées dans les tableaux suivants. Les données présentées dans les tableaux suivants sont indicatives, les résultats obtenus pouvant varier d'un laboratoire à l'autre.

ECHANTILLON 1

Appareil	n	Conc. moyenne intra-série		Inter-séries		Inter-jours		Total		
		(ng/ml)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)			
1	80	0,60	0,06	9,66	0,02	3,91	0,03	5,34	0,07	11,71
2	80	0,54	0,04	7,06	0,02	2,86	0,03	5,67	0,05	9,49
3	80	0,56	0,04	6,96	0,01	1,14	0,03	5,70	0,05	9,07
4	80	0,54	0,05	9,58	0,02	2,85	0,00	0,00	0,05	9,99
5	80	0,59	0,05	6,67	0,04	5,67	0,00	0,00	0,08	6,88

ECHANTILLON 2

Appareil	n	Conc. moyenne intra-série		Inter-séries		Inter-jours		Total		
		(ng/ml)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)			
1	80	1,05	0,05	5,17	0,02	1,79	0,03	3,07	0,07	6,27
2	80	0,99	0,05	5,48	0,00	0,00	0,05	4,86	0,07	7,33
3	80	1,00	0,06	5,60	0,00	0,00	0,03	3,16	0,06	6,43
4	80	0,97	0,04	4,28	0,05	5,06	0,00	0,00	0,08	6,83
5	80	1,15	0,05	4,93	0,00	0,00	0,04	3,28	0,07	5,91

ECHANTILLON 3

Appareil	n	Conc. moyenne intra-série		Inter-séries		Inter-jours		Total		
		(ng/ml)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)			
1	80	5,40	0,18	3,33	0,00	0,00	0,20	3,77	0,27	5,03
2	80	5,58	0,16	2,82	0,12	2,22	0,25	4,54	0,32	5,79
3	80	5,55	0,17	3,02	0,08	1,45	0,08	1,42	0,20	3,54
4	80	5,66	0,17	2,97	0,06	0,99	0,08	1,36	0,19	3,41
5	80	6,34	0,18	2,84	0,05	0,71	0,15	2,39	0,24	3,78

ECHANTILLON 4

Appareil	n	Conc. moyenne intra-série		Inter-séries		Inter-jours		Total		
		(ng/ml)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)	E.T. CV (%)			
1	80	21,88	1,01	4,65	0,31	1,43	1,04	4,61	1,48	6,84
2	80	21,08	0,87	4,14	0,36	1,72	0,00	0,00	0,95	4,48
3	80	21,33	0,86	4,03	0,58	2,70	0,46	2,17	1,13	5,31
4	80	21,90	0,80	3,65	0,57	2,59	0,19	0,88	1,00	4,56
5	80	23,18	1,04	4,45	0,64	2,78	0,47	2,04	1,31	5,66

RECUPERATION

Le dosage AxSYM Progesterone a été conçu de manière à présenter une récupération moyenne de 90 à 110 % lors de l'analyse d'échantillons surchargés avec des concentrations connues de progestérone. Diverses concentrations connues de progestérone ont été ajoutées à 3 échantillons de sérum humain normal. La concentration en progestérone a été déterminée à l'aide du dosage AxSYM Progesterone et le pourcentage de récupération a été calculé.*

Récupération de progestérone

Echantillon	Concentration endogène (ng/ml)	Progestérone ajoutée (ng/ml)	Progestérone obtenue (ng/ml)	Récupération** (%)
1	7,60	4,84	12,47	100,6
2	4,38	9,72	13,97	98,7
3	4,38	9,72	14,21	101,1

Pourcentage de récupération moyen : 100,1 %

* Données indicatives. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

** Pourcentage de récupération =

$$\frac{\text{Conc. en progestérone mesurée (ng/ml)} - \text{conc. endogène (ng/ml)}}{\text{Progestérone ajoutée (ng/ml)}} \times 100$$

SENSIBILITE

La sensibilité analytique du dosage AxSYM Progesterone a été déterminée comme étant $\leq 0,2$ ng/ml. Cette sensibilité est définie comme étant égale à la concentration à 2 écarts types par rapport à l'AxSYM Progesterone Calibrator A (0 ng/ml), ce qui représente la plus petite concentration mesurable en progestérone pouvant être distinguée de zéro.

SPECIFICITE

Le dosage AxSYM Progesterone a été conçu de manière à fournir une spécificité $< 5\%$. La concentration de l'AxSYM Progesterone Calibrator A a été surchargée jusqu'à 1 000 ng/ml à l'aide du composé analysé (100 µg/ml pour le DHEAS) ; sa concentration en progestérone a alors été dosée.

Le pourcentage de réactivité croisée des composés est indiquée ci-dessous pour le dosage AxSYM Progesterone.

(ND = non détecté)

Composé	Réactivité croisée (%)
Aldostérone	ND
Allopréganediol	ND
Androsténiol	ND
Androsténiolone	ND
Citrato de clomiphène	ND
Corticostérone	2,1
Cortisol	ND
Danazol	ND
11-Désoxycorticostérone	1,3
11-Désoxycortisol	ND
DHEA	ND
DHEA-S	ND
Dihydrotestostérone	ND
20 α -Hydroxyprogestérone	0,4
20 β -Hydroxyprogestérone	2,2
Estradiol (17 β)	ND
Estriol	ND
Estrone	ND
Ethinylestradiol	ND
17-Hydroxyprégnénone	ND
17-Hydroxyprogestérone	0,8
Médroxyprogestérone	ND
19-Nor-4-androstène-3,17-dione	ND
19-Nortestostérone	ND
5 β -Prégnane	ND
5 α -Prégnane-3,20-dione	6,3
5 β -Prégnane-3 α ,20 α -diol	ND
5 α -Prégnane-3 α -ol-20-one	1,7
5 α -Prégnane-3 β -ol-20-one	ND
5-Prégnane-3 α -ol-20-one	3,2
Prégnanolone	1,5
Prégnénone	0,2
Spirolactone	ND
Sulfate de 3-prégnénone	0,5
Testostérone	ND

Médicament	Réactivité croisée (%)
Ethinylénone	ND
Diacétate d'éthinodiol	ND
Noréthindrone	ND
Norgestrel	ND
Norméthandrone	ND
Méthylprednisolone	ND
Acétate de médroxyprogestérone	ND
Acétate de noréthindrone	ND

INTERFERENCE

L'interférence potentielle de l'hémoglobine, de la bilirubine, des triglycérides a été étudiée pour le dosage AxSYM Progesterone. Un échantillon de sérum humain a été surchargé avec la substance interférente et sa concentration en progestérone a été mesurée. Le dosage AxSYM Progesterone a montré les interférences indiquées dans le tableau ci-dessous.

Substances interférentes	Concentration en substance interférente	Concentration en progestérone de l'échantillon (ng/ml)	% d'interférence
Bilirubine	15 mg/dl	6,53	< 5
Hémoglobine	1 g/dl	6,25	< 5
Triglycérides	2 000 mg/dl	34,5	< 10

PRECISION PAR CORRELATION

Le dosage AxSYM Progesterone a été conçu de manière à ce que la pente soit de 0,8 à 1,2 et que le coefficient de corrélation (r) soit $\geq 0,95$ par rapport au dosage DPC RIA. En outre, le dosage AxSYM Progesterone a été comparé à un kit de diagnostic disponible dans le commerce. Les résultats de cette analyse sont indiqués dans le tableau suivant.*

Abbott AxSYM Progesterone vs. ACS : 180 Progesterone

Méthode	Nombre d'observations	Ordonnée à l'origine	Pente	Coefficient de corrélation
Régression linéaire par la méthode des moindres carrés	301	1,20	0,88	0,95
Régression linéaire de Passing-Bablok**	301	0,16	0,94	0,95

Dans cette évaluation, les échantillons sériques analysés avaient des concentrations comprises entre 0,20 et 35,17 ng/ml par le dosage AxSYM Progesterone.

* Données indicatives. Les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

** Méthode de régression linéaire sans hypothèses particulières concernant la distribution des échantillons et les erreurs de mesure.³⁴

BIBLIOGRAPHIE

1. Abraham GE, Odell WD, Swerdloff RS, Hopper K. Simultaneous Radioimmunoassay of Plasma FSH, LH, Progesterone, 17-Hydroxyprogesterone, and Estradiol-17 beta During the Menstrual Cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 34:2, 312-318 (1972).
2. DeGroot LJ, ed., Endocrinology, Second Edition, Volume 3, Ovarian Hormone Synthesis, Circulation, and Mechanism of Action. WB Saunders Co., 1989.
3. Hertig AT, Livingston RB. Spontaneous, Threatened and Habitual Abortion: Their Pathogenesis and Treatment. *N Eng J Med*, 230, 797-805 (1944).
4. Dunn JF, Nisula BC, Robard D. Transport of Steroid Hormones: Binding of 21 Endogenous Steroids to Both Testosterone-Binding Globulin and Corticosteroid-Binding Globulin in Human Plasma. *J Clin Endocrinol Metab*, 53:1, 58-68 (1981).
5. Whitley RJ, Meikle MD, Watts NB, in Tietz Textbook of Clinical Chemistry (Pages 1868-1867), W.B. Saunders and Co., Philadelphia, 1994, CA Burtis and E.R. Ashwood, eds.
6. Aedo AR, Nunez M, Landgren BM, Cekan SZ, Diczfalusi E. Studies on the Pattern of Circulating Steroids in the Normal Menstrual Cycle. Circadian Variation in Theperi-Ovulatory Period. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 84:2, 320-332 (1977).
7. Landgren BM, Uden AL, and Diczfalusi E. Hormonal profile of the cycle in 68 normally menstruating women. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 94:1, 89-98 (1980).
8. Erickson GG. Normal Ovarian Function. *Clin Obstet Gynecol*, Vol. 21 No. 1, 31-53 (1978).
9. Veldhuis JD, Christiansen E, Evans WS, Kolp LA, Rogol AD, Johnson ML. Physiological Profiles of Episodic Progesterone Release During the Midluteal Phase of the Human Menstrual Cycle: Analysis of Circadian and Ultradian Rhythms, Discrete Pulse Properties, and Correlations with Simultaneous Luteinizing Hormone Release. *J Clin Endocrinol Metab*, 66:2, 414-421 (1988).
10. Filicori M, Butler JP, Crowley WF Jr., Neuroendocrine Regulation of the Corpus Luteum in the Human. Evidence for Pulsatile Progesterone Secretion. *J Clin Invest*, 73:6, 1638-1647 (1984).
11. Laufer N, Navot D, Schenker JG. The Pattern of Luteal Phase Plasma Progesterone and Estradiol in Fertile Cycles. *Am J Obstet Gynecol*, 143:7, 808-813 (1982).
12. Winkel P, Gaede P, Lyngbye J. Method for Monitoring Plasma Progesterone Concentrations in Pregnancy. *Clin Chem* 22:4, 422-428 (1976).
13. Buster JE, Abraham GE. The applications of steroid hormone radioimmunoassays to clinical obstetrics. *Obstet Gynecol*, 46:4, 489-499 (1975).
14. Israel R, Mischell DR, Stone SC, Thornycroft IH, Moyer DL. Single Luteal Phase Serum Progesterone Assay as an Indicator of Ovulation. *Am J Obstet Gynecol*, 112:8, 1043-1046 (1972).
15. Peisios P, Chandler C, Oak M, Ratcliffe WA, Wood R, Anderson DC. The Assessment of Ovulation by a Combination of Ultrasound and Detailed Serial Hormone Profiles in 35 Women with Long-Standing Unexplained Infertility. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 22:6, 739-751 (1985).
16. Abdulla U, Oiver MJ, Hipkin LJ, Davis JC. Plasma progesterone levels as an index of ovulation. *Br J Obstet Gynecol*, 90:6, 543-547 (1983).
17. Rosenberg SM, Luciano AA, Riddick DH. The Luteal Phase Defect: The Relative Frequency of, and Encouraging Response to, Treatment with Vaginal Progesterone. *Fertil Steril*, 34:1, 17-20 (1980).
18. Phung Thi Tho, Byrd JR, McDonough PG. Etiologies and Subsequent Reproductive Performance of 100 Couples with Recurrent Abortion. *Fertil Steril*, 32:4, 389-395 (1979).
19. Horta JL, Fernandez JG, de Leon BS. Direct Evidence of Luteal insufficiency in Women with Habitual Abortion. *Obstet Gynecol*, 49:6, 705-708 (1977).
20. Jones GS. The Physiology of Menstruation and the Corpus Luteum Function. *Int J Fertil*, 31:2, 143-147 (1985).
21. Soules MR, McLachlan R, Martt EK. Luteal Phase Deficiency: Characterization of Reproductive Hormones over the Menstrual Cycle. *J Clin Endocrinol Metab*, 69, 804-812 (1989).
22. Schweiger U, Laessle R, Schweiger M, Hermann F, Riedel W, Pirke KM. Caloric Intake, Stress, and Menstrual Function in Athletes. *Fertil Steril*, 49:3, 447-450 (1988).
23. Witt BR, Wolf GC, Wainright CJ, Johnston PD, Thornycroft IH. Relaxin, CA-125, Progesterone, Estradiol, Schwangerschaft Protein, and Human Chorionic Gonadotropin as Predictors of Outcome in Threatened and Nonthreatened Pregnancies. *Fertil Steril*, 53:6, 1029-1036 (1990).
24. Matthew CP, Coulson PB, Wild WA. Serum Progesterone Levels as an Aid in the Diagnosis of Ectopic Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 68:3, 390-394 (1986).
25. Hubinot CJ, Thomas C, Schwerts, JF. Luteal Function in Ectopic Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*, 156:3, 669-674 (1987).
26. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Bloodborne pathogens.
27. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; January 2007.
28. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2004.
29. Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, Goldenberg DM. "Sandwich"-Type Immunoassay of Carcinoembryonic Antigen in Patients Receiving Murine Monoclonal Antibodies for Diagnosis and Therapy. *Clin Chem*, 34:2, 261-264 (1988).
30. Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Morgan AC. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Res*, 45:2, 879-885 (1985).
31. Crowley WF Jr., Filicori M, Santoro NF. *GnRH Secretion across the Normal Menstrual Cycle*. In: Crowley WF Jr., Hotter JG, editors, *The Episodic Secretions of Hormones*. New York: John Wiley and Sons, 1987:219-31.
32. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition; Tentative Guideline, Applications of a New Chemiluminometric Thyrotropin Assay to Subnormal Measurement*. Villanova, PA: NCCLS, March, 1992.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline - Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
34. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. Application of Linear Regression Procedures for Method Comparison Studies in Clinical Chemistry, Part I. *J Clin Chem Clin Biochem*, 21:11, 709-720 (1983).

AxSYM est une marque commerciale d'Abbott Laboratories dans plusieurs pays.



Abbott Laboratories
Diagnostics Division
Abbott Park, IL 60064 USA



ABBOTT
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden
Germany
+49-6122-580

Fabriqué pour
Abbott Laboratories, Abbott Park IL
par
Abbott Diagnostics International, LTD, Barceloneta, Puerto Rico

Novembre 2009
© 2008, 2009 Abbott Laboratories