

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET**  
**INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES**



**Mémoire de fin d'études**  
**en vue de l'obtention du diplôme de docteur vétérinaire**

**THEME :**

**Etude de l'efficacité des méthodes de**  
**diagnostic de la gestation chez la vache**  
**« Etude bibliographique »**

**Présenté par :**

**Melle : Boukhari Benamara Imen**

**Melle : Touil Nour El Houda**

**Encadré par :**

**Pr. Boucif . A**

**Année universitaire : 2018 – 2019**



# Remerciements

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Dr. BOUCIF AHMED, on le remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos remerciement s'adresse également à tout nos professeurs pour leurs charges académiques et professionnelles.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenue de près ou de loin.

.

.

# Dédicace

Je dédie ce projet de fin d'études à vous chère mamam , Je suis fière de votre support pendant toutes ces années, peu importe mes décisions, de votre disponibilité lorsque j'ai besoin de vous et de vos encouragements qui me permettent de me surpasser continuellement

A mon binôme boukhari benamara imen et tous mes cher (es) amis



**Touil Nour El Houda**

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma très chère maman qui est tendre et affectueuse et elle a su me guider dans le bon chemin, elle est mon symbole de noblesse que Dieu le tous puissant vous garde et mon père, celui dont personne ne peut compenser les sacrifices qu'il a fait pour mon consolider matériellement ,financièrement et moralement pour que je puis bénéficier d'une bonne éducation

À mes sœurs (chaimaa ; meriam)

A toutes mes copines (Fatima , Amal ,Khadra ,Kawthar,Rabia,Gihan , Asma , Hadjare , Sarah , Hanane)

A tous mes collagues de l'institut des sciences vétérinaires IBN KHALDOUNE

A tous mes enseignants du primaires au ..... poste universitaire

A ma binôme Touil Nour El Houda



**Boukhari Ben Amara Imen**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1 :</b>	Diagnostic différentiel des images échographies visible en transrectale (D'après GUIMAD et al 2003)	60
--------------------	---	----

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b>	Bassin osseux de vache ,vue latérale gauche (Barone10)	04
<b>Figure 2 :</b>	Conformation intérieure de l'appareil génital d'une vache nullipare en vue dosale (barone 2001)	04
<b>Figure 3 :</b>	Ovaire et trompe utérine gauche de vache en vue latérale gauche (BARONE 2001)	07
<b>Figure 4 :</b>	Coupe sagittale d'un ovaire montrant le développement d'un follicule et sa transformation en corps jaune (Frandsen , Wilke, et Fails 2009)	07
<b>Figure 5 :</b>	Conformation et structure de l' ovaire chez la vache (2005)	08
<b>Figure 6 :</b>	Shéma des différents stades folliculaires de l'ovaire chez la vaches (d'après H E KONKING et H.G .LIEBICH, 2004)	14
<b>Figure 7 :</b>	Les vagues folliculaires chez la vache et leur controle hormonal (Guide de la fertilité bovine , CEVA)	21
<b>Figure 8 :</b>	Placentation épithélio-choriale de la vache	25
<b>Figure 9 :</b>	Placentation et annexes extraembryonnaires chez les bovins	25
<b>Figure 10 :</b>	Représentation schématique de la migration des cellules binuclées chez la vache (ayad et al 2006)	28
<b>Figure 11 :</b>	Profil de la concentration sérique ( moyenne=SD )de la bo PAG-1 chez des vaches gestantes ,au cours de la gestation et en post -partum( D'après Zoli et al 1991)	33
<b>Figure 12 :</b>	Profil de la concentration ( moyenne = SD ) des bo PAG-4-6-9-20 et -21 dans le sérum de 42vaches en début de gastation ( Green et al 2005)	35
<b>Figure 13 :</b>	Profil de la concentration ( moyenne = SD) en bo PAG-4-6-9-20et-21 dans le sérum de 42 vaches entre la 2ème et la 33ème semaine de gestation (D'après Green et al 2005)	35
<b>Figure 14 :</b>	Profil de la concentration (moyenne=SD) en boPAG-4-6-9-20 et dans le sérum de 42 vaches 8 semaines avant et après mise bas (D'après Green et al (2005)	35
<b>Figure 15 :</b>	Diagramme représentant la période d'expression de différentes bo PAG's au cours de la gestation (D'après Green , 2000)	40
<b>Figure 16 :</b>	Nombre relatif de séquence exprimée ( EST's) pour chaque bo PAG au cours de la gestation chez la vache (Telugu et al 2009)	40
<b>Figure 17 :</b>	Concentration en PAG durant la gestation dans le lait écrémé (Friedrich et al , 2010)	42

<b>Figure 18 :</b>	Mesure de la concentration en boPAG-1 dans le sang maternel au cours de la gestation chez des femelle présentant une concentration basse ou élevée de progestérone (p4) 21 jours après l'insémination artificielle (Ayad et al 2007)	45
<b>Figure 19 :</b>	Visualisation au microscope de PAG's situées à la fois au niveau des microvillosités des cellules trophoblastique et à l'intérieur et des cellules tri nucléées	45
<b>Figure 20 :</b>	Concentration moyenne en PAG au cour de la gestation chez des vaches Holstein - Friesen inséminées avec de la semence de taureau Holstein - Friesian ou Limousin (Serrano et al 2009)	48
<b>Figure 21 :</b>	Concentration moyenne en boPAG-1 au coues de gestation chez des vachs Holstein- friesen en fonction du nombre de foetus par gestation (Serrano et al 2009)	48
<b>Figure 22:</b>	Diagnostic de la gestation par palpation des ovaires à 60 jours (vue latérale ) animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)	54
<b>Figure 23 :</b>	Diagnostic de gestation par palpation du col utérin à 60 jours (vue latérale) Animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)	54
<b>Figure 24:</b>	Diagnostic de la gestation par palpation des cornes utérines (vue caudale). Animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)	54
<b>Figure 25 :</b>	Principe de fonctionnement d'un échographie (pier,kastelic et Ginther 1988)	56
<b>Figure 26 :</b>	Echographie transrectale d'une vache non gravide (BCF Technology 2017)	56
<b>Figure 27 :</b>	Illstration du positionnement de la sonde sur le tractus reproduction d'une vache par voie transrectale (COLLOTION ,et al 2009)	58
<b>Figure 28 :</b>	Principe gébéral d'un test rapide permettant d'evaleur la concentration en progestérone d'un échantillon de lait par la méthode immuno enzymatique (d'après NEBEL 1988)	70
<b>Figure 29 :</b>	Principe de l'elisa du test d'idex	75

## Liste des abréviations

**GnRH** : Gonadotropin Releasing Hormone (hormone de libération des gonadotrophines hypophysaires)

**FSH**: Folliculo Stimuline Hormone

**LH**: Luteinizing Hormone

**IGF-1** : Insulin-like Growth Factor 1

**EPF** : Early pregnancy factor

**boIFN $\tau$**  : Interféron tau bovin

**bPL** : Lactogène placentaire bovine

**kDa** : Kilodalton

**RIA** : Radio \_ Immunologie Assy

**PSPB** : Pregnancy specific protein B

**PAG** : protéines associées à la gestation

**boPAG-1** : Protéines associées à la gestation bovines 1

**ml** : symbole du millilitre

**ng** : symbole du nanogramme

**PSPB** : Pregnancy specific protein B

**ADNc** : Acide désoxyribonucléique complémentaire

**J** : jour

**ELISA** : Enzyme Linked Imunno Sorbent Assay

**PGF2 $\alpha$**  : prostaglandine F 2alpha

**P4**: progesterone



# TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction .....	01

## Première Partie :

### Chapitre I : Rappel anatomo-physiologique

I-1 Anatomie .....	03
I-1-1 Ostéologie de la ceinture pelvienne (Barone2010) .....	03
I-1-2 Appareil génital de la vache (Barone 2001) .....	03
I-2 : Physiologie .....	11
I-2-1 : Le fonctionnement ovarien .....	12
I-2-2 : Contrôle hormonal .....	17
I-2-3 : Les régulations hormonales dans le cycle .....	18
I-2-4 : Fécondation et développement embryonnaire précoce .....	20

### Chapitre II : Physiologie de la gestation

II-1 Le développement embryonnaire .....	23
II-1-1 La vie libre de l'œuf .....	23
II-1-2 Phase de l'implantation .....	23
II-1-3 Formation du placenta et annexes fœtales .....	24
II-2 Physiologie placentaire .....	26
II-2-1 Fonction métabolique du placenta .....	26
II-2-2 Fonction endocrine du placenta .....	26
II-3 Expression des PAG's durant la gestation .....	31
II-3-1 Profil sérique des PAG's .....	31

II-4 Dosage des PAG's : quelques expériences.....	36
II-4-a Etude de la concentration en boPAG-1 suite à la présence d'agents infectieux abortifs	36
II-4- b Etude de la concentration en boPAG-1 suite à des avortements déclenchés chimiquement .....	37
II-4- c Suivi de l'expression des PAG suite à des pertes fœtales après clonage somatique ....	37
II-4- d Concentrations de PAG anormalement élevées suite à un problème de nutrition.....	38
II-5 Expression générale des PAG's dans le sang .....	38
II-5-1 Moment et lieu d'expression des PAG's.....	38
II-5-2 Niveau d'expression des PAG's .....	39
II-6 Profil des PAG's dans le lait.....	39
II-7 PAG's dans le colostrum.....	41
II-8 Sources accessoires de production des PAG's .....	41
II-9 Rôles des PAG's au cours de la gestation .....	43
II-9-1 Fonction immunosuppressive .....	43
II-9-2 Maintien du corps jaune .....	43
II-9-3 Echange fœto-maternel .....	46
II-9-4 Activité protéolytique.....	46
II-10 Facteurs influençant la concentration des PAG's .....	46
II-10-1 La race .....	46
II-10-2 Le nombre de fœtus.....	47
II-10-3 La production de lait .....	49
II-10-4 Le bien-être du placenta .....	49
II-10-5 Taux de progestérone .....	49
II-11 Mortalité embryonnaire .....	49
II-12 Endocrinologie de la gestation.....	50
II-13 Contrôle hormonal du début de la gestation .....	50

## **Deuxième Partie**

### **Chapitre I : Matériel et méthodes**

I-1 Détermination du taux de non retour en chaleur .....	51
I-2 Méthodes cliniques .....	51
I-2-1 Palpation transrectale .....	51
I-2-2 Echographie transrectale.....	55
I-2-3 Voie vaginale : .....	62
I-2-4 Voie transabdominale : .....	62
I-2-5 Diagnostic de gestation tardif .....	63
I-2-6 Diagnostic de non gestation.....	63
I-3 Méthodes biochimiques .....	63
I-3-1 Early pregnancy factor (EPF) .....	63
I-3-2 Dosage du sulfate d'œstrone.....	64
I-3-3 Dosage de la progestérone.....	64
I-3-4 Dosage de l'hormone lactogène placentaire.....	71
I-3-5 Dosage des protéines associées à la gestation (PAG) .....	71

## **Deuxième Partie**

### **Chapitre II : Synthèse des travaux**

II-1 le diagnostic de la gestation chez la vache .....	78
Conclusion.....	101
Références bibliographiques .....	103
Résumé.....	

---

# Introduction

---

En élevage bovin aussi bien qu'en élevage ovin, la rentabilité d'une exploitation est fortement dépendante des performances de reproduction du troupeau. Les animaux doivent être rentables et donc dans l'idéal, chaque vache doit donner naissance à un veau viable par an.

L'objectif est de diagnostiquer le plus tôt possible d'une part les vaches non gravides afin de les remettre à la reproduction ou de les réformer de manière raisonnée et d'autre part les vaches gravides afin de constituer des lots homogènes d'animaux au même stade physiologique. Cependant, les enjeux économiques des élevages reposent en partie sur l'optimisation de la reproduction et donc par la réduction de l'intervalle vêlage--vêlage et la détection précoce de la gestation.

Depuis plusieurs années, le suivi de reproduction a été quelque peu délaissé par les vétérinaires au profit des centres d'insémination, c'est pourquoi il est important que les étudiants vétérinaires se forment de façon optimale pour reprendre cette part de la marche qui peut prendre une place à part entière dans l'emploi du temps d'un vétérinaire rural.

L'évaluation du fœtus au sein de son environnement utérin constitue un enjeu majeur de la médecine obstétricale (Cornette, 2004), et les différentes techniques médicales plus ou moins utilisées sur le terrain ont été développées afin de mieux comprendre les interactions foeto-maternelles, l'examen ultrason graphique du fœtus et de ses annexes, l'électrocardiographie fœtale, l'évaluation continue de la fréquence cardiaque du fœtus par une sonde Doppler en relation avec les contractions utérines et l'amniocentèse sont les examens les plus utilisés en médecine humaine.

Cependant cette portion de médecine prénatale est pour l'instant peu développée en médecine vétérinaire, quelques études ont néanmoins permis de développer une procédure évaluation échographique du fœtus et de l'utérus chez la jument. Les informations disponibles concernant l'évaluation prénatale du fœtus au cours de la gestation sont limitées chez le bovin. Les deux raisons principales sont l'absence de données concernant la faisabilité d'une telle évaluation sur des animaux de grande taille ainsi que la pertinence de celle-ci sur un animal ayant une valeur économique limitée.

Cependant, le diagnostic de gestation et le sexage fœtal chez les bovins sont deux disciplines similaires en constant développement depuis plusieurs années. Il s'agit d'outils fiables, indolores et non invasifs largement implantés dans une dynamique de suivis de troupeaux.

De nos jours, l'échographie est très employée en clientèle bovine, elle représente l'outil d'imagerie le plus employé en reproduction. Cependant, cette technique nécessite un

manipulateur expérimenté et un matériel coûteux ce qui a conduit au cours des dernières années au développement de nouvelles méthodes de diagnostic de gestation basées sur le dosage d'hormones ou de protéines dans le sang ou dans le lait maternel, l'utilisation du lait comme support pour réaliser les analyses est particulièrement intéressante car le prélèvement d'un échantillon de lait est simple à réaliser, non invasif et non stressant pour l'animal, de plus contrairement à un prélèvement sanguin qui nécessite l'intervention d'un vétérinaire, le prélèvement du lait est réalisable par l'éleveur ce qui diminue son coût. Dès lors, il apparaît important de pouvoir diagnostiquer le plus précocement possible des anomalies fœtales ou utérines pouvant mener à une diminution du pronostic vital du nouveau-né afin de pouvoir gérer au mieux ces gestations à risque.

L'objectif principal de cette thèse est de rendre le diagnostic de gestation accessible à tout étudiant tant par une simplification des connaissances anatomiques, cette thèse permet de rappeler toutes les bases d'anatomie et physiologiques nécessaires à la compréhension du diagnostic de gestation.

Dans une première partie, nous ferons une synthèse bibliographique afin de rappeler tout d'abord l'anatomie du tractus génital bovin et les grands principes de la reproduction chez les bovins et plus particulièrement la physiologie de la gestation à travers les connaissances acquises à ce jour sur les différentes méthodes de diagnostic de gestation utilisables chez les bovins.

La deuxième partie de ce manuscrit traitera des principes généraux des moyens du diagnostic de gestation et plus particulièrement l'échographie, nous présenterons dans le premier chapitre les principaux matériaux et méthodes de diagnostic utilisés chez la vache. Comme nous discuterons dans un deuxième chapitre l'intérêt pratique et économique de ces techniques dans le diagnostic et le suivi de la gestation chez la vache.

### **Objectifs :**

A travers cette étude bibliographique, nous souhaiterons atteindre les objectifs suivants :

- Enumérer les moyens de diagnostic de la gestation utilisés chez la vache,
- Déterminer les avantages et les inconvénients de chaque méthode,
- Connaître et décrire les techniques de chacune d'elles,
- Se perfectionner sur les règles générales d'utilisation de l'échographe,
- Déterminer en fin la méthode la plus fiable chez l'espèce bovine.

---

# **Première Partie**

## **Chapitre I**

Rappel anatomo-physiologique

---

## **I-1 Anatomie :**

### **I-1-1 Ostéologie de la ceinture pelvienne (Barone2010) :**

La ceinture pelvienne est composée de l'os ilium dorsalement et des os pubis et ischium ventralement. Ces trois os s'unissent au niveau de l'acetabulum destinée à l'appui du fémur et se soudent en une pièce unique : l'os coxal. Cet os coxal est uni medio-ventralement par une symphyse. Celui-ci s'unit alors avec l'os sacrum dorsalement pour former le bassin osseux ou pelvis (figure 1). unique: l'os coxal.

Le pelvis est complété par des formations ligamentaires et musculaires et abrite les organes

de la reproduction. Il constitue une véritable filière que le fœtus doit traverser au moment du part et présente une grande importance médicochirurgicale. Toutes ces formations associées aux vertèbres coccygiennes dorsalement délimitent la cavité pelvienne. Cette dernière s'ouvre cranialement dans la cavité abdominale. Elle se rétrécit caudalement ou elle est fermée par les fascias et les muscles du périnée. On lui reconnaît un plafond, un plancher, deux parois latérales, le détroit antérieur cranial et le détroit postérieur caudal. Le détroit antérieur est entièrement osseux alors que le détroit Postérieur est extensible grâce au mouvement des vertèbres et les parois latérales ligamentaires sacro-sciatiques et musculaires (figure 2).

### **I-1-2- Appareil génital de la vache (Barone 2001) :**

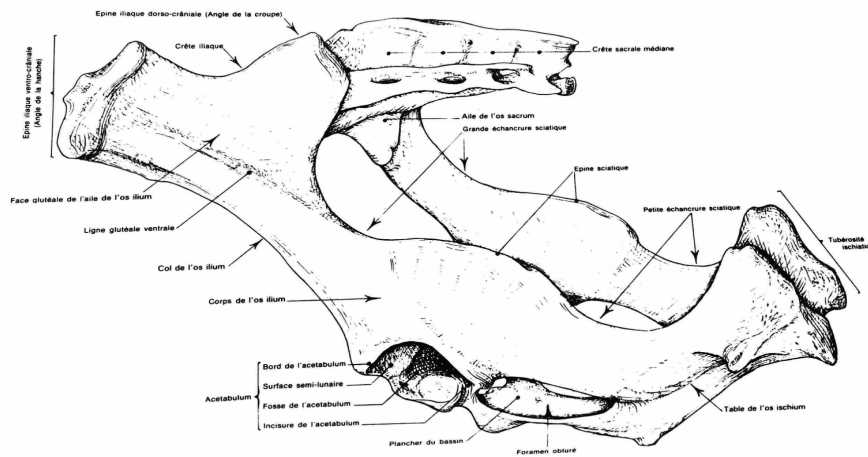
Le rôle de l'appareil reproducteur femelle est plus complexe que celui du mâle car il ne se limite pas à la production de gamètes femelles et à leur cheminement (MONTMEAS L., 2013). En effet, c'est dans le tractus génital femelle qu'ont lieu :

- Le dépôt du sperme.
- La rencontre entre les gamètes mâles et femelles aboutissant à la fécondation.
- Le développement de l'œuf obtenu pour donner un nouvel être vivant.

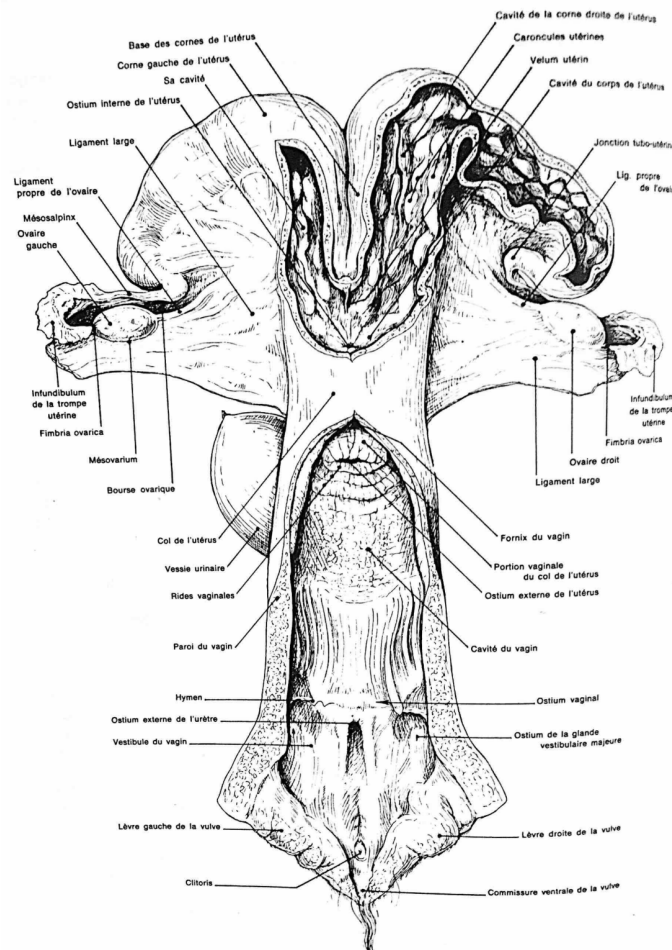
Chez la femelle, cet appareil comprend (Figure 2) :

- Deux ovaires ayant une double fonction, l'élaboration des gamètes et la synthèse d'hormones femelles.
- Des voies génitales : l'oviducte, lieu de la fécondation ; l'utérus, l'organe de la gestation et, le vagin et la vulve, les organes d'accouplement. On retrouve sur la figure 2 la topographie de l'appareil génital pelvien.





**Figure 1 :** Bassin osseux de vache ,vue latérale gauche (Barone10)



**Figure 2:** conformation intérieure de l'appareil génital d'une vache nullipare en vue dosale(barone 2001)

### I-1-2-1 Les ovaires :

Les dimensions des ovaires varient en fonction du développement des organites. La longueur est de 35 à 40 mm, la hauteur de 20 à 25 mm et l'épaisseur de 15 à 20 mm. La forme est ovoïde, aplatie d'un côté à l'autre. Lors de la palpation transrectale, l'ovaire prend la forme d'un petit citron qui tient en entier dans la main. On le saisit en général entre l'index et le majeur et on palpe les structures présentes sur l'ovaire avec le pouce. Il est à noter que pendant la gestation, l'ovaire est entraîné en direction craniale par l'accroissement de taille de l'utérus. L'ovaire répond médialement à la corne utérine et est situé sur le côté du détroit cranial du bassin non loin de la partie acétabulaire de l'os coxal. Il est situé à une douzaine de centimètres de plan médian et une trentaine de centimètres du périnée ce qui rend très aisée son exploration par voie rectale. Il est un peu plus dorsal chez les génisses que chez les vaches. L'ovaire gauche est en rapport avec le cul de sac dorsal du rumen alors que l'ovaire droit répond au groupe pelvien des circonvolutions du jéjunum parfois à l'apex du caecum.

L'ovaire est recouvert par le péritoine et suspendu par le mesovarium. Ce dernier constitue la partie la plus craniale du ligament large portant l'ensemble du tractus génital. Le bord mesovarique de l'ovaire, qui donne attache au mesovarium reçoit un réseau vasculaire et nerveux épais que l'on sent à la palpation sous la forme d'une structure de primée pénétrant dans l'organe. Il reçoit sur sa face ventrale l'attache de la *fimbria ovarica* conduit qui l'unit à la trompe utérine. L'extrémité utérine de l'ovaire est caudale et donne insertion au ligament propre de l'ovaire qui s'étend de l'extrémité utérine de l'ovaire à l'extrémité correspondante de la corne utérine prolongeant le bord libre du mesovarium. Le mesovarium proximal est ample et mobile. Il est bordé par un ligament suspenseur de l'ovaire faible et peu distinct. Le mesovarium distal est au contraire bref, épais et chargé de fibres musculaires qui irradient jusque dans l'ovaire (figure 3). L'artère ovarique est très longue et émet un rameau utérin et tubaire 10 cm avant d'atteindre l'ovaire. La veine ovarique est courte et se jette dans la veine de la corne utérine correspondante qui se jette-t-elle même dans la veine cave caudale.

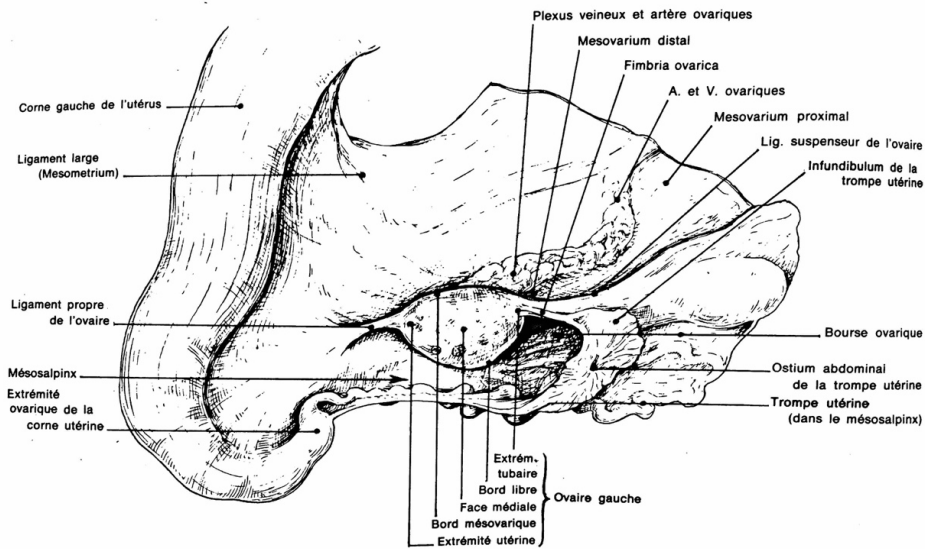
L'ovaire comporte une zone vasculaire centrale appelée médulla et une zone parenchymateuse périphérique, le cortex. Dans ce dernier, les follicules primordiaux et primaires sont nombreux. Les follicules tertiaires (figure 4) toujours multiples s'étendent en profondeur jusqu'à atteindre la médulla. Il en existe deux à trois générations au cours de chaque cycle. Certains se développent pendant la période de formation et d'activité du corps jaune: ces follicules sont voués à l'atrophie alors que se développent d'autres vagues.

Parmi les follicules de la dernière vague, quatre ou cinq peuvent atteindre une grande taille mais un seul devient déhiscent et peut atteindre une taille de 20 mm. Il fait alors une saillie très nette à la surface de l'ovaire que l'on peut sentir au doigt sous la forme d'une structure ronde en continuité avec la paroi de l'ovaire à consistance liquidienne (structure molle) lors de la palpation transrectale. Les corps jaunes présentent une évolution et une morphologie caractéristiques (figure 5), dans les deux jours suivant l'ovulation, la paroi folliculaire s'affaisse et se plisse. Elle s'épaissit et présente une forte hyperhémie.

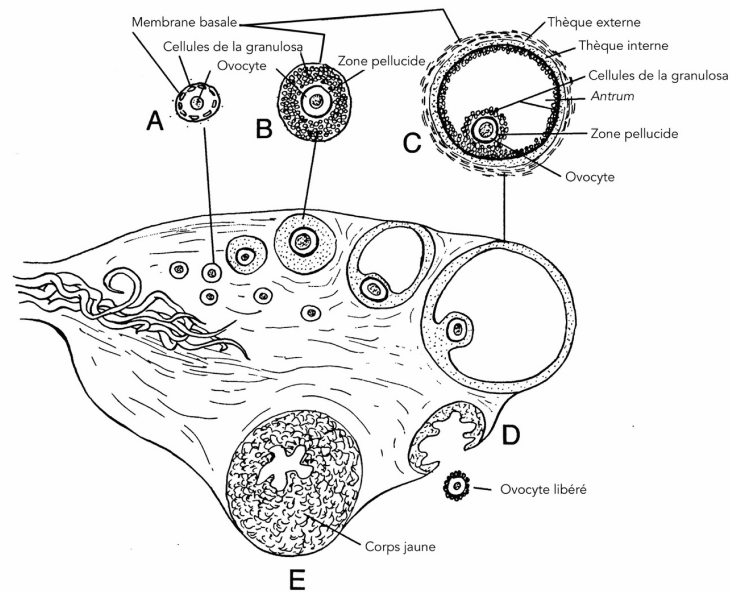
La multiplication cellulaire continue dans l'ancienne granulosa jusqu'à deux jours après l'ovulation et trois à quatre jours dans l'ancienne thèque tandis que s'organise le coagulum central. Le corps jaune est entièrement formé et occupe sur toute son épaisseur par le tissu glandulaire vers le 8ème jour. Il atteint alors 25 mm de large sur 35 mm de long. L'extrémité qui porte la cicatrice de l'ovulation se soulève et forme une saillie en surface délimitée à sa base, Saillie d'environ 1 cm de haut. Ce relief peut être facilement perceptible à travers la paroi rectale. Le Corps jaune secrète de la progestérone et son activité culmine du 9ème au 12ème jour puis la régression devient évidente. La saillie en surface diminue alors et le corps jaune devient fibreux et est appelé Corps blanc. À la palpation transrectale, le corps jaune apparaît comme une structure comprimée à sa base faisant saillie au niveau de l'ovaire comme un champignon ou un bouchon de Champagne (figure 5).

### **I-1-2-2 Trompes utérines :**

La trompe utérine est la partie initiale des voies génitales femelles. Il s'agit d'un conduit pair étroit et très flexueux, recevant les ovocytes libères par l'ovaire, abritant la fécondation et assurant le transfert de l'œuf fécondé jusqu'à l'utérus. La trompe se compose d'un infundibulum (ou pavillon), d'une ampoule et d'un isthme. L'infundibulum, à l'extrémité ovarique de la trompe, s'ouvre sur l'ovaire par un ostium et par de nombreuses franges libres dont la fimbria ovarica qui renforce le mesosalpinx et relie l'infundibulum à l'ovaire. Vient ensuite l'ampoule, branche de l'anse que décrit la trompe et enfin, l'isthme dont la terminaison peu distincte se raccorde de façon progressive à la corne de l'utérus. Porte par un mesosalpinx ample et flottant (figure 3), les trompes utérines sont des conduits très mobiles par rapport aux ovaires et facilement mobilisables lors de l'examen transrectal mais que l'on ne sent jamais. La trompe utérine contourne l'ovaire en passant à 3 ou 4 cm de son extrémité tubaire avant de revenir à sa face latérale. Son calibre présente peu de différence entre l'ampoule et l'isthme, d'un diamètre allant de 2 à 4 mm.



**Figure 3: ovaire et trompe utérine gauche de vache en vue latérale gauche (BARONE 2001)**



**Figure 4: coupe sagittale d'un ovaire montrant le développement d'un follicule et sa transformation en corps jaune (Frandsen, Wilke, et Fails (2009))**

*A. Follicule primaire, B. Follicule primordial, C. Follicule tertiaire, D. Ovulation, E. Corps jaune*

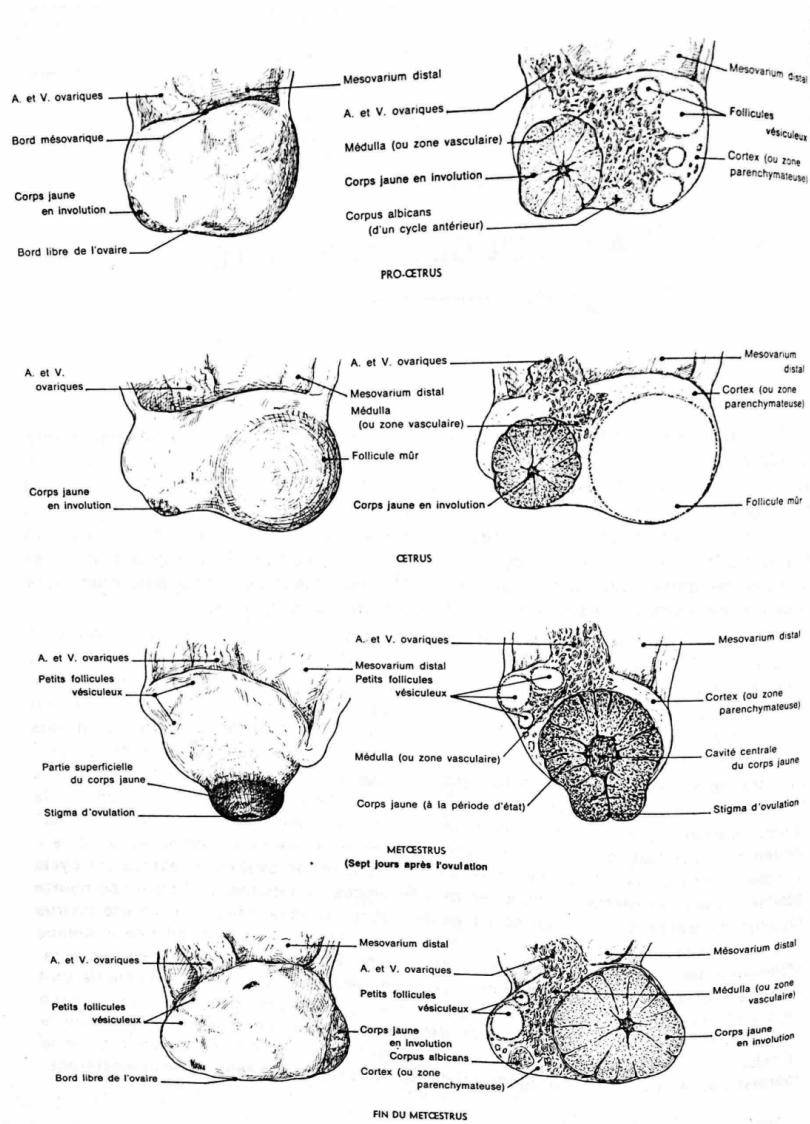


Figure 5: conformation et structure de l'ovaire chez la vache (2005)

L'*infundibulum* s'ouvre ventralement et médialement à l'ovaire. Les fibres longitudinales de la musculeuse se prolongent directement à la surface de la corne utérine tandis que la couche circulaire, noyée dans du tissu conjonctif, double la muqueuse de flexuosités. La lumière tubaire s'élargit de façon progressive pour se continuer par celle de l'utérus, extrémité tubaire avant de revenir à sa face latérale. Son calibre présente peu de différence entre l'ampoule et l'isthme, d'un diamètre allant de 2 à 4 mm. L'*infundibulum* s'ouvre centralement et médialement de l'ovaire. Les fibres longitudinales de la musculeuse se prolongent directement à la surface de la corne utérine tandis que la couche circulaire, noyée dans du tissu conjonctif, double la muqueuse de flexuosités. La lumière tubaire s'élargit de façon progressive pour se continuer par celle de l'utérus.

### **I-1-2-3 L'utérus :**

L'utérus bipartis vide de la vache (figure 2) est caractérisé par ses cornes, longues de 35 à 45 cm. Chacune d'elles est large de 3 à 4 cm à sa base et de 5 à 6 mm à son extrémité ovarique. Le corps est plus court (3 à 4 cm). La paroi s'amincit en s'éloignant du corps. Le col est quant à lui long d'une dizaine de centimètres et de 4 à 6 cm de diamètre. Les cornes sont incurvées en spirale en direction ventrale avec un bord libre fortement convexe (figure 2). Elles s'adossent longuement par leurs bases. Elles sont unies par deux ligaments interzonaux superposés, le ventral plus étendu que le dorsal.

Ces ligaments représentent les principales pièces d'accroches lors de la rétraction de l'utérus pendant l'examen transrectal. Le col est quant à lui peu discernable extérieurement, isole du corps par un léger rétrécissement. Il est pourtant très facilement repérable à la palpation lors de l'examen transrectal de par sa consistance très ferme.

Le *cavum* utérin qui constitue le corps et les cornes de l'utérus est toit et ses parois peu dilatables. Le *velum* utérin (figure 2), mince éperon vertical et médian sépare les cornes du corps de l'utérus. L'endomètre y est fortement plissé en long et présente des caroncules.

Outre de très fines rides longitudinales. Il existe dans chaque corne quatre gros plis qui se subdivisent par des sillons transversaux en une douzaine de segments chacun, chaque segment de pli s'isole de ses voisins et se soulève pour former une caroncule, celle-ci est peu saillante tant que la femelle n'est pas gravide. C'est un relief bas et arrondi excavé en son centre et dépourvu de glandes. Pendant la gestation, son volume augmente considérablement et cela devient un gros tubercule saillant et pédoncule d'aspect spongieux.

En effet, sa surface se creuse de cryptes nombreuses et profondes dont chacune reçoit un micro cotylédon du conceptus (totalité de l'embryon et de ses annexes).

Ainsi s'organise une placentation cotyledonnaire, chaque unité formée d'un cotylédon et d'une caroncule forme un placentome . On trouve environ 100 caroncules, les plus grosses étant situées dans le corps ou elles sont peu nombreuses. La paroi de l'utérus est composée de trois couches : une séreuse (perimetrium) Parcourue des nombreux vaisseaux et nerfs de l'utérus, une musculuse (myometre) et une muqueuse (endomètre). Le myometre possède une couche longitudinale (fibres musculaires lisses) tires épaisse, une couche moyenne soutenant un important réseau vasculaire et une couche circulaire à orientation transversale.

L'endomètre est quant à lui, caractérise par la présence des caroncules. Dans le dernier tiers du dioestrus, il est très mince. Durant le pro œstrus, la muqueuse s'épaissit. La congestion et l'œdème deviennent maximum lors de l'œstrus. Durant le metoestrus, l'œdème régresse mais les nombreux vaisseaux sanguins laissent échapper du sang qui teinte le mucus.

Le dioestrus est marqué par l'allongement et la prolifération des glandes de l'endomètresAinsi que par son invasion par des imphocytes et granulocytes. Ces phénomènes régressent feu a peu en l'absence de gestation. Les parois du col rigides délimitent un canal cervical irrégulier obture par des plis longitudinaux caractéristiques. Ces derniers sont découpés par des sillons de plus en plus profonds qui concourent à former trois ou quatre forts plis circulaires dont le dernier plus saillant forme le sommet de la portion vaginale du col.

Son revers externe est occupé par des plis radiaires prolongeant les plis longitudinaux du canal cervical. Découpés en franges serrées et dures, ils dessinent une collerette (fleur épanouie) que double une ride vaginale en forme de relief circulaire situé au Fond du fornix vaginal. Pendant l'œstrus, le col devient souple et e dilate. Au début du metoestrus, ses plis se relâchent et son canal donne issue à des glaires de chaleurs. A l'exclusion du col, l'utérus est entièrement abdominal mais s'y avance tires peu du fait de la conformation spiralée des cornes. Il est facilement explorable par voie rectale, sans même que l'avant--bras soit engage entièrement. Ses cornes s'appliquent contre le cul-de-sac dorsal du rumen et coiffent la partie craniale de la vessie. Durant la gestation, la corne gravide s'engage le plus souvent dans le recassas supra-omental et se place à droite et un peu ventralement au rumen. Le ligament suspenseur permet la suspension de l'appareil génital dans la cavité abdominale. Il se subdivise en trois parties : le mesovarium, le mesosalpinx (déjà énonces) et le Mesometrium ou ligament large.

Le ligament large est vaste et très divergent en direction craniale. Il est épais et solide, pourvu de nombreux aisceaux de fibres musculaires lisses. Il couvre latéralement la plus grande partie de l'uterus.

L'artère utérine naît avec l'artère ombilicale sur le début de l'artère iliaque interne. Le rameau destiné au corps utérin s'unit au rameau de l'artère vaginale. La veine utérine est faible alors que la veine vaginale se renforce cranialement à cette dernière, draine la plus grande partie de la corne et devient la racine utérine de la veine ovarique.

#### **I-1-2- 4 Le vagin :**

Presque trois fois plus long que son vestibule, le vagin (figure) mesure environ 30 cm. C'est un organe extrêmement dilatable, notamment pendant le part. La muqueuse présente des plis longitudinaux, plus accusés sur la paroi dorsale. Le fornix, sorte de cul-de-sac cranial au vagin et entourant le col, est nettement plus profond dans sa partie dorsale où il atteint jusqu'à 3 cm. L'hymen est peu saillant, représente par une étroite zone de petits plis longitudinaux, plus marqués ventralement. Il existe chez beaucoup de sujets un net rétrécissement annulaire à son niveau. Le péritoine tapisse à peine le quart cranial de l'organe et est particulièrement mobile et décollable du cul de sac recto génital.

#### **I -1-2-5 Le vestibule du vagin :**

Il n'est long que de 8 à 10 cm et incline ventro-caudalement entre les os ischiens. Ceci le rend aisément explorable. Son aspect finement granuleux est dû à la présence dans sa muqueuse, de nombreux nœuds lymphatiques. L'ostium externe de l'urètre, large de 2 cm environ est très dilatable et double ventralement par le diverticule suburetral dont l'entrée doit être évitée lors du cathétérisme de la vessie.

#### **I-1-2-6 La vulve :**

Les lèvres de la vulve (figure 2) sont épaisses, revêtues extérieurement d'une peau ridée pourvue de poils fins et courts et de nombreuses glandes sébacées. La commissure ventrale est aigüe et portée par une éminence cutanée longue de 4 à 5 cm, saillante en direction ventrale et pourvue d'une touffe de poils longs et raides.

### ***I-2 Physiologie :***

La femelle bovine non gestante possède une activité sexuelle cyclique à partir de sa puberté (6-12 mois) qui se traduit par une succession d'événements se reproduisant à intervalles réguliers selon un rythme propre aux bovins (MONTMEAS L., 2013). La vache, comme les autres ruminants domestiques, est polyoestrienne et ses cycles œstraux se répètent en principe toute l'année. La durée du cycle est de 21 jours en moyenne avec des variations individuelles de 15 à 25 jours. Chaque cycle est composé de deux phases : la phase lutéale (14 à 18 jours) et la phase folliculaire (4 à 6 jours) (CROWE M. A., 2011). Le proœstrus dure 3 à



4 jours, l'œstrus, bref, de 16 à 20 heures et l'ovulation s'effectue une quinzaine d'heures plus tard. Le metoestrus, de 2 à 3 jours est suivi d'un dioestrus de 13 à 15 jours. L'espèce est unipare mais la gestation peut parfois être gémellaire et rarement triple. Il existe des observations de gestation quadruple et même quintuples mais dans ces cas, la survie des produits est exceptionnelle.

### I-2-1 Le fonctionnement ovarien :

La zone corticale de chaque ovaire contient des structures cellulaires, appelées follicules qui se trouvent à différents stades d'évolution chez l'adulte.

De plus petits au plus gros (Figure 6), on trouve les follicules primordiaux, les follicules primaires, secondaires, tertiaires et les follicules De Graaf (MONTMEAS L., 2013).

Les follicules primordiaux sont de très faible dimension (20 µm) et chaque follicule primordial est constitué d'un ovocyte primaire bloqué en première division méiotique. Ils sont très nombreux dans la période néonatale et la majorité d'entre eux dégénère par la suite. Au stade follicule primaire, l'ovocyte présente une ébauche de zone pellucide (BARONE R., 2001).

Le volume du follicule s'est un peu accru, et l'ovocyte est entouré d'une couche de cellules cubiques ou cylindriques (MONTMEAS L., 2013). Au stade de follicule secondaire, l'ovocyte atteint sa taille maximale. Les cellules présentes autour de l'ovocyte se multiplient activement pour former un amas de plus en plus important, la granulosa qui a un rôle nourricier pour le gamète femelle (MONTMEAS L., 2013). A ce stade, la zone pellucide est bien visible, et une étroite zone de transition est apparue entre elle et l'ovocyte (BARONE R., 2001). Les follicules tertiaires ou follicules à *antrum*, ont une cavité remplie de liquide folliculaire sécrété par les cellules de la granulosa sous l'action de la FSH. A ce stade, les thèques internes et externes sont bien différenciées (MONTMEAS L., 2013).

Ces follicules tertiaires ont donc l'aspect d'une vésicule sphérique emplies de liquide, et deviennent bientôt visibles à l'œil nu (BARONE R., 2001). Les follicules de De Graaf sont les follicules mûrs, ou pré ovulatoires, les plus volumineux (12-19 mm de diamètre chez la vache), et ils se distinguent par :

- Une cavité (*antrum*) très volumineuse
- Une thèque interne richement vascularisée dont les cellules synthétisent des androgènes
- Une granulosa très développée, dont les cellules transforment en œstrogènes les androgènes produits par la thèque interne (MONTMEAS L., 2013). Les follicules de De Graaf sont alors de gros follicules sur le point de libérer leur ovocyte par déhiscence (BARONE R., 2001)

**I-2-1-1 La folliculogénèse :**

Dans le cortex ovarien, il existe une réserve de follicules primordiaux, primaires et secondaires. La folliculogénèse est la succession des différentes étapes du développement du follicule, depuis le moment où il sort de la réserve jusqu'à sa rupture (MONTMEAS L., 2013). La sortie de la réserve dure plusieurs mois. En effet, la croissance folliculaire s'effectue en 175 jours environ, dont environ une semaine pour la croissance terminale pré ovulatoire. Cette croissance folliculaire pré ovulatoire comprend trois étapes : recrutement, sélection et dominance. Concernant le développement terminal, on parle de « vagues folliculaires » car le développement des follicules se fait par vagues. Chez la vache, il y en a en moyenne 3 par cycle. La première vague folliculaire commence le jour 1 du cycle, c'est-à-dire le lendemain de l'ovulation. Les vagues suivantes commencent à des moments du cycle variés selon les individus, sachant que plus le cycle est long chez une femelle plus le nombre de vagues est important (STEVENSON J. F., 2007). Chaque vague consiste en l'émergence, tous les 7 à 9 jours environ, de plusieurs follicules tertiaires antraux de diamètre égal ou supérieur à 2 mm, c'est l'étape de recrutement.

Durant cette étape, la croissance des follicules est dépendante de la FSH. Puis, au-delà d'un diamètre de 8 mm environ, un follicule est sélectionné parmi les follicules recrutés. Ce follicule acquiert des récepteurs à la LH et peut continuer sa croissance tandis que les autres follicules recrutés s'atrophient. Il s'agit de la phase de sélection. Enfin, ce follicule finit sa croissance sous l'influence de la LH et finit par atteindre une taille d'environ 15 mm. C'est la phase de dominance.

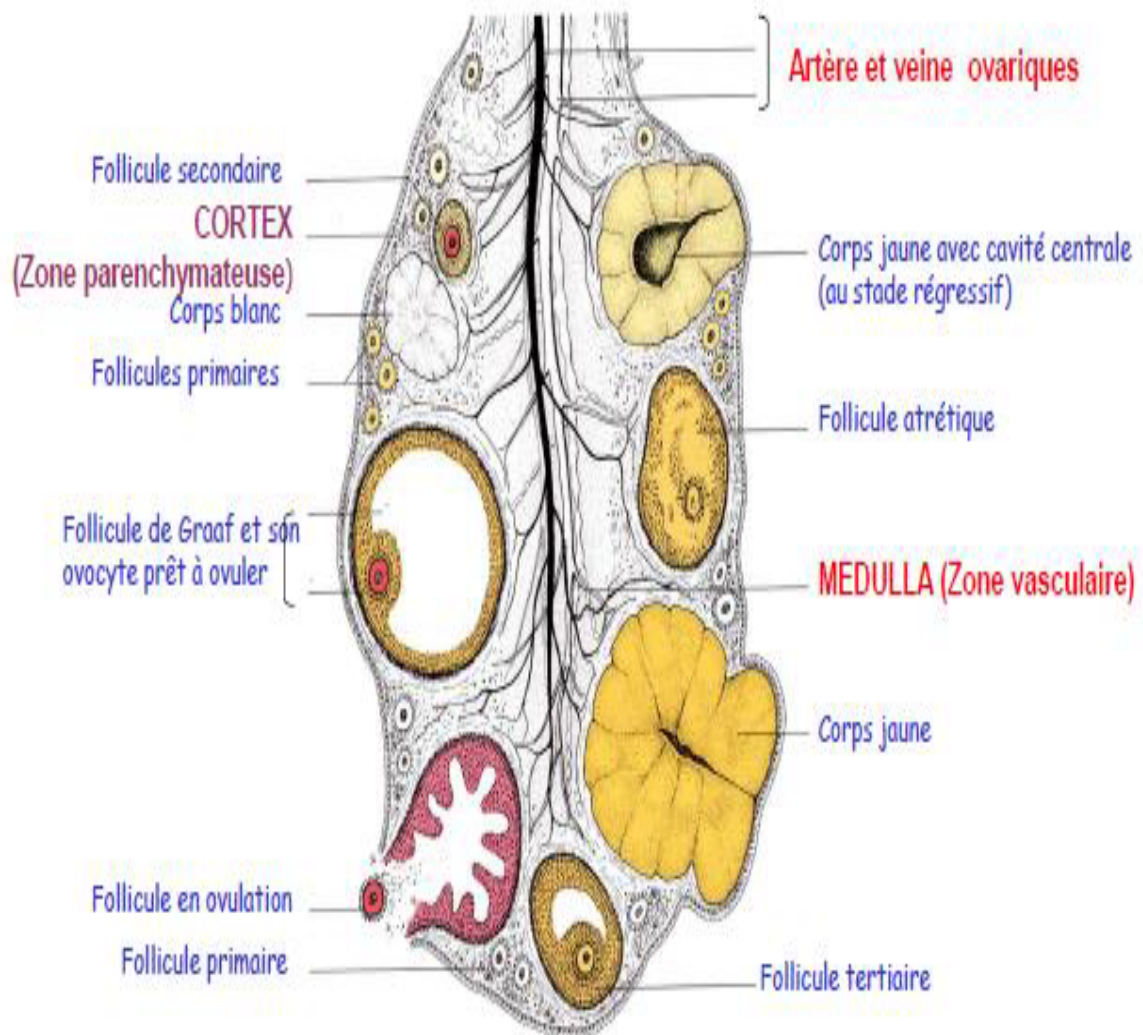


Figure 6: schéma des différents stades folliculaires de l'ovaire chez la vache (d'après H E KONKING et H.G .LIEBICH, 2004)

Dans le cas où un corps jaune est présent, le follicule dominant s'atrophie et une nouvelle vague démarre. Si un corps jaune n'est pas présent, le follicule dominant peut alors terminer sa croissance et ovuler (LAIZEAU, 2003). Si 3 vagues sont observées, elles débutent en général aux 2<sup>ème</sup>, 9<sup>ème</sup> et 16<sup>ème</sup> jours du cycle. Si 2 vagues sont observées, elles débutent en général aux 2<sup>ème</sup> et 11<sup>ème</sup> jour du cycle, ce qui explique la variation de longueur des cycles parfois observée (LAIZEAU, 2003).

### **I-2-1-2 L'ovulation :**

L'ovulation est la libération d'un ou plusieurs gamètes femelles aptes à être fécondés après rupture d'un ou plusieurs follicules pré ovulatoires. La rupture du follicule ne se fait pas par augmentation de la pression interne mais grâce à la fragilisation des parois (MONTMEAS L., 2013), afin d'optimiser le moment de l'accouplement ou de l'insémination, il est important de déterminer le moment de l'ovulation par rapport aux comportements de chaleurs de la femelle qui sont les seuls signes visibles pour l'éleveur. Chez la vache, l'ovulation a lieu 24 à 30 heures après le début de l'œstrus en moyenne. Donc en pratique, si l'éleveur observe une femelle en chaleurs le matin, il l'insémine le soir suivant (ou le matin suivant si les chaleurs sont le soir). Après l'ovulation, le follicule subit des transformations morphologiques et fonctionnelles qui conduisent à l'apparition du corps jaune.

### **I-2-1-3 Le corps jaune :**

Le corps jaune s'observe donc à l'emplacement du follicule de De Graaf ayant ovulé. Il est constitué de cellules lutéiniques qui sont colorées par un pigment orangé, la lutéine. Ces cellules lutéiniques dérivent des cellules de la granulosa et de la thèque interne, et sont des cellules sécrétrices de progestérone. Le corps jaune (MONTMEAS L., 2013) a une forme sphérique ou ovoïde chez la vache, avec un diamètre de 20 à 25 mm (Figure 8).

Le corps jaune devient fonctionnel 1 à 2 jours après l'ovulation (MONTMEAS L., 2013). Son poids et sa sécrétion de progestérone augmentent rapidement jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour du cycle, puis restent constants jusqu'au 16<sup>ème</sup> jour (CROWE M. A., 2011). A la fin de cette phase, le corps jaune peut connaître deux destins différents :

- S'il n'y a pas eu fécondation, il n'y a alors pas de gestation et le corps jaune régresse. C'est ce que l'on appelle la lutéolyse qui a lieu au 17<sup>ème</sup> jour du cycle (MONTMEAS L., 2013). Cette lutéolyse est induite par la principale hormone lutéolytique, la prostaglandine F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ), sécrétée par l'utérus. Bien que de taille réduite et non fonctionnel, le corps jaune reste présent dans l'ovaire (CROWE M. A., 2011).

- S'il y a eu fécondation, et qu'il y a une gestation, le corps jaune évolue en corps jaune PGF2 $\alpha$  par l'utérus, et donc la lutéolyse. La reconnaissance maternelle chez la vache a lieu entre le 15ème et le 17ème jour du cycle (MONTMEAS L., 2013).

#### **I-2-1-4 Une activité cyclique :**

Les bovins femelles présentent une activité ovarienne cyclique, à mettre en lien avec les chaleurs qui apparaissent en moyenne tous les 21 jours en l'absence de gestation. Cette manifestation régulière du comportement de chaleurs, fait apparaître la notion de cycle estrien. Le cycle ovarien se décompose en deux phases en prenant l'ovulation comme point de départ. Après l'ovulation, on a une première phase de prédominance du ou des corps jaunes, appelée phase lutéale qui dure 17 jours en moyenne. Puis on a une seconde phase de régression des corps jaunes, mais surtout de croissance folliculaire, appelée phase folliculaire ou pré ovulatoire, qui dure 4 jours.

##### **I-2-1-4-1 Phase lutéale :**

Cette phase correspond à la lutéogenèse et à la lutéotrophie, elle est la plus longue et débute immédiatement après l'ovulation (MONTMEAS L., 2013). Elle s'achève par le début de la lutéolyse et le recrutement du ou des follicules cavitaires qui ovuleront au début du cycle suivant. Cette phase lutéale qui dure 17 jours en moyenne peut être divisée en deux phases correspondantes à deux phases du cycle estrien. Durant les 4 premiers jours, on parle de metoestrus qui correspond à la période de croissance du corps jaune qui atteint sa taille maximale. Ensuite, tant que le corps jaune est présent et fonctionnel, on parle de dioestrus, cette phase a une durée de 13 jours (BALL P. J. H. and PETERS A. R., 2004).

##### **I-2-1-4-2 Phase folliculaire :**

Cette phase pré-ovulatoire débute à la lutéolyse et dure 4 jours. C'est durant cette période qu'a lieu la croissance terminale d'un ou plusieurs follicules de De Graaf destinés à ovuler (MONTMEAS L., 2013). Pendant que le corps jaune régresse, on parle de pro-œstrus pendant 3 jours.

Le 4ème et dernier jour de cette phase folliculaire correspond à l'œstrus, période durant laquelle la femelle est réceptive sexuellement (BALL P. J. H. and PETERS A. R., 2004). L'œstrus aboutit alors à l'ovulation qui marque le début d'un nouveau cycle sexuel

**I-2-2 Contrôle hormonal :****I-2-2-2-1 Les hormones hypothalamo-hypophysaires :**

Les hormones hypophysaires qui nous intéressent ici sont la LH (luteinizing hormone) et la FSH (follicule stimulating hormone). Ce sont deux hormones protidiques sécrétées par les cellules gonadotropes de l'antéhypophyse. On parle de gonadotropines car elles vont agir directement sur les ovaires. Comme leur nom l'indique, la FSH est une hormone folliculostimulante alors que la LH est une hormone lutéinisante (MONTMEAS L., 2013).

L'hormone hypothalamique est quant à elle la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone). Comme son nom l'indique, elle stimule le relargage des hormones gonadotropes.

**I-2-2-1-1 FSH :**

Chez la femelle, la FSH est la principale hormone qui stimule la croissance des follicules lors des cycles ovariens (CROWE M. A., 2011). Ses deux autres rôles sont aussi de préparer l'action de la LH et de stimuler la synthèse des œstrogènes par les follicules (MONTMEAS L., 2013).

**I-2-2-1-2 LH :**

La LH a une action commune avec la FSH qui est la maturation finale des follicules. Surtout, la LH est connue pour être l'hormone provoquant l'ovulation, et induisant alors la formation du corps jaune et la synthèse de progestérone (MONTMEAS L., 2013).

**I-2-2-1-3 GnRH :**

La GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) est sécrétée de manière pulsatile par les neurones de l'hypothalamus dans le système vasculaire porte. Elle est ainsi transportée jusqu'à l'antéhypophyse où elle stimule la sécrétion des gonadotropines (la LH et la FSH) (CROWE M. A., 2011).

**I-2-2-2 Les hormones stéroïdiennes :**

Chez la femelle, les deux principales hormones stéroïdiennes que l'on trouve sont les œstrogènes et la progestérone. Ce sont des hormones lipidiques, fabriquées à partir d'un précurseur commun qui est le cholestérol. Elles sont sécrétées par les ovaires, mais aussi par le placenta et les glandes surrénales (MONTMEAS L., 2013).

**I-2-2-2-1 Œstrogènes :**

Étymologiquement, le mot « œstrogène » signifie « qui engendre l'œstrus ». Ce sont des hormones sécrétées par les follicules de l'ovaire et qui ont pour rôle majeur de provoquer

les chaleurs chez la femelle (MONTMEAS L., 2013). De plus, les œstrogènes ont aussi une action sur le complexe hypothalamo-hypophysaire. En effet, à forte dose ils exercent un rétrocontrôle positif sur la production de GnRH, LH et FSH, alors qu'ils ont un rétrocontrôle négatif sur ces mêmes hormones à faible dose (MONTMEAS L., 2013).

#### ***I-2-2-2-2 Progestérone :***

De son côté, « progestérone » signifie « qui permet la gestation ». Elle est sécrétée par le corps jaune de l'ovaire, et comme son nom l'indique, elle permet le maintien de la gestation.

Tout comme les œstrogènes, la progestérone a également un rôle sur le complexe hypothalamo-hypophysaire en inhibant la sécrétion de GnRH, de LH et de FSH (MONTMEAS L., 2013).

#### ***I-2-2.2.3 Les prostaglandines :***

C'est un groupe d'hormones lipidiques dont la plus importante pour la reproduction est la PGF2 $\alpha$ . Cette hormone a plusieurs rôles en reproduction, dont le principal est le déclenchement de la régression du corps jaune. Ce rôle de lutéolyse est assuré par l'utérus qui produit la PGF2 $\alpha$  (MONTMEAS L., 2013).

### **I-2-3 Les régulations hormonales dans le cycle :**

Comme nous l'avons vu précédemment, le cycle ovarien se décompose en deux phases. La phase lutéale qui dure 17 jours, et la phase folliculaire qui dure 4 jours.

#### **I-2-3-1 Lors de la phase lutéale :**

Prenons comme point de départ l'ovulation pour décrire les phénomènes hormonaux cycliques, point de départ que nous nommerons J0. Sous l'action de la LH, qui a provoqué l'ovulation, le corps jaune se forme et devient fonctionnel en sécrétant de la progestérone à J2. Ainsi la progestéronémie augmente jusqu'à atteindre un plateau. Le taux de progestérone est alors élevé tout le long de la phase lutéale.

Durant les 17 jours de la phase lutéale, la progestérone exerce un rétrocontrôle négatif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire (Figure 10) limitant la production de GnRH et donc les sécrétions de LH et de FSH.

Cette faible pulsativité de la LH empêche l'ovulation des follicules dominants des premières vagues folliculaires. De plus, la progestérone agit également au niveau de l'utérus, en le préparant à une éventuelle gestation (Figure 7). Pour cela, elle induit un repos utérin en inhibant les contractions du myomètre et stimule le développement et la vascularisation de l'endomètre. Durant la phase lutéale ont lieu les premières vagues folliculaires (Figure 7). En

effet, juste après l'ovulation, le taux de FSH augmente et stimule l'apparition d'une nouvelle vague. L'ovulation du follicule dominant engendre une forte diminution du taux d'œstrogènes, ce qui aboutit à une diminution importante du rétrocontrôle négatif exercé sur la FSH. Cette augmentation de la FSH initie la phase de recrutement.

Durant cette phase, la croissance terminale d'une cohorte de follicules gonadodépendants est sous dépendance de la FSH. On constate l'émergence tous les sept à neuf jours d'une cohorte de follicules sous l'action de cette hormone (MONNIAUX D., 2012). La FSH se fixe sur les récepteurs de la granulosa, stimule la formation d'œstrogènes et induit la formation de récepteurs à la LH. L'augmentation du taux d'œstradiol associée à une augmentation du taux d'inhibine, va limiter la synthèse et la libération de la FSH. Cette diminution de la libération de la FSH va être à l'origine de la phase suivante (DEZAUX P., 2001).

A partir de cette phase (la sélection), la croissance du follicule devient dépendante de la LH. En effet, quand un follicule a acquis suffisamment de récepteurs à LH pour lui permettre de subsister à faible taux de FSH, il sécrète de grandes quantités d'œstrogènes et continue à croître en raison de l'augmentation de sa propre sensibilité à la FSH et à la production de facteurs de croissance locaux, l'IGF-1 (Insulin-like Growth Factor 1). Pour les follicules non sélectionnés, la sécrétion réduite de FSH ne permet plus la croissance (DEZAUX P., 2001).

Enfin, lors de la phase de dominance, le follicule sélectionné échappe à l'atréisie initiale, alors que les autres follicules voient leur croissance arrêtée. Ainsi, le follicule dominant continue de croître. Cette croissance peut aboutir à :

- L'atréisie si on se trouve durant la phase lutéale
- L'ovulation si on se trouve durant la phase folliculaire (CROWE M. A., 2011).

### **I-2-3-2 Lors de la phase folliculaire :**

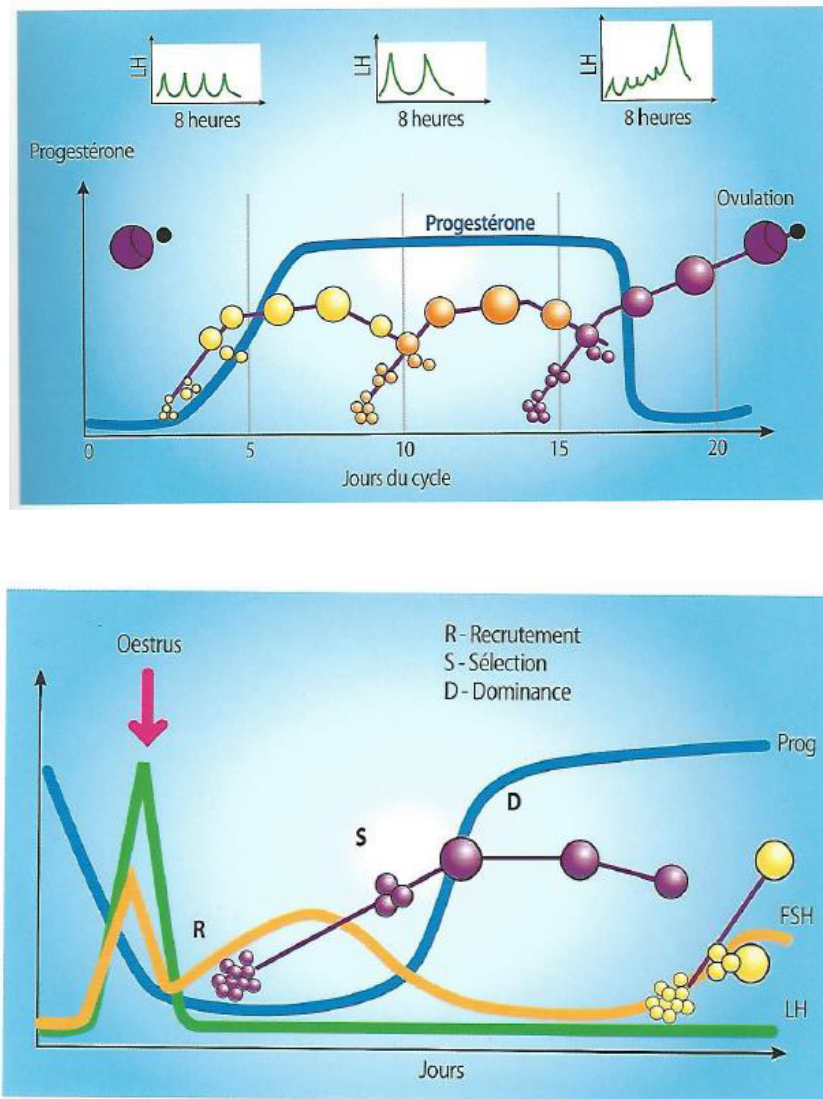
A J17 en absence de fécondation, et donc de signal embryonnaire, l'utérus produit la PGF2 $\alpha$ . Cette hormone induit la lutéolyse et donc une chute du taux de progestérone. C'est le début de la phase folliculaire. Le rétrocontrôle négatif de la progestérone sur le complexe hypothalamo-hypophysaire est levé et la sécrétion de FSH et de LH augmente progressivement. Le follicule dominant de la dernière vague folliculaire voit son développement stimulé par les hormones hypophysaires, et se met à produire des œstrogènes en quantité croissante.



Les œstrogènes induisent le comportement d'œstrus à J21. Lorsque le taux d'œstrogènes atteint un seuil, ils exercent un rétrocontrôle positif sur le complexe hypothalamo-hypophysaire. Cette stimulation de l'hypothalamus engendre une production massive de GnRH qui va agir au niveau de l'antéhypophyse. Sous cet effet, l'antéhypophyse réagit avec une production massive de FSH et LH, et le pic de LH induit l'ovulation à J21 (Figure 7).

#### **I-2-4 Fécondation et développement embryonnaire précoce :**

Comme nous l'avons vu précédemment après l'ovulation, l'ovocyte est récupéré par la trompe utérine via l'ostium abdominal. Grâce aux mouvements des cils, l'ovocyte est amené jusqu'à l'ampoule tubaire où a lieu la fécondation. Le spermatozoïde pénètre l'ovocyte dans les deux heures suivant l'ovulation, cette pénétration déclenche l'expulsion par l'ovocyte du second globule polaire, la reprise de la mitose cellulaire. Les deux premiers blastomères de forment ainsi une trentaine d'heures après la fécondation, puis la seconde division cellulaire a lieu 10 à 12 heures plus tard, depuis la fécondation, la taille de l'embryon ne change pas (70-140 microns), du fait de la présence de la zone pellucide, cette structure supplémentaire a un double rôle ; elle maintient les blastomères ensemble et leur assure aussi un milieu péri vitellin adéquat grâce à un rôle de filtration (HANZEN C. et al., 1999).



**Figure 7** : Les vagues folliculaires chez la vache et leur contrôle hormonal (Guide de la fertilité bovine , CEVA)

Les divisions cellulaires suivantes sont asynchrones et aboutissent à deux populations cellulaires. Une population de petite taille qui va donner naissance au bouton embryonnaire (divisions précoces), et une autre de grande taille qui est à l'origine du trophoblaste ou trophoblaste.

Les études de Hackett *et al.* (1993) montrent qu'au 4ème jour suivant l'insémination 72% des embryons, quelle que soit leur qualité, sont au stade 8 cellules, au 5ème jour 78% sont au stade 16 cellules et au 6ème jour 81% sont au stade plus de 16 cellules. Ces divisions cellulaires aboutissent à la formation d'une morula, soit un stade 32-64 cellules, qui va être l'objet de la compaction qui est le plus souvent observé 5 à 6 jours après la fécondation. Cette étape de compaction est suivie de la formation d'une cavité blastocoelique (blastocœle) et donc du blastocyste (HANZEN C. et al., 1999). Ce qui est intéressant, c'est d'observer qu'après sa formation, le blastocyste comprend rapidement une centaine de cellules et que sa taille grandit par accumulation de liquides (il atteint 400-700 microns au 9ème jour). Il en résulte un amincissement de la membrane pellucide qui est à l'origine de sa rupture.

L'éclosion, c'est-à-dire la sortie du blastocyste hors de sa pellucide, a lieu vers les 9ème-10ème jours post-fécondation. Cette éclosion ne résulte pas d'une lyse enzymatique, mais de la formation d'un point de perforation. Ce processus a une durée moyenne de 12 heures (HANZEN C. et al., 1999). Ensuite, le phénomène d'implantation de l'embryon, a lieu en moyenne vers le 20ème-30ème jour de gestation grâce à un processus d'adhésion entre les structures embryonnaires et maternelles (HANZEN C. et al., 1999).

---

# **Chapitre II**

## Physiologie de la gestation

---

Chez les bovins, la durée moyenne de la gestation est de 282 jours. Cette gestation peut être décrite en trois phases successives : la vie libre de l'œuf, l'implantation du conceptus et la phase placentaire.

### ***II-1 Le développement embryonnaire :***

#### **II-1-1 La vie libre de l'œuf :**

La fécondation a lieu dans l'ampoule de l'oviducte environ 20h après l'ovulation et se caractérise par la fusion des gamètes mâle (spermatozoïde) et femelle (ovocyte). L'ovocyte bloqué en métaphase II lors de l'ovulation, reprend sa division cellulaire. Une fois la fécondation réalisée, l'œuf formé entreprend ses divisions. La première division a lieu vers la 8ème heure après la fécondation (Bencharif, et al., 2003). Vingt-quatre heures après la fécondation, l'œuf se divise quatre fois, sans modification de taille, aboutissant à la formation d'une morula (32 cellules). Sept à huit jours après la fécondation, la taille de la morula n'a pas augmenté, elle migre le long de l'oviducte et atteint l'utérus. La morula se creuse d'une cavité blastocoelique. C'est la formation du blastocyste. Celui-ci est sphérique avec une cavité centrale, le blastocœle, complètement entouré par une assise cellulaire appelée trophoctoderme ou trophoblaste et par un petit groupe de cellules situé sous le trophoctoderme, le disque embryonnaire.

Neuf à dix jours après la fécondation, la zone pellucide s'amincit jusqu'à provoquer sa rupture, c'est l'éclosion. Le blastocyste entre dans une période de croissance considérable. Cette élongation favorise l'établissement des premiers contacts cellulaires entre le trophoblaste et l'épithélium utérin, ce qui empêche la sécrétion du facteur lutéolytique. De 150µm avant éclosion, le conceptus bovin mesure 15 à 20 mm au terme de cette phase d'élongation (Constant, et al., 2006). La longueur de la vésicule embryonnaire présente toutefois des variations interindividuelles importantes, elle mesure entre 7 et 24 mm au 16e jour de gestation, alors que son diamètre est constant.

#### **II-1-2 Phase de l'implantation :**

Après la phase de vie libre dans la corne utérine, le blastocyste se fixe sur l'endomètre et s'y implante plus ou moins profondément. L'implantation de l'œuf sur la paroi utérine est une stratégie reproductive qui assure efficacement la nutrition et la protection des embryons.

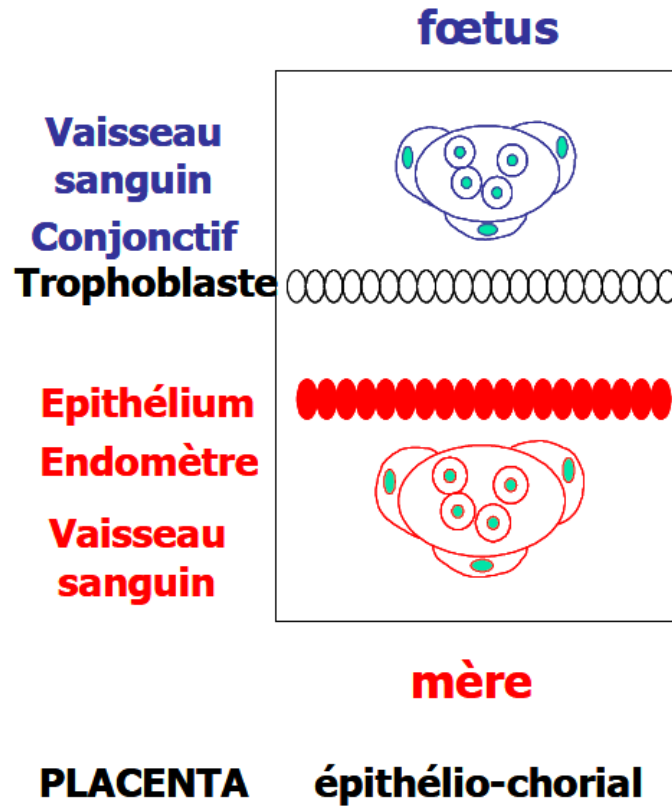
Cette implantation est tardive et lente chez la vache vers le 19ème jour (Guillomot, 2001) et aboutit à la mise en place des structures placentaires. Il s'agit d'une suite d'interactions complexes caractérisées par des degrés divers de contact entre le tissu maternel

et fœtal, soit : l'orientation du blastocyste et l'accolement, l'apposition du blastocyste éclos à la muqueuse utérine, l'adhérence des cellules du trophoctoderme aux cellules de la muqueuse utérine et l'invasion de l'endomètre.

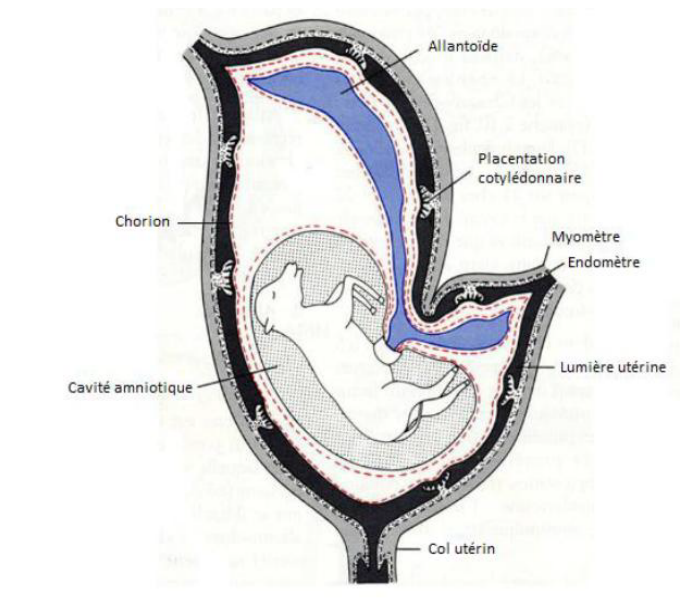
### **II-1-3 Formation du placenta et annexes fœtales :**

#### **II-1-3-1 Formation du placenta :**

La placentation épithélio-choriale de type cotylédonaire avec 6 couches cellulaires séparant le sang maternel du sang fœtal se met en place progressivement par apposition et /ou fusion de cellules épithéliales de l'endomètre et du trophoblaste (Figure 8). Chez la vache, le trophoblaste n'envahit pas la muqueuse utérine. Vers le 19<sup>e</sup> jour, les premiers contacts cellulaires sont d'abord observés dans la zone proche de l'embryon, puis ils s'étendent le long du sac chorionique et vers l'extrémité des cornes utérines. Au cours de l'**apposition**, la membrane plasmique du trophoblaste est encore apposée de manière lâche sur les cellules utérines. Pendant cette phase, des proliférations villosités du chorion s'enfoncent dans les orifices des glandes utérines. C'est la formation d'un premier placenta, diffus, absorbant le contenu des sécrétions glandulaires qui vise à disparaître à la fin du processus implantatoire à J25. L'apposition laisse place à l'**adhésion** qui est assurée par l'inter digitation des microvillosités des cellules épithéliales utérines et de la membrane plasmique des cellules trophoblastiques (Constant, et al., 2006). Puis à partir de J30, l'enveloppe la plus externe du conceptus, le **chorion** présente sur sa surface externe des microvillosités cotylédonaires qui s'engrènent dans les formations spécialisées de la muqueuse utérine : les caroncules utérines. L'association d'un cotylédon et d'une caroncule forme un placentome, véritable surface d'attache utéro placentaire. Chez la vache, ils sont en nombre important, de 60 à 120 lors de gestation simple. Les espaces inter cotylédonaires lisses forment le para placenta. L'ensemble des éléments, placentomes et para placenta concourent à former le placenta dans son entièreté (Figure 9).



**Figure 8:** placentation épithélio-choriale de la vache



**Figure 9:** placentation et annexes extraembryonnaires chez les bovins

### **II-1-3-2 Formation des annexes fœtales :**

Il y a formation de trois annexes fœtales : le sac vitellin, l'allantoïde et l'amnios, toutes entretenant des rapports avec le chorion et participant à la formation et au fonctionnement du placenta (Figure 9).

- Le sac vitellin : formé dès le début de l'implantation, il est transitoire. Il contient un réseau vasculaire relié à l'embryon.
- L'allantoïde : il se développe durant la régression du sac vitellin. Il forme un sac à paroi mince et transparente qui s'étend d'une extrémité à l'autre du sac chorial. Il est uni à l'embryon à travers le cordon ombilical par le pédoncule allantoïdien. Son réseau vasculaire perfuse le placenta tout au long de la gestation.
- L'amnios : formé par des replis du trophoblaste. Il protège le fœtus en maintenant autour de lui un liquide amniotique.

### **II-2 Physiologie placentaire :**

Le placenta est un organe d'échange entre la mère et le fœtus qui assure la respiration, la nutrition du fœtus, ainsi que sa protection contre les bactéries et les substances toxiques. Il présente également une activité endocrine indispensable à l'initiation et au maintien de la gestation ainsi qu'à la croissance fœtale.

#### **II-2-1 : Fonction métabolique du placenta**

Les échanges placentaires sont essentiels à la physiologie du fœtus. Le placenta est un filtre sélectif. Il permet le transport de nutriments : l'eau, l'oxygène, les minéraux et les matières organiques de la mère au fœtus et le transfert des déchets comme l'urée et le gaz carbonique du fœtus à la mère.

#### **II-2-2 Fonction endocrine du placenta :**

Le placenta des ruminants peut être considéré comme un organe endocrine transitoire qui produit un grand nombre d'hormones dont les hormones stéroïdiennes (progestérones, œstrogènes) et des hormones protéiques (hormones lactogène placentaire, protéines spécifiques de la gestation) ainsi que des facteurs de croissance (**HAGEN, 2012**). Cette fonction endocrine est en grande partie assurée par les cellules binucléées (Figure 10). Ces cellules binucléées dérivent des cellules unis nucléées trophoblastiques.

Ces cellules possédant un appareil de Golgi très développé sont capables de migrer à travers l'épithélium utérin et de relarguer directement dans la circulation maternelle les produits de synthèse stockés dans des granules denses. De cette façon les cellules binucléées

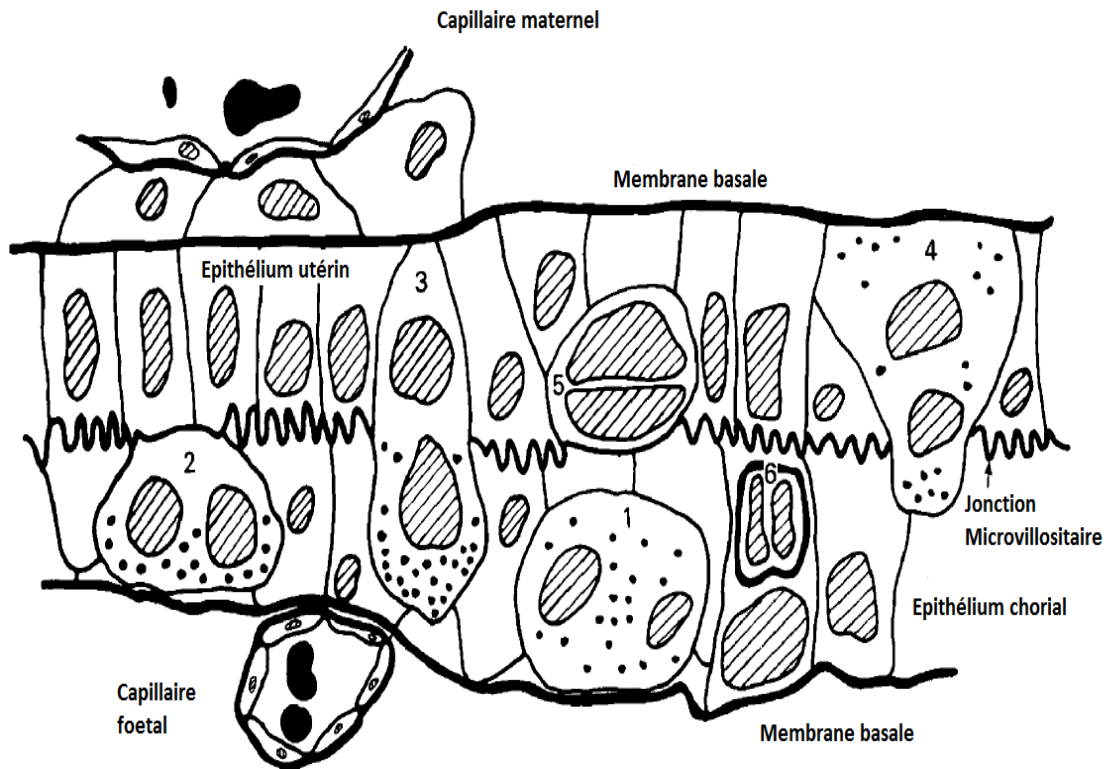


sont directement impliquées dans la production de progestérone, des prostaglandines, de l'hormone lactogène placentaire et des glycoprotéines associées à la gestation. Au cours de la gestation, les cellules binucléées représentent jusqu'à 20% des cellules du trophoctoderme (Ayad, et al., 2006).

### **II-2-2-1 Progestérone :**

La progestérone exerce différents effets biologiques qui sont nécessaires à la mise en place et au maintien de la gestation. Tout au long de la gestation, le corps jaune en représente la source principale. Au fur et à mesure que progresse la gestation, la sécrétion progestéronique ovarienne est suppléée par le placenta mais la production de progestérone via les ovaires reste indispensable jusqu'au 200<sup>e</sup> jour de gestation. Les effets biologiques de la progestérone au cours de la gestation sont les suivants :

- La sécrétion de progestérone est indispensable à la progression du zygote dans les trompes utérines et à sa descente dans l'utérus.
- La progestérone stimule les sécrétions utérines qui vont servir de nutriment pour le conceptus avant son implantation et permettre sa survie dans le tractus génital.
- La progestérone agit sur les cellules du myomètre pour inhiber leur activité contractile. L'inhibition des contractions utérines n'est cependant pas totale.
- Sous l'influence de la progestérone, le mucus cervical peu abondant change de consistance : il devient visqueux, opaque et épais, il forme un bouchon qui obstrue le canal cervical et protège le contenu utérin du milieu extérieur.
- La progestérone stimule la mammogénèse. La croissance et le développement des glandes mammaires permettent le démarrage de la lactation immédiatement après la parturition.



**Figure 10:** Représentation schématique de la migration des cellules binucléées chez la vache (ayad et al 2006)

- 1) Cellules binucléées ;
- 2) Contact avec les microvillosités ;
- 3) Fusion avec les cellules maternelles et formation de cellules tri nucléées à vie courte ;
- 4) Exocytose des granules ;
- 5) Cellules tri nucléées présentant un cytoplasme réduit et un nucleus dense ;
- 6) Cellule réabsorbée par le trophoctoderme

**II-2-2-2 Œstrogènes :**

En milieu de gestation le placenta devient un vrai lieu de synthèse d'œstrogènes (Guilbault, et al., 1985). L'**œstrone-3-sulfate** (principal œstrogène sécrété) commence à être détecté à un moment très variable selon les individus, allant du 70e au 100e jour de gestation. Sa concentration plasmatique maternelle augmente au cours de la gestation puis atteint un plateau autour de 15 à 30 ng/ml peu avant la mise bas (Constant, et al., 2006).

Le rôle des œstrogènes produits au cours de la gestation chez la vache n'est pas complètement élucidé. Aucun organe cible n'est clairement identifié. Les œstrogènes d'origine trophoblastique favoriseraient la vascularisation locale au moment de l'implantation ainsi que la synthèse des protéines œstrogène-dépendantes (Fleet, et al., 1982). En concentration élevée, les œstrogènes auraient des propriétés immunosuppressives en supprimant l'activité des cellules NK (cellules « Natural killer ») pendant la gestation (Gabrilovac, et al., 1988). Le pic observé peu avant la parturition permettrait la maturation placentaire, la stimulation des contractions du myomètre et l'ouverture du col utérin.

**II-2-2-3 Signaux embryonnaires et reconnaissance maternelle de la gestation :**

Le développement, l'implantation et la survie embryonnaire à des stades précoces de la gestation sont dépendants d'une communication embryo-maternelle précise.

**II-2-2-3-1 *Early pregnancy factor (EPF) :***

La pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte donne lieu à la production d'une substance, la zygotine qui dans les premières heures du développement de l'oeuf stimulerait la production par l'ovaire porteur du corps jaune d'un facteur appelé Early Pregnancy Factor (EPF) (Cavanagh, et al., 1982). L'EPF est le facteur le plus précoce de la gestation. Il serait nécessaire à la survie de l'embryon. Il se pourrait que ce facteur contribue à diminuer l'immunocompétence des lymphocytes en début de gestation et ainsi faciliter la tolérance immunologique de l'embryon par l'organisme maternel (Morton, et al., 1983). Mais ce marqueur n'est pas spécifique de la gestation. L'EPF est sécrété par les cellules tumorales durant les phases de croissance et de division (Quinn, et al., 1990), également par les cellules normales prolifératives chez l'adulte (Quinn, et al., 1994) et par les plaquettes activées (Cavanagh, et al., 1991). Jusqu'à présent, aucun test fiable basé sur la détection de l'EPF n'a permis d'identifier les femelles non gravides.

### ***II-2-2-3-2 Interféron tau bovin (boIFN $\tau$ ) :***

L'interféron  $\tau$  bovin (boIFN $\tau$ ) est une des principales protéines sécrétées par le conceptus bovin 16 à 25 jours après la fécondation. L'interféron- $\tau$  est capable de bloquer, par inhibition des récepteurs à l'œstradiol et réduction consécutive des récepteurs à l'ocytocine, la sécrétion pulsatile de PGF $2\alpha$  maternelle, responsable de la régression cyclique du corps jaune (Asselin E, 2000). Le corps jaune ainsi maintenu, peut donc continuer à produire de la progestérone indispensable au développement du conceptus. **Il s'agit du principal mécanisme de reconnaissance maternelle de la gestation.**

L'IFN- $\tau$  a été identifié dans le liquide de lavage de la cavité utérine dès le 12<sup>e</sup> jour de gestation chez la vache (Humblot, et al., 1984). Cette molécule est synthétisée par des cellules mononuclées du trophoctoderme et exclusivement sécrétée dans la lymphe locale, où elle exerce son effet antilutéolytique (Roberts, et al., 1992). Dès J9-J10, on constate une augmentation de la concentration en interféron  $\tau$ , qui devient vraiment importante durant une période limitée entre J17 et J19 quand le conceptus subit une expansion rapide de sa forme (Kubisch, et al., 2001). Une très faible quantité d'IFN- $\tau$  passe dans le sang, cette concentration extrêmement basse empêche la mise en place d'un test de diagnostic de gestation.

### ***II-2-2-3-3 Hormone lactogène placentaire bovine (bPL) :***

Plus tardivement au cours de la gestation, les cellules binucléées et tri nucléées présentes au niveau de la jonction microvillositaire du placenta produisent localement une hormone lactogène placentaire bovine (bPL), connue également sous le nom d'hormone chorionique somato-mammotrope (Wooding, et al., 1987). Cette glycoprotéine possède plusieurs iso formes de masses moléculaires différentes s'étalant de 30 à 34 kDa. Cette masse moléculaire élevée s'explique par la forte glycosylation de l'hormone lactogène placentaire bovine (Beckers, et al., 1980). Le bPL paraît exercer une influence sur le développement de la glande mammaire et la lactogénèse. Le bPL est dosable par radio-immunologie marquage (RIA) dans le sérum maternel à un moment **très variable** selon les individus allant du 26<sup>ème</sup> jour au 110<sup>ème</sup> jour après la fécondation. Les concentrations maternelles de bPL augmentent progressivement pour atteindre des concentrations de 1 à 2 ng/ml aux environs de la parturition. A l'inverse de ces faibles concentrations mesurées dans le sang maternel, chez le fœtus la concentration en bPL peut atteindre 25 à 30 ng/mL au 90<sup>ème</sup> jour de gestation.

Cette apparition tardive de la bPL dans le sang maternel confère à ce dosage peu d'intérêt pour le diagnostic de gestation (Ayad, et al., 2006).

**II-2-2-3-4 Protéines associées à la gestation (PAG's) :**

Les PAG's sont des glycoprotéines appartenant à une grande famille d'enzymes protéolytiques, les protéases aspartiques. Elles sont synthétisées dans les granules des cellules binucléées présentes dans les couches superficielles du trophoctoderme. Chez la vache, de nombreuses protéines ont été décrites dès les années 80 sous diverses appellations : PSPB (Pregnancy specific protein B) (Butler, et al., 1982), PAG1 et 2 (Pregnancy associates glycoprotein 1 et 2) (Beckers, et al., 1988 ; Zoli, et al., 1991), PSP-60 (Pregnancy serum protein 60kDa) (Mialon, et al., 1993).

**II-3 Expression des PAG's durant la gestation :****II-3-1 Profil sérique des PAG's :****II-3-1-1 Profil sérique de la boPAG-1 :**

Les protéines associées à la gestation les mieux connues aujourd'hui dont la boPAG-1 sont synthétisées par les cellules binucléées présentes dans les couches superficielles du trophoctoderme et plus précisément dans les granules de ces cellules binucléées (Zoli, et al., 1992). Chez la vache, les cellules superficielles du trophoctoderme migrent en direction de l'épithélium utérin puis fusionnent avec les cellules endothéliales pour donner naissance à des cellules tri nucléées.

A J25 les cellules binucléées représentent 20% des cellules du trophoctoderme. Les cellules tri nucléées ont une vie transitoire ; elles meurent après avoir largué le contenu des granules présents dans leur cytoplasme dans le sang maternel (Zoli, et al., 1992).

**II-3-1-1-a Début de gestation :**

Chez la vache gestante, la boPAG-1 est détectable dans le sang dès J19 à une concentration de 1,25 ng/ml en moyenne pour atteindre des concentrations de 3 à 6 ng/ml aux alentours de J40 avec des variations inter-individuelles importantes. Ainsi des vaches à J40 sont diagnostiquées gestantes à l'échographie transrectale et pourtant leur concentration en boPAG-1 est minimale (Gajewski, et al., 2008).

Une hypothèse serait la différence de poids entre les vaches influençant la taille du placenta et indirectement le nombre de cellules binucléées du trophoctoderme et donc la quantité de boPAG-1 relarguée dans le sang maternel.

**II-3-1-1-b Milieu de gestation :**

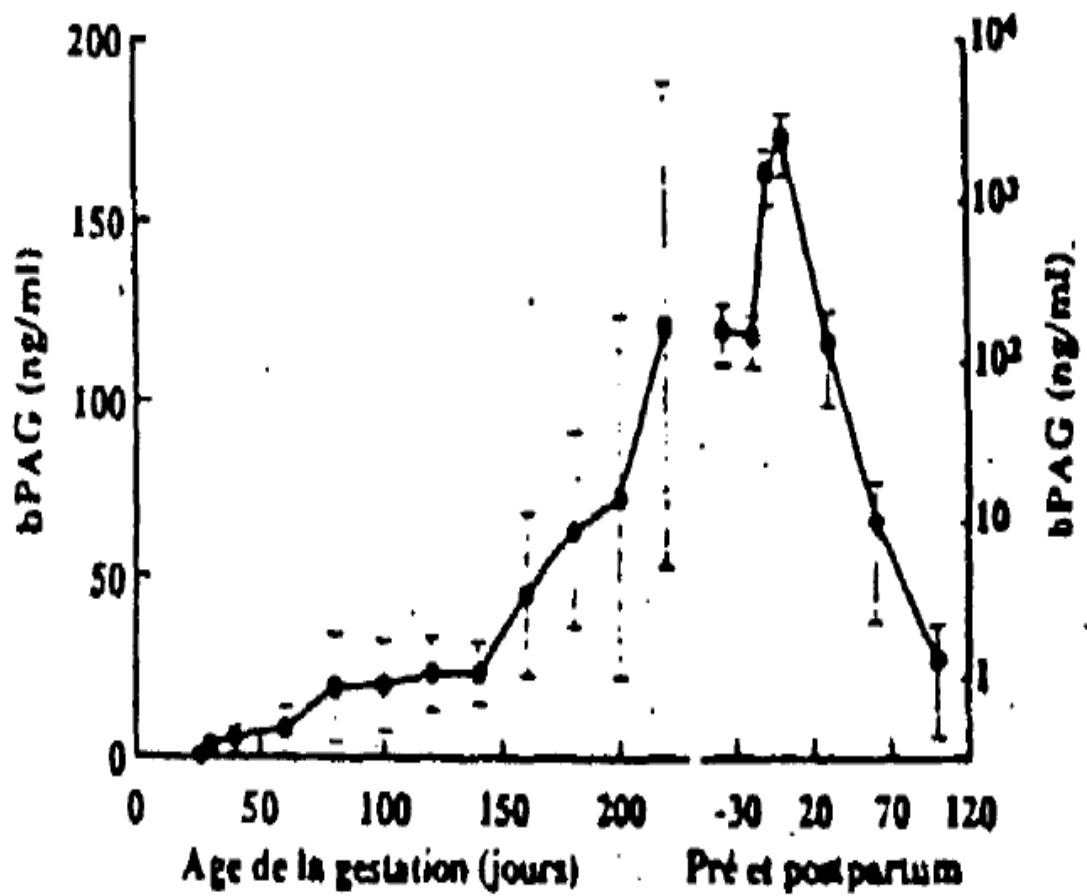
Pendant la gestation, les concentrations de boPAG-1 s'élèvent d'abord progressivement entre J41 et J245 (de 6 ng/mL à 159 ng/mL) pour ensuite s'élever plus rapidement entre J245 et la dernière semaine de gestation (aux alentours de 1550 +/- 590 ng/mL) (**Figure 11**). On constate une corrélation significative entre l'avancement de la gestation et l'augmentation de la concentration en boPAG-1 dans le sang (Gajewski, et al., 2008).

**II-3-1-1-c Fin de gestation :**

Les valeurs maximales sont atteintes 1 à 5 jours avant la mise bas (>2900 ng/ mL) (Gajewski, et al., 2008). La cause du **pic observé** dans les deux semaines précédant le vêlage est inexpliquée. Il n'y a pas d'évidence d'augmentation relative de l'expression génétique de la production des PAG's (Green, et al., 2000). La présence de ce pic peut être le résultat de modifications physiques ou hormonales du placenta en fin de gestation (Constant, et al., 2006). Une des hypothèses formulées par Green serait que ce pic soit dû à un relargage massif de PAG's séquestrées temporairement dans un tissu.

**I-3-1-1-d Post-partum :**

Après la mise bas, la concentration sérique de boPAG-1 décroît progressivement et revient en-dessous du seuil de détection (<0.2 ng/mL) aux alentours de J80-J120 post-partum (Zoli, et al., 1992) (Haugejorden, et al., 2006) (**Figure 13**). La longue période nécessaire pour que la boPAG-1 devienne indétectable dans la circulation sanguine maternelle est liée à la demi-vie importante de la boPAG-1 dans la circulation maternelle, cette demi-vie étant de 8 à 9 jours (Haugejorden, et al., 2006). Il faut donc attendre 11 à 12 semaines après la mise-bas pour que la concentration en boPAG-1 soit en-dessous du seuil de détermination de la gestation (Green, et al., 2005) et 2,7 à 7 jours après l'induction d'une mortalité embryonnaire au cours de la gestation (Szenci, et al., 2003). Lorsqu'une vache est inséminée (IA fécondante) n jours avant les 60 jours post-partum Haugejorden *et al.* (2006) recommandent de réaliser le diagnostic de gestation par dosage RIA de la boPAG-1 à 28+ (n\*0.5) jours de gestation, en prenant comme seuil de détermination 4 ng/mL (Haugejorden, et al., 2006).



**Figure 11:** Profil de la concentration sérique (moyenne=SD) de la bo PAG-1 chez des vaches gestantes, au cours de la gestation et en post-partum (D'après Zoli et al 1991)

### **II-3-1-2 Profil sérique de la PSPB :**

Le profil de la PSPB au cours de la gestation est **très semblable** à celui de la boPAG-1. Chez la vache gestante, la PSPB est détectable dans le sang maternel dès J15-J20, avec des variations inter-individuelles importantes. La concentration augmente au cours de la gestation pour atteindre un pic maximal quelques jours avant la parturition. Comme pour la boPAG-1, la demi-vie de la PSPB est relativement importante 8 à 9 jours. Il faut donc attendre 90 à 100 jours post-partum pour que la concentration en PSPB soit en dessous du seuil de détermination de la gestation (Romano, et al., 2010).

### **II-3-1 -3 Profil sérique des boPAG -4, -6, -9, -20 et -21 :**

#### ***II-3-1 -3 -a Début de gestation :***

La concentration en PAG-4, -6, -9, -20 et -21 augmente progressivement entre **J24 et J28** pour atteindre une concentration d'environ  $8,75 \pm 3,04$  ng/mL à J28 (Figure 12). Comme pour la boPAG-1, on constate des variations inter-individuelles importantes.

#### ***II-3-1 -3 -b Milieu de gestation :***

La concentration en boPAG-4, -6, -9, -20 et -21 atteint  $12,3 \pm 4,08$  ng/mL la 5ème semaine puis décline progressivement jusque  $6,8 \pm 3,8$  ng/mL la 8ème semaine. La concentration moyenne augmente ensuite continuellement au cours de la gestation jusqu'à quelques semaines de la mise bas (Figure 12).

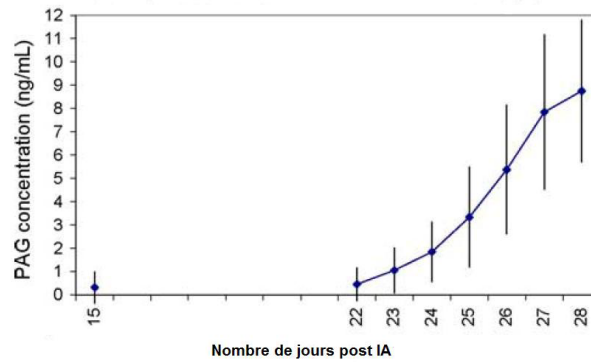
#### ***II-3-1 -3 -c Fin de gestation :***

Quelques semaines avant la mise-bas, la concentration en boPAG-4,-6,-9,-20 et -21 augmente très rapidement pour culminer à  $588,9 \pm 249,9$  ng/mL durant la dernière semaine de gestation (Figure 13). Il existe une variation conséquente dans la concentration en PAG détectée selon les individus. Cette variation est d'autant plus importante lors du pic de production quelques semaines avant la mise bas.

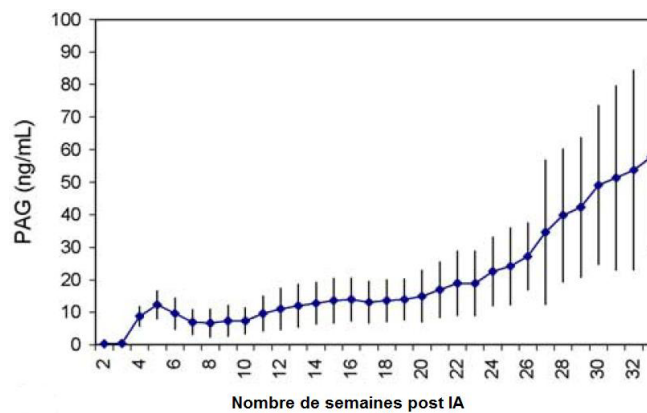
#### ***II-3-1 -3 -d Post-partum :***

Après la mise-bas, la concentration sérique en boPAG-4, -6, -9, -20 et -21 décroît progressivement (figure 14). Huit semaines post-partum, ces PAG's ne sont plus détectables dans 38 cas sur 40 (Green, et al., 2005). Le délai d'attente post-partum est donc **plus court** qu'avec la boPAG-1 ou la PSPB. En effet la demi-vie moyenne des boPAG-4,-6,-9,-20 et-21 est estimée à 4,3 jours en post-partum (Green, et al., 2005).

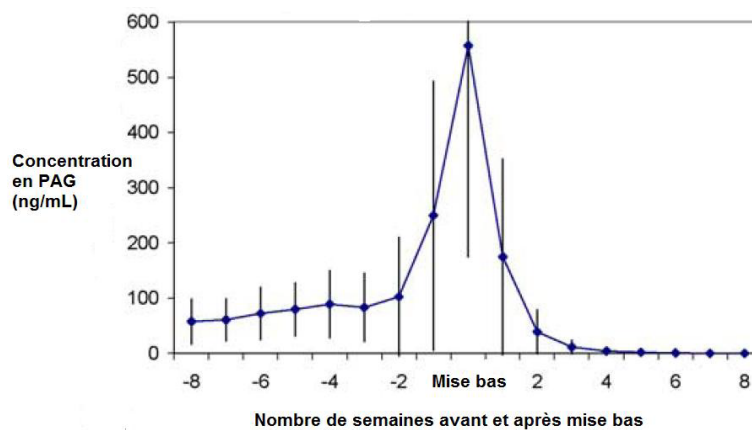




**Figure 12:** profil de la concentration ( moyenne = SD ) des bo PAG-4-6-9-20 et -21 dans le sérum de 42vaches en début de gestation ( Green et al 2005)



**Figure 13:**profil de la concentration ( moyenne = SD) en bo PAG-4-6-9-20et-21 dans le sérum de 42 vaches entre la 2<sup>ème</sup> et la 33<sup>ème</sup> semaine de gestation (D'après Green et al 2005)



**Figure 14:** profil de la concentration (moyenne=SD) en boPAG-4-6-9-20 et dans le sérum de 42 vaches 8 semaines avant et après mise bas (D'après Green et al (2005)

#### ***II-4 Dosage des PAG's (quelques expériences) :***

La mesure précise de la concentration en PAG's dans la circulation sanguine maternelle permet en outre d'évaluer la fonction sécrétoire du placenta (Breukelman, et al., 2005), de détecter des anomalies placentaires (Chavatte-Palmer, et al., 2006) et de chercher la cause d'une mortalité embryonnaire ou fœtale (Mialon, et al., 1993). Ainsi le dosage des boPAG's a été proposé pour suivre le bien être fœtal au cours de la gestation.

Comme le montrent plusieurs études résumées, la baisse de la concentration en bPAG-1 permet de détecter une mortalité embryonnaire ou fœtale avant la diminution de la concentration en progestérone. La quantification de la bPAG-1 dans la circulation maternelle semble être un outil intéressant pour étudier les effets et les cibles des différents agents infectieux abortifs, en indiquant le bien être placentaire. Aujourd'hui l'utilisation de la boPAG-1 pour prédire une mortalité embryonnaire est limitée par les variations de dosage (dépend des anticorps utilisés et des PAG's détectées), la demi-vie des PAG's et les autres facteurs responsables de variation de la concentration en PAG's (production laitière,...) (Whitlock, et al., 2008).

#### ***II-4-a Etude de la concentration en boPAG-1 suite à la présence d'agents infectieux abortifs :***

L'étiologie d'un avortement bovin est difficile à déterminer même lorsque celui-ci est soumis à une analyse laboratoire. La cause sera identifiée seulement dans 23 à 45% des cas et la plupart du temps sera attribuée à une cause infectieuse. La plupart des agents infectieux abortifs affectent le placenta et/ou l'embryon/fœtus.

Etant donné que les boPAG's sont synthétisées et sécrétées par les cellules du placenta et sont de bons indicateurs du bien être de ce placenta, l'étude des effets des agents infectieux abortifs sur le profil de la boPAG-1 permettrait de déterminer plus précisément le site d'affection et aiderait à mieux comprendre le mécanisme d'avortement.

Chez les vaches infectées de façon chronique par *Neospora Caninum*, n'ayant pas avorté, il n'y a aucun effet sur la concentration en boPAG-1 dans le sang au cours de la gestation. Dans ce cas on ne constate pas d'effet de *N.Caninum* sur la fonction placentaire. L'augmentation de la réponse immunitaire vis-à-vis de *N.Caninum* dans la seconde partie de la gestation n'engendre pas de modification dans l'expression de la boPAG-1 (Lopez-Gatius, et al., 2007). Chez les vaches infectées de façon chronique par *N.Caninum*, ayant avorté la concentration en boPAG-1 est très basse voir indétectable quand la momification du fœtus est constatée.

Les lésions provoquées par les parasites sur le placenta seraient à l'origine d'une baisse de l'expression de la boPAG-1 par le placenta (Lopez-Gatius, et al., 2007).

Le facteur qui permettrait de prédire si oui ou non la vache infectée de façon chronique risque de transmettre le parasite à son fœtus durant la gestation reste non élucidé. Mais le taux de boPAG-1 semble être un bon indicateur de l'intégrité du placenta en cas d'infection (Lopez-Gatius, et al., 2007). *Coxiella Burnetii* est une bactérie Gram- qui a pour principal effet clinique l'avortement. Cette bactérie est responsable de la fièvre Q. L'avortement est dû à la multiplication de la bactérie au niveau du placenta dans le deuxième tiers de la gestation. Cette atteinte du placenta a pour effet l'augmentation de la concentration en cortisol et la diminution de la concentration en boPAG-1 dans la circulation maternelle (Garcia-Ispierito, et al., 2010).

#### ***II-4- b Etude de la concentration en boPAG-1 suite à des avortements déclenchés chimiquement :***

Une étude utilisant ce modèle sur des vaches gestantes décrit le profil plasmatique de la concentration en boPAG-1, en progestérone et en métabolite de prostaglandine à la suite d'un avortement provoqué à l'aide d'un analogue de la prostaglandine, le cloprostenol. La lutéolyse est provoquée entre 63 et 83 jours après le début de la gestation. La mort fœtale et l'expulsion surviennent systématiquement 2 à 4 jours après l'injection. La concentration en boPAG-1 commence à diminuer après l'expulsion du fœtus, plus ou moins rapidement. Plus l'avortement est déclenché tardivement au cours de la gestation moins la diminution de la concentration en boPAG-1 est rapide (Lobago, et al., 2006).

#### ***II-4- c Suivi de l'expression des PAG suite à des pertes fœtales après clonage somatique :***

La technique de clonage par transfert nucléaire de cellules somatiques demeure incertaine due à son faible taux de succès. Les anomalies placentaires et de développement fœtal se traduisent par des pertes importantes de gestation et de mortalité embryonnaire. Une élévation du niveau de la concentration en PAG à J150 coïncide avec les anomalies de gestation reportées. Ce changement pourrait compromettre le déroulement normal de la gestation clonée et gêner le développement et le bien être fœtale. La production d'embryons in vitro est associée à des anomalies du développement des fœtus, des anomalies diverses telles que l'augmentation du poids à la naissance, un poids anormal de certains organes, une fréquence élevée de mortalités embryonnaire et fœtale, des malformations du squelette mais également une hypertrophie placentaire et une hydropisie des enveloppes fœtales sont rassemblées sous le terme de « large offspring syndrome » (Chavatte-Palmer, et al., 2006).

L'augmentation anormale des concentrations plasmatiques de PAG's pourrait constituer un marqueur prédictif des pertes fœtales lors des gestations de clones somatiques (Chavatte-Palmer, et al., 2006). Leur caractérisation a été envisagée par électrophorèse sur des placentomes de vaches porteuses de clones somatiques et de vaches témoins. Ce qui a permis de constater que près de la moitié des protéines identifiées présentent des caractéristiques physico-chimiques (PM et pI) différentes des caractéristiques théoriques. Ces résultats suggèrent un changement de glycosylation des PAG's chez les vaches porteuses de clones somatiques, qui augmenterait leur demi-vie plasmatique (Beauvallet, et al., 2010).

#### **II-4- d Concentrations de PAG anormalement élevées suite à un problème de nutrition :**

Un profil atypique des concentrations de PAG a été décrit chez la race zébu Azawak, souvent confrontée à une carence nutritionnelle au cours de la gestation. Cette situation concerne spécifiquement une vache dont l'état corporel n'a cessé de se dégrader pendant la gestation. Ses concentrations de PAG étaient 3 à 3,5 fois plus élevées que celle des vaches témoins faisant partie de la même étude (Sousa N.M, et al., 2003).

#### ***II-5 Expression générale des PAG's dans le sang :***

##### **II-5-1 Moment et lieu d'expression des PAG's :**

Les ADNc des différentes PAG's ne sont pas exprimés continuellement et de façon synchrone au cours de la gestation (Green, et al., 2000) (Figure 15). Ainsi, certaines PAG's sont synthétisées au début de la gestation, alors que d'autres apparaissent plus tard au cours de la gestation (Green, et al., 2005) (El Amiri, et al., 2003). Les principaux changements dans l'expression des PAG's ont lieu principalement en début et en fin de gestation.

Parmi le groupe des PAG's « anciennes » : les gènes codant pour la boPAG-2 et la boPAG-11 sont exprimés tout au long de la gestation. Elles sont synthétisées aussi bien par les cellules mononuclées que binuclées du trophoctoderme et se retrouvent ensuite à la fois à l'extérieur et à l'intérieur des cellules à l'interface fœto-maternelle. Parmi le groupe des PAG's « modernes » : les gènes codant pour la boPAG-4,-5,-8,-9,-10 et-11 sont exprimés dès le 25e jour de gestation. A ce stade de la gestation, les gènes codants pour la boPAG-1,-6 et -7 ne sont pas encore exprimés. Toutes ces boPAG's sont synthétisées uniquement par les cellules binuclées du trophoctoderme. Finalement beaucoup de PAG's ne sont plus exprimées à la mise-bas. Sur les PAG's testées seules les boPAG-2,-8,-10 et -11 étaient présentes (Green, et al., 2000). Le nombre d'EST's par boPAG symbolise le niveau de transcription de chaque gène codant pour une boPAG donnée (Figure 15).

Cette étude bouleverse la date d'expression de la boPAG-1 annoncée dans les études précédentes. La boPAG-1 ne serait pas une protéine produite majoritairement par le trophoblaste à J25. Comment expliquer alors sa détection par méthode RIA et ELISA à J25 ? Green *et al.* (2000) suggère que la principale protéine associée à la gestation reconnue par ces méthodes à J25 serait la boPAG-4. La boPAG-4 est en effet très proche au niveau de sa structure de la boPAG-1, avec des épitopes très certainement en commun.

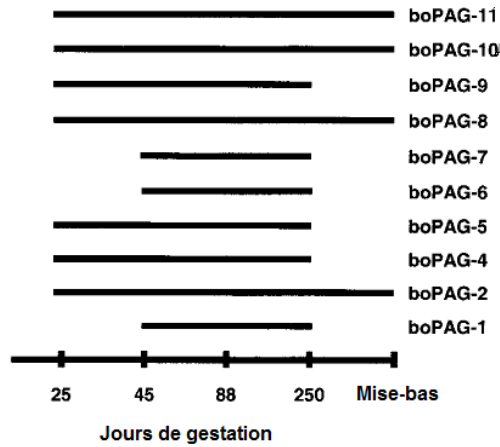
### **II-5-2 Niveau d'expression des PAG's :**

Le niveau d'expression varie également d'une boPAG à l'autre. Ainsi la boPAG-2 est largement la protéine associée à la gestation la plus exprimée au cours de la gestation (Figure 18). Parmi les PAG's modernes, la boPAG-1 est la plus exprimée (Telugu, et al., 2009) (Figure 16).

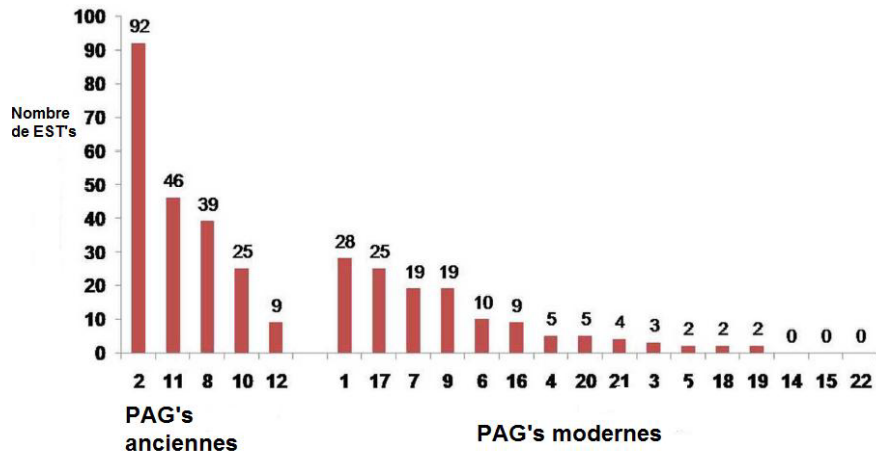
### **II-6 Profil des PAG's dans le lait :**

Le mécanisme de transport des PAG's du sang maternel périphérique au lait à travers le tissu mammaire reste inconnu (Lopez-Gatius, et al., 2007). Cependant les PAG's sont présentes en quantités suffisamment importantes pour être dosées au moment de la mise bas chez la vache (Tainturier, et al., 1996) et en début de gestation chez la chèvre (Gonzalez, et al., 2001).

La boPAG-1 n'est pas détectée ou détectable dans le lait durant les 3 premières semaines de gestation (Gajewski, et al., 2008). Les tests préliminaires de détection des PAG's dans le lait par méthode RIA dosent des concentrations de boPAG-1 de 0,1 à 0,3 ng/mL à J70. Malheureusement de telles concentrations ne peuvent être utilisées comme valeur seuil de diagnostic de gestation (Metelo, et al., 2002).



**Figure 15:** Diagramme représentant la période d'expression de différents bo PAG's au cours de la gestation (D'après Green , 2000)



**Figure 16:** Nombre relatif de séquence exprimée ( EST's) pour chaque bo PAG au cours de la gestation chez la vache (Telugu et al 2009)

La concentration en boPAG-1 dans le lait est détectable par méthode ELISA, à partir du **60e jour** de gestation (Figure 17) et son dosage offre un diagnostic moyennement fiable de gestation seulement à partir de J150 (Friedrich, et al., 2010). La quantité de PAG's dosée dans le lait dans le premier tiers de gestation est seulement de 4,5 à 16,7% la quantité de PAG's dosée dans le sang (Gajewski, et al., 2008) .

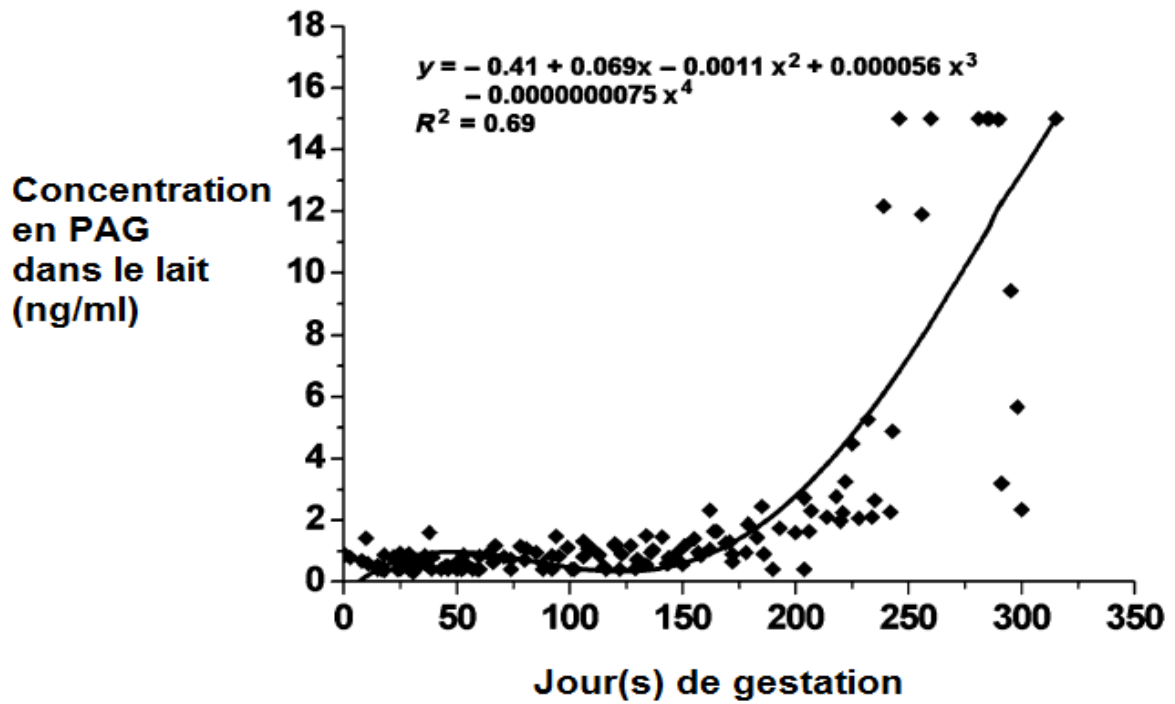
La concentration des PAG's mesurée dans le lait semble encore plus variable que dans le sang (Zoli, et al., 1991). Le stade de lactation, la quantité produite, la composition du lait, la possible contamination lors des différentes manipulations sont autant de facteurs qui semblent contribuer à cette grande variation de la concentration en PAG's dans le lait (Friedrich, et al., 2010). L'étoile, à 80 jours post-insémination, indique une différence significative ( $p < 0,05$ ) de la concentration moyenne en PAG chez les femelles ayant une concentration en progestérone basse par rapport aux femelles ayant une concentration en progestérone élevée (Figure 17).

### ***II-7 PAG's dans le colostrum :***

La concentration en PAG's dans le sang des veaux est plus élevée un jour après la mise bas que immédiatement après la mise bas (avant la prise colostrale). Ainsi les PAG's sont transférées via le colostrum et absorbées à travers la muqueuse digestive sans être dégradées durant les 48 premières heures suivant la mise bas (Haugejorden, et al., 2006).

### ***II-8 Sources accessoires de production des PAG's :***

Des sérums de mâles et de femelles non gestantes ont été investigués en vue de mettre en évidence la boPAG-1. Avec un seuil de sensibilité de 0,2ng/mL, la protéine fut détectée chez certaines femelles non gestantes et certains taureaux. Si le taux de boPAG-1 est faible chez les femelles non gestantes, il est relativement élevé chez les mâles. Des coupes immunohistochimiques réalisées sur le testicule de taureaux ont montré des réactions de coloration spécifique au niveau des cellules de Sertoli (Zoli, et al., 1992). D'autre part Green *et al.* (2000) suspectent également une autre source de PAG's. Chez la plupart des vaches, les PAG's ne sont pas détectables à J15 post-insémination, pourtant une faible proportion de vaches (5 sur 42) possède une concentration en PAG's supérieure à 1 ng/mL à J15 (dont une qui va jusqu'à posséder une concentration de 3,44ng/mL) .



**Figure 17:** concentration en PAG durant la gestation dans le lait écrémé (Friedrich et al , 2010)



### **II-9 Rôles des PAG's au cours de la gestation :**

De nombreux éléments tendent à montrer que les PAG's jouent un rôle important au cours de la gestation : elles sont produites en abondance par les seules cellules migratrices et invasives de l'épithélium utérin, et sont capables de se lier à d'autres molécules. Cependant, aucun effet physiologique n'a pu être clairement démontré à l'heure actuelle.

#### **II-9-1 Fonction immunosuppressive :**

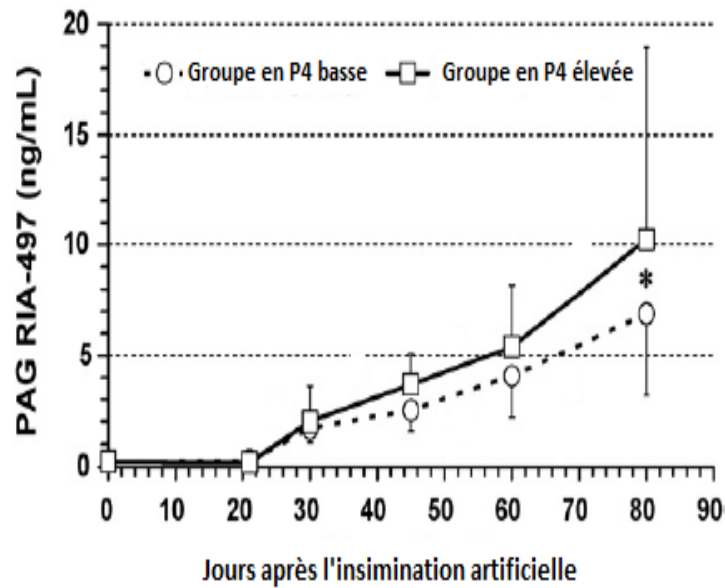
Durant la gestation, la mère peut être exposée aux antigènes paternels considérés comme du « non-soi », puisque l'embryon possède pour la moitié de son patrimoine génétique les gènes de son père. Malgré la proximité entre la circulation utérine et fœtale, le fœtus et le placenta, bien qu'organes étrangers à la mère, ne sont pas rejetés. Certaines protéines associées à la gestation auraient une action immunodépressive (Wooding, et al., 2005), protégeant le trophoblaste du système immunitaire maternel en détruisant ou en séquestrant des molécules ou des cellules telles que les polynucléaires neutrophiles (Dosogne, et al., 1999).

Ces propriétés pourraient expliquer la susceptibilité au syndrome métrite mammaire fréquemment observé chez la vache dans les jours qui précèdent la parturition. Par ailleurs, il a été montré que des concentrations de boPAG-1 supérieures à 1800 ng/ml modifient la capacité des granulocytes à former des colonies myéloïdes et le taux global de clonage des cellules myéloïdes (Hoeben, et al., 2000), cependant, aujourd'hui il reste difficile de conclure sur un rôle immunomodulateur déterminant des PAG's au niveau de l'interface fœto-maternelle même au moment où les niveaux sont les plus élevés étant données les concentrations également importantes en œstrogènes à cette même période (Ayad, et al., 2006).

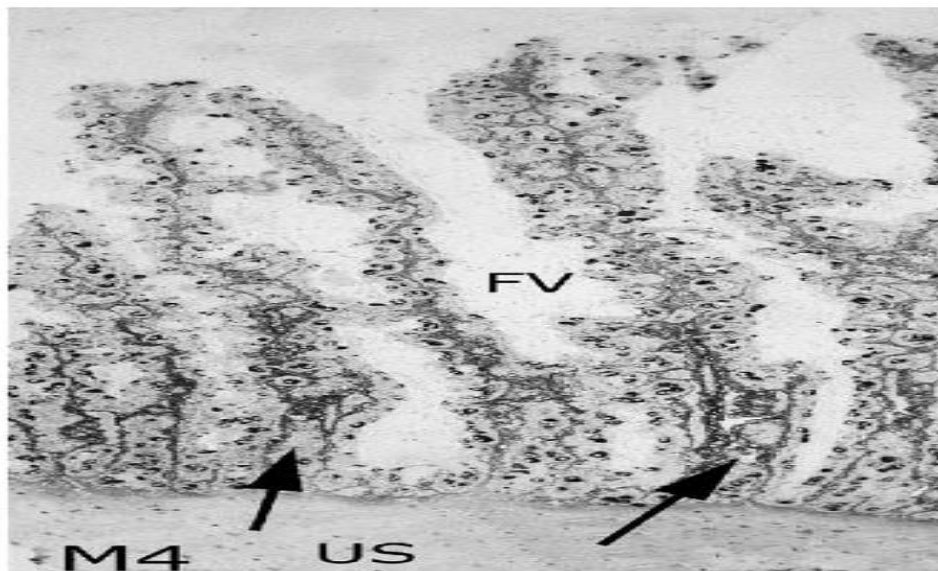
#### **II-9-2 Maintien du corps jaune :**

Le rôle de la progestérone dans le maintien de la gestation est essentiel. La boPAG-1 semblerait favoriser la production de progestérone, par l'intermédiaire de la prostaglandine E2 (PGE2) (Del Vecchio, et al., 1996). Récemment Ayad *et al.* (2007) ont mis en évidence une relation directe entre le taux de progestérone et la concentration en PAG's, durant le premier trimestre de la gestation. Les concentrations en PAG's aux jours 30, 45, 60 et 80 ont tendance à être plus importantes chez les vaches gestantes ayant des concentrations en progestérone plus élevées 21 jours après l'insémination artificielle (Figure 18).

La boPAG-2 est capable de se lier au récepteur à LH au niveau du corps jaune bovin. Malheureusement il n'existe pas de préparation purifiée de boPAG-2 permettant d'évaluer l'influence de la concentration en boPAG-2 sur le taux de progestérone.



**Figure 18:** mesure de la concentration en boPAG-1 dans le sang maternel au cours de la gestation chez des femelle présentant une concentration basse ou élevée de progestérone (p4) 21 jours après l'insémination artificielle (Ayad et al 2007)



**Figure 19 :** visualisation au microscope de PAG's situées à la fois au niveau des microvillosités des cellules trophoblastique et à l'intérieur et des cellules tri nucléés

**II-9-3 Echange fœto-maternel :**

Etant donné la localisation privilégiée à l'interface fœto-maternel des PAG's appartenant au groupe boPAG-2 (Figure 19), ces PAG's pourraient avoir un rôle dans le maintien d'un contact étroit entre le trophoblaste et l'épithélium utérin, favorisant ainsi les échanges en intervenant dans les phénomènes d'adhésion (Wooding, et al., 2005).

**II-9-4 Activité protéolytique :**

La preuve d'une activité protéolytique de la boPAG-2 et de la boPAG-12 suggère leur intervention dans le clivage de substrats protéiques à l'intérieur des cellules trophoblastiques et/ou à l'interface fœto-maternelle. Par cette activité, ces PAG's joueraient un rôle dans l'activation ou la neutralisation de certains facteurs de croissance au niveau de l'interface fœto-maternelle (Telugu, et al., 2010) .

**II-10 Facteurs influençant la concentration des PAG's :**

Les variations de la concentration en PAG's à un instant « t » de la gestation en fonction de différents facteurs ont surtout été étudiées en prenant comme modèle la boPAG-1.

**II-10-1 La race :****II-10-1-1 Race du taureau :**

Il est maintenant établi que le génotype du conceptus influence à la fois la réponse endocrine de la mère et du conceptus (Guilbault, et al., 1990). Une grande distance génétique entre la mère et le conceptus est associée à une plus grande concentration en PAG's dans la circulation maternelle (Lopez-Gatiús, et al., 2007 ; Serrano, et al., 2009).

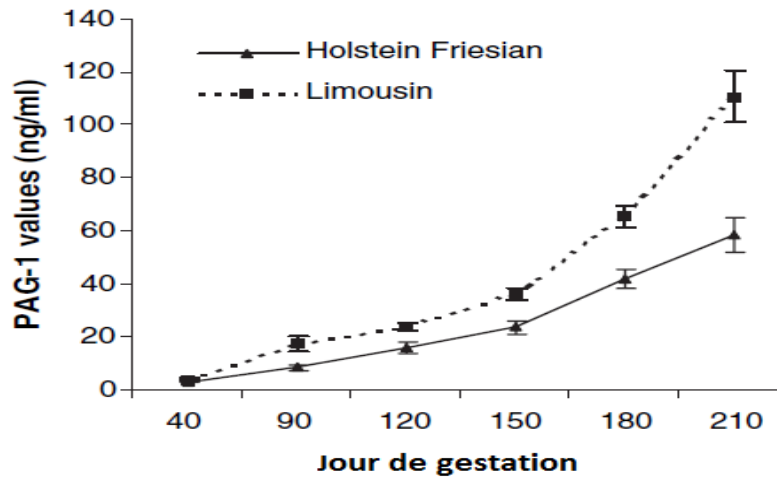
Les causes de cette relation restent inconnues. Dans une étude récente le taux de boPAG-1 a été comparé entre des vaches Holstein-Friesian inséminées avec de la semence de taureau Limousin et des vaches Holstein-Friesian inséminées avec la semence de taureau Holstein-Friesian. Le taux de PAG's était significativement plus élevé dans le groupe ayant utilisé de la semence de taureau Limousin (Figure 20). Cette concentration plus élevée des PAG's permettrait d'éviter un rejet immunitaire maternel plus important lors de croisement génétique (Serrano, et al., 2009).

**II-10-1-2 La race de la mère :**

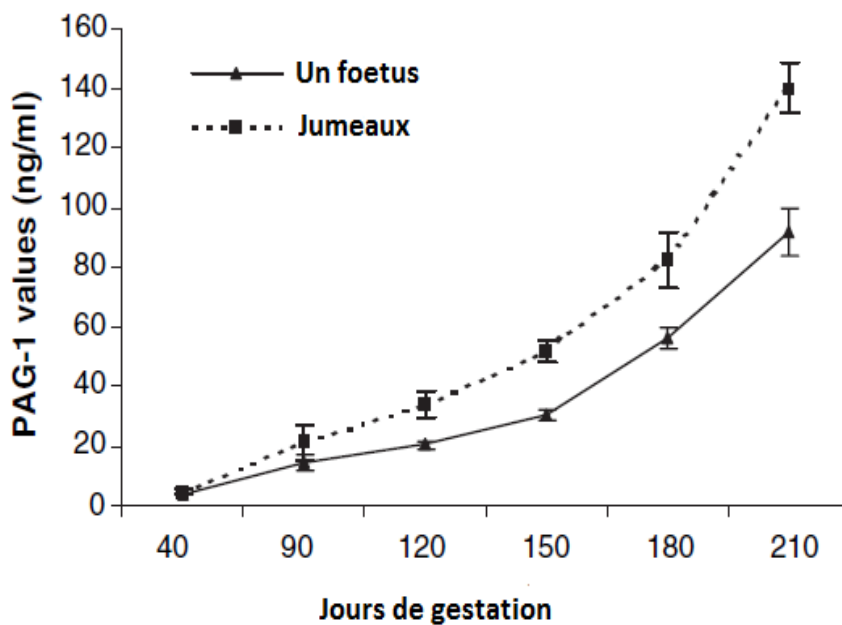
Une différence d'expression de la boPAG-2 a été mise en évidence entre deux sous-espèces de zébu : *Bos taurus* et *Bos indicus* (El Amiri, et al., 2003).

**II-10-2 Le nombre de fœtus :**

Une des causes de la variation importante de la concentration en boPAG-1 à un stade de gestation donné est le nombre de fœtus (Patel, et al., 1997). La concentration en boPAG-1 est significativement plus élevée en cas de gémellité (Serrano, et al., 2009) (Figure 21). Cette différence de concentration entre les vaches gestantes d'un fœtus et les vaches gestantes de jumeaux s'accroît au fil de la gestation (Lopez-Gatius, et al., 2007).



**Figure 20:** concentration moyenne en PAG au cours de la gestation chez des vaches Holstein - Friesien inséminées avec de la semence de taureau Holstein - Friesian ou Limousin (Serrano et al 2009)



**Figure 21:** concentration moyenne en boPAG-1 au cours de la gestation chez des vaches Holstein-Friesien en fonction du nombre de foetus par gestation (Serrano et al 2009)

**II-10-3 La production de lait :**

Il est admis depuis plusieurs années que le niveau de fertilité d'une race diminue lorsque son potentiel laitier augmente (Royal, et al., 2000).

Une étude récente a montré une corrélation négative entre le niveau de production laitière et la concentration de boPAG-1 à J63 (Lopez-Gatius, et al., 2007). Mais le lien entre une haute production laitière et une concentration en boPAG-1 plus basse que la normale à une date donnée reste flou. Une possibilité serait que les vaches laitières hautes productrices subissent une élimination métabolique des PAG's plus importante. Une partie de ces PAG's pourrait également être drainée à travers le tissu mammaire dans le lait et ainsi diminuer en quantités dans le sang maternel périphérique et par conséquent augmenter en quantités dans le lait (Lopez-Gatius, et al., 2007 ; Gajewski, et al., 2008) . Une autre possibilité serait que les PAG's relarguées dans la circulation sanguine maternelle soient sensiblement différentes chez les vaches hautes productrices. Cette approche récente reste controversée, pour certains le niveau de production de la vache n'a pas d'effet significatif sur la concentration en boPAG-1 dans la circulation sanguine (Serrano, et al., 2009).

**II-10-4 Le bien-être du placenta :**

Le stress thermique occasionné par une augmentation importante de la température extérieure au cours de l'implantation de l'embryon pourrait engendrer une perturbation du bon fonctionnement placentaire qui serait objectivée par une production ou un relargage plus faible de boPAG-1 dans la circulation maternelle suite à une vascularisation plus faible du placenta (Serrano, et al., 2009).

**II-10-5 Taux de progestérone :**

Aucune corrélation n'a été trouvée entre le taux de progestérone et le taux de PAG au cours de la gestation (Lopez-Gatius, et al., 2007 ; Serrano, et al., 2009). Ce qui est en contradiction avec l'étude d' Ayad et al. (2007).

**II-11 Mortalité embryonnaire:**

La mortalité embryonnaire est définie comme la perte de l'embryon entre la fécondation et la fin de l'organogenèse vers le 42e jour de gestation, période au-delà de laquelle on parlera de mortalité ou de perte fœtale. La mortalité embryonnaire peut être divisée en deux périodes : mortalité embryonnaire précoce qui se déroule avant la reconnaissance maternelle de la gestation qui a lieu vers les 15-17 e jours de gestation (retour en chaleur non décalé) et mortalité embryonnaire tardive qui a lieu entre le début de la

reconnaissance maternelle et le 42<sup>e</sup> jour de gestation (retour en chaleur décalé). La période entre le 25<sup>e</sup> et le 42<sup>e</sup> est critique car il s'agit de la fixation des membranes embryonnaires à l'épithélium utérin. Cependant la majorité des mortalités embryonnaires surviennent avant le 25<sup>e</sup> jour (Descôteaux Luc, 2009).

Ces pertes sont très variables d'un élevage à l'autre (santé du troupeau, climat, alimentation,...).

### ***II-12 Endocrinologie de la gestation :***

Lorsque le signal embryonnaire est identifié par l'organisme maternel, l'événement essentiel du maintien de la gestation est la persistance du corps jaune pendant toute ou une partie de la gestation. Cet événement physiologique est corrélé avec la persistance d'une production en quantité importante de la progestérone qui permet le maintien de l'état de gestation par blocage de la sécrétion de GnRH. Cela empêche toute décharge ovulante de LH qui pourrait suspendre l'activité sexuelle cyclique de la femelle. Ainsi, un équilibre hormonal gravidique s'établit permettant le maintien de la gestation. Chez toutes les espèces animales, la gestation est caractérisée par une augmentation considérable de la progestéronémie. La principale source de la progestérone en début de gestation est le corps jaune. Le fœtus intervient dans le maintien de l'équilibre hormonal gravidique en inhibant l'activité lutéolytique de la PGF2 $\alpha$  d'origine utérine. (MUMPOREZE, 2007).

### ***II-13 Contrôle hormonal du début de la gestation :***

Pendant la gestation, les gonades et l'unité foeto-placentaire produisent diverses hormones et protéines: Progestérone, œstrogènes, cortisol, prostaglandines, prolactine, gonadotropine chorionique, hormone lactogène placentaire et une série d'autres hormones et facteurs de croissance. Parmi ces molécules, se retrouvent les protéines et glycoprotéines impliquées dans l'établissement de la gestation, le maintien du corps jaune, le métabolisme intermédiaire maternel, la croissance fœtale et mammaire et enfin l'immunotolérance du conceptus (Ayad, et al., 2006). Une chronologie parfaite est essentielle entre la production des facteurs maternels et embryonnaires.



---

# **Deuxième Partie**

## **Chapitre I**

Matériel et méthodes

---

Il existe de différentes techniques de diagnostic de la gestation telles que les méthodes cliniques comme le non retour en chaleur, la palpation transrectale et l'échographie ainsi que des méthodes biochimiques représentées par le dosage de témoins de la gestation comme la progestérone, les œstrogènes ou les PAG).

### ***I-1 Détermination du taux de non retour en chaleur :***

Certains signes évoquent l'existence d'une gestation notamment le non retour en chaleur après la saillie ou l'insémination artificielle. Cependant les chaleurs peuvent être frustrées ou réapparaître tardivement. A l'inverse, la vache peut présenter des fausses chaleurs, les faisant présumer vide à tort (Bencharif, et al. 2003). L'absence d'œstrus après l'insémination est généralement utilisée comme indicateur de gestation. Cependant la fiabilité de cette méthode dépend de la précision de la détection des chaleurs dans le troupeau. Le retour en chaleur 3 semaines après insémination est le signe le plus fréquent d'une non gestation (NGOM, 2002). Mais le non retour en chaleur à J21 n'est pas suffisant pour confirmer la gestation (Roelofs, et al. 2010).

### ***I-2 Méthodes cliniques :***

Ces méthodes reposent sur la mise en évidence de la conception d'un fœtus, de membranes fœtales et de fluides fœtaux. Elles englobent la palpation rectale et l'ultrasonographie.

#### **I-2-1 Palpation transrectale :**

La palpation rectale est possible dès le 40ème jour chez les génisses et entre le 55ème et 60ème jour chez les vaches. Plusieurs structures doivent être systématiquement contrôlées : Le col utérin, l'utérus, le corps utérin, les artères utérines et éventuellement les ovaires, il faut être très prudent dans l'examen et la manipulation des organes génitaux au cours de cette période.

##### **I-2-1-1 Qualité :**

La palpation transrectale est une technique relativement simple, peu coûteuse et qui à l'avantage de fournir un résultat immédiat mais qui ne peut être mise en œuvre que relativement tardivement. Elle est réalisable dès le 30e jour post-insémination pour un manipulateur très expérimenté mais un résultat fiable ne peut être donné avant le 35e jour (Youngquist, 2007).

Au cours de la gestation la sensibilité augmente pour atteindre 100% à partir de 90 jours de gestation. Le risque d'avortement consécutif à une palpation transrectale reste un sujet controversé. Certaines études indiquent un risque pouvant atteindre 15% en cas de palpations trop brutales (Humblot, et al. 1984). Une étude plus récente indique que le diagnostic de gestation par palpation transrectale n'augmente pas le risque de mortalité embryonnaire (Romano, et al. 2011). Le risque semble dépendre uniquement des précautions du manipulateur.

**A trois semaines :** Le diagnostic de gestation est impossible par palpation transrectale à ce stade. Le col n'est pas modifié. L'utérus reste flasque du fait de l'imprégnation progestéronique, son volume n'est pas modifié.

**A un mois :** L'embryon mesure 1 cm de long ; les cornes utérines, le col et les artères utérines ne sont pas hypertrophiés.

**A deux mois :** Pour un manipulateur averti, un diagnostic précoce est possible à ce stade. Le fœtus mesure 5 cm. La corne gravide est hypertrophiée. Les enveloppes fœtales sont perceptibles en pinçant le corps utérin. On laisse échapper trois structures : les enveloppes fœtales, la paroi utérine et la paroi rectale. Ce signe est dit «glissement de membrane ».

**A trois mois :** C'est à ce stade que le diagnostic est le plus simple. L'hypertrophie de la corne gravide est nette, elle est fluctuante à la palpation et les reliefs osseux du fœtus sont palpables.

**A quatre mois :** Le fœtus mesure 15cm. Le col s'hypertrophie et commence à plonger vers le bas. Au niveau de l'utérus on peut palper les placentomes.

**A six mois :** Le fœtus n'est plus palpable par voie transrectale car il est descendu sur le plancher de l'abdomen. On peut donc faire un diagnostic de gestation faussement négatif si l'on ne recherche pas l'hypertrophie du col, la présence de cotylédons.

**A partir de sept mois :** Le fœtus est de nouveau palpable, on perçoit nettement la tête et les membres.

### **I-2-1-2 Principe :**

#### ***I-2-1-2 -1 Palpation des ovaires :***

Tout au long de la gestation, un corps jaune est présent à la surface de l'un des deux ovaires. Cependant à la palpation, on ne peut pas distinguer un corps jaune cyclique. La vache continue de présenter des croissances folliculaires pendant la gestation avec des follicules atteignant un diamètre pré-ovulatoire qui régressent ensuite sans ovuler (Bencharif, et al.,

2003). Les ovaires peuvent être palpés dans la continuité des cornes (figure 1) ou bien directement en les recherchant latéralement de part et d'autre de la bifurcation utérine. Lors d'une gestation, il pourra être avantageux de palper d'abord les ovaires pour rechercher un corps jaune gestationnel indiquant la corne gestante ipsilatérale (la plupart du temps).

#### **I-2-1-2-2 Palpation du col :**

On recherche tout d'abord le col qui peut servir de tuteur pour aider à trouver le reste du tractus génital. Il se trouve généralement sur le plancher du bassin. Il est possible de le saisir entièrement et de le mobiliser (figure 2). Il ne présente normalement pas d'adhérence avec d'autres organes adjacents.

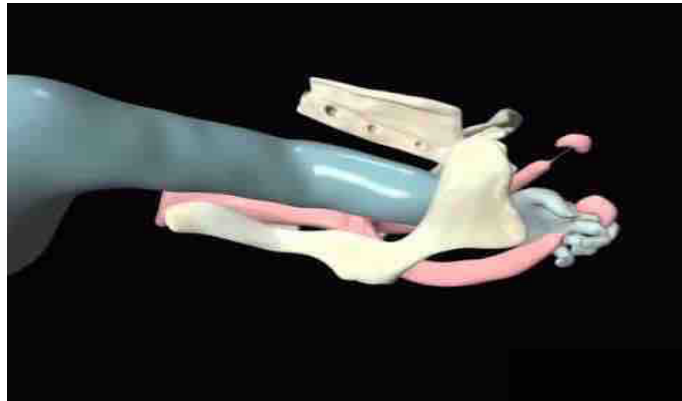
#### **I-2-1-2-3 Palpation des cornes :**

L'utérus est palpé à travers la paroi rectale pour déceler son élargissement, la présence d'un fœtus et de membranes fœtales (JAINUDEEN *et al.*, 2000).

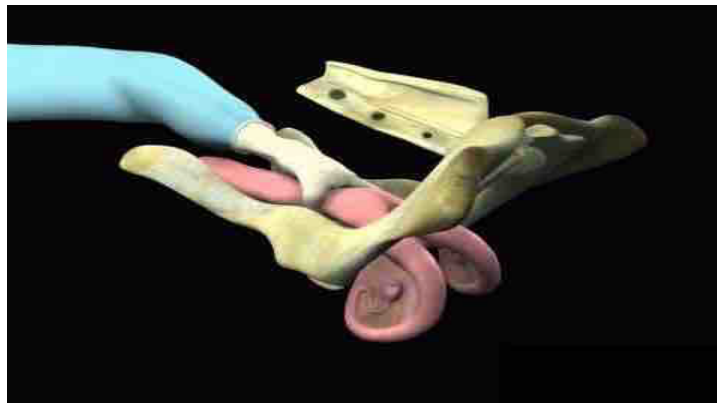
La main palpe le corps utérin après le col jusqu'à la bifurcation des cornes. Ces dernières sont attachées entre elles par les ligaments intercornuaux. On les suit alors, la main partant vers le bas et l'avant de l'animal et latéralement. On tire ensuite le ligament intercornual ventral vers nous pour rétracter l'utérus et l'amener entièrement dans la cavité pelvienne (figure 3).

On peut également procéder autrement: la main est placée bien en avant de l'entrée du bassin et elle est retirée vers l'arrière avec les doigts courbes et orientée vers le bas comme une « cuillère ». Celle-ci va saisir l'utérus au passage pour le ramener dans la cavité pelvienne. Ceci est vrai lorsque l'utérus est vide ou que la gestation est particulièrement précoce (jusqu'à 40--50 jours environ). Si l'utérus est trop descendu dans la cavité abdominale d'une gestation plus avancée (jusqu'à 90--100 jours), la mobilisation de l'utérus permet parfois de rassembler l'appareil génital dans la cavité pelvienne et de faciliter son examen (Hagen et Nouvel, s.d.).

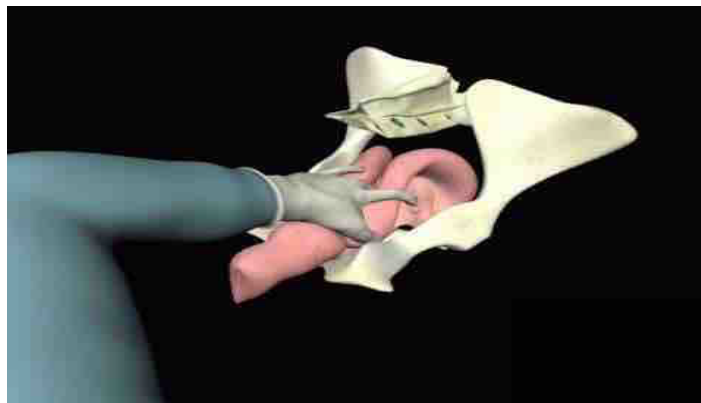
L'asymétrie des cornes peut correspondre à la déformation de l'utérus due à l'accumulation de liquide par une gestation. La consistance sera alors liquidienne et fluctuante (Hagen et Nouvel, s.d.).



**Figure 22** : Diagnostic de la gestation par palpation des ovaires à 60 jours (vue latérale )  
animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)



**Figure 23** : Diagnostic de gestation par palpation du col utérin à 60 jours (vue latérale)  
Animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)



**Figure 24** : Diagnostic de la gestation par palpation des cornes utérines (vue caudale).  
Animation 3D (Harvey et Vaillancourt 2003)

## **I-2-2 Echographie transrectale :**

### **I-2-2-1 Présentation de l'échographe :**

Un échographe est composé d'une sonde reliée par un câble à un moniteur muni d'un écran de visualisation (figure 4). Concernant l'échographie transrectale, on utilisera la plupart du temps un échographe portable que l'on accroche autour de l'avant bras ou de l'épaule, du côté opposé à la main qui opère la palpation et qui tient la sonde pour éviter toute projection de bouses sur l'appareil. L'échographe va produire des ultrasons qui seront réfléchis sur les organes captés par la sonde puis transformés en une image numérique sur l'écran du moniteur.

### **I-2-2-2 Principes de l'échographie transrectale chez la vache :**

En reproduction vétérinaire, en fonction de l'espèce examinée et de son stade de gestation, il faut choisir l'appareil échographique, le mode, la fréquence, le type de sonde échographique et la voie d'examen les plus adaptés. Cette voie est utilisée préférentiellement pour réaliser un diagnostic de gestation précoce. Le diagnostic de gestation par échographie est fondé sur la détection de la présence du conceptus.

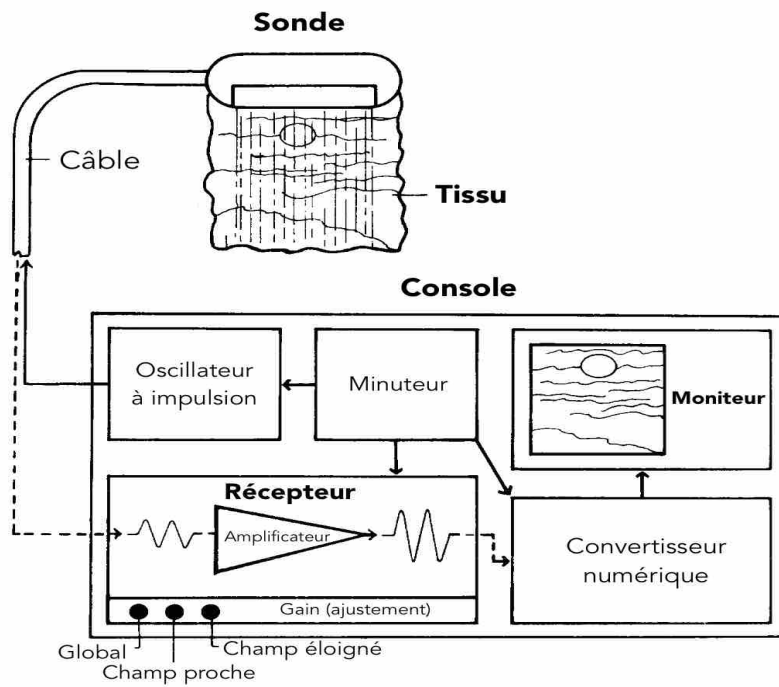
L'échographie transrectale chez la vache se fait en plusieurs étapes et ne se résume pas à échographier la vésicule embryonnaire ou le fœtus. Il faut tout d'abord savoir ce que l'on palpe puis apposer l'échographe sur la paroi rectale en regard de la zone désirée, et pour cela, le rectum doit être un minimum vidangé pour une meilleure qualité d'image.

### **I-2-2-3 Préparation :**

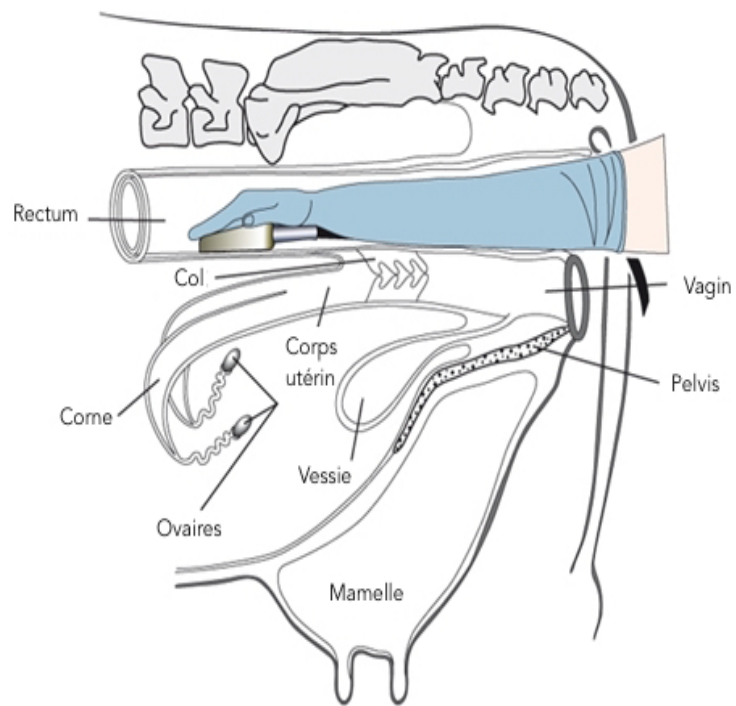
Pour réaliser cet examen, une bonne contention doit être réalisée. Il faut commencer par vider le rectum, repérer l'utérus par palpation et le ramener au niveau du plancher du bassin. On peut alors introduire la sonde et la placer au dessus des cornes utérines.

Il est conseillé d'effectuer l'examen à l'ombre afin de mieux voir l'écran de l'échographe. Pour être plus confortable, l'appareil doit être positionné à gauche pour un droitier et à droite pour un gaucher. La vache doit être immobilisée dans un cornadis ou dans un couloir de contention afin d'éviter les déplacements latéraux pendant l'examen (figure 5).

Tout d'abord, il convient de vidanger le rectum des excréments qu'il contient puis par palpation transrectale de repérer le col, les cornes utérines et d'essayer de regrouper ces dernières dans le creux de sa main si cela est possible (TAINTURIER et al 2003) et (BRIAND, L. et al 2006)



**Figure 25:** principe de fonctionnement d'un échographie (pier,kastelic et Ginther 1988)



**Figure 26 :** Echographie transrectale d'une vache non gravide (BCF Technology 2017)

Si elle est de petite taille, il est possible de la tenir avec le pouce dans le creux de la main, les autres doigts regroupant l'appareil génital sous la sonde (figure 6). On peut alors examiner les cornes, l'une après l'autre puis le corps de l'utérus à la recherche des signes d'une gestation (présence de liquide, vésicule embryonnaire, présence de l'embryon ou du fœtus...). Si la sonde est de grande taille, il est alors difficile de regrouper les cornes utérines dans le creux de la main tout en tenant la sonde mais il est possible d'examiner toute la longueur des cornes au cours d'un seul déplacement latéral de la sonde (TAINTURIER et al 2003) et (BRIAND,L. et al 2006).

#### **I-2-2-4 Examen échographique de l'appareil génital gravide :**

En pratique, l'examen échographique permet de réaliser un diagnostic précoce de gestation à partir du 28<sup>e</sup> 30 jour post insémination. Cet examen est fondé sur 3 critères principaux :

- La présence de liquide dans les cornes (sous forme de zones anéchogènes)
- La mise en évidence de l'embryon de quelques millimètres-
- l'examen de sa viabilité en visualisant ses battements cardiaques.

La présence de liquide dans les cornes de l'utérus ainsi que la vésicule souvent présenté dans la partie libre des cornes entre le 25<sup>e</sup> et le 30 jour. L'embryon est visualisé sous la forme d'une tache claire dans une poche liquidienne souvent plaqué contre la paroi utérine. Il est parfois masqué par un repli utérin et est donc difficile à visualiser.

**Après 30 jours** de gestation, le diamètre de la vésicule allantoïde croît rapidement (vésicule fusionnant par la suite avec le chorion pour donner l'allantochorion). Elle renferme l'amnios, membrane foetale la plus interne délimitant la cavité amniotique dans laquelle baigne l'embryon. Parallèlement, l'embryon croît de 1 mm par jour environ entre le 25<sup>e</sup> et le 50<sup>e</sup> jour de gestation. **A partir du 30<sup>e</sup> jour**, il est possible de visualiser la membrane amniotique sous forme d'un trait fin échogène, puis au 40<sup>e</sup> jour on peut identifier l'attache du cordon ombilical et les différents organes, cette fin de l'organogenèse marque le passage au stade foetal. **A partir de 45 - 50<sup>e</sup> jour**, les premiers centres d'ossification sont observés sur le fœtus au niveau des côtes, des vertèbres, du bassin, du crâne... Les placentomes, ensemble placentaire constitué du cotylédon foetal (houppes chorales) et de la caroncule Maternel le, sont visibles à proximité de l'embryon à partir du 35<sup>e</sup> jour. Afin de s'assurer de la viabilité du conceptus, on observe les battements de l'ébauche cardiaque dès le 25<sup>e</sup> jour de gestation.

**A partir du 45 jour**, il est aussi important de porter attention aux mouvements foetaux à l'apparence du liquide foetal, qui doit être homogène, anéchogène et en quantité suffisante et au développement et à l'intégrité du foetus.





**Figure 27** : Illustration du positionnement de la sonde sur le tractus reproduction d'une vache par voie transrectale (COLLOTION ,et al 2009)

### **I-2-2-5 Interprétation des images échographiques :**

Le diagnostic précoce de gestation par échographie se présente sous la forme d'une accumulation d'une quantité variable de liquide anéchogène du conceptus dans la lumière utérine (Stroud, 1994). Mais, il a été constaté que des zones circulaires anéchogènes pouvaient être mise en évidence entre J10 et J14 aussi bien chez des vaches gestantes que non gestantes (Kastelic, et al. 1991). Au moment de la régression lutéale, les vésicules prennent une forme allongée, pouvant correspondre à l'accumulation de liquide utérin chez les vaches non gravides ou à l'élongation du blastocyste au cours de la gestation. A ce stade l'échographie n'a pas un degré d'exactitude suffisant pour être utilisé comme méthode de diagnostic de gestation.

**A J20** l'embryon se présente sous la forme d'une ligne plus échogène d'environ 4 mm de long. L'embryon peut alors être détecté, cependant sa visualisation est parfois difficile dans la faible quantité de liquide amniotique et allantoïdien. Ce jeune embryon se situe souvent contre la paroi utérine et peut être masqué par un repli de l'endomètre. La visualisation échographique est donc de meilleure valeur diagnostic à partir du **27e jour** de gestation.

**Entre J22 et J30**, il présente une configuration dite en « C », due à la flexion des parties antérieures et postérieures du fœtus. Puis il se redresse et adopte une forme dite en « L ». Lorsque l'on passe au dessus de la vésicule embryonnaire, celle-ci apparaît plus grosse avec à l'intérieur un point blanc qui représente l'embryon, dont on peut percevoir les battements cardiaques à partir du 25e jour de gestation (Chavatte-Palmer, 2006). Les placentomes peuvent être identifiés à partir du 35e jour de gestation et sont visibles à proximité de l'embryon. Un autre signe important du développement normal de l'embryon ou du fœtus est la présence de l'attachement du cordon ombilical à l'utérus à partir du 40e jour de gestation et la visualisation de l'ossification des côtes du fœtus à partir de 50 jours (Descôteaux Luc, 2009).

**Tableau 1** : Diagnostic différentiel des images échographiques visible en transrectale  
(D'après GUIMAD et al 2003)

<b>Situation</b>	<b>Caractéristiques de la lumière et particularités</b>	<b>Caractéristiques de la paroi</b>
<b>Gestation</b>	Lumière anéchogène à peu près circulaire visualisation de l'embryon +/- cotylédons	Echogénicité tissulaire Epaisseur $\approx$ 5mm
<b>Chaleurs</b>	Lumière de faible épaisseur en forme d'étoile	Echogénicité tissulaire Epaisseur $\approx$ 5mm
<b>Pyomètre</b>	Contenu floconneux	Echogénicité tissulaire Epaisseur souvent augmentée
<b>Vessie</b>	Lumière piriforme	Paroi fine (2 à 3 mm) parfois multilamellaire
<b>Vaisseaux utérins</b>	Pouls visible et palpable Lumière prenant une forme allongée lorsqu'on change l'orientation de la sonde	Paroi < 5 mm Très échogène
<b>Kyste folliculaire</b>	Contours de l'ovaire visibles ; Parfois flocons grisâtres en suspension	Paroi 1 à 2 mm
<b>Kyste lutéal</b>	Souvent travées conjonctives traversant la lumière	Paroi épaisse

**I-2-2-6 Qualité :**

Cette méthode est très appréciée en pratique des éleveurs qui peuvent suivre en même temps que le vétérinaire l'examen gynécologique et qui obtiennent ainsi une réponse immédiate au chevet de l'animal. Cette méthode diagnostique est très fiable (maximum de sensibilité et meilleur valeur prédictive négative) à partir du 26e jour chez la génisse et du 30e jour chez la vache. Plus précocement, les vétérinaires expérimentés seront capables de détecter la gestation mais la sensibilité et la VPN de l'échographie seront diminuées (Silva, et al., 2007). La fiabilité de l'échographie dépend de l'expérience du praticien, de la date du diagnostic, de l'âge de l'animal et de la note d'état corporel de l'animal (Youngquist, 2007). L'utilisation d'un échographe coûte entre 1000 et 2000 euros par an (achat de l'échographe, maintenance) ce qui nécessite un nombre d'actes conséquent pour être rentable.

**I-2-2-7 Les avantages de l'échographie :**

**La précocité :** Elle permet d'établir un diagnostic dès 25 –30 jours de la gestation,

**La Fiabilité :** Le diagnostic de gestation par échographie a une sensibilité de 97,7% et une spécificité de 87,7% entre 26 et 33 jours de gestation. La sensibilité peut atteindre jusqu'à 100% à partir du 29 jour,

**L'innocuité:** Les diagnostics de gestation précoces par échographie n'augmentent pas le taux de mortalité embryonnaire.

**La rapidité:** Le diagnostic est réalisé directement dans l'élevage au chevet de l'animal. Cependant, l'acquisition d'un échographe reste un investissement important et sa manipulation nécessite un certain apprentissage afin d'améliorer la fiabilité des diagnostics.

**I-2-2-8 Autres informations intéressantes apportées par l'échographie :**

Plusieurs appareils échographiques sont dotés d'un programme qui permet d'estimer l'âge de l'embryon à partir de mesures spécifiques. La détermination de l'âge du fœtus est particulièrement intéressante dans les élevages allaitants pour compenser le manque d'information sur les saillies. L'énorme avantage de l'échographe c'est qu'il est capable en temps réel d'évaluer la viabilité de l'embryon en portant une attention particulière à la présence de battements cardiaques. Ces derniers sont généralement visibles à partir du 25e jour de gestation.

- **Dès le 45e jour**, on peut également observer les premiers mouvements du fœtus. Enfin il est important d'observer la présence d'un liquide homogène anéchogène en quantité adéquate autour de l'embryon pour confirmer le développement normal du conceptus.
- **Les apparences échographiques d'une mortalité embryonnaire** : sont la présence de nombreux débris échogènes à l'intérieur du liquide amniotique et allantoïdien ou une mauvaise définition des structures observées doivent faire suspecter une mortalité. Cela doit nous inciter à approfondir notre examen échographique (Descôteaux Luc, 2009).
- L'échographie permet de réaliser un diagnostic du sexe possible entre le 55e et le 65e jour de gestation. Le sexage se fait par l'observation de la migration du tubercule génital vers le cordon ombilical chez le mâle et vers la queue chez la femelle. Après le 65e jour, le bourgeon génital s'organise et n'est plus visible à l'échographie.

### **I-2-3 Voie vaginale:**

Cet examen évite de vidanger le rectum mais ne permet pas de diagnostiquer une gestation sur un utérus qui aurait basculé précocement en avant du bord antérieur du pubis chez les vaches qui présentent un relâchement du ligament large (TAINTURIER, D et al (2006).. Cette méthode est très peu utilisée.

### **I-2-4 Voie transabdominale:**

Cette voie est utilisée préférentiellement dans la deuxième moitié de la gestation car le fœtus et l'utérus se trouvant alors principalement dans l'abdomen ventral de la vache, il est nécessaire d'effectuer un examen par voie transabdominale (DESCOTEAUX et al (2009).

Il faut tout d'abord tondre la région ventrale, la rincer avec de l'eau tiède et appliquer un gel échographique afin d'augmenter la qualité de l'image. La zone à préparer s'étend du quadrant ventral du flanc droit ventralement jusqu'à la ligne blanche et crânialement jusqu'à l'appendice xiphoïde (DESCOTEAUX et al (2009). Elle remonte jusqu'à une ligne horizontale située 15 cm dorsalement au grasset (BUCZINSKI , S. (2009). Après 7 mois de gestation la palpation externe de l'abdomen permet de mieux localiser le fœtus (DESCOTEAUX et al (2009). La sonde est appliquée contre la paroi rectale ventrale. Elle va ainsi balayer l'utérus d'avant en arrière et de gauche à droite pour visualiser les structures que l'on désire idéalement préalablement palpées en fonction du stade de gestation: Embryon, fœtus, cotylédons, membrane amniotique... Il est à noter que le fœtus est visible jusqu'à environ 3 mois. Au delà, l'uterus plonge dans l'abdomen de par son poids et il devient alors très difficile de visualiser le fœtus. On n'observe alors souvent que des cotylédons ainsi que le

liquide présent en grande quantité dans la lumière utérine et parfois un morceau du fœtus mais rarement plus même à bout de bras. Il est à noter qu'au-delà de trois mois de gestation, l'utérus plonge généralement dans l'abdomen du fait du poids du fœtus et de ses annexes. On visualise alors uniquement les cotylédons, les liquides fœtaux et avec de la chance, une partie du fœtus qui est alors déjà gros.

#### **I-2-5 Diagnostic de gestation tardif :**

Le diagnostic de gestation tardif est défini au-delà de 100 jours de gestation. A ce stade l'intérêt de l'échographie transrectale est limité puisque le fœtus et les modifications de l'utérus peuvent être mis en évidence par palpation transrectale.

A partir du 4-5 mois de gestation, le poids important du fœtus l'entraîne vers le bas et il devient difficile de l'explorer par échographie transrectale. On peut alors envisager une échographie abdominale par le flanc droit mais son intérêt reste limité en pratique.

#### **I-2-6 Diagnostic de non gestation :**

Le diagnostic de non gestation nécessite le plus souvent un examen plus long. Pour établir ce diagnostic, il est important de rechercher la présence ou l'absence de corps jaune sur les ovaires. L'absence de corps jaune conforte le diagnostic de non gestation. Dans le cas contraire, il faudra examiner minutieusement l'ensemble de l'utérus et vérifier l'absence de liquide notamment dans la corne ipsilatérale au corps jaune.

### ***I-3 Méthodes biochimiques :***

En laboratoire, le diagnostic de gestation des bovins est réalisé à partir de dosages hormonaux (sulfate d'œstrone, hormone lactogène placentaire, progestérone et protéines spécifiques ou associées à la gestation).

#### **I-3-1 Early pregnancy factor (EPF) :**

En 1998 chez les bovins, un test utilisant une méthode d'immunochromatographie sur membrane et recherchant une glycoprotéine immunosuppressive dénommée l'Early Conception factor (ECF) a été mis sur le marché aux Etats-Unis : (ECF<sup>TM</sup>) Dip Stick test. L'ECF serait apparenté à la famille moléculaire de l'EPF. Avant sa commercialisation aucune publication sur son efficacité n'était disponible.

##### **I-3-1-1 Qualité :**

Cette méthode semble très intéressante puisqu'il s'agit d'une méthode simple, peu couteuse et précoce. Malheureusement, les études les plus récentes font apparaître un manque flagrant de fiabilité de ce test chez les bovins.

**I-3-2 Dosage du sulfate d'œstrone :****I-3-2-1 Principe :**

Le sulfate d'œstrone est la principale hormone œstrogène présente dans la circulation maternelle durant la gestation. Le sulfate d'œstrone est détecté dans le plasma maternel à partir du 100e jour de gestation. Sa concentration dans le sang maternel augmente de façon linéaire dans le temps pour atteindre un plateau dans les dix derniers jours avant la mise bas (Chavatte-Palmer, et al. 2006). Après le 120e jour, le taux plasmatique est de l'ordre de 250 pg/mL; au 221e jour à 520 pg/mL et à la mise bas le taux est supérieur à 4000 pg/mL (Bencharif, et al. 2004). Les concentrations maternelles sont diminuées lors d'avortements ou de mortalité fœtale. Le dosage est réalisé par une technique de radio-immunologie avec un seuil de 100 pg/mL à 120 jours.

**I-3-2-2 Qualité :**

Ce test est fiable à partir du 120e jour de gestation avec un taux d'exactitude de l'ordre de 96% à 97% (Bencharif, et al. 2004). Mais ce diagnostic de gestation par évaluation de la concentration en œstrogènes est qualifié de tardif. De plus un résultat négatif peut aussi bien signifier un état non gestant qu'une gestation débutante. En conséquence cette méthode est peu utilisée. Ce type de dosage constitue toutefois un bon indicateur de la viabilité fœtale

**I-3-3 Dosage de la progestérone :****I-3-3-1 Principe :**

Après l'ovulation, la progestéronémie est inférieure à 1 ng/mL. Le follicule se transforme en corps jaune, qui commence la sécrétion de progestérone quatre jours après sa formation pour atteindre un pic vers le 7ème jour. Ce dernier est estimé à partir de toute valeur excédant 1ng/mL. Cependant ce pic est très variable selon les auteurs et peut atteindre des valeurs arrivant jusqu'à 8-10 ng/mL. La sécrétion de progestérone se maintient ensuite en plateau jusqu'à la lutéolyse débutant le 17ème ou le 18ème jour du cycle, date à laquelle le taux diminue rapidement pour disparaître au 19ème jour du cycle (BENCHARIF et al. 2004). En revanche, si au cours de l'oestrus, la vache est fécondée, le maintien du corps jaune entraîne une progestéronémie élevée supérieure à 1ng/mL pendant toute la gestation pour s'effondrer à l'approche du part. Le dosage de progestérone peut être effectué sur le sérum ou le lait maternel le 23ème ou le 24ème jour post-insémination ou saillie (BENCHARIF et al. 2004).

- Taux de progestérone dans le sang  $> 1\text{ng/mL}$  ou Taux de progestérone dans le lait  $> 4\text{ng/mL}$  : Présence d'un corps jaune : vache gestante
- Taux de progestérone inférieur à ces valeurs : Absence de corps jaune, vache non gestante

### **I-3-3-2 Qualité :**

Ce test offre des valeurs d'exactitude de diagnostic de gestation d'environ 90% alors que les valeurs de diagnostic de non gestation approchent les 100%. Les limites du test résident dans l'obligation de connaître avec précision la date de saillie ou de l'insémination et d'en tenir compte individuellement, sinon il peut donner lieu à de erreurs de diagnostics de gestation, ce qui est aussi possible en cas de mortalité embryonnaire précoce. Pratiquement, ce dosage est très efficace pour le diagnostic de non gestation. Il permet aussi de remettre sans retard à la reproduction des femelles diagnostiquées non gestantes.

### **I-3-3-3 Early pregnancy factor (EPF) :**

La pénétration du spermatozoïde dans l'ovocyte donne lieu à la production d'une substance, la zygotine qui dans les premières heures du développement de l'œuf stimulerait la production par l'ovaire porteur du corps jaune d'un facteur appelé Early Pregnancy Factor (EPF) (Cavanagh, et al., 1982). L'EPF est le facteur le plus précoce de la gestation. Il serait nécessaire à la survie de l'embryon. Il se pourrait que ce facteur contribue à diminuer l'immunocompétence des lymphocytes en début de gestation et ainsi faciliter la tolérance immunologique de l'embryon par l'organisme maternel (Morton, et al. 1983). Mais ce marqueur n'est pas spécifique de la gestation. L'EPF est sécrété par les cellules tumorales durant les phases de croissance et de division (Quinn, et al. 1990), également par les cellules normales prolifératives chez l'adulte (Quinn, et al. 1994) et par les plaquettes activées (Cavanagh, et al. 1991). Jusqu'à présent, aucun test fiable basé sur la détection de l'EPF n'a permis d'identifier les femelles non gravides.



**I-3-3-3 Choix du type de prélèvement :**

Deux types de prélèvements sont utilisés :

**I-3-3-3-1 Des prélèvements sanguins :**

- (THIMONIER 2000) : Il existe actuellement des

Kits permettant l'estimation du taux de progestérone directement dans les élevages que ce soit à partir de sang, de plasma et de sérum. Toutefois, la réalisation d'une prise de sang tant à la veine coccygienne qu'à la veine jugulaire n'est pas un acte aussi bien maîtrisé par les éleveurs que la réalisation d'un prélèvement de lait. Par ailleurs si les concentrations de progestérone ne semblent pas varier dans le plasma ou le sérum, il n'en est pas de même dans du sang complet maintenu à température ambiante ou même à 4°C. L'envoi éventuel des prélèvements sanguins à un laboratoire nécessite donc au préalable une centrifugation ou l'ajout d'acide de sodium ce qui limite d'autant leur usage dans les exploitations.

**I-3-3-3-2 Des prélèvements de lait :**

(GINTHER et al. 1976) : Ce type de prélèvement est facilement réalisable dans les élevages laitiers au cours de la traite. Il existe une forte corrélation entre la concentration en progestérone dans le lait et la progestéronémie bien que la première soit toujours supérieure à la seconde. Le taux de progestérone dans le lait est donc un bon indicateur de l'activité lutéale. Il existe toutefois de nombreux facteurs influençant la concentration de progestérone dans le lait qu'il est important de prendre en compte.

**I-3-3-4 Facteurs influençant la concentration de progestérone dans le lait :*****I-3-3-4-1 La conservation :***

Selon une étude réalisée sur 22 vaches gravides, la concentration en progestérone dans le lait n'est pas affectée ( $p > 0,1$ ) par le délai de conservation, la température de conservation et l'ajout d'un conservateur (PENNINGTON et al. 1981).

Toutefois, certains échantillons de lait conservés 5 ou 10 jours sans conservateur ont coagulé et ceux dont les phases solides et liquides n'ont pu être remélangées par agitation et chauffage n'ont pas pu être testés. L'ajout d'un conservateur est donc conseillé lors d'une conservation longue.

***I-3-3-4-2 La méthode de prélèvement :***

Selon la même étude, la méthode de prélèvement a un effet significatif ( $p < 0,01$ ) sur la concentration en progestérone dans le lait (PENNINGTON et al. 1981). La concentration est significativement plus grande dans le lait de traite totale que dans le lait issu des premiers jets.

Ceci est à rapporter en partie au taux butyreux des échantillons. Il existe en effet une corrélation significative entre le taux butyreux et la concentration en progestérone dans le lait (GINTHER et al. 1976; PENNINGTON et al. 1981). Or le taux butyreux est significativement plus élevé dans le lait de traite totale que dans celui issu des premiers jets. Ainsi, lorsqu'on ramène la concentration de progestérone en ng/g de gras et non en ng/mL de lait, la différence de concentration entre le lait de traite totale et le lait des premiers jets n'est plus significative.

#### ***I-3-3-4-3 L'heure de prélèvement :***

Selon plusieurs études, l'heure du prélèvement a une grande influence sur la concentration de progestérone dans le lait. Toutefois, les résultats de ces études ne sont pas en accord les uns avec les autres.

Dans une première étude réalisée sur 22 vaches gravides, la concentration en progestérone dans le lait a été trouvée significativement plus élevée ( $p < 0,01$ ) dans le lait de traite du soir que dans le lait de traite du matin (PENNINGTON et al. 1981). Cette différence n'a pas pu être expliquée à partir des taux butyreux différents des échantillons.

Dans une deuxième étude réalisée sur 10 vaches laitières de races différentes, des prélèvements de lait ont été effectués à différents moments de la journée : juste avant et après la traite du matin, puis 3 heures, 6 heures, 9 heures et 12 heures après la traite du matin (ce dernier prélèvement s'effectuant donc juste avant la traite du soir) (GINTHER et al. 1976).

Encore une fois, l'heure du prélèvement a eu un effet significatif ( $p < 0,005$ ) sur les concentrations de progestérone, la concentration en progestérone était ainsi significativement plus basse dans le lait prélevé juste avant la traite du matin que dans celui prélevé juste après (8,0 ng/mL contre 23,2 ng/mL,  $p < 0,05$ ) puis diminuait progressivement entre le lait post-traite du matin et le lait pré-traite du soir (la régression linéaire négative est significative avec  $p < 0,005$ ).

Mais contrairement à la première étude, il n'existait pas de différence significative entre le lait de traite du matin et le lait de traite du soir. Ces résultats permettent cependant de mettre en évidence la nécessité de se tenir à l'heure de prélèvement initialement prévue dans le protocole d'une étude.

#### ***I-3-3-4-4 Les transformations du lait :***

Comme vu précédemment, il existe une corrélation significative entre le taux butyreux et la concentration en progestérone dans le lait (GINTHER et al. 1976; PENNINGTON et al. 1981). Or le taux butyreux varie d'un produit laitier à l'autre (de 0,01% pour le lait écrémé à

80% pour le beurre). La concentration en progestérone varie donc d'un produit laitier à un autre. Pour les mêmes raisons, il est très important de bien homogénéiser un échantillon de lait entier ou de lait demi-écrémé avant un dosage (GINTHER et al. 1976).

Enfin, bien qu'aucune étude ne se soit intéressée au sujet, la pasteurisation ne semble pas avoir d'influence sur la concentration en progestérone (GINTHER et al. 1976).

#### ***I-3-3-4-5 :La race :***

Les études sur l'influence de la race montrent des résultats contradictoires. Dans une étude réalisée en 1976, la race n'a aucune influence sur les concentrations en progestérone (GINTHER et al. 1976) tandis qu'une étude plus récente montre une concentration en progestérone significativement plus élevée ( $p < 0,05$ ) dans le lait des vaches Jersiaises que dans le lait des vaches Brunes des Alpes, Guernesey et Holstein (PENNINGTON et al. 1981).

#### **I-3-3-5 Les méthodes de dosage**

Il existe 3 méthodes de dosage de la progestérone :

- \* La méthode radio-immunologique (GINTHER et al. 1976; PENNINGTON et al. 1981)
- \* La méthode chromatographique (GINTHER et al. 1976)
- \* La méthode immuno-enzymatique (NEBEL 1988)

La méthode immuno-enzymatique ayant été la méthode utilisée lors de l'expérimentation réalisée au centre d'élevage de Poisy, elle sera prise comme exemple pour la suite, la méthode immuno-enzymatique est une méthode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assays) (NEBEL 1988). Elle peut être réalisée à partir de sang, de plasma, de sérum ou de lait (THIMONIER 2000) et présente de nombreux avantages par rapport à la métho de radio immunologique : Faible coût, plus grande accessibilité et innocuité des réactifs employés (NEBEL 1988). De plus lorsqu'elle est réalisée directement à la ferme, elle ne nécessite pas de préparation particulière des échantillons et évite les délais de réponse (2 à 10 jours) inhérents aux dosages réalisés en laboratoire.

La corrélation entre la méthode radio-immunologique considérée comme méthode de référence et la méthode ELISA a été évaluée (NEBEL 1988):

- \*Lorsque les 2 méthodes sont réalisées en laboratoire, cette corrélation est de 0,90 à 0,93
- \*Lorsque la méthode ELISA est réalisée en ferme et la méthode radio-immunologique réalisée en laboratoire, la corrélation est de 0,79.

Les tests ELISA sont utilisés pour déterminer si la concentration en progestérone est « haute » ou « basse » plus que pour donner une valeur précise de cette concentration (NEBEL 1988).

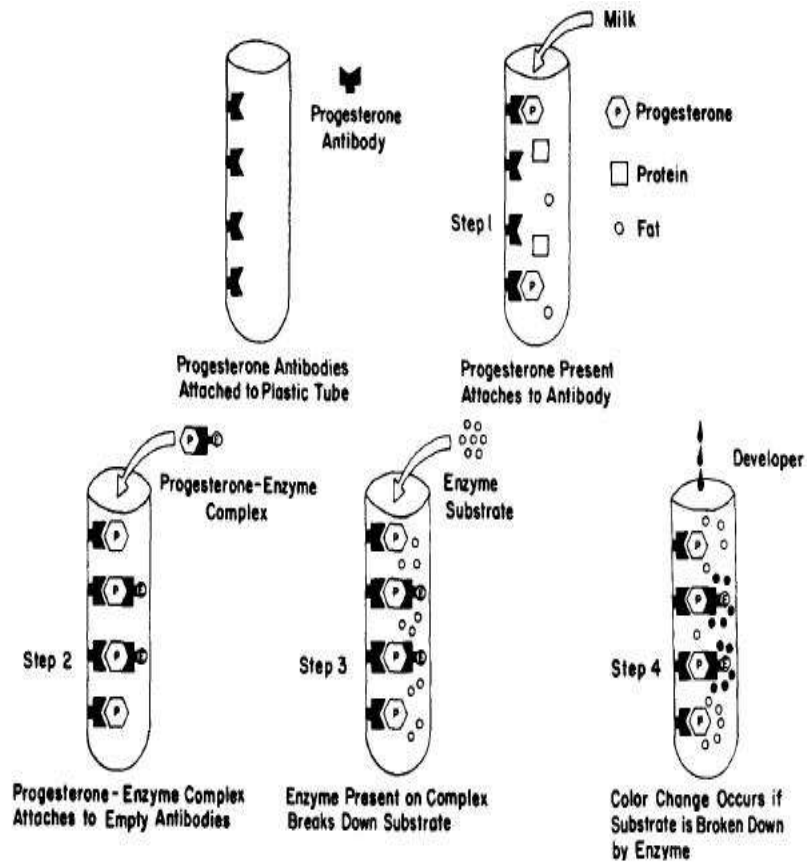
Ils utilisent le principe de l'adsorption compétitive de la progestérone sur un anticorps spécifique de celle-ci (NEBEL 1988). Ces anticorps sont préfixés sur un support permettant de recevoir l'échantillon à analyser. Une fois l'échantillon versé, la progestérone se lie aux anticorps. Dans la plupart des tests, on ajoute alors un couple progestérone-enzyme qui se lie aussi aux anticorps et entre donc en compétition avec la progestérone issue de l'échantillon.

Après une courte incubation (1 à 15 minutes selon les tests), le support est vidé, rincé puis un substrat de l'enzyme est ajouté. La concentration en couple progestérone-enzyme étant dépendante de la concentration en progestérone de l'échantillon, la dégradation du substrat est inversement proportionnelle à cette dernière.

La dernière étape consiste en l'adjonction d'un chromogène qui en réagissant avec le substrat modifié produit une réaction colorée. La réaction colorée est évaluée après 1 à 5 minutes d'incubation selon les tests, la quantité de substrat étant inversement proportionnelle à la concentration de l'échantillon en progestérone, la coloration l'est aussi.

Ainsi, une concentration élevée en progestérone (vache gravide ou en phase lutéale) produira une coloration faible tandis qu'une concentration faible en progestérone (vache en période d'œstrus) produira une coloration intense.

La figure 07 résume le principe générale d'un test rapide utilisant la méthode immuno-enzymatique.



**Figure 28 :** principe général d'un test rapide permettant d'évaluer la concentration en progestérone d'un échantillon de lait par la méthode immuno enzymatique (d'après NEBEL 1988)

**I-3-4 Dosage de l'hormone lactogène placentaire :**

Cette hormone qui intervient dans le développement du fœtus et dans l'activité des glandes mammaires est déversée dans la circulation maternelle dès le 30ème jour de gestation. Elle est détectable dans le sérum de la vache à partir du 60ème jour de gestation. Cette apparition tardive dans le sang maternel prive ce dosage d'intérêt pour un diagnostic précoce de la gestation (HAGEN, 2012).

**I-3-5 Dosage des protéines associées à la gestation (PAG) :****I-3-5-1 Principe :**

Le diagnostic de gestation par dosage des PAG est une technique récente qui n'est pas encore très utilisée dans les pays en voie de développement. Les PAG ne sont détectables dans la circulation périphérique maternelle qu'à partir du 24ème jour de conception chez la vache.

En pratique les prélèvements sont effectués à partir du 35ème jour après la saillie parce que chez plus de 98% de vaches la détection n'est possible qu'au 30ème jour de l'insémination ou de la saillie fécondante (ZOLI et *al.*, 1992). Le seuil de positivité est de 0,8 ng/ml chez les vaches au 35ème jour de la conception, cette concentration continue d'augmenter progressivement dans le sang maternel pour atteindre la valeur de  $6 \pm 4,2$  ng/ml au bout de la 8ème semaine (SOUSA, 2003).

Les PAG sont donc considérées comme des indicateurs de la gestation par conséquent présentent un intérêt pour le diagnostic.

**I-3-5-2 Qualité :**

Les PAG apparaissent comme de bons indicateurs de l'état du déroulement de la gestation, parce que le niveau de concentration des PAG dans la circulation périphérique maternelle. Ainsi donc lorsqu'il y a mortalité embryonnaire, la concentration des PAG chute brutalement. Le dosage des protéines associées à la gestation permet d'envisager des études sur la mortalité embryonnaire précoce, tardive et l'avortement. Le diagnostic de gestation par dosage des PAG présente un inconvénient majeur, il n'est pas applicable aux vaches n'ayant pas plus de 120 jours du post-partum (BARBRY, 2012) ; cela est expliqué par le fait qu'il existe une quantité résiduelle des PAG après la mise bas.

**I-3-5-3 Méthodes utilisables :****I-3-5-3-1 Dosage radio-immunologique (RIA) :**

Le laboratoire de physiologie de la reproduction, FMV (Faculté de Médecine Vétérinaire), Liège (Belgique) propose sous l'impulsion du Pr Beckers depuis plusieurs années une technique radio-immuno-assay (RIA) pour un assortiment glycoprotéique (principalement la boPAG-1), valable à partir du 30e jour chez la vache et au moins 100 jours après le vêlage.

Les connaissances acquises sur l'endocrinologie de la gestation ont fortement évolué grâce au développement de différents systèmes de dosage radio-immunologique (RIA).

#### **I-3-5-3-1-1 Principe :**

Un dosage radio-immunologique utilise la propriété que possède un anticorps de s'associer spécifiquement à l'antigène qui lui a donné naissance. La méthode radio-immunologique (RIA pour les Anglo-Saxons) a été proposée en 1959 pour le dosage de l'insuline par Yalow et Berson qui poursuivaient des recherches sur la mise en évidence d'anticorps anti-insuline chez les sujets diabétiques traités à l'insuline. Ce principe repose sur la compétition entre un antigène ( $PAG^{\circ}$ ) et le même antigène marqué au moyen d'un isotope ( $PAG^{*}$ ) vis-à-vis de l'anticorps spécifique (Anti-PAG).

Les concentrations en  $PAG^{*}$  et en Anti-PAG étant constantes, toute augmentation de la concentration en  $PAG^{\circ}$  entraîne une augmentation de la concentration en complexe  $PAG^{\circ}$ -Anti-PAG au détriment de la formation du complexe  $PAG^{*}$ -Anti-PAG. Il en résulte une augmentation de la concentration de  $PAG^{*}$  libre dans le milieu d'incubation. Au terme de la réaction, les  $PAG^{*}$  libres et liés sont séparés. Grâce au signal émis par le marqueur, on peut mesurer la concentration en  $PAG^{\circ}$ . On établit ensuite une courbe standard ou d'étalonnage avec des concentrations connues en antigène. On détermine ensuite la concentration en antigène de solutions inconnues.

#### **I-3-5-3-1-2 Avantages et inconvénients :**

La méthode radio-immunologique est dite quantitative, c'est-à-dire qu'elle nous permet de suivre la concentration exacte en PAG au cours de la gestation, cette caractéristique en fait une méthode de choix pour l'étude des protéines associées à la gestation. D'ailleurs un grand nombre d'études citées dans cette synthèse bibliographique utilisent les différents systèmes RIA disponibles pour décrire les caractéristiques des PAG's.

L'utilisation du RIA comme méthode de dosage des PAG's chez la vache est une méthode ayant une très grande spécificité et sensibilité. A titre d'exemple Zoli et al. (1992), obtient une sensibilité de 98,88 % et une spécificité de 87,5 %.

Cependant, l'emploi de matériaux radioactifs entraîne un certain nombre d'inconvénients :

- Un appareillage au coût élevé,
- Une maintenance délicate des appareils,
- Des manipulations dangereuses,
- Une réglementation stricte,
- Une utilisation de locaux spéciaux,
- Une formation spécialisée du personnel et une surveillance médicale stricte,
- Un stockage particulier des réactifs et des déchets.

Ainsi, depuis quelques années, on observe le développement dans ce domaine de l'immuno-enzymologie ELISA.

#### ***I-3-5-3-2 Dosage immuno-enzymatique (Méthode ELISA) :***

Les méthodes immuno-enzymatiques ELISA pour doser les PAG's dans le sang ont été mises au point récemment.

##### **I-3-5-3-2-1 Principe :**

Comme pour la méthode RIA, le dosage ELISA utilise la propriété que possède un anticorps de s'associer spécifiquement à l'antigène qui lui a donné naissance. Nous allons ici détailler les étapes de l'ELISA en sandwich (indirect) utilisé dans le test d>IDEXX ( figure 07) afin de détecter un échantillon d'antigène dans le sérum ou le lait.

1. Une surface est préparée et une quantité connue d'anticorps dits de capture y est liée (3 anti-boPAG monoclonaux : L4, J2 et A6). Ce complexe appelé immuno-absorbant permet de capter les boPAG's de la solution testée.

2. L'échantillon contenant l'antigène (boPAG's) est appliqué à la plaque. Il y a formation d'un immun complexe.

3. La plaque est rincée, de façon à éliminer l'antigène non lié.

4. Les anticorps de détection (anti-boPAG polyclonaux) sont ajoutés.

5. La plaque est rincée une seconde fois.



6. L'enzyme couplée reconnaissant la fraction Fc des anticorps polyclonaux est ajoutée. Il s'agit du conjugué.

7. La plaque est rincée une troisième fois.

8. Le substrat convertible par l'enzyme en signal fluorescent est ajouté. Ce substrat est du Tétra Méthyl Benzidine soit TMB

9. La lecture du test se fait par mesure de la densité optique dans un spectrophotomètre spécialement conçu pour accepter directement les plaques de 96 puits

#### **I-3-5-3-2-2 Avantages et inconvénients :**

L'utilisation de l'ELISA comme méthode de dosage des PAG's chez la vache est une méthode ayant une très grande spécificité et sensibilité. Par exemple Romano *et al.*, en 2010 obtiennent une sensibilité de 96% et une spécificité de 93,9% avec un test ELISA. Ce test ne nécessite pas d'investissement contrairement à l'échographe. Son prix aux alentours de 4-5 euros est compétitif. Cependant la nécessité d'utiliser un laboratoire explique les inconvénients :

- Si la réponse est immédiate avec l'échographe, elle est différée avec le test ELISA, qui doit être réalisé dans un laboratoire équipé et compétent.

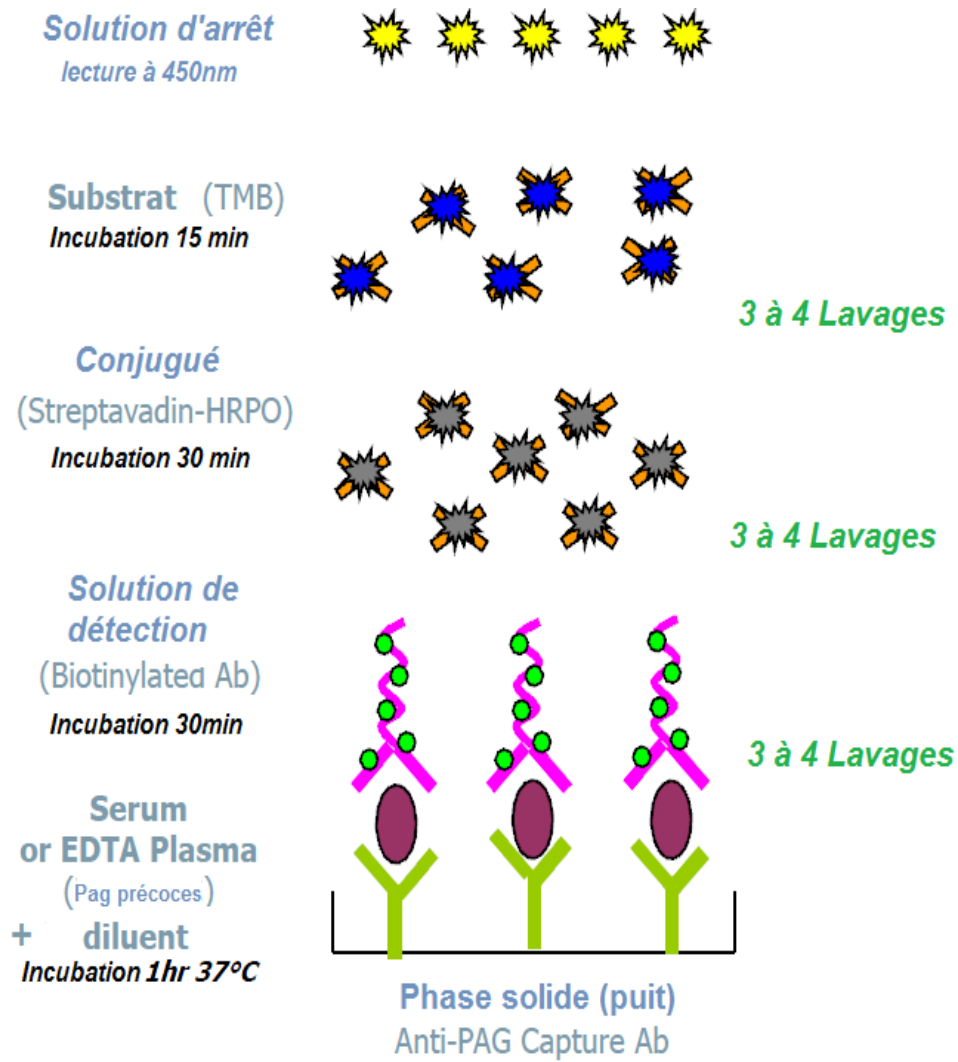
- Maintenance du lecteur de microplaques (linéarité, reproductibilité inter canaux).

#### **I-3-5-4 Application :**

##### ***I-3-5-4-1 Dosage des boPAG's :***

Les anticorps produits contre les protéines purifiées (PSPB, boPAG-1,...) peuvent être dosés pour détecter la présence de ces protéines dans la circulation périphérique maternelle.

Beaucoup de méthodes ont été mises en place pour mesurer le taux de boPAG's dans la circulation périphérique au cours de la gestation (Méthode RIA homologue, RIA hétérologue, ELISA). Ces glycoprotéines sont détectables pour la plupart à partir de l'implantation de l'embryon (J35). Cependant, la plupart de ces protéines n'ont pas été purifiées et ne sont pas encore disponibles pour le développement de dosage radio-immunologique (RIA) ni de dosage ELISA.



**Figure 29** : Principe de L'ELISA« sandwich » du test d'Idexx

**I-3-5-4-2 Dosage de la PSPB :**

Cette méthode diagnostique est une méthode simple, précoce, peu couteuse et fiable dès J27 chez la vache. Rappelons juste qu'il est nécessaire d'attendre 80 à 100 jours post-partum pour pouvoir utiliser ce test. Un kit de dosage ELISA de la PSPB comme méthode de diagnostic de gestation est disponible sous le nom Biopryn™ (BioTracking, LLC, Moscow, ID, USA) et est commercialisé depuis 2003 aux États-Unis. Ce test est dit qualitatif puisque basé sur la comparaison de la densité optique de l'échantillon testé avec la densité optique de trois échantillons aux concentrations connues (Piechotta, et al., 2011). Actuellement la concentration du standard ainsi que les valeurs seuils sont gardées secrètes. L'utilisation de l'ELISA comme méthode de dosage de la PSPB permet aujourd'hui d'obtenir un test de diagnostic de gestation fiable à J27, avec une sensibilité allant de 93,5% à 96,3% et une spécificité allant de 91,7% à 96,8% (Silva, et al., 2007). On obtient ainsi une fiabilité très proche de ce que l'on obtenait avec la méthode RIA ou avec l'échographie transrectale à la même date (Zoli, et al., 1992) (Silva, et al., 2007).

**I-3-5-4-3 - Dosage de la boPAG-1 :**

Les qualités sont très semblables à celles décrites pour le dosage de la PSPB. Il s'agit d'une méthode simple, précoce, peu couteuse et fiable à partir de J27 chez la vache Le dosage ELISA indirect de la boPAG-1 utilise comme anticorps de capture des anticorps polyclonaux anti-boPAG-1 obtenus à partir de sérum de mouton. Pour faire la distinction entre les vaches gestantes et non-gestantes une valeur seuil de 1,5 ng/mL est établie. Cette valeur a été choisie sur l'étude de 400 vaches en post IA. Les vaches au dessus de 1,5 ng/mL sont dites gestantes .Alors que les vaches entre 1 et 1,5 ng/mL sont définies comme douteuses et un test de contrôle une semaine plus tard est fortement conseillé (Piechotta, et al., 2011). Il n'y a aucune différence significative entre la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive négative et la valeur prédictive positive du dosage ELISA de la PSPB et du dosage ELISA de la boPAG-1 (Piechotta, et al., 2011). Malheureusement la longue demi-vie de la boPAG-1 (8 jours) empêche l'utilisation du test avant 80-100 jours post-partum (Green, et al., 2005).

**I-3-5-4-4 - Dosage ELISA de la boPAG :**

Il s'agit d'un ELISA de type « sandwich » (Figure 25). Les PAG's précoces extraites du placenta entre J24 et J34 sont enrichies avec la pepstatin A (inhibiteur des protéinases aspartiques) par affinité chromatographique. Une fois purifiées, ces PAG's sont utilisées comme antigènes afin de produire des anticorps polyclonaux et monoclonaux.

Les trois types d'anticorps monoclonaux utilisés (L4, J2, A6) ont été sélectionnés sur la base de leur réactivité envers les PAG's présentes en début de gestation (J24-J34) et leur manque de réactivité envers d'autres protéines pouvant faire interférence lors du dosage.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux a plusieurs avantages. Une spécificité plus marquée envers certaines PAG's exprimées en début de gestation et une détection de PAG's ayant une demi-vie plus courte que celles reconnues par l'antisérum polyclonaux antipAG-1 utilisé dans plusieurs autres tests. Ainsi les PAG's liées par ces trois anticorps ont une demi-vie moyenne de 4,3 jours. Les anticorps de détection sont polyclonaux et sont obtenus à partir d'extrait placentaire de mi-gestation (J80 et J150) afin d'assurer une large couverture de détection. Pour la sensibilité et la spécificité, il est difficile de comparer les tests ELISA entre eux. En effet pour chaque expérience beaucoup de critères varient : la race, l'âge des animaux, l'intervalle entre la prise de sang et le contrôle à l'échographie, la méthode de détermination des PAG's (Romano, et al., 2010).

#### **I-3-5-4-5 Dosage ELISA rapide :**

En 2009, Green *et al.* développent un test ELISA rapide permettant de fournir un résultat en 90 minutes. Le prélèvement est incubé une première fois avec un antigène monoclonal, lavé, puis incubé une seconde fois avec des antigènes de détections polyclonaux, une solution de peroxyde de raifort est ajoutée. 15 minutes après l'ajout de cette dernière solution le tube est visualisé.

Soit la solution reste claire, il n'y a pas de PAG's dans le prélèvement la vache est non gestante, soit la solution devient bleue, il y a des PAG's dans le prélèvement la vache est gestante, ce test rapide possède de très bonnes performances avec une sensibilité de 99,8% et une spécificité de 91,7 % (Green, et al., 2009).

---

**Deuxième Partie**  
**Chapitre II**  
Synthèse des travaux

---

**Le diagnostic de la gestation chez la vache :****Intérêt du diagnostic de gestation précoce :**

La réduction de l'intervalle vêlage-vêlage nécessite un diagnostic de gestation le plus précoce possible afin de détecter rapidement les femelles non gestantes qui n'ont pas été vues en chaleur entre le 18ème et le 24ème jour après l'insémination. Dans une étude récente environ 19% des inséminations artificielles sont réalisées sur des vaches déjà gestantes.

Au Pays-Bas, 4% des veaux ne sont pas issus de la dernière IA réalisée (Roelofs, et al., 2010). Les méthodes précoces permettent si la femelle est vide une remise à la reproduction rapide évitant d'attendre un éventuel retour en chaleur.

**Qualité d'une méthode de diagnostic de gestation !**

L'évaluation des différentes méthodes de diagnostic de gestation nécessite d'établir un ensemble de critères objectifs qui soient mesurables (Le Roux, 2009).

Ces critères sont les suivants :

- \* **la précocité** : Dans un but économique pour détecter rapidement les animaux vides,
- \* **la simplicité** de mise en œuvre,
- \* **la valeur prédictive positive (VPP)**. C'est la probabilité pour une vache diagnostiquée gestante d'être effectivement gestante,
- \* **la valeur prédictive négative (VPN)**. C'est la probabilité pour une vache diagnostiquée non gestante d'être effectivement non gestante,
- \* **la sensibilité** (Nombre de DG positifs exacts/Nombre de vaches réellement gestantes),
- \* **la spécificité** (Nombre de DG négatifs exacts / Nombre de vache réellement non gestantes),
- \* **l'innocuité** vis-à-vis de la gestation en cours,
- \* **le coût**.

**Critères de choix d'une méthode :**

Si l'objectif est d'identifier les femelles pleines alors on choisit la méthode qui donne le moins de faux négatifs. On choisit une technique sensible.

Si l'objectif est d'identifier les femelles vides, on choisit alors la méthode qui donne le moins de faux positifs. On choisit une technique spécifique.

**Méthodes cliniques :****Utilisation de l'échographie :**

La physiologie et le but de mise à la reproduction dépendant des espèces, l'intérêt et les conditions d'utilisation de l'échographie ne seront pas les mêmes suivant les animaux.

**1) Pour avoir un diagnostic de gestation précoce :****Intérêts :**

L'échographie permet de porter un diagnostic de gestation précoce. Dans l'espèce bovine, l'intérêt est principalement économique. Elle permet ainsi de réformer ou remettre précocement à la reproduction les vaches vides ou ayant subi une résorption embryonnaire (LEBASTARD, et al 2006), (TAINTURIER, et al 2006) La valeur prédictive négative d'un diagnostic de gestation est élevée. Elle est respectivement de 95, 98 et 100% à 28, 30 et 31 jours après l'insémination (PICARD-HAGEN, 2015).

**Quand ?**

A partir du 27ème jour après une éventuelle fécondation, il est possible de réaliser un diagnostic de gestation mais il y a un risque d'affirmer qu'une vache n'est pas pleine alors qu'elle l'est. Idéalement, il faut faire un examen échographique entre le 30ème et le 35ème jour puis effectuer une palpation transrectale le 3ème mois afin de remettre à la reproduction les vaches ayant eu une mortalité embryonnaire ou un avortement précoce (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

La sensibilité de l'examen est excellente : elle est proche de 100% après le 29ème jour (DESCOTEAUX, L. et al 2009).. Il est intéressant de connaître la date de saillie ou d'insémination artificielle afin de pouvoir connaître la taille de la vésicule embryonnaire et les signes de gestation à rechercher et ainsi de pouvoir déceler plus facilement des images de résorption embryonnaire (TAINTURIER, et al 2006).. En cas de doute, il est possible de refaire un examen échographique deux semaines après ce premier examen (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

**Méthode :**

Le diagnostic de la gestation par échographie repose sur la visualisation d'une vésicule embryonnaire où l'embryon apparaît sous la forme d'une petite tâche claire dans une poche liquidienne (MOUCHE *et al.*, 2012). Par contre dans le cas où le diagnostic de gestation est négatif, le conceptus est encore trop petit pour être visualisé où il a eu des mortalités embryonnaires précoces

Dans l'espèce bovine, l'examen se fait par voie transrectale. Il est conseillé d'effectuer en premier une palpation transrectale puis d'examiner toute la longueur des cornes avec la sonde échographique.

En cas de diagnostic de non gestation, les ovaires sont également à visualiser pour préconiser un traitement judicieux (TAINTURIER, et al 2006). Les éléments caractéristiques de la gestation à rechercher sont la présence d'un liquide utérin aqueux anéchogène, d'un conceptus, de l'amnios, des cotylédons et d'un corps jaune sur l'ovaire (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

Le premier signe visible de la gestation par échographie est l'apparition d'une zone anéchogène circulaire en zone déclive de l'utérus vers le 27<sup>ème</sup> jour (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003). Cela correspond à la présence de liquide au sein de la lumière utérine (DESCOTEAUX, L et al.2009). Elle est entourée d'une zone d'échogénicité tissulaire (grisâtre, homogène) d'environ 5mm d'épaisseur correspondant à la paroi utérine.

L'embryon est visible à partir du 30<sup>ème</sup> jour chez la vache et du 26<sup>ème</sup>, 27<sup>ème</sup> ou 28<sup>ème</sup> jour chez la génisse (TAINTURIER, D. et al . 2003).. Cette différence est due au fait que la vésicule embryonnaire a tendance à s'étaler dans un utérus qui a déjà été gravide alors qu'elle reste plus compacte et est donc visible plus précocement sinon (TAINTURIER, D. et al (2006). Il est visible sous la forme d'une petite tâche échogène au sein de la vésicule liquidienne.

Avant le 30<sup>ème</sup> jour, il est positionné contre la paroi utérine. Il mesure 12 mm le 30<sup>ème</sup> jour puis grandit d'environ 1 mm par jour jusqu'au 50<sup>ème</sup> jour .Au fil du temps, il se détache de la paroi utérine. Il est possible d'observer la paroi de la vésicule amniotique. Elle a la forme d'un arc de cercle échogène entourant l'embryon (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

Vers le 40<sup>ème</sup> jour, le liquide allantoïdien étant présent en grande quantité, il est visible en zone déclive au niveau de la corne utérine mais remonte également dans le reste de la corne. Il est alors possible d'avoir des images de plusieurs sections de cornes utérines séparées par un pli de la muqueuse (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

Au 42<sup>ème</sup> jour, l'embryon devient un fœtus. Les premiers centres d'ossification sont visibles. Il est possible de suivre le développement fœtal par échographie jusqu'au 110<sup>ème</sup> jour si le fœtus reste accessible. Il ne faut pas confondre la vésicule embryonnaire avec la veine ou l'artère honteuse externe, la présence d'une métrite ou un follicule.

La vésicule embryonnaire est entourée d'une paroi (la paroi utérine), son contour est régulier et son contenu est anéchogène et homogène. En cas de métrite, le contour de la



lumière utérine sera irrégulier et le contenu floconneux (TAINTURIER, D. et al (2006). Les follicules sont situés sur les ovaires.

## **2) Pour connaître le nombre de fœtus :**

### **Intérêts :**

Il est surtout important de connaître le nombre de fœtus dans l'espèce bovine où les gestations gémellaires sont des gestations à risque. En effet, la gémellité entraîne une plus forte probabilité d'avortement, de vêlage dystocique et d'affections post-partum (rétention placentaire, acétonémie ( BUCZINSKI, et al (2009)).

Le diagnostic d'une gestation gémellaire permet ainsi de prévenir l'éleveur qu'il faudra bien surveiller la vache en péripartum ( DESCOTEAUX, L. et al 2009). De plus, la durée de gestation est plus courte de 7 à 10 jours. L'éleveur devra donc modifier son organisation de préparation à la prochaine lactation. Il doit ainsi fournir une alimentation plus énergétique en fin de lactation ainsi qu'une ration de transition adaptée en pré et en post-partum, anticiper le tarissement, surveiller étroitement ses animaux au moment du vêlage et surveiller une éventuelle acétonémie ( BUCZINSKI, et al 2009). En cas de gémellité, il est important de déterminer le sexe des fœtus pour détecter un free-martinisme potentiel chez un foetus femelle (BUCZINSKI, et al 2009). Ceci est en particulier vrai dans le cas où seule la femelle est vivante à la naissance et que son jumeau mâle est mort après la période embryonnaire, soit après le 42ème jour de la gestation (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

### **Quand ?**

Il faut effectuer un examen échographique entre le 40ème et le 60ème jour de gestation CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

### **Méthode :**

Dans l'espèce bovine, il est possible de commencer par l'examen des structures ovariennes. La visualisation de deux corps jaunes doit faire suspecter la présence de jumeaux. (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

En effet chez la vache, 50% des gestations avec deux corps jaunes sur les ovaires sont des gestations gémellaires. Les jumeaux monozygotes sont rares et représentent moins de 5% des cas de gémellité dans cette espèce. Les jumeaux sont la plupart du temps situés dans la même corne utérine (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

Les éléments qui peuvent nous faire soupçonner la présence de jumeaux sont une quantité de liquide observée plus importante que celle attendue au stade de gestation observé, un amnios et/ou un allantochorion plus développés et la présence d'une ligne de gémealité. Cette dernière correspond à l'allantochorion commun aux deux fœtus (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

Il est nécessaire d'observer deux conceptus sur la même image pour diagnostiquer une gestation gémealaire de manière certaine (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003). Le taux de mortalité embryonnaire et foetal est élevé dans le cas de jumeaux. Lorsque le diagnostic de la gémealité est réalisé entre 36 et 42 jours, le taux de mortalité des jumeaux est de 32% s'ils sont situés dans la même corne et de 8% s'ils sont situés chacun dans une corne.

Si un tel diagnostic est porté, il faut renouveler l'examen après le 60<sup>ème</sup> jour de gestation afin de vérifier si les deux foetus sont toujours vivants (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

### **3) pour sexer le fœtus :**

#### **Intérêts :**

Dans l'espèce bovine, le sexe du fœtus peut affecter la valeur économique du petit et de la mère (HOLDER, R. et al 2003). Les réservations de vente et l'assurance d'une vache peuvent alors être modifiées (HOLDER, R. et al 2003). Cela peut permettre également de valoriser la vente d'une vache gravide si le petit est une femelle en élevage laitier ou un mâle en élevage allaitant (TAINTURIER, , et al 2003), cela peut également orienter la conduite à tenir lors d'un vêlage dystocique, le recours à la césarienne sera plus rentable sur un veau femelle en élevage laitier et sur un mâle en élevage allaitant (TAINTURIER, et al (2003).. La connaissance du sexe du fœtus peut également avoir un impact sur la conduite d'élevage. Par exemple, un éleveur de bovins pourra ainsi planifier le nombre de génisses qui seront disponibles pour son élevage (DESCOTEAUX, L., et al 2009). Déterminer le sexe du fœtus peut aussi permettre à un éleveur de décider s'il garde ou non une vache gravide destinée à la réforme (influence la décision et le moment de la réforme) (TAINTURIER, et al 2003)..

En élevage laitier où les veaux femelles (futurs productrices de lait) ont plus de valeur que les mâles, l'éleveur hésitera moins à réformer une vache gravide d'un veau mâle que d'un veau femelle U(TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002). n cas particulier est celui des gestations gémealaire dans l'espèce bovine où il est très intéressant de connaître le sexe des fœtus.

En effet si un fœtus est une femelle et que l'autre est un mâle, il y a un fort risque de free-martinisme (TAINTURIER, D.2003). Sexer les fœtus est aussi un outil de validation intéressant pour évaluer la précision de technologies telles que le sexage des embryons ou le sexage de la semence dans l'espèce bovine (DESCOTEAUX, L , et al 2009). Il est en effet possible de sexer des embryons par PCR avant de les transférer à une vache receveuse lors de transplantation embryonnaire et de sexer la semence par cytométrie de flux avant insémination artificielle.

### **Méthodes :**

Les caractéristiques anatomiques et le développement fœtal des appareils reproducteurs de chaque espèce étant différents, la méthode pour déterminer le sexe des fœtus n'est pas la même. Chez la vache, il faut situer le tubercule génital qui se trouve plus près du cordon ombilical chez le mâle et plus près de la queue chez la femelle (TAINTURIER, D., 2003).

Enfin, il est intéressant de remarquer que lors du sexage tardif, le scrotum apparaît dans l'espèce bovine sous la forme d'une structure échogène ovale contenant deux zones hypoéchogènes correspondants aux sacs scrotaux.

Lorsque le but de l'examen échographique est le sexage du fœtus, il faut éviter d'appuyer sur l'utérus lors de la vidange du rectum et lors de l'examen avec la sonde échographique. Il faut le manipuler le moins possible pour ne pas déplacer le fœtus qui est souvent naturellement dans une position favorable à l'examen (ne pas regrouper les cornes utérines dans le creux de la main) (TAINTURIER, D. I. 2003). Si le fœtus est plongeant et difficile d'accès placer la sonde latéralement à l'utérus afin de la rapprocher du fœtus(TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002). Le sexage nécessite entre 5 et 10 minutes en temps normal. Si l'essai est infructueux, il faut attendre une dizaine de minutes avant de retenter. Pendant ce temps, le fœtus reprendra naturellement sa place initiale, près du rectum, dans une position souvent idéale pour le sexage .

Le sexage n'est pas possible avant le 50<sup>ème</sup> jour de gesta(TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002). Il repose sur la localisation du tubercule génital, structure à l'origine du pénis chez le mâle et du clitoris chez la femelle (TAINTURIER, D. 2003)..

Il n'est pas visible avant le 45<sup>ème</sup> jour et il l'est difficilement entre le 45 et le 50<sup>ème</sup> jour, il migre à partir du 50<sup>ème</sup> jour depuis une position entre les membres postérieurs en direction du cordon ombilical chez le mâle et en direction de la queue chez la femelle. Cette migration commence à être visible à l'échographie à partir du 52<sup>ème</sup> jour. Mais il est conseillé

d'attendre le 55<sup>ème</sup> jour où il sera alors à mi-distance entre sa position initiale et sa position finale (meilleure visualisation).

Il termine sa migration le 60<sup>ème</sup> jour et est bien visible jusqu'au 65<sup>ème</sup> jour (TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002).

Pour le localiser, il faut effectuer des coupes transversales séquentielles du cordon ombilical du fœtus jusqu'à sa queue puis une coupe frontale du fœtus passant au ras de la partie ventrale de son abdomen, et plus tardivement, le sexage repose sur la visualisation du tubercule génital et des bourgeons mammaires chez la femelle et du pénis et du scrotum chez le mâle (TAINTURIER, (2003). On peut définir trois périodes de sexage, la fenêtre idéale se situant autour du 65<sup>ème</sup> jour.

### **Période de sexage précoce : Entre 55 et 65 jours de gestation :**

Le sexage repose sur la localisation du tubercule génital représenté par une image hyperéchogène bilobée. Chez le mâle, entre le 55 et le 65<sup>ème</sup> jour de gestation, le tubercule génital apparaît sous la forme d'un bourgeon très échogène en arrière de l'insertion du cordon ombilical dans l'abdomen (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003). Un peu avant le 60<sup>ème</sup> jour, les bourrelets scrotaux (deux points échogènes entre les membres postérieurs) sont visibles (TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002). A partir du 60<sup>ème</sup> jour, le corps du pénis est visible en coupe frontale sous la forme d'une ligne échogène entre l'anus et le cordon ombilical (TAINTURIER, B. ET AL 2004). Chez la femelle, le tubercule génital apparaît sous la forme d'un bourgeon sous la base de la queue (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

Il faut toujours avoir observé le tubercule génital avant de conclure sur le sexe du fœtus. Ainsi, il ne faut pas confirmer la présence d'une femelle sur le critère qu'aucune structure n'a été observée caudalement au cordon ombilical ou confirmer la présence d'un fœtus mâle sur le fait qu'on n'a pas observé de structure en avant de la queue (DESCOTEAUX, L. et al 2009).

Il faut faire attention chez le mâle, à ne pas confondre la queue du fœtus avec le tubercule génital femelle, et chez la femelle à ne pas confondre le cordon ombilical avec le tubercule génital mâle. Une cause d'erreur fréquente est la mauvaise orientation du fœtus (TAINTURIER, D. et al 2003)..

### **Période de sexage intermédiaire : Entre 65 et 80 jours de gestation :**

Le sexage n'est pas facile. Chez le mâle, il faut chercher le tubercule génital, le pénis et le scrotum. Chez la femelle, il faut visualiser le tubercule génital. Entre le 70<sup>ème</sup> et le 75<sup>ème</sup>

jour chez le mâle, le tubercule génital se transforme en pénis et devient hypoéchogène et difficile à observer. Le diagnostic du sexe est alors difficile.

A partir du 75<sup>ème</sup> jour, le pénis est formé et seule son extrémité est visible : on observe une structure circulaire échogène en arrière du cordon ombilical. Le scrotum est visible entre les membres postérieurs (TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002).

#### **Période de sexage tardive : Entre 80 et 100 jours de gestation :**

Chez le mâle, on visualise l'extrémité du pénis en arrière du cordon ombilical (TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002). Le scrotum entre les membres postérieurs. Chez la femelle, on visualise les bourgeons mammaires sous la forme de quatre points hyperéchogènes dans la région inguinale du fœtus et le tubercule génital sous la queue (TAINTURIER, B., TAINURIER, D., 2002).

Il est conseillé de réaliser des coupes transversales pour rechercher le scrotum entre les membres postérieurs et en l'absence de scrotum de réaliser des coupes frontales pour rechercher les bourgeons mammaires (TAINTURIER, Det al ., 2003)..

#### **Utilisation de l'échographie dans le suivi de gestation :**

Avant le développement de l'échographie, les possibilités d'investigation des vétérinaires pour s'assurer du bon déroulement de la gestation étaient très faibles. Aujourd'hui, cet outil d'imagerie permet une surveillance rapprochée de la gestation, une détection précoce des anomalies et donc contribue à augmenter le nombre de petits nés vivants. Il permet également de s'assurer que la gestation n'impacte pas la santé de la mère.

#### **1) Pour évaluer la viabilité du fœtus, détecter les résorptions et les avortements :**

##### **Intérêts :**

Une fois la gestation diagnostiquée, de très nombreuses affections peuvent affecter les embryons ou les fœtus. Il est important pour le vétérinaire de pouvoir dire si la santé des embryons/fœtus est bonne ou non. L'examen échographique permet notamment de déceler des signes de résorptions embryonnaires (LES HARAS NATIONAUX. 2013). Lors d'infertilité, un examen échographique peut permettre de faire la différence entre une résorption ou un avortement précoce et un échec de fécondation (DAVIDSON, A. ET AL 2009).

**Méthodes :**

Quelle que soit l'espèce, la mortalité fœtale est repérable à l'absence de battements cardiaques et/ou au fait que l'anatomie fœtale ainsi que la forme et le contenu de la vésicule fœtale soient fortement modifiés. Les principaux signes de vitalité observables sont les battements cardiaques et les mouvements spontanés de l'embryon ou du fœtus (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003). Les battements cardiaques sont visibles à partir du 25<sup>ème</sup> jour, les premiers mouvements du fœtus à partir du 45<sup>ème</sup>. Plus tard, il est possible de voir au niveau de la tête les battements des paupières, des mouvements de déglutition et le léchage du muflle (DESCOTEAUX, L. et al 2009).

Les signes échographiques compatibles avec une mortalité embryonnaire ou fœtale sont l'absence de visualisation du fœtus alors qu'il était visible précédemment, la diminution ou l'arrêt des battements cardiaques, l'absence de mouvement du fœtus, la présence de débris échogènes à l'intérieur du liquide amniotique et allantoïdien, une mauvaise définition des structures observées (DESCOTEAUX, L. et al 2009), un fœtus ou embryon d'une taille incompatible avec le stade de la gestation, un volume des eaux fœtales ou embryonnaires incompatible avec le stade de la gestation (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003). un fœtus ou embryon apparaissant désorganisé avec une tendance à la diminution des eaux fœtales et une muqueuse utérine irrégulière.

Attention néanmoins, la présence de débris échogènes à l'intérieur du liquide amniotique et allantoïdien n'est pas toujours synonyme de mortalité fœtale. Il convient alors d'évaluer la viabilité du fœtus directement avant de conclure.

La mortalité fœtale peut apparaître à tous les stades de gestation (TAINTURIER, D., ET AL 2006). Si elle est récente, l'absence de battements cardiaques peut être le seul signe clinique (DESCOTEAUX, L, et al 2009). Lors de doutes, il faut revoir la vache 8 jours après (TAINTURIER, D., ET AL 2006).

**2) Pour détecter des malformations fœtales:****Intérêts :**

L'échographie permet de détecter certaines malformations fœtales avant la mise-bas, dans l'espèce bovine, certaines anomalies peuvent être responsables de dystocies. Les détecter précocement permet de mettre fin à la gestation, de remettre les vaches concernées à la reproduction et ainsi d'éviter des parts compliqués (DESCOTEAUX, L. et al 2009). Très peu de données sont disponibles dans l'espèce équine sur l'intérêt de l'utilisation de l'échographie à cette fin.

**Principales malformations fœtales décelables à l'échographie :**

Un grand nombre de malformations fœtales décelées par échographie ont été décrites est dépeint dans l'espèce bovine par rapport aux autres espèces.

Les principales malformations fœtales décelables à l'échographie sont :

**Le schistosomus reflexus :**

Le fœtus présente une flexion vers l'arrière marquée de la colonne vertébrale. Sa tête est près du sacrum. Sa paroi abdominale est fissurée ventralement et les organes abdominaux sont extériorisés. Ses membres sont ankylosés et sont voisins du crâne. Il présente également une hypoplasie des poumons et du diaphragme ( LAUGHTON, K. ET AL 2005).

**L'amorphus globosus :**

Le fœtus a l'aspect d'une masse d'échogénicité hétérogène désorganisée. Généralement, il a la forme d'une boule dans laquelle des amas d'os sont reconnaissables (DESCOTEAUX, L. et al 2009).

**Les cinq mois** ( DESCOTEAUX, L. et al 2009).

**Le fœtus bicéphale.** La colonne vertébrale se sépare en deux ( DESCOTEAUX, L. et al 2009).

**L'hydrocéphalie.** Une grande quantité de liquide est présente autour du cerveau (DESCOTEAUX, L. 2009).

**L'hydropisie fœtale .**

90% des hydropisies sont des hydrallantoïdes, 10% sont des hydramnios (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012). Mis à part le fait que le fœtus est difficilement observable échographiquement lors d'hydrallantoïde à cause de la grande quantité de liquide (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012). aucune description échographique précise n'a été faite pour le moment de ces deux affections .

Une étude, réalisée sur un nombre faible de cas, rapporte une augmentation du nombre de particules hyperéchogènes au sein des fluides fœtaux ainsi qu'un épaissement de l'amnios chez les fœtus atteints d'hydrallantoïde (épaisseur de 2 cm alors que l'épaisseur mesurée au cours de l'étude lors des gestations normales est comprise entre 0.8 et 1 cm) (Buczinski, S. ET AL 2009).

Le syndrome du gros veau caractérisé par un fœtus très grand et des placentomes de taille augmentée. La durée de la gestation est aussi augmentée .

**La momification fœtale :**

La paroi utérine est très épaisse et des structures hyperéchogènes sont accolées à sa face interne. Le fœtus n'est pas toujours visible ( DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

**La macération fœtale :**

Le liquide allantoïdien est normalement anéchogène alors que le liquide amniotique contient des particules échogènes provenant de la décomposition du fœtus ( DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

**L'anasarque fœtale :**

De l'ascite est visible au sein de l'abdomen du fœtus . Il faut se méfier du fait que la position du fœtus peut gêner le diagnostic de certaines anomalies BUCZINSKI, S. (2009)..

**3) Pour évaluer le bien-être du fœtus en fin de gestation :****Intérêts :**

L'échographie permet d'évaluer le bien-être du fœtus à la fin de la gestation. Cet examen est utile lorsque la mère est malade afin de déterminer l'impact de son affection sur le fœtus ou encore lors de gestations à risque (DESCOTEAUX, L. et al (2009). Il peut aider à savoir si un fœtus est assez mature pour vivre par lui-même lorsque la mère souffre d'une maladie avec un mauvais pronostic . En cas de gestation prolongée, il permet d'évaluer la viabilité du fœtus et de préciser le diagnostic.

L'intérêt principal d'évaluer le bien-être du fœtus en fin de gestation est donc la gestion des gestations à risque. Dans l'espèce bovine, cela regroupe les gestations qui peuvent être compromises par une maladie maternelle ou fœtale et les gestations de clones (BUCZINSKI, S. (2009)..

**Méthode :**

Dans l'espèce bovine à la fin de la gestation, le fœtus est de grande taille et se trouve en profondeur dans l'abdomen de la mère. Il est par conséquent nécessaire d'utiliser une sonde échographique de basse fréquence (2,5-3,5 MHz) par voie transabdominale afin de visualiser correctement le fœtus et ses annexes (DESCOTEAUX, L. et al 2009), Dans l'espèce bovine, il faut évaluer la taille, la forme et l'échogénicité des placentomes (DESCOTEAUX, L. 2009). Les autres paramètres sont : - l'activité fœtale , l'épaisseur de l'amnios, le diamètre aortique fœtal (DESCOTEAUX, L. et al 2009), les mouvements respiratoires du fœtus et la taille de ses yeux . Dans l'espèce bovine, les paramètres à étudier sont :



**L'activité du fœtus :**

Normalement un fœtus est actif moins d'un tiers ou entre un et deux tiers du temps de l'examen échographique (qui dure environ 30 minutes) au cours des deux derniers mois (DESCOTEAUX, L. et al 2009). Au cours d'une étude, certains scientifiques ont observé que les fœtus présentaient moins d'activité au cours des 24 dernières heures avant la mise-bas et que des mouvements complexes (comprenant plus de quatre composantes de mouvement à chaque épisode isolé d'activité) étaient réalisés normalement en fin de gestation .

Une étude a aussi identifié que l'hyperactivité fœtale pourrait être un signe de détresse fœtale, l'inactivité fœtale semble aussi être un signe de mauvais pronostic car elle a seulement été observée chez des fœtus en mauvaise santé, mais des études à ce sujet doivent être réalisées car il est possible que, comme pour les fœtus humains, les fœtus bovins aient des phases de sommeil au cours desquelles leur activité est nulle (BUCZINSKI, S. (2009).. Ainsi, la seule donnée certaine actuellement, est qu'un fœtus bovin inactif ou actif plus des deux tiers du temps de l'examen échographique doit être surveillé de près.

**La fréquence cardiaque du fœtus :**

Il faut effectuer entre trois et cinq mesures et faire la moyenne de celles-ci. Durant le dernier mois de gestation, elle varie entre 90 et 125 battements par minute avec une moyenne de 105 battements par minute (au cours de la parturition elle varie de 60 à 220 battements par minute) (DESCOTEAUX, L. et al 2009). Une fréquence de 180 peut être occasionnellement rencontrée sans problème particulier. L'absence de battements est signe de mortalité fœtale ; Une accélération de la fréquence cardiaque peut être associée aux mouvements du fœtus .En fin de gestation, la moyenne de plusieurs valeurs de fréquence cardiaque non comprise entre 90 et 125 battements par minute doit donc nous alerter.

**La profondeur maximale des liquides amniotique et allantoïdien ainsi que leur échogénicité :**

Le liquide allantoïdien est anéchogène (DESCOTEAUX, L et al 2009). Son échogénicité augmente au cours de la gestation. Le liquide amniotique est plus échogène et contient de nombreuses particules échogènes (BUCZINSKI, S. (2009).. Il faut évaluer la profondeur de la poche de liquide la plus profonde observée. Après 7 mois de gestation, elle est en général supérieure à 20 centimètres . La visualisation permanente de particules en grande quantité dans les liquides foetaux lors de plusieurs examens suggère une mortalité ou une souffrance fœtale (DESCOTEAUX, L. et al 2009).

La présence d'une grande quantité de liquide peut être le signe d'une hydrallantoïde. Son absence peut être le signe d'une momification fœtale. Une diminution de la quantité de liquide amniotique est appelée oligohydramnios (BUCZINSKI, S. (2009)). Une étude suggère que cette affection est associée à un stress fœtal (Buczinski, S. ET AL 2009).

### **La profondeur maximale des liquides foetaux et leur échogénicité :**

La profondeur verticale maximale des liquides foetaux se mesure au niveau du cou ou du thorax du fœtus. La hauteur du liquide amniotique n'excède jamais 8 cm. Celle du liquide allantoïdien est comprise entre 5,5 et 22,7 cm. Ces deux liquides sont séparés par une ligne fine hyperéchogène de 1 à 2 mm d'épaisseur : la membrane amniotique. L'augmentation de l'épaisseur de cette membrane peut être le signe d'une placentite. L'échographie permet de confirmer un diagnostic de placentite, et donc de mettre en place un traitement pour éviter un avortement de nature infectieuse, ainsi que d'informer le propriétaire de la jument sur la nécessité qu'il y a d'assister au poulinage pour éventuellement rompre manuellement les enveloppes foetales si le poulain n'y arrive pas seul car elles pourront être épaissies. Il faut également évaluer l'échogénicité des liquides foetaux.

La présence accrue d'un contenu hétérogène est révélatrice d'un processus pathologique. A partir du 4ème mois de gestation, le liquide allantoïdien doit être hypoéchogène avec un fond noir et posséder quelques particules flottantes hyperéchogènes. Le liquide amniotique est normalement toujours plus échogène que le liquide allantoïdien, il contient également plus de particules et celles-ci paraissent de plus petites tailles.

### **La taille moyenne et l'aspect des placentomes :**

Il faut examiner la forme, la taille et l'échogénicité des placentomes. Normalement, en fin de gestation, ils sont ovoïdes, mesurent environ 6 centimètres de large, 8 à 10 centimètres de long et présentent une échogénicité homogène (DESCOTEAUX, L. et al 2009).

### **L'épaisseur de l'amnios :**

Elle est normalement inférieure à 0,5 centimètres. (DESCOTEAUX, L. et al 2009) Dans les gestations de clones, des anomalies telles qu'une placentomégalie, un nombre réduit de placentomes (il y a entre 75 et 120 placentomes lors d'une gestation normale), des placentomes anormaux, des placentomes très petits (de longueur inférieure à 1 cm), des placentomes très larges (de diamètre supérieur à 11 cm) ont été décrits. Mais il n'y a aucune étude démontrant que la taille et le nombre des placentomes sont des indicateurs fiables permettant de suspecter des anomalies ou une mortalité fœtale. De plus, des structures placentaires anormales peuvent ne pas être systématiquement associées à un fœtus en

détresse. Ainsi, l'évaluation du fœtus est aussi nécessaire pour pouvoir suspecter la mort fœtale (BUCZINSKI, S. (2009)).

### **L'activité foetale globale :**

Les mouvements foetaux sont importants pour évaluer le bien-être du fœtus. Il faut quantifier la proportion de temps d'examen pendant lequel le fœtus bouge. Cette évaluation est donc quantitative. Il existe une échelle de graduation (différente de celle de Virginia Reef) de 4 grades :

0 : fœtus immobile pendant la durée de l'examen (30 minutes)

1 : fœtus ayant bougé moins d'un tiers de la durée d'examen

2 : fœtus ayant bougé entre 1/3 et 2/3 de la durée d'examen

3 : fœtus actif plus de 2/3 de la durée d'examen

L'inactivité totale et l'hyperactivité sont des signes de mauvais pronostic. Cependant il peut exister des périodes de sommeil foetal, donc il faut répéter l'examen avant de suspecter une détresse ou une mortalité fœtale (DESCOTEAUX, L. et al 2009). L'importance de ce paramètre est tout de fois à nuancer car une étude de 2005 n'a trouvé aucune corrélation entre l'activité fœtale et le pronostic fœtal. Ainsi, la diminution ou l'absence de mouvements foetaux ne doit pas être le seul paramètre à prendre en compte pour évaluer le bien-être du fœtus. Lorsqu'une activité anormalement faible est observée, il faut observer les autres paramètres (BUCZINSKI, S. 2008).

### **La fréquence cardiaque foetale et sa variabilité :**

Il faut examiner le thorax du fœtus et compter les battements sur 15 secondes ou utiliser le mode temps-mouvement ( DESCOTEAUX, L. et al 2009). Il est également possible de l'obtenir en visualisant le pouls, en particulier celui de l'artère carotide qui est facilement accessible par voie transrectale lorsque le fœtus est en position antérieure ( BUCCA, S. 2014).

La fréquence cardiaque est normalement régulière et doit, après mouvement du fœtus, avoir une valeur supérieure de 15 à 20 battements à celle mesurée au repos qui est comprise entre 68 et 82 battements par minute .Elle diminue d'environ 10 battements après 330 jours de gestation (TROEDSSON, M. ET AL).

Une variabilité importante de la fréquence cardiaque indique que le fœtus l'adapte en fonction de son activité au fur et à mesure de son développement neurologique. Faire des mesures ponctuellement a un intérêt limité car les variations sont alors difficiles à évaluer et la fréquence cardiaque peut être affectée par divers stimuli. L'idéal est d'effectuer des mesures en continu à l'aide d'un examen échographique doppler mais ce dernier est peu disponible à l'heure actuelle. L'absence de battements cardiaques est un signe de mortalité

foetale (DESCOTEAUX, L. et al 2009). Une fréquence cardiaque élevée ou variant dans une large gamme de valeurs peut être un signe de stress foetal et peut être causée par une douleur systémique maternelle comme lors de coliques.

La tachycardie est souvent associée à une issue négative. Une bradycardie anormale ou une absence de variations de la fréquence cardiaque évoquent un problème nerveux possiblement causé par une hypoxie et pouvant conduire à la mort imminente du foetus. Les arythmies sont également un signe de détresse foetal (REEF, V. ET AL 1996). Un foetus en détresse est souvent d'abord bradycarde puis devient tachycarde juste avant de mourir (TROEDSSON, M. ET AL ).

### **Le diamètre aortique foetal :**

Le diamètre de l'aorte foetale doit être mesuré le plus près possible du coeur au cours de la systole (BUCCA, S. ET AL 2005). Il existe une relation entre le diamètre aortique du foetus et le poids de sa mère au moment de la mesure.

En fin de gestation, l'équation est :  $Y=0,00912 x + 5,664$  avec Y le diamètre aortique foetal en millimètres et X le poids de la mère en kilogrammes (REEF, V. ET AL 1996). est ainsi possible d'estimer le diamètre aortique du foetus à partir du poids de la jument et de comparer la valeur obtenue à celle mesurée par échographie. Dans l'étude de Virginia Reef décrivant pour la première fois le profil biophysique du poulain, tout diamètre aortique non compris entre le diamètre prédit par l'équation  $\pm 4$  écarts types (soit 5,038 mm au total) est considéré comme anormal. Il a été montré que ce paramètre est un indicateur de conditions intra-utérines défavorables à la croissance foetale (BUCCA, S. ET AL 2005).

### **L'épaisseur utéroplacentaire et son apparence :**

L'épaisseur utéroplacentaire ne doit pas être mesurée à l'endroit où le foetus est en contact avec le placenta car il y a une compression du placenta et de l'utérus dans cette région (REEF, V. ET AL 1996). L'épaisseur combinée de l'utérus et du placenta, mesurée au niveau de la partie ventrale de l'utérus, est normalement de 7 à 13 millimètres (PAUL-JEANJEAN, S. 2006). Dans une étude, Virginia Reef a trouvé en moyenne une épaisseur utéroplacentaire normale de  $1,26 \pm 0,33$  cm en fin de gestation (BUCCA, S. ET AL 2005). Cette épaisseur est modifiée lors de placentites, d'oedème placentaire et de séparation prématurée du placenta. Elle est augmentée lors d'affections placentaires ou de cervicite ascendante (PAUL-JEANJEAN, S. 2006). Une épaisseur plus fine que la normale est associée à une issue négative pour le foetus. Une étude rapporte des cas de calcifications du placenta associés à une mortalité du foetus ou du poulain (REEF, V. ET AL 1996). Le contact utéroplacentaire doit être maintenu tout au long de la gestation.

Cependant, il est fréquent d'observer dans des gestations normales, des petites zones de séparation entre les membranes placentaires et l'utérus, sans qu'il y ait de répercussion apparente sur la santé du fœtus. Il a été observé que la surface du placenta est corrélée avec la croissance fœtale. Elle est plus grande lors de gestations gémellaires mais est généralement insuffisante pour subvenir aux besoins des deux fœtus et donc cela affecte le bien-être de ceux-ci.

De même, lors de séparations placentaires, les échanges nutritionnels peuvent être affectés et ceci a de lourdes conséquences sur l'état du fœtus (REEF, V. ET AL 1996). Toutefois, des petites zones de séparation entre les membranes du placenta et l'utérus ont déjà été observées dans des gestations sans problème particulier et sans effet visible sur la santé du fœtus. C'est pourquoi il est important d'évaluer la présence, l'étendue et la progression des séparations placentaires (REEF, V. ET AL 1996).

Dans son étude, Virginia Reef a trouvé que les fœtus pour lesquels la gestation se passe bien ont une aorte plus large, un diamètre thoracique plus grand et une profondeur verticale de liquide allantoïdien supérieure à ceux pour lesquels la gestation a une issue négative (REEF, V. ET AL 1996).

D'après une étude, les mouvements respiratoires du fœtus et la taille de ses yeux ont également été utilisés comme critères pour déterminer le profil biophysique du poulain. Un fœtus de taille plus petite que ce qu'elle devrait être pour son stade de gestation est un signe d'issue négative rapporté par plusieurs études (REEF, V. ET AL 1996).

Enfin, la taille de l'estomac du fœtus est corrélée avec son activité de déglutition qui est un témoin indirect du développement neurologique fœtal (BUCZINSKI, S. (2009)). Son étude pourrait donc permettre la mise en évidence de troubles neurologiques.

#### **4) Pour dater le stade de gestation lorsque la date de saillie n'est pas connue avec précision :**

##### **Intérêts :**

Quelle que soit l'espèce, l'échographie permet de dater le stade de gestation et donc de connaître approximativement la date de la fécondation lorsque celle-ci est inconnue et ainsi la date de mise-bas. En élevage bovin allaitant, déterminer l'âge des fœtus est intéressant pour compenser le manque d'informations sur les saillies. Cela permet de déterminer la date des mises-bas et de mieux surveiller les vêlages (CHAVATTE-PALMER, P. 2006). L'éleveur peut aussi mieux gérer ses plans de vaccination, de traitement antiparasitaire et d'alimentation (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

En élevage bovin laitier, déterminer l'âge des foetus permet d'être sûr que la dernière insémination a été fécondante et non la précédente (CHAVATTE-PALMER, P. 2006).

### **Méthodes :**

Quelle que soit l'espèce, il existe plusieurs méthodes afin de dater la gestation. Il est ainsi possible de mesurer certains paramètres embryonnaires ou foetaux et de se référer à des tableaux ou des formules donnant le nombre de jours de gestation ou le nombre de jours avant la mise-bas. Dans l'espèce bovine, il est également possible de se baser sur le développement des organes ou l'apparition à l'échographie de certaines structures.

L'âge de l'embryon peut être déterminé en fonction de sa taille. Les mesures les plus faciles et les plus prédictives sont la distance entre le haut de la tête et la croupe (CRL) et les diamètres de la tête et du tronc. Avant 50 à 55 jours de gestation, il vaut mieux utiliser la distance tête-croupe (CRL) et après 55 jours, les diamètres de la tête et du tronc. En effet après 55 jours, il est plus difficile de visualiser le foetus sur toute sa longueur. Il faut faire attention lorsque l'on mesure la taille de l'embryon/foetus, car il est très facile de se tromper suivant que l'on observe une coupe transversale ou longitudinale.

On peut également déterminer l'âge du foetus en mesurant le diamètre de l'œil, le diamètre des vésicules anéchogènes et par la date d'apparition de certaines structures utérines et foetales (CHASTANT-MAILLARD, S. 2003).

La datation effectuée au cours du premier tiers de la gestation, phase de développement la plus intense est la plus fiable.

### **5) Pour diagnostiquer des anomalies de la gestation ayant un impact sur la santé de la mère :**

L'échographie peut permettre de mettre en évidence des anomalies de la gestation qui peuvent avoir un impact sur la santé de la mère. Très peu d'affections sont décrites.

Dans l'espèce bovine, l'affection principale est l'hydrallantoïde. Dans ce cas, nous verrons à l'échographie que l'utérus contient une trop grande quantité de liquide et que celle-ci gêne l'observation du foetus. Le pronostic est sombre pour la mère et le foetus (DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. 2012).

### **6) Pour évaluer les flux sanguins utérins ou du foetus et les affections placentaires :**

#### **Paramètres évaluables :**

Grâce au mode doppler d'un échographe, il est possible d'évaluer les flux sanguins des artères utérines et de certaines artères foetales. Plusieurs paramètres peuvent être étudiés au sein d'une artère. Ce sont principalement le débit sanguin (BFV), l'index de résistance (RI) et

l'indice de pulsativité (PI) du vaisseau. Suivant les études, le moment de disparition de l'encoche protodiastolique dans les artères utérines est également évalué.

Au sein de l'échographe, le débit sanguin (BFV) est calculé grâce à la formule suivante :  $BFV = v \times A$ . En plus de cette évaluation quantitative du débit sanguin, il est possible de réaliser une évaluation qualitative. Celle-ci passe par l'étude de la forme de l'onde représentant le débit artériel en fonction du temps. Le paramètre qui est souvent évalué dans les différentes études est le moment où l'encoche protodiastolique n'est plus visible dans les artères utérines. Cette encoche matérialise la chute du débit sanguin dans le vaisseau juste après la systole. Sa disparition coïncide avec la diminution du RI et du PI du vaisseau (MIRANDA, S. A., DOMINGUES, S. F. S. 2010).

Suivant les espèces, ce ne sont pas les mêmes vaisseaux et les mêmes paramètres qui sont intéressants. Dans l'espèce bovine, ce sont surtout les artères utérines qui ont été étudiées et qui présentent un intérêt. Leur débit est corrélé au poids du veau à la naissance (HERZOG, K., BOLLWEIN, H. 2007).. L'évaluation de leur index de résistance permet de détecter des perturbations placentaires (HARTMANN, D., et al 2013).

### **Etude du débit sanguin et de l'index de résistance des artères utérines en fin de gestation dans l'espèce bovine :**

#### **Intérêts :**

Le mode Doppler permet de mesurer le débit sanguin (BFV) dans les artères utérines. A la fin de la gestation, ce paramètre est lié au poids du veau à la naissance (HERZOG, K., BOLLWEIN, H. 2007) Des perturbations dans le processus de maturation du placenta, chez les vaches qui ont des rétentions placentaires après la mise-bas, peuvent également être détectées avant le part, par la détection d'une résistance élevée dans les artères utérines au cours des derniers jours de la gestation (HARTMANN, D., et al 2013).

#### **Méthode :**

Par voie transrectale, il faut tout d'abord repérer l'aorte. En échographiant sa partie caudale, il faut localiser la bifurcation de l'artère iliaque interne puis la suivre distalement afin de repérer les branches de l'artère ombilicale et de l'artère utérine. Cette dernière est le vaisseau sanguin principal irriguant l'utérus . (HERZOG, K., BOLLWEIN, H. 2007). L'avantage de la voie transrectale est que la sonde échographique peut être positionnée très près de l'artère utérine. La fréquence utilisée peut donc être importante (HERZOG, K., BOLLWEIN, H.2007).]. Une étude met en évidence le fait que le débit sanguin utérin est corrélé au poids du veau à la naissance en particulier durant la 39ème semaine de gestation.

Ainsi, durant cette semaine, le débit sanguin utérin est plus élevé de 36% chez les vaches dont le veau pèsera plus de 42 kg à la naissance ( $19231 \pm 5361$  ml/min) que chez celles dont le veau pèsera moins de 42 kg ( $14105 \pm 5111$  ml/min) . L'index de résistance diminue jusqu'au 8ème mois de gestation puis reste relativement constant jusqu'au vêlage. D'après une étude, il serait également corrélé au poids du veau à la naissance (BUCZINSKI, S. 2009).. En fin de gestation, l'index de résistance est plus élevé chez les vaches qui seront affectées par une rétention placentaire après la mise-bas que chez les autres ( HARTMANN, D., et al 2013).

Cela est probablement en lien avec le fait que la séparation des adhérences foeto-maternelle a échoué chez les vaches avec rétention placentaire. Normalement, le placenta subit une phase de maturation. La séparation des adhérences foeto-maternelles a lieu par la suite (HARTMANN, D., et al 2013). La maturation cellulaire des villosités choriales dans les cryptes utérines se traduit par un phénomène de lyse cellulaire avec disparition progressive des cellules épithéliales utérines bordant les cryptes utérines, et une maturation enzymatique par production de collagénases qui dégradent le collagène liant les villosités choriales aux cryptes utérines. Cette maturation peut résulter en un RI bas et conduit à une réduction de l'incidence de la rétention placentaire (HARTMANN, D., et al 2013).

### **7) Pour évaluer la nécessité d'une mise-bas par césarienne :**

En plus de nous donner des indications sur le bien-être des foetus en fin de gestation, l'échographie nous permet d'avoir une approximation de leur poids ou de leur taille. Grâce à cet examen, un risque de dystocie peut donc être anticipé et une césarienne programmée.

Dans l'espèce bovine, il faut évaluer le diamètre de l'aorte du foetus . la largeur de ses métacarpes est également un paramètre intéressant (TAKAHASHI, M.et al 2005). Ces mesures nous permettent d'avoir une approximation du poids du veau à la naissance ou du poulain au moment de la mesure [(TAKAHASHI, M.et al 2005).( BUCZINSKI, S. (2009).

Durant la dernière semaine de gestation, le foetus est palpable et il est souvent possible de mesurer, par échographie transrectale, la largeur de ses métacarpes. Une étude a montré que cet indicateur, mesuré une semaine avant la mise-bas, est corrélé avec le poids du veau à la naissance et peut donc permettre d'anticiper un risque de dystocie (TAKAHASHI, M.et al 2005). La mesure doit être effectuée au niveau de la partie la plus étroite du métacarpe foetal en position ventrale ou dorsale. Il faut prendre en compte l'épaisseur de la peau et de l'os. La relation entre cette mesure et le poids du veau à la naissance, rapportée par certaines études dans la race Holstein est :  $Y = 2,152 \times X1 - 15,015$  avec Y étant le poids en kilogrammes du



veau à la naissance et X1 l'épaisseur du métacarpe en millimètres (TAKAHASHI, M. et al 2005).

L'épaisseur du métatarse étant plus petite que celle du métacarpe, il ne faut pas confondre les deux os lors de la mesure. Sinon, il y a un risque de sous-estimation du poids du veau (TAKAHASHI, M. et al 2005)..

Le risque de dystocie est important quand l'épaisseur du métacarpe est supérieure à 30-31 millimètres. Mais, ce résultat a été mis en évidence chez des foetus issus de transfert nucléaire. D'autres études sont donc nécessaires afin de pouvoir appliquer cette technique chez des foetus issus d'insémination animale ou de monte naturelle ( TAKAHASHI, M., et al 2005). Le diamètre de l'aorte thoracique du foetus est aussi corrélé au poids du veau à la naissance quand la mesure est effectuée dans les dix jours précédant la mise-bas. La relation est :  $Y = 2,188 \times A_o - 0,667$  avec Y le poids du veau en kilogrammes à la naissance et A<sub>o</sub> le diamètre de l'aorte thoracique foetale en millimètres ( BUCZINSKI, S. (2009)..

### **Méthodes biochimiques du diagnostic de la gestation :**

La gestation, la parturition et la lactation représentent des changements physiologiques de l'organisme qui activent les mécanismes d'adaptation dont l'objectif est de maintenir l'homéostasie durant la période péri-partum. Le bon développement et la croissance des foetus et des veaux nouveau-nés nécessitent un transport adéquat des nutriments à travers le placenta et la glande mammaire (**HAFFAF et al., 2012**).

Au cours de ces dernières années, les « profils métaboliques » ont été largement utilisés chez les vaches laitières, soit pour tenter de diagnostiquer certains troubles à l'échelle du troupeau, soit même pour essayer de prévenir l'apparition d'états pathologiques par la recherche de lésions biochimiques préalables à certaines affections.

Cependant les espoirs fondés sur ces profils semblent largement décevants. Parmi les différents facteurs susceptibles d'être responsables des échecs rencontrés, il apparaît que l'absence de «valeurs de référence» ou même de «valeurs usuelles » soit très importante. En effet, des variations endocriniennes et biochimiques notables interviennent chez les vaches laitières pendant la gestation et le début de la lactation.

On conçoit donc aisément que la biologie sanguine de ces animaux subisse des variations non négligeables qui, cependant, sont souvent ignorées. C'est pourquoi le présent chapitre est consacré à l'étude des modifications biochimiques et hormonales de la vache

laitière pendant la gestation et les deux premiers mois du post-partum, ainsi que les différentes techniques de dosage.

### **Variations des concentrations plasmatiques de la progestérone et de l'oestradiol :**

Les concentrations plasmatiques d'oestradiol diminuent d'une manière non significative avec l'avancement de la gestation, puis elles sont suivies d'un accroissement très significatif dans la période du pré - partum, suivi par une baisse dans les deux périodes du post-partum.

La courbe moyenne de la progestérone présente une phase ascendante pendant les premiers stades de gestation avec un pic en milieu de gestation. Les valeurs moyennes varient de 12,44 à 15,78 ng/mL, suivies d'un plateau jusqu'en fin de gestation. Une chute brutale des concentrations est observée dans les périodes du pré - partum et du post-partum.

Comme dans d'autres espèces domestiques, la progestérone est essentielle chez la vache pour le maintien de la gestation d'où une association significative entre une faible concentration en progestérone au cours de la phase périovulatoire et le taux de survie embryonnaire a été observé chez la vache et confirmé par diverses études (**HUMBLLOT, 2003**) ; (**PRVANOVIC et al., 2009**). Une concentration de progestérone inférieure à 1 ng/ml entre j 23 et j 42 indique l'absence de corps jaune gestatif et exclut par conséquent l'hypothèse de gestation (**SHEMESH et al., 1973**) ; (**WEIGL et al., 1975**) ; (**HENZEN, 2008**).

Les fluctuations des valeurs de la progestérone obtenues dans notre étude sont similaires à celles rapportées par **NOSEIR et al., 2006** ; **HARICHANDAN et al., 2014** ; **ASHMAWY, 2015**. La variation des concentrations de l'oestradiol n'est pas similaire à celle démontrée par **NOSEIR et al., 2006** chez la chamelle, qui a signalé une augmentation progressive de l'oestradiol avec l'avancement de la gestation avec un pic entre 11 et 12 mois. Il est évident que l'augmentation caractéristique d'oestradiol dans de la période du pré - partum a coïncidé avec la diminution de la progestérone plasmatique. Cette conclusion est en accord avec les résultats obtenu par **NOSEIR et al., 2006** ; **KHAN et LUDRI, 2001**.

Cet inversement du rapport P4/E2 dans la période du pré-partum pourrait être due selon (**GAYRARD, 2012**) à :- l'effet stimulateur du cortisol foetal sur la stéroïdogénèse placentaire qui se traduit par une diminution de la sécrétion de progestérone au profit de la sécrétion d'oestrogènes, - l'augmentation des concentrations de PGF2 $\alpha$  qui est responsable de la diminution rapide des concentrations en progestérone.

La diminution du rapport entre les concentrations plasmatiques en progestérone et les concentrations en œstradiol crée un environnement hormonal favorable à l'initiation et la coordination des contractions utérines.

### **Dosage des PAG's en pratique :**

#### **Diagnostic de gestation :**

La détection des boPAG's par méthode RIA (Sasser, et al., 1986) (Zoli, et al., 1991) ou par méthode ELISA (Friedrich, et al., 2004) (Green, et al., 2005) dans le sang maternel s'est avérée être une très bonne méthode de diagnostic de gestation précoce chez la vache.

Les premières méthodes utilisaient le dosage de la boPAG-1 et de la PSPB. Mais l'utilisation de ces protéines présente deux inconvénients:

- La détection de la boPAG-1 et de la PSPB dans le sang maternel des femelles gestantes n'est pas certaine dans le premier mois de gestation dû à la faible et grande variabilité de sa concentration en début de gestation. Il faut rappeler que le gène codant pour la boPAG-1 n'est exprimé que tardivement vers J45 (Green, et al., 2000).
- Aux alentours de la mise bas, la concentration de la boPAG-1 et de la PSPB augmente de façon très importante. Or, la demi-vie de la boPAG-1 et de la PSPB est de 8 à 9 jours (Sasser, et al., 1986). Ce qui empêche l'utilisation du test avant 80 à 100 jours post-partum afin d'éviter tout risque de diagnostic faux positif par la détection d'antigènes de la gestation précédente. L'établissement d'un dosage ELISA utilisant la détection d'autres boPAG's a pour but d'éliminer ces 2 inconvénients. Ainsi l'utilisation des boPAG-4,-6,-9,-20,-21 semble plus appropriée. Ces boPAG's appartiennent au groupe des PAG's « modernes », comme la boPAG-1 elles sont relarguées dans le sang maternel en début de gestation.

Elles sont majoritairement exprimées de façon précoce à J25. Leur demi-vie moyenne étant de 4, 3 jours en fin de gestation, elles ne sont plus détectables dès 60 jours post-partum.

#### **Etude de la mortalité embryonnaire :**

En cas de mortalité embryonnaire précoce, la PSPB et la boPAG-1 sont habituellement non détectées dans le sang maternel lorsqu'elles sont dosées entre 24 et 30 jours post insémination (Humblot, 2001). En cas de mortalité embryonnaire tardive associée à la maintenance d'un corps jaune, la PSPB et la boPAG-1 sont détectables pendant quelques jours même si la concentration est plus basse qu'en cas de gestation normale. La demi-vie de la boPAG-1 est d'environ 2,7 à 3,9 jours après l'induction d'une mortalité embryonnaire (Szenci, et al., 2003). Celle de la PSPB est légèrement plus basse que celle de la boPAG-1

(Whitlock, et al., 2008). La clearance des PAG's dans la circulation maternelle entraîne l'erreur de diagnostic.

En cas d'une mortalité très tardive, la concentration en PSPB et en boPAG-1 est normale durant les 2 premiers mois de la gestation. Puis généralement la concentration commence à diminuer 2 à 3 mois avant l'expulsion de l'avorton pour devenir indétectable au moment de l'expulsion (Humblot, 2001).

La viabilité de l'embryon peut être objectivée rapidement par l'échographie transrectale en observant l'embryon et ses battements cardiaques. Face à l'échographie transrectale l'étude de la concentration des boPAG's ne semble donner aucun avantage en cas de mortalité embryonnaire. Plusieurs études ont été menées pour utiliser la concentration en boPAG's comme indicateur de mortalité embryonnaire (Humblot, 2001). Parmi ces études, une d'entre elles cherchait à prédire une mortalité embryonnaire en mesurant la concentration en PSPB via le test BioPryn™ et la concentration en progestérone sur des vaches à 30-36 jours après insémination. Parmi les 8000 échantillons analysés sur 25 mois, 4085 vaches ont été diagnostiquées gestantes par le test BioPryn™ (50,3% gestante). Parmi les vaches gestantes, 710 cas de mortalité embryonnaire tardive ont été diagnostiqués par palpation transrectale réalisée 60 jours après l'insémination artificielle, 31,8% de ces mortalités embryonnaires sont correctement prédites en utilisant comme critère les vaches ayant une densité optique 0 à 30% supérieur au seuil de détection de la gestation. Ce taux passe à 62,5% en prenant comme critère les vaches ayant une densité optique 0 à 10% supérieure au seuil de détection de la gestation. En prenant comme critère les vaches ayant à la fois une densité optique entre 0 et 30% au dessus du seuil de détermination de la gestation et une concentration en progestérone  $<2\text{ng/mL}$ , 92% des mortalités embryonnaires étaient correctement prédites. Ainsi la mesure de la concentration en PSPB seule ne permet pas de prédire une mortalité embryonnaire, mais en combinaison avec la mesure de la progestérone, ce dosage a une bonne valeur prédictive (Gabor, et al., 2007).

Le risque de mortalité embryonnaire est 10 fois plus élevé chez des vaches ayant une concentration en boPAG-1 basse à J35 ( $<2,5\text{ng/mL}$ ) et 6,8 fois plus élevé chez des vaches ayant une concentration en boPAG-1 élevée à J35 ( $>4\text{ ng/mL}$ ) que chez des vaches ayant une concentration moyenne (entre  $2,5\text{ ng/mL}$  et  $4\text{ ng/mL}$ ) (Lopez-Gatius, et al., 2007c).

Les gestations avec un taux de boPAG's bas à J35 peuvent être associées avec un défaut de développement ou de fonctionnement du placenta (Lopez-Gatius, et al., 2007c). Mais il semble beaucoup plus difficile d'expliquer la relation entre une mortalité embryonnaire et un taux de boPAG's élevé.



---

## Conclusion

---

---

L'objet principal de cette étude est de comparer l'intérêt d'utilisation des différentes techniques lors du diagnostic et du suivi de gestation dans l'espèce bovine. Ces méthodes font appel à des techniques d'échographie, de palpation transrectale ou encore à des dosages de progestérone, d'œstrogènes ou plus récemment de protéines associées à la gestation (PAG).

A travers cette étude, nous concluons ce qui suit:

- Le diagnostic de gestation est une étape clé dans la vie d'une femelle reproductrice,
- Un diagnostic précoce et fiable de la gestation est un élément essentiel en élevage Bovin,
- Plusieurs méthodes disponibles sont plus ou moins utilisées en pratique pour diagnostiquer la gestation chez les bovins,
- L'intérêt de chacune d'elles est variable et la méthode pour y parvenir est souvent spécifique,
- L'échographie est une technique d'imagerie en plein essor actuellement en médecine Vétérinaire notamment en obstétrique ; C'est un outil fiable permettant un examen rapide et sans risque pour la mère comme pour le fœtus,
- Idéalement dans l'espèce bovine il faut réaliser un diagnostic de gestation par échographie entre le 30ème et le 35ème jour puis un second examen échographique à 55-60 jours pour confirmer la gestation.
- L'échographie permet notamment de porter un diagnostic précoce, de compter les fœtus, de les sexer, d'évaluer leur viabilité, de détecter des résorptions, des avortements, des malformations, d'évaluer le bien-être des fœtus en fin de gestation, de dater la gestation, de diagnostiquer des anomalies ayant des répercussions sur la santé de la mère, d'évaluer les flux sanguins utérins, fœtaux, de détecter des affections placentaires ou encore d'évaluer la nécessité de procéder à une césarienne ; Ses caractéristiques en font donc un instrument de choix lors du diagnostic de Gestation mais son coût élevé entrave son utilisation courante chez les bovins,
- La découverte des protéines associées à la gestation, dosables dans le sang et le lait des femelles gravides a entraîné le développement de nouvelles méthodes de diagnostic de gestation chez les ruminants domestiques ; C'est l'examen de choix pour porter un diagnostic et assurer le suivi de gestation permettant de confirmer la gestation après insémination.
- L'apprentissage du diagnostic de gestation chez le bovin nécessite des connaissances théoriques en anatomie et topographie mais également pratiques, c'est-à-dire savoir

manipuler le tractus génital bovin et un échographe en vue de réaliser des images exploitables de bonne qualité.

La comparaison des différentes utilisations de l'échographie lors du suivi de gestation chez les animaux domestiques permet de constater que les méthodes ne sont pas toujours les mêmes et que certains paramètres ne sont utilisés que dans une espèce.

A cet effet, de nombreuses études sont encore nécessaires à l'avenir afin d'utiliser ces techniques en pratique vétérinaire d'une part et de confirmer leur intérêt chez les bovins d'autre part.



---

# Références bibliographiques

---

- Asselin E, Fortier, MA. 2000.** Detection and regulation of the messenger for a putative bovine endometrial 9-keto-prostaglandin E2 reductase: effect of oxytocin and interferon tau. *Biology of Reproduction*. 2000, Vol. 62, 125-131
- Ayad, A, et al. 2006.** Endocrinologie de la gestation chez la vache: signaux embryonnaires, hormones et protéines placentaires. *Annale de médecine vétérinaire*. 2006, Vol. 150, p.212-226.
- Ayad, A, et al. 2009.** Correlation of five radioimmunoassay systems for measurement of bovine plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations at early pregnancy period. *Veterinary Science*. 2009, Vol. 86, 377-382.
- BALL P. J. H., PETERS A. R. (2004).**  
The ovarian cycle. *Reproduction in cattle, 3rd edition*. Blackwell Science, pp. 23–46.
- BARONE, R. (2010).** *Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome premier, Ostéologie*. 4e édition. Paris, France : Éditions Vigot.
- BARONE, R. (2001).** *Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome quatrième, splanchnologie II. 2 : appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale*. 3e édition. Paris, France : Éditions Vigot.
- BARBRY, JB; VELEK, K; PUN, S; RICE, A; EGLI, C; LETERME, S; COMMUN, L. (2012).** Diagnostic précoce de la gestation chez le bovin: un nouveau teste à réaliser sur le sang ou le lait. *Séance. Reproduction. 22eme Édition congrès international francophone. INRA*.
- BCF Technology (2017).** « Bovine ultrasound vs. manual palpation and blood testing ». Consulté le 22 mars 2017. Disponible sur <https://www.bcftechnology.com/veterinarylearning/farm-animal-learning/reproductive-tract/bovine-ultrasound-vs-manual-palpation-andblood-testing/?showtopicpopup=yes>.
- Beauvallet, C, et al. 2010.** Glycosylations des protéines associées a la gestation et pertes foetales après clonage somatique bovin. 2010.
- Beckers, JF, et al. 1980.** Isolement d'une protéine placentaire présentant une activité analogue à la prolactine et à l'hormone de croissance. *Annales de medecine vétérinaire*. 1980, Vol. 124, 584-601.
- Beckers, J.F, et al. 1988.** Isolation of a bovine chorionic gonadotrophin. *theriogenology*. 1988, Vol. 29, 218.

- BENCHARIF, D et TAINTURIER, D. (2004).** Le diagnostic indirect de gestation chez la vache. *L'Action Vétérinaire*.1666, pp 25-27.
- BENCHARIF, D et TAINTURIER, D. (2003).** Le diagnostic clinique de gestation chez la vache. *L'Action vétérinaire*. 1660, pp17-19.
- Butler, J.E et Hamilton, W.C, Sasser R.G. 1982.** Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biology of Reproduction*. 1982, Vol. 26, 925-933.
- Breukelman, S.P, et al. 2005.** Plasma concentrations of bovine pregnancy-associated glycoprotein (bPAG) do not differ during the first 119 days between ongoing pregnancies derived by transfer of in vivo and in vitro produced embryos. *Theriogenology*. 2005, Vol. 63, 1378-1389.
- Cavanagh, AC, et al. 1982.** Ovum factor: a first signal of pregnancy? *American journal of reproductive immunology*. 1982, Vol. 2, 97-101.
- Cavanagh, AC, et al. 1991.** Relationship between early pregnancy factor, mouse embryo-conditioned medium and platelet-activating factor. *Journal of reproduction & fertility*. 1991, Vol. 93, 355-365.
- Chavatte-Palmer, P, et al. 2006.** Ultrasound fetal measurements and pregnancy associated glycoprotein secretion in early pregnancy in cattle recipients carrying somatic clones. *Theriogenology*. 2006, Vol. 66, 829-840.
- Constant, F et Guillomot, M. 2006.** Formation et fonctionnement du placenta des bovidés. *Le point vétérinaire*. 2006, 6-11.
- CROWE M. A. (2011).** Estrous cycles : Characteristics. *Encyclopedia of dairy sciences, 2nd edition* (FUQUAY J. W. et al.), Academic Press, 4, pp. 428–433.
- Descôteaux Luc, Gnemmi Giovanni, Colloton Jill. 2009.** *Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants*. s.l. : Med'com, 2009.
- DEZAUX P. (2001).**  
*Synchronisation des chaleurs chez les vaches allaitantes par l'association GnRH-PGF2 $\alpha$ -GnRH*. Thèse de doctorat vétérinaire, Maisons-Alfort, 68 p.
- Dosogne, H, et al. 1999.** Pregnancy associated glycoprotein and decreased polymorphonuclear leukocyte function in early post-partum dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 1999, Vol. 26, 807-827.

- El Amiri, B, et al. 2003.** Double radial immunodiffusion as a tool to identify pregnancy-associated glycoproteins in ruminant and nonruminant placentae. *Theriogenology*. 2003, Vol. 59, 1291-1301.
- Fleet, IR et Heap, RB. 1982.** Uterine blood flow, myometrial activity and their response to adenosine during the peri-implantation period in sheep. *Journal of reproduction & fertility*, . 1982, Vol. 65, 195-205.
- Friedrich, M et Holtz, W. 2010.** Establishment of an ELISA for measuring bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum or milk and its application for early pregnancy detection. *Reproduction in Domestic Animals*. 2010, Vol. 45, 142-146.
- Gabrilovac, J, et al. 1988.** NK cell activity and estrogen hormone levels during normal human pregnancy. *Gynecologic and obstetrical investigation*. 1988, Vol. 25, 165-172.
- Gajewski, Z, et al. 2009.** Pregnancy-associated glycoproteins as a new diagnostic tool in cattle reproduction. *Schweiz.Arch.tierheilk*. 2009, 577-581.
- Garcia-Ispuerto, I, et al. 2010.** Neospora caninum and coxiella burnetii seropositivity are related to endocrine pattern changes during gestation in lactating dairy cows. *Theriogenology*. 2010, 212-220.
- Guillomot, M. 2001.** L'implantation du blastocyste. *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. 2e Ed, 2001, p 457-478.
- Guilbault, LA, et al. 1990.** Influence of breed of fetus on periparturient endocrine responses and subsequent milk production of Ayrshire dams. *journal of dairy science*. 1990, Vol. 73, 2766-2773.
- Green, J.A, et al. 2000.** Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biology of Reproduction*. 2000, Vol. 62, 1624-1631.
- Ginther, OJ. 1998.** *Ultrasonic imaging and animal reproduction: Cattle*. s.l. : Equiservices Publishing, 1998. 134-143.
- Green, J.A, et al. 2005.** The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. *theriogenology*. 2005, Vol. 63, 1481-1503.
- Green, JC, et al. 2009.** Technical note: A rapid enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Dairy Science*. 2009, Vol. 92, 3819-3824.

- Gonzalez, F, et al. 2001.** Pregnancy Associated Glycoproteins (PAG) detection in milk samples for pregnancy diagnosis in dairy goat. *Theriogenology*. 2001, Vol. 56, 671-676.
- Hoeben, D, et al. 2000.** Chemiluminescence of bovine polymorphonuclear leukocytes during the periparturient period and relation with metabolic markers and bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Journal of dairy research*. 2000, Vol. 67, 249-259.
- HAGEN, N., et NOUVEL, X. (s. d.).** « Examen de l'appareil génital de la vache ». École Nationale Vétérinaire de Toulouse. **HARVEY, D. et VAILLANCOURT, D. (2003).** « Vidéos en diffusion progressive. Animaux de la ferme. Système reproducteur. Bovin ». Consulté le 22 mars 2017. Disponible sur :  
<http://www.medvet.umontreal.ca/video/mediatheque/francais/ferme/reproducteur.htm>
- HAGEN, N. (2012).** Physiologie du système reproducteur de la vache laitière : In gestion de la reproduction des bovins laitiers VADE. MECUM, *Ed MED COM PARAIS*, pp 20- 24.
- HANZEN C. et al. (1999).**
- HANZEN C., DRION P., LOURTIE O., DEPIERREUX C., CHRISTIANS E.** La mortalité embryonnaire. 1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 143, pp. 91–118.
- Haugejorden, G, et al. 2006.** Pregnancy associated glycoproteins (PAG) in postpartum cows, ewes, goats and their offspring. *Theriogenology*. 2006, Vol. 66, 1976-1984.
- Humblot, P et Dalla Porta, MA. 1984.** Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal in the cow. *Reproduction Nutrition Développement*. 1984, Vol. 24, 529-541
- JAINUDEEN, M. R; HAFEZ, E.S.E. (2000).** Pregnancy Diagnosis. *Reproduction in Farm Animal. Edition, South Carolina USA*, pp 395-404.
- Kastelic, J.P, Bergfelt, D.R et Ginther, O.J. 1991.** Ultrasonographic detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 heifers. *Theriogenology*. 1991, Vol. 35, 569-581.
- Kubisch, HM, et al. 2001.** Genetic and environmental determinants of interferon tau secretion by in vivo- and in vitro-derived bovine blastocysts. *Animal Reproduction Science*. 2001, Vol. 66, 1-13.
- LAIZEAU J. S. (2003).** *Facteurs de variation de la production d'embryons chez la vache laitière de race Montbéliarde*. Thèse de doctorat vétérinaire, Maisons-Alfort, 178 p.

- Lobago, F, et al. 2006.** Clinical features and hormonal profiles of cloprostenol-induced early abortions in heifers monitored by ultrasonography. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2006, Vol. 48, 23.
- Mialon, M.M, et al. 1993.** Peripheral concentrations of a 60kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reproduction Nutrition Development*. 1993, Vol. 33, 269-282.
- Lopez-Gatius, F, et al. 2007.** Plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 concentrations during gestation in Neospora-infected dairy cows. *Theriogenology*. 2007b, Vol. 67, 502-508.
- Metelo, R, et al. 2002.** preliminary results for measuring bovine PAG in milk samples. *7eme journee de rencontre bioforum*. 2002, p 32.
- MONNIAUX D. (2012).** Superovulatory responses and embryo production in ruminants : lessons from ovary. *Proceeding du 28ème colloque de l'AETE, 7-8 septembre 2012, Saint-Malo (France)*, pp. 7–40.  
*Site de l'AETE* [en ligne], <http://www.aete.eu/index.php/publications-aete/proceedings/85-aete-proceedings-2012/file> [Consulté le 11 février 2016]
- MONTMEAS, L., LEBORGNE, M.C., TANGUY, J-M., FOISSEAU, J-M., SELIN, I., VERGONZANNE, G. et WIMMER, E., 2013.** *Reproduction des animaux d'élevage*. 3<sup>e</sup> édition. Dijon : Educagri Editions.
- Morton, H, Morton, DJ et Ellendorff, f. 1983.** The appearance and characteristics of early pregnancy factor in the pig. *Journal of reproduction & fertility*. 1983, Vol. 68, 437-446.
- MUMPOREZE, N. (2007).** Évaluation comparée de trois méthodes de diagnostic de gestation chez la vache inséminée au Sénégal: Progestérone, Protéines associées à la gestation et Palpation trans-rectal. *Thèse de doct vet Dakar*, pp 4-39.
- NGOM, R. (2002).** Évaluation du diagnostic précoce de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang chez les vaches inséminées en élevage traditionnel. *Mémoire DEA, Productions animales: Dakar (EISMV), 02*, pp 3-15.
- Piechotta, M, et al. 2011.** Comparaison of Commercial ELISA Blood Tests for Early Pregnancy Detection in Dairy Cows. *Journal of reproduction and development*. 2011, Vol. 51, 1.
- PIERSON, R. A., KASTELIC, J.P. et GINTHER, O.J. (1988).** « Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses ». *Theriogenology*, Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 29 (1) : 3-20.

- Patel, OV, et al. 1997.** Plasma bovine pregnancy-associated glycoprotein concentrations throughout gestation in relationship to fetal number in the cow. *European Journal of Endocrinology*. 1997, Vol. 137, 423-428.
- Quinn, KA, et al. 1990.** Monoclonal antibodies to early pregnancy factor perturb tumour cell growth. *Clinical & Experimental Immunology*. 1990, Vol. 80, 100-108.
- Quinn, KA, et al. 1994.** Early pregnancy factor in liver regeneration after partial hepatectomy in rats: relationship with chaperonin 10. *Hepatology*. 20, 1994, 1294-1302.
- Roberts, RM, Cross, JC et Leaman, DW. 1992.** Interferons as hormones of pregnancy. *Endocrinology Review*. 1992, Vol. 13, 432-452.
- ROMANO, J. E. et CHRISTIANS, C. J., 2008. Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in ewes. *Small Ruminant Research*. 2008. Vol. 77, n° 1, pp. 51-57.
- Romano, J.E et Larson, J.E. 2010.** Accuracy of pregnancy specific protein-B test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Theriogenology*. 2010, Vol. 74, 932-939
- Royal, MD, et al. 2000.** Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Journal of animal science*. 2000, Vol. 70, 487-501
- Serrano, B, et al. 2009.** Factors affecting plasma pregnancy-associated glycoprotein 1 concentrations throughout gestation in High-producing dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 2009, Vol. 44, 600-605.
- Silva, E, et al. 2007.** Accuracy of a pregnancy-Associated Glycoprotein ELISA to Determine Pregnancy Status of Lactating Dairy Cows Twenty-Seven Days After Timed Artificial Insemination. *Journal of Dairy Science*. 2007, Vol. 90, 4612-4622
- S0USA, N.M; ZONGO, M; PITALA, W; BOLY, H; SAWADODO, L; SANON, M ; DEFIGUEIREDO, J.R; EL AMIRI, B; BECKERS, J.F. (2003).** Pregnancy associated glycoprotein concentrations during pregnancy and post partum period in azawak zebu cattle. *Theriogenology*. 59, pp 1131-1142.
- STEVENSON J. F. (2007).** Clinical reproductive physiology of the cow. *Current therapy in large animal theriogenology*, 2nd edition, Saunders Elsevier, pp. 258-269.
- Stroud, B.K. 1994.** Clinical applications of bovine reproductive ultrasonography. *Compendium Continuing education*. 1994, Vol. 16(8), 1085-1097.
- Tainturier, D, et al. 1996.** Cinétique de la bPAG dans le plasma et dans le lait au cours des trois semaines suivant le part chez la vache laitière. *Actualité scientifique-Reproduction et production laitière Ed Aupelf-Uref*. 1996, 129-133.

- Telugu, VL, Walker, A et Green, J. 2009.** Characterization of the bovine pregnancy-associated glycoprotein gene family- analysis of gene sequences, regulatory regions within the promoter and expression of selected genes. *BMC Genomics*. 2009, Vol. 10, 185.
- THIMONIER, J; COGNIE, Y; LASSOUED, N; KHALDI, G. (2000).** L'effet mâle chez les ovins: une technique actuelle de maîtrise de la reproduction. *INRA Prod. Anim.* 13 (4), pp 223-231.
- Whitlock, B.K et Maxwell, H.S. 2008.** Pregnancy-associated glycoproteins and pregnancy wastage in cattle. *Theriogenology*. 2008, Vol. 70, 550-559.
- Wooding, FB et Beckers, JF. 1987.** Trinucleate cells and the ultrastructural localisation of bovine placenta lactogen. *Cell and Tissue Research*. 1987, Vol. 247, 667-673.
- Youngquist, R.S. 2007.** *Pregnancy diagnosis in Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. s.l. : Elsevier Saunders, 2007.
- ZOLI, A; BECKERS, J.F; WOUTERS, B; CLOSSET, J; FALGMAGNE, P; ECTORS, F. (1991).** Purification and characterization of a bovine pregnancy- associated glycoprotein. *Biology of reproduction*. 45, pp 1-10.
- Zoli, A.P, et al. 1992.** Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: Its application for pregnancy diagnosis. *Biology of reproduction*. 1992, Vol. 46, 83-92.
- [4] LES HARAS NATIONAUX. (2013).** *Gestion de La Jument, 7ème édition*. Institut Français du Cheval et de l'Équitation, 216 p.
- [5] DESCOTEAUX, L., GNEMMI, G., COLLOTON, J. (2009).** *Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants*. Paris : Méd'com, 250 p.
- [6] LEBASTARD, D., CAMUSET, P. (2006).** L'échographe en gynécologie un outil incontournable souvent sous-exploité. *Bulletin des GTV*, 36, pp. 24-28.
- [7] CHASTANT-MAILLARD, S. (2003).** Gestation de la vache l'apport de l'échographie. *Action vétérinaire*, 1652, pp. 19-21.
- [9] TAINTURIER, D., BENCHARIF, D., TAINTURIER, B., BATTUT, I. (2003).** Diagnostics échographiques. Diagnostic de gestation chez la vache par échographie. *Le Point Vétérinaire*, 34 (n° spécial « Examens paracliniques chez les bovins »), pp. 98-104
- [10] TAINTURIER, D., BENCHARIF, D., BRIAND, L. (2006).** Diagnostic de gestation par échographie et mortalité embryonnaire précoce chez les bovins. *Bulletin des GTV*, 36, pp. 29-36.
- [11] TAINTURIER, D., BENCHARIF, D., BRIAND, L. (2006).** L'échographie des ovaires de vache. *Bulletin des GTV*, 36, pp. 37-42.



- [12] CHASTANT-MAILLARD, S. (2003). La gestation chez la vache. *Action vétérinaire*, 1651, pp. 17-19.
- [13] TAINTURIER, B., TAINTURIER, D., BENCHARIF, D. (2002). Diagnostic du sexe du fœtus chez la vache. *Action vétérinaire*, 1623, pp. 25-28.
- [14] PAUL-JEANJEAN, S. (2006). La viabilité du poulain en fin de gestation, comment l'évaluer par l'échographie. *Bulletin des GTV*, 36, pp. 58-62.
- [25] BUCZINSKI, S., DESCOTEAUX, L. (2009). *Échographie Des Bovins*. Les Editions du Point Vétérinaire, 191 p.
- [27] LORIOT, N. (2011). *Vade-Mecum Echographie Abdominale Chez Le Chien et Le Chat*. MED'COM, 304 p.
- [39] HOLDER, R. D. (2003). Fetal Sex Determination. *Journal of Equine Veterinary Science*, 23 (9), pp. 419.
- [46] LAUGHTON, K. W., FISHER, K. R. S., PARTLOW, G. D. H. W. G. (2005). Schistosomus Reflexus Syndrome: A Heritable Defect in Ruminants. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 34 (5), pp. 312–318.
- [49] CHAVATTE-PALMER, P. (2006). Diagnostic de gestation et suivi du fœtus. *Le Point Vétérinaire*, 37, pp. 12-17.
- [50] HARTMANN, D., HONNENS, A., PIECHOTTA, M., LUTTGENAU, J., NIEMANN, H., RATH, D., BOLLWEIN, H. (2013). Effects of a Protracted Induction of Parturition on the Incidence of Retained Placenta and Assessment of Uterine Artery Blood Flow as a Measure of Placental Maturation in Cattle. *Theriogenology*, 80 (3), pp. 176–184.
- [51] HERZOG, K., BOLLWEIN, H. (2007). Application of Doppler Ultrasonography in Cattle Reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 42 Suppl 2, pp. 51–58.
- [56] TAINTURIER, B., TAINTURIER, D., BENCHARIF, D. (2004). Fetal Sex Determination in Cattle by Ultrasonography. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3, pp. 136–141.
- [59] DAVIDSON, A. P., BAKER, T. W. (2009). Reproductive Ultrasound of the Bitch and Queen. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24 (2), pp. 55–63.
- [61] PICARD-HAGEN, N., JULIA, J., TAVEAU, J., GAYRARD, V. (2015). L'échographie : outil indispensable en gynécologie bovine. *La Dépêche Technique*, 138, pp. 17–24.
- [64] DESCOTEAUX, L., VAILLANCOURT, D. (2012). *Vade-Mecum de Gestion de La Reproduction Des Bovins Laitiers*. Editions Med'com, 240 p.

- [65] ENGLAND, G. C. W. (2005). *Fertility and Obstetrics in the Horse, Third Edition*. Oxford, UK ; Ames, Iowa: Blackwell Publishing.
- [66] BUCZINSKI, S., BELANGER, A. M., FECTEAU, G., ROY, J.-P. (2007). Prolonged Gestation in Two Holstein Cows: Transabdominal Ultrasonographic Findings in Late Pregnancy and Pathologic Findings in the Fetuses. *Journal of Veterinary Medicine, A, Physiology, Pathology, Clinical Medicine*, 54 (10), pp. 624–626.
- [68] BUCZINSKI, S., FECTEAU, G., LEFEBVRE, R. C., SMITH, L. C. (2007). Fetal Well-Being Assessment in Bovine near-Term Gestations: Current Knowledge and Future Perspectives Arising from Comparative Medicine. *The Canadian Veterinary Journal*, 48 (2), pp. 178–183.
- [72] MIRANDA, S. A., DOMINGUES, S. F. S. (2010). Conceptus Ecobiometry and Triplex Doppler Ultrasonography of Uterine and Umbilical Arteries for Assessment of Fetal Viability in Dogs. *Theriogenology*, 74 (4), pp. 608–617.
- [76] TAKAHASHI, M., GOTO, T., TSUCHIYA, H., UEKI, A., KAWAHATA, K. (2005). Ultrasonographic Monitoring of Nuclear Transferred Fetal Weight during the Final Stage of Gestation in Holstein Cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 67 (8), pp. 807–811.
- [77] REEF, V. B., VAALA, W. E., WORTH, L. T., SERTICH, P. L., SPENCER, P. A. (1996). Ultrasonographic Assessment of Fetal Well-Being during Late Gestation: Development of an Equine Biophysical Profile. *Equine Veterinary Journal*, 28 (3), pp. 200–208.
- [78] BUCCA, S., FOGARTY, U., COLLINS, A., SMALL, V. (2005). Assessment of Feto-Placental Well-Being in the Mare from Mid-Gestation to Term: Transrectal and Transabdominal Ultrasonographic Features. *Theriogenology*, 64 (3), pp. 542–557.
- [79] TROEDSSON, M. H. T., MACPHERSON, M. L. *Placentitis in the Mare*. Kentucky veterinary medical association.
- [82] BUCZINSKI, S. (2009). Ultrasonographic Assessment of Late Term Pregnancy in Cattle. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 25 (3), pp. 753–765.
- [83] BUCCA, S. (2014). How to Assess the Equine Pregnancy by Ultrasonography. In: *Proceeding of the American Association of Equine Practitioners, 2014*, 60.
- [84] HERZOG, K., KOERTE, J., FLACHOWSKY, G., BOLLWEIN, H. (2011). Variability of Uterine Blood Flow in Lactating Cows during the Second Half of Gestation. *Theriogenology*, 75 (9), pp. 1688–1694.

- [98] **CHEVALIER, M. (2011).** *Gestion du sexe du produit en élevage bovin.* Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon
- [99] **Buczinski, S., Fecteau, G., Comeau, G., Boysen, S. R., Lefebvre, R. C., & Smith, L. C. (2009).** Ultrasonographic fetal well-being assessment, neonatal and postpartum findings of cloned pregnancies in cattle: A preliminary study on 10 fetuses and calves. *The Canadian Veterinary Journal*, 50(3), pp. 261–269.
- [100] **BUCZINSKI, S. (2008).** *Evaluation Ultrasonographique Du Bien-Être Foetal Bovin En Fin de Gestation.* Mémoire de Maître des sciences en sciences vétérinaires, université de Montréal, p 137..

## **Résumé:**

### **Etude de l'efficacité des techniques de diagnostic de gestation chez la vache**

Cette étude rentre dans le cadre de la préparation d'un projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en sciences vétérinaires.

Le principal objectif de cette étude est de comparer l'efficacité et l'intérêt d'utilisation des différentes techniques de diagnostic chez l'espèce bovine. Plusieurs méthodes sont disponibles actuellement, des méthodes cliniques assurées par la palpation ou l'échographie transrectale dont la période d'application est variable d'une méthode à une autre.

D'autres méthodes biochimiques, basées sur le dosage de la progestérone et des œstrogènes ainsi que de protéines associées à la gestation, sont également utilisées chez cette espèce, l'efficacité de ces techniques dépend de certains facteurs liés soit à l'animal, soit à son mode d'élevage.

Cette étude d'ordre bibliographique nous a permis en premier lieu de connaître l'anatomie et la physiologie de la reproduction chez les bovins et en second lieu d'étudier le principe et la technique des différentes méthodes de diagnostic.

L'échographie révèle la méthode la plus incontournable lors du diagnostic de gestation car elle permet un diagnostic précoce mais elle permet également de dénombrer les fœtus et de les sexer. Son intérêt chez la vache est avant tout économique d'où la réalisation d'un diagnostic de gestation précoce permet d'optimiser la mise à la reproduction. Mais il est également important de sexer les fœtus lorsqu'il y a des jumeaux car le risque de free-martinisme est alors élevé.

A travers cette étude et suite à l'acquisition d'un ensemble de connaissances d'ordre bibliographique, d'autres travaux d'ordre expérimental seront réalisés à l'avenir afin de se perfectionner sur les différents moyens de diagnostic d'une part et de les utiliser en pratique vétérinaire chez l'espèce bovine d'autre part

