

Le constat de gestation chez les ruminants.

Année 2008-2009

Prof. Ch. Hanzen

Table des matières

1.	Objectifs.....	2
1.1.	Objectif général.....	2
1.2.	Objectifs spécifiques.....	2
2.	Introduction.....	3
3.	Le diagnostic de gestation dans l'espèce bovine.....	3
3.1.	Les méthodes hormonales.....	3
3.1.1.	La progestérone.....	4
3.1.2.	Les protéines associées à la gestation.....	5
3.1.3.	Autres facteurs hormonaux.....	6
3.2.	La palpation rectale.....	7
3.3.	L'échographie.....	8
3.4.	Conclusions générales.....	8
3.5.	Pour en savoir plus.....	8
4.	Le diagnostic de gestation chez les petits ruminants.....	8
4.1.	Méthodes autres que l'échographie.....	8
4.2.	Le diagnostic échographique.....	9
5.	Le diagnostic de gestation dans l'espèce porcine.....	9
6.	Tableaux.....	10

1. Objectifs

1.1. Objectif général

Le constat de gestation qu'il soit réalisé en recourant à des méthodes manuelles, hormonales ou échographiques constitue une démarche essentielle pour prévenir l'infécondité. Ce chapitre a pour but de présenter les méthodes hormonales (progestérone et PAG) et non hormonales (palpation manuelle, détection de l'oestrus, inspection de l'abdomen, développement mammaire) pour confirmer la gestation chez les ruminants. Il en présente également les avantages et inconvénients. L'examen échographique trouve dans ce contexte une de ses principales applications. Il sera donc envisagé dans un chapitre spécifique.

1.2. Objectifs spécifiques

Objectifs de connaissance

- Enumérer trois critères de choix d'une méthode de constat de la gestation
- Enumérer les méthodes de constat de gestation utilisées en pratique chez la vache.
- Enoncer les stades d'application au constat de gestation des dosages hormonaux
- Enoncer les contraintes des prélèvements en vue d'un dosage de la progestérone et de la PAG
- Enoncer les principaux critères de confirmation de la gestation par palpation manuelle transrectale en fonction du stade de gestation chez la vache
- Enoncer les critères de constat de la gestation par échographie au cours des deux premiers mois de gestation chez la vache
- Enumérer les méthodes de diagnostic de gestation qui chez les petits ruminants ont trouvé une application en pratique
- Enoncer les critères de constats de gestation par échographie transabdominale chez les petits ruminants

Objectifs de compréhension

- Justifier les intérêts d'un constat précoce (<60 jours) de gestation chez la vache
- Justifier les intérêts d'une constat tardif (>=60 jours) de gestation chez la vache
- Comparer les avantages et inconvénients des méthodes hormonales et non hormonales de diagnostic de gestation utilisés en pratique chez la vache.
- Comparer les avantages et inconvénients des méthodes de diagnostic de gestation utilisés en pratique chez les petits ruminants

2. Introduction

L'identification précoce des animaux non-gestants constitue une étape obligée vers la réduction de l'intervalle entre vêlages et donc l'optimisation du potentiel de production des élevages laitiers et viandeux. Les méthodes de diagnostic de gestation peuvent se répartir en deux groupes. Le premier rassemble ceux basés sur les modifications hormonales inhérentes à la gestation tandis que le second comporte les méthodes basées sur les modifications physiques de l'animal ou de l'utérus gravide. S'y ajoutent les méthodes basées sur la détection du retour éventuel en chaleurs de l'animal et les méthodes associées telle que la mesure de la résistance électrique ou la biopsie vaginale (Tableau 1).

Le choix d'une méthode de diagnostic de gestation repose essentiellement sur la triple notion de précocité, de praticabilité et d'exactitude. La notion de précocité ne s'applique pas de la même façon aux diagnostics de gestation et de non-gestation. Plus le diagnostic de non-gestation peut être précoce et plus rapidement pourra être mise en place une démarche zootechnique ou thérapeutique visant à raccourcir le délai entre le vêlage et l'insémination fécondante. A l'inverse, la confirmation précoce de la gestation est entachée du risque supplémentaire de mortalité embryonnaire précoce ou tardive. La praticabilité de la méthode doit également être prise en considération. Elle implique tout à la fois l'expérience de l'utilisateur, les conditions pratiques de contention et de notation des données dans l'élevage, les investissements possibles par le vétérinaire et l'éleveur, l'appareillage nécessaire, l'application potentielle de ce dernier dans un autre cadre que le diagnostic de gestation...

La notion d'exactitude de la méthode revêt une importance pratique certaine. En fait, les méthodes de diagnostic de gestation peuvent être évaluées au moyen de 4 critères que sont la sensibilité et la spécificité, le degré d'exactitude des diagnostics de gestation et de non-gestation. Alors que les deux premiers évaluent la méthode, les deux derniers évaluent davantage leur utilisateur.

En présence d'un animal à examiner et eu égard au résultat de cet examen, quatre situations sont possibles

	Animal gestant	Animal non gestant
Diagnostic +	a	b
Diagnostic -	c	d

- Situation a: le diagnostic de gestation s'est révélé exact: vrai positif
 - Situation b: le diagnostic de gestation s'est révélé inexact: faux positif
 - Situation c: le diagnostic de non-gestation s'est révélé exact: vrai négatif
 - Situation d: le diagnostic de non-gestation s'est révélé inexact: faux négatif

La sensibilité de la méthode évalue sa capacité à détecter les animaux positifs. Elle s'exprime par le rapport entre $a/a+c$. Parmi les animaux réellement gestants, elle détermine le pourcentage d'animaux qui ont été diagnostiqués gestants par la méthode utilisée.

La spécificité de la méthode évalue sa capacité à détecter les animaux négatifs: elle s'exprime par le rapport $d/b+d$. Parmi les animaux réellement non-gestants, elle détermine le pourcentage d'animaux qui ont été diagnostiqués non-gestants par la méthode.

Les degrés d'exactitude (+ ou -) de la méthode ont davantage une valeur pronostique. Le degré d'exactitude des diagnostics de gestation s'exprime par le rapport $a/a+b$ et celui des diagnostics de non gestation par le rapport $d/c+d$. Ces rapports expriment la probabilité que le diagnostic posé se révèle exact ou inexact. Il convient de rappeler l'antagonisme existant habituellement entre la précocité de la méthode et le degré d'exactitude des diagnostics positifs; Du fait en effet du risque d'interruption de gestation, plus la précocité est élevée et moins l'exactitude des diagnostics de gestation sera grande.

3. Le diagnostic de gestation dans l'espèce bovine

3.1. Les méthodes hormonales

L'identification d'un état de gestation est intimement liée à la physiologie de l'embryon et du placenta. L'embryon arrive 5 jours après la fécondation dans l'utérus. Au 7ème jour, la morula se creuse d'une cavité le blastocœle qui s'entoure d'une couche cellulaire possédant deux types de cellules. La couche périphérique donnera naissance au trophoblaste tandis qu'à un pôle du blastocyste va se différencier le disque embryonnaire qui donnera le fœtus.

Vers le 10^{ème} jour de la gestation, le blastocyste rompt par éclosion la membrane pellucide qui jusque là l'entourait. Cette étape est une des plus importantes du développement embryonnaire et du maintien de la gestation: elle a pour effet d'établir des relations directes d'ordre physique et physiologique entre l'embryon et sa mère. Elle doit chez la vache impérativement survenir avant le 15^{ème} jour du cycle. C'est en effet à ce stade qu'en cas de non-fécondation, l'endomètre libère une prostaglandine responsable de la lyse du corps jaune, d'une chute de la progestéronémie et du retour en chaleurs de l'animal. En cas de fécondation par contre, le trophoblaste synthétise entre le 15^{ème} et le 26^{ème} jour de gestation une substance à effet anti-lutéolytique.

Une fois l'embryon éclos, le trophoblaste va par élongation envahir toute la corne ipsilatérale au corps jaune. Ce processus comprend les phases d'apposition (J17 à J21), d'adhésion (J18 à J23) et d'attachement (J19 à J30) du trophoblaste à l'endomètre. C'est au cours de cette période (J18-J19) que les cellules binucléées d'origine trophoblastique migrent dans l'épithélium utérin. Cette migration a pour objet d'immobiliser les deux épithéliums embryonnaires et maternels pour permettre le développement de microvillosités et la formation des cotylédons et caroncules (placentomes) à partir du 30^{ème} jour de gestation.

Le rôle endocrinien du placenta est un des plus importants et des plus précoces. Le placenta peut être considéré comme une volumineuse glande endocrine source de stéroïdes et de protéines diverses, présentes pendant toute ou une partie de la gestation et possédant une activité hormonale ou autres encore mal définies.

Ainsi ont été identifiées des hormones stéroïdiennes (progestérone, œstrogènes), des prostaglandines, des gonadotrophines (bCG: bovine chorionic gonadotrophin), des hormones placentaires lactogènes ou somatomammotrophines chorioniques (bPL: bovine placental lactogen), des signaux embryonnaires précoces (EPF: Early Pregnancy Factor, trophoblastine), des protéines spécifiques de la gestation (PSPB: Pregnancy Specific Protein de type B ou PAG: Pregnancy Associated Glycoprotein). Bien que nombreuses, peu d'entre elles cependant ont connus une application pratique. Citons néanmoins la progestérone et la PAG ou PSPB.

3.1.1. La progestérone

L'identification du rôle indispensable de la progestérone dans le maintien de la gestation est connue depuis longtemps et a constitué une des premières méthodes de son diagnostic hormonal. Au cours de la gestation, l'origine de la progestérone varie selon les espèces. Un relais placentaire est observé chez la vache, la jument, la brebis et la femme respectivement 200, 70, 50 et 50 jours après la fécondation. Ce relais n'est pas observé chez la chatte, la chèvre, la truie ou la, chienne. Précisons également que chez la jument une synthèse complémentaire de progestérone est assurée par les corps jaunes secondaires.

Deux types de dosage sont actuellement utilisés: le dosage radio-immunologique (RIA) et l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Le premier nécessite l'utilisation de produits radioactifs ainsi qu'un personnel expérimenté et l'infrastructure d'un laboratoire. La mise au point de la seconde méthode a largement contribué à son utilisation en ferme ou au cabinet du vétérinaire. L'un et l'autre dosage peuvent être réalisés sur des prélèvements de lait (entier, écrémé ou crème) ou de sang. Le dosage radio-immunologique suppose néanmoins le respect de certaines conditions de prélèvement (Tableau 2).

La vache présente la particularité d'avoir une enzyme (5-alpha-réductase) qui dégrade rapidement la progestérone en un métabolite qui ne croise pas avec le RIA, très spécifique de la progestérone. Aussi, après 4 à 6 heures et à température ambiante, le taux de progestérone dans du sang prélevé sur tube sec est réduit de moitié. Cette dégradation est empêchée si on soustrait la progestérone à l'action des globules rouges. Le prélèvement peut donc être réalisé sur tube avec anti-coagulant puis centrifugé dans les minutes suivantes. Cette méthode n'étant pas toujours possible en ferme, le prélèvement est réalisé dans des tubes secs renfermant un inhibiteur de la dégradation de la progestérone : l'azide de sodium. L'addition de cette substance à une concentration de 5mg/ml assure une conservation de 90 % de la progestérone après 4 jours. Bien que responsable d'une légère hémolyse, l'azide de sodium n'interfère pas avec le dosage ultérieur. L'addition d'anticoagulant au tube renfermant de l'azide de sodium réduirait de 10 % la concentration en progestérone si la centrifugation n'est pas immédiate. On notera que chez la jument, la progestérone reste parfaitement stable pendant 24 heures. Chez la brebis, une chute de 35 % de la progestérone peut être observée au bout de 48 heures.

Dans les dosages ELISA, certains enzymes tels la peroxydase de radis ou la beta-galactosidase ou la phosphatase alcaline jouent le rôle dévolu aux radio-isotopes dans le RIA. Le principe de ce type de dosage est le suivant. La paroi du tube de réaction est recouverte d'un anticorps antiprogestérone. On notera que l'utilisation d'anticorps monoclonaux est de nature à augmenter la qualité du test. Après introduction du prélèvement, on ajoute une solution renfermant une quantité connue de progestérone liée à l'enzyme. Ce faisant, la progestérone du prélèvement entre en compétition avec la progestérone liée à l'enzyme au niveau des sites de fixation des anticorps tapissant la paroi du tube. La lecture au bout de quelques minutes du résultat de cette compétition de fixation permet d'identifier la proportion de progestérone de chaque origine. Ainsi, si la quantité de progestérone du prélèvement est élevée, les sites de fixation auront davantage fixés ce type de progestérone que celui lié à l'enzyme et inversement. Une fois la réaction réalisée, le tube est vidé et un révélateur est ajouté. L'intensité de la réaction colorée obtenue sera inversement proportionnelle à la quantité de progestérone présente dans l'échantillon. La comparaison des couleurs obtenues à celles d'échantillons standards ou leur lecture par un spectrophotomètre permet d'évaluer qualitativement ou quantitativement la concentration en progestérone de l'échantillon.

Les dosages ELISA et RIA de la progestérone sont plus aptes à détecter les animaux gestants (sensibilité: 97%) que non-

gestants (spécificité 75 %). Le degré d'exactitude des diagnostics de gestation et de non gestation sont respectivement égal à 85 et 95 %. Ils dépendent de la qualité des prélèvements, de l'importance de la mortalité embryonnaire tardive, de la régularité des cycles mais aussi de la concentration minimale (cutoff value) prise en considération pour déclarer l'animal gestant (Ainsi, des valeurs comprises entre 1 et 3 ng/ml ont été rapportées). Il est également important de considérer d'autres facteurs plus spécifiquement liées à la nature et aux conditions de prélèvement et de sa conservation. La progestérone étant soluble dans les graisses, sa concentration est habituellement plus élevée dans le lait entier que dans le lait écrémé. Au moment de l'oestrus, sa concentration dans la matière grasse du lait est de 10 ng environ ce qui correspond à une concentration dans le lait entier de 0.3 ng. Un rapport de 1 :147 a été observé entre la concentration de la progestérone dans la crème du lait et le lait écrémé. De même, sa concentration sera plus élevée dans un prélèvement de lait effectué le matin que le soir compte tenu de l'augmentation de la concentration en graisses). Elle est également plus élevée dans le lait prélevé en fin qu'en début de traite). Pour éviter l'effet du moment du prélèvement sur le taux de matières grasses et donc sur la concentration en progestérone, il a été recommandé de réaliser le prélèvement plus de 3 heures après la traite précédente. De même, la concentration de la progestérone diminue si le prélèvement de lait écrémé maintenu à 4°C est progressivement amené à la température de la pièce).

Utilisant un RIA (limite du dosage 0.02 ng/ml) et considérant un seuil minimal de 1 ng pour déclarer l'animal gestant, des études ont rapporté une spécificité comprise entre 58 et 67 %), une sensibilité de 90 % et des valeurs prédictives positives et négatives comprises respectivement entre 66 et 77 % et entre 90 et 97 %). Seule la prise en considération de ces différents paramètres autorise la comparaison entre les études. Il a été démontré que le changement de la valeur du seuil minimal de 8.8 ng à 3 ng entraîne une diminution de la sensibilité (36 vs 91 %) une augmentation de la spécificité (92 vs 64 %) une augmentation de la valeur prédictive positive (76 vs 65 %) et une diminution de la valeur prédictive négative (67 vs 91 %). L'implication économique du choix d'une valeur seuil est réelle. On a estimé qu'un diagnostic faussement négatif coûtait trois fois plus cher qu'un diagnostic faussement positif. Le choix du taux de conception spécifique au troupeau doit également être pris en compte. En effet pour une concentration seuil donnée, la valeur prédictive des diagnostics positifs augmente (81 vs 48 %) mais la valeur prédictive des diagnostics négatifs diminue (82 vs 96 %) lorsque le taux de gestation passe de 25 à 60 %. Ce fait traduit l'influence de la prévalence.

Etant donné la rapidité d'obtention du résultat, le dosage de la progestérone par ELISA a largement dépassé sa simple application au diagnostic de gestation. Il constitue en effet un moyen rapide de confirmer l'état œstral de l'animal par un prélèvement effectué le jour des chaleurs. Sur un prélèvement effectué au 19^{ème} jour du cycle, il permet de prédire le retour en chaleurs de l'animal et ainsi de mettre à profit cette phase œstrale pour une nouvelle insémination. Effectué à trois reprises à une semaine d'intervalle, il permet de déterminer la date du premier retour en chaleurs de l'animal après le vêlage et ainsi d'optimiser le moment de la première insémination. Il permet également d'optimiser l'utilisation des prostaglandines dans le cadre par exemple d'un programme de synchronisation de chaleurs. Enfin, déterminant la présence d'un corps jaune fonctionnel, il rend possible la sélection de receveuses dans le cadre d'un programme de transfert d'embryons.

Target Bovine Test Kit

BioMetallics Inc. PO Box 2251 Princeton, NJ 08543

Phone: 1-800-999-1961

\$71.25 for 20 or 25 test cups so three to four dollars per test.

3.1.2. Les protéines associées à la gestation

Synthétisées par les cellules binucléées du trophoblaste et caractéristiques du placenta cotylédonaire des ruminants, les hormones spécifiques de la gestation, la PSPB (Pregnancy Specific Protein B) et la PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) sont détectées dans le sang dès le 15^{ème} (PSPB) ou le 22^{ème} jour (PAG) après la fécondation.

La mise au point de dosages radio-immunologiques chez la vache, la chèvre, la brebis et le chevreuil en rend l'intérêt particulièrement évident pour le diagnostic de gestation mais aussi l'étude de la mortalité embryonnaire. Par rapport au dosage de la progestérone, la détermination de la concentration en PSPB ou PAG offre l'avantage de pouvoir être réalisé quel que soit le stade de gestation.

Diverses études ont précisé leur cinétique pendant la gestation. Chez les bovins, leurs concentrations augmentent dans le plasma ou le sérum entre le 20^{ème} et le 30^{ème} jour de gestation. Elles sont détectables à partir du 30^{ème} jour de gestation dans la circulation maternelle chez 98 % des femelles gestantes. La précocité de ce moment de détection varie cependant d'un individu à l'autre. En pratique, le prélèvement sera effectué plus de 30 à 35 jours après l'insémination. La concentration est habituellement inférieure à 1 ng/ml avant le 30^{ème} jour de gestation et atteint plusieurs centaines de ng/ml au moment de la parturition (4ng/ml à la 6^{ème} semaine, 159 ng à la 35^{ème} semaine et 2000 ng 1 à 5 jours avant le part). Le degré d'exactitude des diagnostics de non-gestation est également plus élevé (85 % vs 58 %). A l'inverse étant donné sa demi-vie particulièrement longue (7 jours) surtout si la gestation a été menée à son terme, il est impératif de respecter une période d'attente de 100 jours après le vêlage pour effectuer un diagnostic chez la vache. En effet des concentrations égales à 21.7 ng/ml et à 1.2 ng/ml ont été enregistrées respectivement au 40^{ème} et entre le 71^{ème} et le 80^{ème} jour du postpartum.

Le prélèvement de sang peut être réalisé sur tube sec ou hépariné. Les prélèvements peuvent être ainsi conservés à 4°C pendant 9 à 15 jours.

Quelques analyses préliminaires ont identifié la présence de la bPAG dans le lait au cours du mois suivant le vêlage. Cette présence dans le lait est due au fait qu'avant la parturition, cette hormone est présente à des concentrations très élevées dans le

sang. La bPAG est également présente dans le sang des nouveau-nés avant toute prise de colostrum. Elle augmente significativement dans les 24 heures suivant l'absorption de colostrum.

Le rôle exact de ces hormones n'est pas encore élucidé. Leurs propriétés immunosuppressives expliqueraient leur implication dans le mécanisme de reconnaissance et du maintien de la gestation. Ses effets potentiels sur le mécanisme du détachement placentaire et l'involution utérine mériteraient d'être approfondis.

3.1.3. Autres facteurs hormonaux

3.3.1.1. L'Early Pregnancy Factor

De nature glycoprotéique, l'Early Pregnancy Factor (EPF) encore appelé Early Conception Factor (ECP) apparaît quelques heures après la fécondation dans le sang de la plupart des espèces animales dont la vache, la truie, et la brebis. Ce facteur existe en fait sous deux formes: l'une sécrétée par l'ovaire ipsilatéral à la corne gestante (EPF-B) et l'autre synthétisée par l'oviducte (EPF-A). Leur synthèse ovarienne est initiée par un petit peptide appelé zygotine et est donc indépendante de la présence du placenta. Il se pourrait que ce facteur contribue à diminuer l'immunocompétence des lymphocytes en début de gestation et ainsi faciliter la reconnaissance immunologique de l'embryon par l'organisme maternel. La détermination de sa concentration constituerait un bon moyen d'identification d'une mortalité embryonnaire si ce n'était le manque de reproductibilité de son évaluation plasmatique, imputable au fait qu'elle est influencée par de nombreux facteurs biologiques. Le dosage de l'EPF permettrait d'identifier les vaches non-gestantes entre le 6^{ème} et le 20^{ème} jour suivant l'insémination à partir d'un prélèvement de lait et entre le 6^{ème} jour et le 90^{ème} jour suivant l'insémination à partir d'un prélèvement de sang. Cependant l'évaluation sur le terrain d'un test (ECF Dip Stick Test : Concepto Diagnostics, PO Box 6275 Knoxville, TN 37914 USA) en a démontré les faibles spécificité (26 %), sensibilité (81%) et valeurs prédictive positive (40 %) et négative (69%) .

3.3.1.2. La zygotine

Identifiée chez la brebis, la truie et la vache, la zygotine ou EPAF (Embryo Platelet Activating Factor) possède la propriété d'inhiber la formation de rosettes par des hématies mises en présence de lymphocytes. Elle possède des propriétés chimiques, biochimiques et physiologiques comparables à celles du PAF (Platelet Activating Factor: 1-O-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine), facteur produit notamment par les neutrophiles, le foie et les muscles lisses. La zygotine ne serait cependant pas homologue au PAF. Son couplage à une molécule de transport la protégerait d'une dégradation enzymatique. Son rôle exact reste à démontrer. Molécule de faible poids moléculaire, elle induit la production par l'oviducte et l'ovaire porteur du corps jaune d'un facteur précoce de la gestation appelé EPF (Early Pregnancy factor). Elle ne serait pas impliquée directement dans la synthèse de progestérone par le corps jaune ou de prostaglandines par l'endomètre.

3.3.1.3. La Human Chorionic Gonadotrophin

De nature glycoprotéique, l'hCG (Human Chorionic Gonadotropine) encore appelée PU (Pregnant Urine Gonadotropine) est depuis longtemps connue dans l'espèce humaine pour stimuler la synthèse de progestérone par le corps jaune. Chez la jument ce rôle est dévolu à la PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropine) ou ECG (Equine Chorionic Gonadotropine). Semblable substance a également été identifiée chez la vache, la brebis et la truie. Leur rôle semble cependant relativement peu important en début de gestation.

3.3.1.4. L'hormone placentaire

Absente chez la jument, la truie, la chatte et la chienne, l'hormone placentaire a par contre été identifiée chez les ruminants et les primates. Elle est chez la brebis sécrétée par le trophoblaste dès le 16^{ème}-17^{ème} jour de gestation. Il semble bien qu'elle soit davantage impliquée dans le développement embryonnaire que dans le maintien du corps jaune. Sécrétée par les cellules binucléées, cette hormone est détectée dans le sang maternel entre le 26^{ème} et le 110^{ème} jour de gestation et son taux plasmatique est maximal (1 à 2 ng/ml) aux environs du vêlage. Sa sécrétion restant faible durant les premiers mois de la gestation, elle ne constitue pas un bon indicateur de mortalité embryonnaire et en rend peu pratique l'utilisation dans le cadre d'un diagnostic clinique de gestation.

3.3.1.5. Les œstrogènes

Les œstrogènes sont chez la truie synthétisés dès le stade de blastocyste. Possédant dans cette espèce un effet lutéotrophique, ils induiraient par ailleurs un changement directionnel des prostaglandines synthétisées. Celles-ci ne passeraient pas dans la veine utérine mais seraient sécrétées dans la lumière utérine.

Le placenta est une source importante d'œstrogènes. Chez les ruminants leur synthèse est faible (séquestration) au cours de la première moitié de la gestation. Ils sont détectables dès le trentième jour de gestation dans le liquide amniotique et le 50^{ème} jour dans le liquide allantoïdien. Le dosage du sulfate d'oestrone dans le lait est possible à partir du 110^{ème} jour de gestation. Cette contrainte en limite nettement l'utilisation pratique.

3.3.1.6. La prostaglandine E

Le rôle exact de la prostaglandines E produite par les blastocystes ovins et bovins reste à démontrer. Elle serait impliquée dans le maintien de la gestation étant donné in vitro son effet lutéotrope et l'augmentation de sa concentration dans la corne gestante après le 12^{ème} jour de gestation. Chez la jument, elle serait responsable de la migration des embryons dans l'oviducte, les ovocytes non fécondés n'étant pas concernés.

3.3.1.7. La trophoblastine

De nature protéique, la trophoblastine est synthétisée par le trophoblaste. Ce facteur a été identifié chez la brebis (oTP-1 : ovine Trophoblast protein -1) chez la chèvre (cOTP-1 : caprine trophoblast protein-1) et chez la vache (bTP-1 : bovine Trophoblast Protein 1). Une grande homologie d'effets et de structures existent entre les trophoblastines de ces espèces. La trophoblastine est identifiée dans le liquide de lavage de la cavité utérine vers le 8^{ème} jour de gestation chez les brebis et le 12^{ème} jour chez la vache. Sa concentration augmente de manière synchrone avec les changements morphologiques de l'embryon. Chez la vache elle peut encore être détectée jusqu'au 38^{ème} jour de gestation. La chèvre synthétise une trophoblastine entre le 16^{ème} et le 21^{ème} jour de gestation. Localisée au niveau de l'endomètre, la trophoblastine n'est pas retrouvée dans le sang et par conséquent ne peut être utilisée comme méthode de diagnostic de gestation.

La détermination de la séquence d'acides aminés de la trophoblastine en a révélé la grande analogie avec les interférons. Par ailleurs, elle présente les mêmes propriétés antivirales, antiprolifératives et immunosuppressives que les interférons et se lie à leurs récepteurs. Ces faits en justifient l'appellation nouvelle d'interféron tau (oIFN-t : Ovine interferon tau, bIFN-t : bovine interferon tau).

Il est intéressant de noter que la plus grande prolificité de certaines races de porc telles que la Meishan ou la Jiaxing serait moins imputable à un plus grand nombre d'ovulations qu'à une plus faible mortalité embryonnaire au cours des 30 premiers jours de gestation. Ces deux races de porcs témoignent entre le 12^{ème} et le 20^{ème} jour de gestation d'une activité antivirale plus importante que les races européennes. Deux types d'interféron alpha et gamma ont été identifiés chez la truie. Leur rôle est à ce jour inconnu.

3.3.1.8. Les facteurs de croissance

De multiples facteurs contrôlent de manière autocrine ou paracrine le développement des premiers stades de l'embryon et la différenciation endométriale tels le TGF (Transforming Growth Factor), les IGF I et II (Insulin growth Factor), l'EGF (Epidermal Growth Factor), l'insuline, le PDGF (Platelet Derived Growth Factor), le bFGF (basic Fibroblast Growth Factor) mais aussi une multitude d'autres protéines plus spécifiques à l'oviducte (OSP : Oviduct Specific Protein). Il est prématuré d'en envisager l'utilisation dans les milieux de culture des embryons, les premières tentatives réalisées n'ayant enregistré aucune amélioration du développement embryonnaire.

3.2. La palpation rectale

« Elle ressemble à un thriller au cours duquel souris, rats et chats joueraient au ping-pong avec un ballon de football et des gants de boxe tout en dégustant des citrons.... »

L'exploration manuelle de l'utérus par voie transrectale d'un animal supposé gestant poursuit divers objectifs mais présente également certaines limites. Il offre la possibilité de confirmer ou non un état de gestation, d'en déterminer le stade, de vérifier la viabilité fœtale, de confirmer la topographie normale de l'utérus, de diagnostiquer diverses pathologies de la gestation.

La confirmation manuelle de la gestation est basée sur la mise en évidence d'un ou de plusieurs éléments caractéristiques d'un utérus gravide à savoir la fluctuation des liquides de gestation, la palpation des membranes fœtales, la palpation de l'embryon et du fœtus, la palpation des cotylédons et de l'artère utérine. Il importe donc de bien connaître les principales modifications anatomiques générales et topographiques de l'utérus gestant mais également la symptomatologie des principales pathologies liées à la gestation (hydropisie des membranes fœtales, torsion utérine, momification, macération, avortement ...).

Le degré d'exactitude des diagnostics posés par palpation manuelle est étroitement lié à la qualité de l'apprentissage et au maintien d'une pratique quotidienne. D'autres facteurs peuvent induire le diagnostic de faux positifs (palpation de la vessie, du rumen, du rein, d'un pyomètre, d'un fœtus momifié ou macéré).

L'utérus gestant et son contenu présente diverses caractéristiques à la palpation offrant la possibilité de déterminer plus ou moins précisément le stade de la gestation (Tableau 3 et 3a). Ces caractéristiques présentent néanmoins d'importantes variations raciales ou individuelles inhérentes à la conformation des animaux, à la présence d'un ou de plusieurs fœtus ou à celle de pathologies intercurrentes. Le cas échéant, l'examen de l'avorton offrira des précisions supplémentaires.

Les limites de la palpation manuelle sont liées au délai nécessaire pour identifier les premières modifications anatomiques de l'utérus gestant. Avant le 35^{ème} jour de gestation, il est pratiquement exclu de poser un diagnostic avec une exactitude qui soit significativement différente de celle due au hasard. De même, le praticien doit être conscient du risque iatrogène lié à l'examen, risque plus ou moins important en fonction des critères pris en considération (identification de la fluctuation et/ou du glissement des membranes fœtales). Ainsi, entre le 35^{ème} et le 50^{ème} jour de gestation le risque d'interruption de la gestation n'est pas négligeable (4 à 10 %). Aussi la période comprise entre le 50^{ème} et le 70^{ème} jour de gestation apparaît-elle la plus favorable parce qu'elle réduit

les risques de mortalité embryonnaire et permet de confirmer les diagnostics plus précoces effectués.

3.3. L'échographie

Les applications de l'échographie à l'examen de l'utérus gestant font l'objet d'un chapitre particulier (Voir Applications de l'échographie à la reproduction des ruminants)

3.4. Conclusions générales

Le diagnostic de gestation constitue une activité essentielle du vétérinaire soucieux de s'impliquer dans la gestion de la reproduction. Plus que par le passé, il dispose pour ce faire de méthodes adaptées à ses exigences et à celles requises par l'optimisation de la période de reproduction des élevages laitiers et viandeux de type intensif ou extensif. Leur choix doit être dicté par les conditions pratiques et financières de mise en place mais également par la connaissance des possibilités et limites des six différentes méthodes actuellement utilisables en reproduction bovine (Tableau 9).

3.5. Pour en savoir plus

- Hanzen Ch. Applications des ultrasons et de l'effet Doppler à la physiopathologie de la reproduction en médecine vétérinaire. Ann.Méd.Vét., 1980, 124, 477-488.
- Hanzen Ch., Delsaux B. Use of transrectal B-Mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis. Vet.Rec., 1987, 121, 200-202.
- Hanzen Ch., Laurent Y. Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. Ann.Méd.Vét., 1991, 135, 481-487.
- Hanzen Ch., Laurent Y., Jakovljevic S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 1. L'examen des ovaires. Ann.Méd.Vét., 1992, 137, 13-18.- Hanzen Ch., Laurent Y., Jakovljevic S. Applications de l'échographie en reproduction bovine. 1. L'utérus gestant et non-gestant. Ann.Méd.Vét., 1993, 137, 93-101.
- Hanzen Ch., Drion PV, Lourtie O., Depierreux C., Christians E. La mortalité embryonnaire. 1. Aspects cliniques et facteurs étiologiques dans l'espèce bovine. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 91-118.
- Hanzen Ch., Lourtie O., Drion PV, Depierreux C., Christians E. La mortalité embryonnaire. 2. Implications hormonales. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 179-189).
- Hanzen Ch., Lourtie O., Drion PV, Depierreux C., Christians E. La mortalité embryonnaire. 2. Implications hormonales. Ann.Méd.Vét., 1999, 143, 179-189.
- Vidéo : Bovine ultrasonography Brad Stroud Stroud video productions, 6601 Grandbury HighwayWeatherford TX 76087 USATél 817 599 77 21
- Vidéo : Ginther OJ Ultrasonic imaging and reproductive events Equioservices, 4343 Garfoot road, Cross Plains WI 53528 USA, Tél 6087 798 49 10
- Sur les applications du dosage de la progestérone
<http://www.inra.fr/Internet/Produits/PA/an2000/num203/thimoni/jt203.htm>

4. Le diagnostic de gestation chez les petits ruminants

Chez les petits ruminants, le diagnostic précoce de gestation, la détermination du stade de gestation et du nombre de foetus voire de leur aspect normal ou non, constituent pour l'éleveur autant d'opportunités de mieux gérer leur troupeau.

4.1. Méthodes autres que l'échographie

Classiquement, dans ces espèces, la suspicion de gestation se basait sur le *non-retour en chaleurs* des animaux ou sur des signes externes tels le développement mammaire. La première méthode n'étant pas précise et la seconde trop tardive, l'introduction d'un bélier détecteur équipé d'un harnais a constitué une solution alternative intéressante mais insuffisamment exacte puisque étroitement dépendante de la libido de l'animal détecteur voire de l'absence chez la chèvre de pathologies utérines telles que l'hydromètre (3 à 31 % selon les troupeaux).

La *palpation transabdominale* dans le flanc droit n'est pas toujours aisée compte tenu de la tension de la paroi abdominale. Par ailleurs, il ne saurait être réalisé que tardivement.

Le *diagnostic transrectal* au moyen d'une tige rigide a été lui aussi abandonné compte tenu du risque de lésions rectales qu'il comportait.

Les *dosages hormonaux* sont applicables. Ils posent néanmoins des problèmes pratiques : le prélèvement de sang au 18^{ème} voire 19^{ème} jour de gestation en ce qui concerne la progestérone, à partir du 25^{ème} jour de gestation en ce qui concerne la PAG. Ces méthodes ne permettent par ailleurs pas de déterminer le nombre de foetus, paramètre important en ce qui concerne la gestion de la nutrition et la prévention de pathologies puerpérales. La confirmation d'une gestation et de la viabilité foetale (et donc d'un hydromètre éventuel en cas de résultat négatif) peut être déterminée chez la chèvre par le dosage dans le sérum ou le lait du sulfate d'œstrone après le 50^{ème} jour de gestation.

La *radiographie abdominale* est également possible et notamment pour déterminer le nombre de foetus. La méthode n'est cependant applicable qu'après le 65^{ème} jour de gestation. Elle pose par ailleurs des problèmes pratiques évidents.

4.2. Le diagnostic échographique

L'échographie s'est rapidement imposée comme méthode de diagnostic de gestation chez les petits ruminants. Elle sera envisagée dans le chapitre relatif aux applications de l'échographie chez les ruminants.

5. Le diagnostic de gestation dans l'espèce porcine

A l'image d'autres spéculations animales, la rentabilité économique de l'élevage porcin rend impératif le diagnostic précoce de gestation. De nombreuses méthodes ont été proposées. Elles sont développées de manière plus exhaustive dans le chapitre relatif à la gestion de la reproduction porcine. Pour des raisons pratiques, l'échographie a pratiquement remplacé les autres méthodes telle la détection des chaleurs, les dosages hormonaux ou la radiographie

6. Tableaux

Tableau 1 : comparaison interspécifique des méthodes de diagnostic de gestation

	Vache	Jument	Brebis Chèvre	Truie
Détection des chaleurs	+	+	+	+
Biopsie vaginale	-	-	+	+
Développement de la glande mammaire	+	+	+	+
Taxis externe	+	+	+	-
Palpation transrectale	+	+	-	-
Induction d'œstrus	-	-	-	+
Early Pregnancy Factor	+	+	+	+
Progesterone	+	+	+	+
PMSG (eCG)	-	+	-	-
Oestrogènes	+	+	+	+
PSPB (PAG)	+	-	+	-
Radiographie	-	-	+	+
Echo Doppler	+	+	+	+
Echo mode A	+	+	+	+
Echo mode B	+	+	+	+

Tableau 2 : Conditions de prélèvements en vue de la détermination de la progestéronémie

Dans le sang (veine coccygienne ou jugulaire)

J 20 à J 23 après l'insémination

- sur tube hépariné

centrifugation dans l'heure suivant le prélèvement

pipetage du plasma

identification du tube

congélation ou envoi au laboratoire

- sur tube sec contenant de l'azide de sodium (5 mg/ml de sang)

identification du tube

conservation à 4°C et envoi au laboratoire

Dans le lait (> 3 heures post traite : Waldmann et al. 1999.)

J 21 à J 23 après la dernière insémination

tube renfermant un agent conservateur, le dichromate de potassium (500 mg/ml) ou bronopol (« Microtabs » DIS

Control Systems Inc.CA)

identification du tube

conservation à 4°C (ou congélation à -18°C) et envoi au laboratoire

Tableau 3 : Caractéristiques macroscopiques de l'utérus gestant chez la vache

J	Corne gestante Diamètre	Cotylédon	Diamètre A. utérine	Longueur du foetus	Long de la tête	Taille du foetus	Position de l'utérus	Migration de l'utérus	de
	cm	cm	mm	cm	cm				
30	2 - 4		4 - 6	1			Pelvienne		
40	4 - 6		4 - 6	2			Pelvienne		
50	5 - 7		4 - 6	3.5 - 5.5			Pelvienne		
60	6 - 9		4 - 6	6 - 8		Souris	Pelvienne		
70	7 - 10	0.5 - 0.75	5 - 7	7 - 10	1.5		Pelv.-abdo.	Descente	
80	9 - 12	0.5 - 1.0	5 - 7	8 - 13	3.5		Pelv.-abdo.	Descente	
90	10 - 13	1.0 - 1.5	5 - 7	13 - 17	5.5	Rat	Pelv.-abdo.	Descente	
120	13 - 18	1.5 - 2.5	7 - 9	22 - 32	10.5	Petit chat	Pelv.abdo.	Descente	
150	18 - 23	2.5 - 4.0	7 - 10	30 - 45		Gros chat	Abdominale basse		
180		4.0 - 5.0	9 - 13	40 - 60		Beagle	Abdominale basse		
210		5.0 - 7.5	13 - 15	55 - 75			Abdominale	Remontée	
240		6.0 - 9.0	13 - 15	60 - 85			Abdominale haute	Remontée	
270		8.0 - 12.0	15 - 19	70 - 100			Abdominale haute		

Tableau 3a : Stade de gestation (J) et taille de la vésicule amniotique (VA) et de la longueur de la tête (nez-nuque) chez la vache

		VA	Tête
½ doigt de large	0.7 cm	35 J	
1 doigt de large	1.5 cm	42	70 J
2 doigts de large	3.5 cm	49	80
3 doigts de large	5.5 cm	53	90
4 doigts de large	7.5 cm	58	100
Largeur de main (- pouce)	9.0 cm	60	110
Largeur de main (+ pouce)	10.0 cm	65	120

**Tableau 4 : Précocité de la détection des structures embryonnaires et placentaires (Génisses laitières, sonde de 5MHz)
(Adapté d'après Curran et al. 1986)**

	n examens	Moyenne (Jours)	Ecart
Embryon	15	20	19-24
Battements cardiaques	15	21	19-24
Allantoïde	9	23	22-25
Aspect en C de l'embryon	11	25	22-30
Colonne vertébrale	14	29	26-33
Ebauches des membres antérieurs	14	29	28-31
Amnios	14	30	28-33
Cavités orbitaires	14	30	29-33
Ebauches des membres postérieurs	13	31	30-33
Aspect en L de l'embryon	12	33	29-39
Placentomes	6	35	33-38
Cristallin	12	40	37-44
Onglons	10	45	42-49
Mouvements fœtaux	9	45	42-50
Côtes	7	53	51-55

Tableau 5: Relation entre la longueur de l'embryon et l'âge (Hughes et Davies 1989)

AGE (Sem)	n	Moyenne (cm)	Min	Max
4	25	0.89	0.6	1.1
5	35	1.28	0.8	1.9
6	50	2.02	1.6	2.6
7	47	2.77	2.3	3.6
8	41	4.55	3.6	5.2
9	48	6.24	3.9	7.1
10	43	8.74	6.1	10.1
11	39	10.65	9.5	11.8
12	32	12.18	10.7	13.7

Tableau 6: Résultats comparés des diagnostics de gestation par échographie

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	TOT
Stade	(Jours)		21-70	NP	92-202	21-60	26-33	24-81	21-33	26-70	16-31	10-24	
Sonde	(MHz)		3.0		3.5	3.5	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
Echo	F.R.												
+	+	(a)	129	166	173	166	43	222	56	125 2	80	92	2379
+	-	(b)	3	32	1	9	5	14	11	126	35	12	248
-	-	(c)	62	102	3	102	36	61	64	349	107	65	951
-	+	(d)	7	9	2	32	1	7	17	39	77	48	239
n examens			201	309	179	309	85	304	148	176 6	299	217	3817
n animaux			201	309	179	100	85	304	148	176 6	200	34	3326
Sensibilité			95	95	99	84	98	97	77	97	51	65	91
Spécificité			95	76	75	92	88	81	85	74	75	84	79
Exactitude +			98	84	99	95	90	94	84	91	70	88	91
Exactitude -			90	92	60	76	97	90	79	90	58	57	80
Exactitude totale			95	87	98	87	93	93	81	91	63	72	87

1. Taverne et al. 1985; 2. Humblot et Thibier 1984
 3. White et al. 1985; 4. Chaffaux et al. 1986,
 5. Willemse et Taverne 1989; 6. Hanzen et Delsaux 1987
 7. Pieterse et al. 1990; 8. Hanzen et Laurent 1991
 9. Badtram GA et al. 1991; 10. Kastelic et al. 1989
 NP: non précisé

Tableau 7 : Résultats comparés des diagnostics posés par échographie avant le 35ème jour de gestation

			1	2	3	4	5	6	7	Total
Stade	(Jours)		28-35	< 30	21-33	< 30	16-31	10-24	< 30	<35
Sonde	(MHz)		3.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	3.0	
Echo	FR									
+	+	(a)	27	12	56	42	80	92	13	322
+	-	(b)	0	5	11	6	35	12	16	85
-	-	(c)	24	3	64	7	107	65	32	302
-	+	(d)	7	1	17	2	77	48	8	160
n examens			58	21	148	57	299	217	69	869
Sensibilité			79	92	77	95	51	65	62	67
Spécificité			100	38	85	54	75	84	67	78
Exactitude +			100	71	84	88	70	88	45	79
Exactitude -			77	75	79	78	58	57	80	65
Exactitude totale			88	71	81	86	63	72	65	72

1. Taverne et al. 1985; 2. Hanzen et Delsaux 1987
 3. Pieterse et al. 1990; 4. Hanzen et Laurent 1991
 5. Badtram GA et al. 1991; 6. Kastelic et al. 1989
 7. Chaffaux et al. 1986

Tableau 8 : Résultats comparés des diagnostics posés par échographie après le 35ème jour de gestation

			1	2	3	4	4	4	Total
Stade	(Jours)		40-49	40-49	36-49	40-49	50-59	60-70	> 35
Sonde	(MHz)		5.0	3.0	3.0	5.0	5.0	5.0	
Echo	FR								
+	+	(a)	73	32	43	444	232	32	856
+	-	(b)	2	10	3	39	17	1	72
-	-	(c)	17	22	17	129	60	21	266
-	+	(d)	1	0	0	8	3	1	13
n examens			93	64	63	620	312	55	1207
Sensibilité			98	100	100	98	98	97	99
Spécificité			89	69	85	77	77	95	79
Exactitude +			97	76	93	92	93	97	92
Exactitude -			94	100	100	94	95	95	95
Exactitude totale			97	84	95	93	94	96	93

1. Hanzen et Delsaux 1987; 2. Chaffaux et al. 1986

3. Taverne et al. 1985; 4. Hanzen et Laurent 1991

Tableau 9 : Comparaison des méthodes de diagnostic de gestation en élevage bovin

Méthode	Délai	Exactitude	Avantages	Inconvénients
Détection des chaleurs	19-20	variable	coût faible	peu fiable temps nécessaire lié aux conditions d'élevage
Progestérone (RIA ou ELISA)	19-24	85 % + 95 % -	autres applications méthode non invasive (lait) résultat immédiat (ELISA)	date d'IA nécessaire laboratoire délai de 24 heures (RIA) méthode invasive (sang)
PAG	>30	90 % + 98 % -	indépendant du stade	laboratoire délai de 48 heures > 100 J PP
Echographie	>30	91 % + 80 % -	indépendant du stade résultat immédiat autres applications méthode non invasive	Investissement Formation
Palpation manuelle	>50	Variable	résultat immédiat méthode non invasive	Expérience nécessaire

Tableau 11 : Resultats comparés des diagnostics de gestation réalisés par ultrasons dans l'espèce ovine

REFERENCE	1	2	3	4	5	6	7
	Doppler	Doppler	Mode A	Mode A	Mode A	Mode B	Mode B
Délai du diagnostic	66 à 120	60 à 96	69 à 113	90	NR	25 à 120 (56J)	30 à 130 (65 J)
N examens	309	498	508	1458	181	808	304
VRAIS + +/- (a)	242	250	261	1255	98	666	254
FAUX + +/- (b)	4	20	8	15	21	3	7
VRAIS - -/- (c)	62	112	212	85	47	134	27
FAUX - -/- (d)	1	116	27	103	15	5	16
Sensibilité (a/a+d)x100	99,6	68,3	90,6	98,8	86,7	99,3	94,1
Spécificité (c/c+b)x100	93,9	84,8	96,4	45,2	69,1	97,8	79,4
Exactitude + (a/a+b)x100	98,4	92,6	97,0	92,4	82,4	99,6	97,3
Exactitude - (c/c+d)x100	98,4	49,1	88,7	85,0	75,8	96,4	62,8
Exactitude totale (a+c/N)x100	98,4	72,7	93,1	91,9	80,1	99,0	92,4

(1. Shone et Fricker 1970, 2 et 3. Trapp et Slyter 1983, 4. Lane et Lewis 1981, 5. Madel 1983, 6. Taverne et al. 1985, 7. notre étude en 1985) entre 30 et 130 j.

Tableau 12 : Détermination de l'âge foetal chez différentes races de chèvres basée sur le diamètre bipariétal (DBP) déterminé au moyen d'une sonde 5 MHz) (Haibel et al. Theriogenology, 1989,32,287 et Reichle et Haibel Theriogenology,1991,35,689)

Race	Stade de gestation en jours
Toggenburg	27.9 + (1.64 x DBP)
Nubienne	26.8 + (1.74 x DBP)
Angora	28.6 + (1.77 x DBP)
Pygmée	23.2 + (2.08 x DBP)

Tableau 13 : Résultats comparés des méthodes de diagnostics de gestation dans l'espèce porcine (Adapté de Taverne 1985)

Paramètres	Taverne et al. 1985	Taverne et al. 1985	O'Reilly 1976	Lindahl et al. 1975	Gecele et al. 1982	Pajsak et al. 1981
Délai du diagnostic	J 24-32	J 31-37	J 31-60	J 30-90	J 21-56	J 35
Mode échographique	Mode B	Mode B	Mode A	Mode A	Mode A	Mode A
N examens	881	785	354	701	1276	2912
Vrais + +/+ (a)	785	690	277	598	1115	1734
Faux + +/- (b)	9	34	13	4	25	228
Vrais - -/- (c)	87	43	56	95	35	877
Faux - -/+ (d)	0	18	8	4	101	73
Sensibilité (a/a+d)x100	100	97,5	97,3	99,3	91,7	96
Spécificité (c/c+b)x100	90,6	55,8	81,1	96	58,3	78,6
Exactitude + (a/a+b)x100	98,9	95,3	95,6	99,3	97,8	88,4
Exactitude - (c/c+d)x100	100	70,5	87,5	96	25,7	92,3