

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieure Et De La Recherche
Scientifique

Université SAAD DAHLEB- Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département De Biologie

Mémoire de fin d'études

en vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière Sciences Biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

Le diagnostic précoce de gestation chez la vache

Présenté par :

Soutenu le : 07/07/2021.

Mlle OULD-MADI MERIEM.

Mlle BELHOUAS AMEL.

Devant le jury :

Président : GUEDIOURA. AM MCB USDB1

Examinatrice : BENMANSOUR. N MCB USDB1

Promotrice : CHEKIKENE. A.H MAA USDB1

Promotion : 2020/2021



Dédicace

*Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une joie immense, je dédie
ce modeste travail tout d'abord :*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et ma source de joie et de
bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te préserve et te procure
santé et longue vie, à mon père que j'adore : « **ALI** ».*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon
bonheur. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur
et vous procurer une longue vie, maman que j'adore :*

« HANNOU FATMA ».

*À ma chère sœur « **Karima** », aucune dédicace ne peut exprimer mon amour et ma
gratitude de t'avoir comme sœur, je ne pourrais jamais imaginer la vie sans toi, tu compte
énormément pour moi, je n'oublierais jamais ton encouragement et ton soutien le long de mes
études, je te souhaite beaucoup de succès, de prospérité et une vie pleine de joie et de bonheur.
À mes chers frères : **Mohamed, Amine, Salim, Billel et Madjid**. Que ce travail soit l'expression
de mon estime pour vous et que Dieu vous protège, vous accorde santé, succès et plein de
bonheur dans la vie.*

*À mon prince neveu « **Mohamed Amir** » que je l'adore et à tout la famille « **OULD MADI et
HANNOU** ».*

*À mes deux belles sœurs « **Zoulikha et Rabea** ». Que ce travail soit l'expression de mon amour
pour vous et que Dieu vous protège, vous accorde santé, succès et plein de bonheur dans la vie.*

*À tous mes précieuses amies : **Karima, Imen, Sofia, Roumaissa et Sara**.*

*Pour tous ces agréables et inoubliables moments passés ensemble, je vous souhaite
plein succès dans votre vie.*

*À mon cher binôme **Amel**, merci pour ton sérieux et tes efforts afin de finir ce modeste
travail, nous avons passé des agréables moments ensemble que je n'oublierai jamais.*

Je te souhaite que de bonheur, santé, beaucoup de succès dans ta vie.

Meriem



Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant est achevé ce modeste travail que je dédie :

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te préserve et te procure santé et longue vie, à mon père que j'adore : « **Mohamed** »*

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie ; maman que j'adore :

*« **Ben Rahma Nabila** »*

*Ames chères adorables sœurs : **Loubna et Sara** et très chers frères : **Saber, Ibrahim et Islem***

Quoique je dise, je ne saurais exprimer l'amour et la tendresse que j'ai pour vous. Je vous remercie, pour votre support et vos encouragements, et je vous dédie ce travail, pour tous les moments de joie et de taquinerie qu'on a pu partager ensemble.

*A ma grande mère « **Nakia** » que Dieu leur donne une longue vie*

*A toute la famille : « **BELHOUAS et BEN RAHEMA** »*

*A mes amies avec qui j'ai partagé des moments les plus agréables : **Fairouz, Saria, Aicha, Malek, Zineb, Sara.***

*A mon cher binôme **Meriem**, je te remercie énormément pour ton sérieux et ton courage durant cette année, on a eu de très beaux souvenirs*

AMEL



Remerciements

*Nous tenons avant à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et la patience et de vous avoir aidé à surmonter toutes les dures épreuves et les moments difficiles pour aboutir à ce travail. C'est avec un réel plaisir et un grand enthousiasme qu'on livre la rédaction de cette page qui constitue l'opportunité de nous accorder une réflexion sur une période de notre vie très riche en émotions.*

Nous remercions très vivement les membres du jury :

*On tient remercie tout d'abord à exprimer nos remerciements à notre promotrice Mme **CHEKIKENE AMINA HIND**, Maître assistante A, Département de Biotechnologies, Université Saad Dahleb, Blida 1, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour ces orientations, ses conseils.*

*Nous adressons également nos vifs et sincères remerciements à **Mr GUEUDIOURA ABDELMOUMEN**, Maître de conférences B à l'université de Blida 1, d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Mme **BENMANSOUR NABAHAT**, Maître de conférences B à l'université de Blida 1, d'avoir accepté d'examiner notre travail, on la remercie pour l'intérêt qu'elle a portée à ce mémoire.*

*Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à Dr **DJELLATA YAHIMI NADIA**, un sincère merci pour les conseils et pour toute l'aide apportée pour la réalisation de ce mémoire.*

On souhaite adresser à tous ceux et celles qui ont d'un apport petit ou grand, près ou loin à la réalisation de ce modeste travail, on leur exprime nos remerciements les plus sincères.

Table des matières

Introduction.....	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques.....	2
I.1. Rappels anatomiques	2
I.1.1. Anatomie du tractus génital de la vache	2
I.1.1.1. La vulve.....	2
I.1.1.2. Le vestibule	3
I.1.1.3. Le vagin.....	3
I.1.1.4. Le cervix ou le col de l'utérus	3
I.1.1.5. Les oviductes ou trompes de Fallope	3
I.1.1.6. Les ovaires.....	3
I.1.1.7. L'utérus	3
I.2. Physiologie de la gestation chez la vache	4
I.2.1. Le développement embryonnaire	4
I.2.1.1. La vie libre de l'œuf.....	4
I.2.1.2. L'implantation.....	5
I.2.2. Formation du placenta et des annexes fœtales.....	6
I.2.2.1. Formation du placenta	6
I.2.2.2. Formation des annexes fœtales	7
I.2.3. Rôle du placenta	8
I.2.4. La durée de la gestation	8
I.2.5. Les modifications morphologiques au cours de gestation.....	9
I.2.5.1. L'utérus	9
I.2.5.2. Le col utérin	9
I.2.5.3. Les ovaires.....	10
I.2.5.4. Les glandes mammaires	10
I.2.6. Signaux embryonnaires et reconnaissance maternelle de la gestation	10

Table des matières

I.2.6.1. Early Pregnancy Factor (EPF).....	10
I.2.6.2. Interféron tau bovin (IFN τ)	10
I.2.6.3. Hormone lactogène placentaire ou hormone chorionique somatomammotrope....	11
I.2.6.4. Les protéines associées à la gestation (PAGs)	11
I.2.7. Mortalité embryonnaire	11
I.3. Diagnostic de gestation	12
I.3.1. L'intérêt de diagnostic de gestation.....	12
I.3.2. Qualité d'une méthode de diagnostic précoce de gestation.....	12
I.3.3. Types de diagnostic de gestation	13
I.3.3.1. Diagnostic clinique.....	13
I.3.3.1.a. Signes clinique probable	13
I.3.3.1.b. Le non-retour de chaleur	13
I.3.3.1.c . La palpation transrectale	13
I.3.3.1.c.1. Palpation du chorio-allantoïdienne	14
I.3.3.1.c .2. Palpation de vésicule amniotique	15
I.3.3.1.c .3. Palpation des placentoms.....	15
I.3.3.1.c .4. Palpation de fœtus.....	15
I.3.3.1.c .5. Le principe.....	15
I.3.3.1.c .6. Avantages et inconvénients	15
I.3.3.1.d. Echographie	16
I.3.3.1.d .1. Principe de l'échographie	16
I.3.3.1.d .2. Types d'échographie.....	17
I.3.3.1.d .2.1. L'échographie de type A (amplitude).....	17
I.3.3.1.d .2.2. L'échographie de type B (brillance).....	17
I.3.3.1.d .2.3. Le mode TM (Temps mouvement)	17
I.3.3.1.d .2.4. L'effet Doppler.....	17
I.3.3.1.d .3. Avantages et inconvénients de l'échographie	18

Table des matières

I.3.3.1.d. 4. Examen échographique de l'utérus.....	18
I.3.3.1.d. 4.1. Examen échographique de l'utérus non gravide	18
I.3.3.1.d. 4.2. Examen échographique de l'utérus gravide	19
I.3.3.1.d. 4.3. Sexage fœtal	19
I.3.3.2. Diagnostic de laboratoire	20
I.3.3.2.1. L'early pregnancy factor (EPF)	20
I.3.3.2.2. Dosage de la progestérone	21
I.3.3.2.3. Le sulfate d'œstrone.....	21
I.3.3.2.4. Le dosage des protéines associées à la gestation	22
I.3.3.2.4.1. Le principe de dosage	22
I.3.3.2.4.1.1. Principe de dosage RIA.....	22
I.3.3.2.4.1.2. Principe de dosage ELISA	22
I.3.3.2.4.2. Avantages et inconvénients	23
I.3.3.2.5. Interféron tau.....	23
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	24
II.1. L'objectif de l'étude.....	24
II .2. La nature des données.....	24
II.3. Les critères d'inclusion et d'exclusion.....	24
II .3.1. Les critères d'inclusion.....	24
II .3.2. Les critères d'exclusion.....	25
II.4. Extraction et classification des données.....	25
II .5. Les trois méthodes utilisées dans cette étude.....	28
II .5.1. Palpation transrectale (palpation rectale manuelle)	28
II.5.1.1. Définition.....	28
II.5.1.2. Principe.....	28
II .5.2. Échographie (ultrasonographie).....	28
II.5.2.1. Définition.....	28
II .5.2.2. Principe.....	28
II .5.3. Le dosage de PAGs.....	29
II .5.3.1. Définition.....	29

Table des matières

II.5.3.2. Principe.....	29
II .5.3.2.1. Principe ELISA.....	29
II .5.3.2.1. a. Le principe du test ELISA d'IDEXX.....	30
II .6. Les critères de performances de chaque méthode.....	31
Chapitre III : Résultats et discussion.....	33
III.1. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (PTR).....	33
III.2. Résultats.....	33
III.3. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (USG).....	35
III.4. Résultats.....	36
III.5. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (le dosage de PAG).....	41
III.6. Résultats.....	41
Discussion générale.....	49
Conclusion et perspectives.....	51

Liste des figures

Figure 1 : Anatomie de l'appareil génital de la vache	2
Figure 2 : Voies génitales complètes non gestantes.....	4
Figure 3 : chronologie de développement embryonnaire.....	6
Figure 4 : Placentation et annexes extra-embryonnaires chez les bovins	8
Figure 5 : Concept de trente jours notez le sac amniotique et palpation.....	14
Figure 6 : Utérus non gravide hors période d'œstrus	18
Figure 7 : Utérus gravide (gestation de 34 jours).....	19
Figure 8 : Fœtus mâle Figure 9 : Fœtus femelle	20
Figure 10 : Schéma représentant la recherche et classification des données.	26
Figure 11 : Démarche méthodologique.....	27
Figure 12 : Principe d'ELISA « sandwich » du test d'IDEXX.....	31
Figure 13 : Image échographique de 30 jours (A) et 45 jours (B) de gestation chez des vaches Karan Fries	37
Figure 14 : Image échographique de l'embryon.....	40

Liste des tableaux

Tableau I : chronologie de développement de conceptus bovin.....	5
Tableau II : Durée de gestation chez la vache.....	9
Tableau III : Dates d'apparition des structures fœtales ou utérines lors de l'examen échographique chez la vache.....	16
Tableau IV : Dosage de la progestérone dans le sang	21
Tableau VI : Présentation de la nature des données.	24
Tableau V : Les étapes des dosages enzymatiques « ELISA ».....	30
Tableau VIII : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de la palpation transrectale selon les études suivantes (3 articles).	33
Tableau IX : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de l'échographie selon les études suivantes (5 articles).	36
Tableau X : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de dosage de PAG selon les études suivantes (12 articles).	41

Liste des abréviations

AC : Anti corps.

Ag *: Antigène marqué.

B : la concentration de l'antigène.

BO : la radioactivité du complexe Ag* - AC.

BPL : Hormone lactogène placentaire bovine.

boPAG : Bovine Pregnancy Associated Glycoprotein.

DPG : Diagnostic précoce de gestation.

DG : Diagnostic de gestation.

ECF : Facteur de conception précoce.

ELISA: Enzym Linked Immunosorbent Assay.

EPF: Early pregnancy factor.

IA: Insemination artificielle.

IFN τ : Interféron tau bovin.

KDa : Kilodalton (unité de masse atomique).

MHz : Mégahertz.

NC : Non cité.

ng : nanogramme.

n : le nombre des vaches.

P4 : Progestérone.

Pg : picogrammes.

PAGs : Pregnancy Associated Glycoprotein.

PGF2 α : Prostaglandine.

PSPB : Pregnancy Specific Protein B.

PTR : Palpation transrectale.

RIA : Radioimmunity Assay.

Se : Sensibilité.

Sp : Spécificité.

TM : Temps mouvement.

USG : Ultrasonographie.

VPN : Valeur prédictive négative.

VPP : Valeur prédictive positive.

Résumé

En Algérie, l'élevage bovin occupe une place importante dans l'économie nationale. L'augmentation du nombre de nouveau-nés par vache, par an, est l'objectif des éleveurs pour accélérer le rythme de la reproduction.

Le diagnostic précoce de la gestation est essentiel pour une gestion efficace des animaux gravides et la soumission précoce des animaux non gravides pour une reproduction ultérieure afin de réduire l'intervalle entre le vêlage et la conception.

Dans cette revue bibliographique, nous avons analysé les travaux des auteurs consacrés aux trois méthodes de diagnostic précoce de gestation (palpation transrectale, ultrasonographie, le dosage des protéines associées à la gestation) pour les comparer et déterminer par la suite la méthode la plus fiable, précoce et précise.

Les résultats rapportés par les auteurs ont montré que la palpation transrectale est une méthode de diagnostic de gestation simple, rapide et précise à partir de 42 j après l'insémination artificielle avec une sensibilité allant de 88 à 100% et une spécificité allant de 90 à 100% mais elle peut causer des mortalités embryonnaires. En plus, la palpation transrectale est tardive par rapport à l'échographie qui se réalise à partir de 30 j après l'insémination artificielle avec une sensibilité allant de 92 à 97% et une spécificité allant de 95 à 100% et aussi par rapport au dosage des protéines associées à la gestation qui donne des résultats fiables à partir de 28 j après l'insémination artificielle avec une sensibilité allant de 90 à 100% et une spécificité allant de 92 à 100%. En outre l'échographie donne des informations supplémentaires sur la viabilité embryonnaire.

A la fin de cette étude, nous avons pu conclure que le dosage des protéines associées à la gestation est la méthode la plus précoce par rapport aux autres afin de détecter les femelles gestantes, donc le dosage des protéines associées à la gestation suivie par une confirmation ultérieure ou simultanée de l'échographie constituent une bonne méthode pour le diagnostic précoce de gestation chez la vache.

Mots-clés : Diagnostic précoce de gestation, Vache, palpation transrectale, protéines associées à la gestation, ultrasonographie.

Summary

In Algeria, a cattle breeding occupies an important place in the national economy. Increasing the number of newborns per cow, per year, is the goal of breeders to speed up the rate of reproduction. Early diagnosis of gestation is essential for the effective management of pregnant animals and the early submission of non-pregnant animals for subsequent reproduction in order to reduce the interval between calving and conception.

In this bibliographic review, we analyzed the work of authors devoted to the three methods of early diagnosis of gestation (transrectal palpation, ultrasonography, the dosage of proteins associated with gestation) to compare them and subsequently determine the most reliable method, early and precise.

The results reported by the authors have shown that transrectal palpation is a simple, rapid and precise method of gestation diagnosis from 42 days after artificial insemination with a sensitivity ranging from 88 to 100% and a specificity ranging from 90 to 100 % but it can cause embryonic mortalities. In addition, the transrectal palpation is late compared to the ultrasound which is carried out from 30 days after artificial insemination with a sensitivity ranging from 92 to 97% and a specificity ranging from 95 to 100% and also compared to the dosage proteins associated with gestation which gives reliable results from 28 days after artificial insemination with a sensitivity ranging from 90 to 100% and a specificity ranging from 92 to 100%. In addition, ultrasound gives additional information on embryonic viability.

At the end of this study, we were able to conclude that the measurement of proteins associated with pregnancy is the earliest method compared to the others in order to detect pregnant females, therefore the measurement of proteins associated with gestation followed by a subsequent confirmation or simultaneous ultrasound are a good method for the early diagnosis of pregnancy in cows.

Keywords: Early pregnancy diagnosis, Cow, transrectal palpation, proteins associated with gestation, ultrasonography.

ملخص

تحتل تربية الماشية في الجزائر مكانة مهمة في الاقتصاد الوطني. زيادة عدد المواليد الجدد لكل بقرة ، في السنة ، هو هدف المربين لتسريع معدل التكاثر.

يعد التشخيص المبكر للحمل ضروريًا للإدارة الفعالة للحيوانات الحوامل والتقديم المبكر للحيوانات غير الحوامل للتكاثر اللاحق من أجل تقليل الفترة الفاصلة بين الولادة والحمل. في هذه المراجعة البيولوجية، قمنا بتحليل عمل المؤلفين المكرسين للطرق الثلاث للتشخيص المبكر للحمل (الجس عبر المستقيم ، التصوير بالموجات فوق الصوتية ، جرة البروتينات المرتبطة بالحمل) لمقارنتها ثم تحديد الطريقة الأكثر موثوقية، مبكرة ودقيقة.

أظهرت النتائج التي أبلغ عنها المؤلفون أن الجس عبر المستقيم هو طريقة بسيطة وسريعة ودقيقة لتشخيص الحمل من 42 يومًا بعد التلقيح الاصطناعي مع حساسية تتراوح من 88 إلى 100% وخصوصية تتراوح من 90 إلى 100% ولكن يمكن ذلك تسبب موت جنيني بالإضافة إلى ذلك، فإن الجس عبر المستقيم متأخر مقارنة بالموجات فوق الصوتية التي يتم إجراؤها من 30 يومًا بعد التلقيح الاصطناعي بحساسية تتراوح من 92 إلى 97% وخصوصية تتراوح من 95 إلى 100% وأيضًا مقارنة بجرعة البروتينات المرتبطة بالحمل التي تعطي نتائج موثوقة من 28 يومًا بعد التلقيح الصناعي بحساسية تتراوح من 90 إلى 100% وخصوصية تتراوح من 92 إلى 100% بالإضافة إلى ذلك، تعطي الموجات فوق الصوتية معلومات إضافية عن قابلية بقاء الجنين.

في نهاية هذه الدراسة استطعنا أن نستنتج أن قياس البروتينات المرتبطة بالحمل هو الطريقة الأولى مقارنة بالآخرين من أجل الكشف عن الإناث الحوامل ، وبالتالي قياس البروتينات المرتبطة بالحمل متبوعًا بتأكيد لاحق أو متزامن للموجات فوق الصوتية المتزامنة تعتبر طريقة جيدة للتشخيص المبكر للحمل عند الأبقار.

الكلمات المفتاحية: تشخيص الحمل المبكر ، بقرة ، جس عبر المستقيم ، بروتينات مرتبطة بالحمل ، تصوير بالموجات فوق الصوتية.

Introduction

Les impératifs économiques de l'élevage bovin obligent de plus en plus les éleveurs à optimiser le potentiel de production de leur troupeau moyennant notamment une réduction de l'intervalle entre vêlages. L'atteinte de cet objectif prioritaire suppose entre autres choses ; l'identification précoce des animaux non gestants. A ce titre et parmi d'autres, le diagnostic de gestation constitue une activité essentielle du praticien impliqué dans cette approche préventive de l'infécondité qu'est le suivi de reproduction (**Hanzen et Laurent, 1991**).

En effet, la réduction de la productivité en veau est évidente par rapport à un intervalle vêlage-vêlage de 12 mois, un intervalle de 14 mois correspond à une perte d'environ 0.16 veau par vache par an.

Un rapport du ministère de l'agriculture rapport qu'intervalle entre les vêlages est de 24 mois en Algérie, au lieu de 12 mois et le taux de réussite à la première IA est de l'ordre de 50 % pour le meilleur des inséminateurs algériens (**Moumene, 2002**).

De ce fait, le diagnostic précoce de gestation, demeurant jusqu'à présent mal exploité, constitue la clé de voûte de ce sérieux problème d'élevage.

L'objectif général de cette étude est de comparer trois méthodes de diagnostic précoce de gestation (palpation rectale manuelle, l'échographie, le dosage des protéines associées à la gestation).

Pour y parvenir, les objectifs spécifiques sont :

- Evaluer le diagnostic de gestation par l'utilisation de chacune des trois méthodes.
- Evaluer la sensibilité, la spécificité, la praticabilité et la précocité de chacune des trois méthodes.
- Choisir la meilleure méthode fiable, précoce et précise pour un diagnostic de gestation chez la vache.

Notre travail comprend deux parties :

Une première partie consacrée aux rappels bibliographiques relatifs à l'anatomie de l'appareil reproducteur et la physiologie de la gestation chez la vache puis nous présenterons les différentes méthodes de diagnostic de gestation en présentant leurs principes, avantages et inconvénients.

Une seconde partie sous forme d'une étude théorique basée sur l'analyse de quinze articles sur trois méthodes de DPG (PTR, l'échographie et le dosage de PAG).

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.1. Rappels anatomiques

I.1.1. Anatomie du tractus génital de la vache

L'appareil reproducteur femelle assure quatre fonctions : la gestation, la lactation, la parturition et la production des ovules.

Le tractus génital de la vache comprend :

- Deux ovaires ayant une double fonction : la synthèse des hormones femelles et l'élaboration des gamètes femelles.
- Des organes d'accouplement : la vulve, le vagin.
- Des voies génitales :
 - L'utérus (organe de gestation) qui est constitué par : le col utérin, le corps, les cornes.
 - Les oviductes (lieu de fécondation) qui sont constitués par : l'isthme, l'ampoule, le pavillon (**Whittier, 1993 ; Leborgne et Tangy, 2014 ; Michel, 2017**).

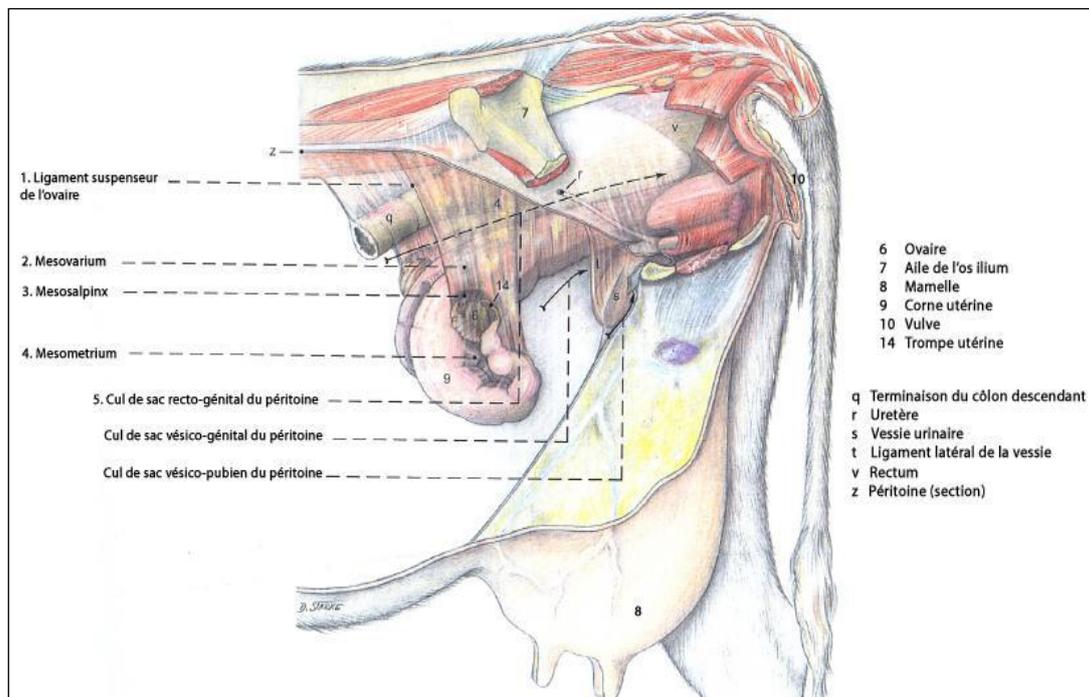


Figure 1 : Anatomie de l'appareil génital de la vache (**Julia et Taveau, 2013**).

I.1.1.1. La vulve

Est la partie extérieure du vagin permet l'entrée du pénis du taureau (ou du pistolet d'IA) lors de la saillie et l'expulsion du veau à la naissance. Chez la vache, elle est considérée également comme le point de sortie de l'urine du corps.

I.1.1.2. Le vestibule

Est la partie derrière l'ouverture urétrale et un passage commun pour les systèmes urinaires et reproducteurs.

I.1.1.3. Le vagin

Il s'étend antérieurement de la vulve au col de l'utérus, sa longueur varie selon l'animal s'il est gestant ou non, chez la vache, le sperme se dépose dans le vagin près du col de l'utérus lors de l'accouplement naturel avec le taureau.

I.1.1.4. Le cervix ou le col de l'utérus

Il forme une barrière entre l'utérus et le vagin, sa longueur varie de 2 à 3 cm chez la génisse à environ 10 cm chez la vache adulte. Pendant la gestation, le cervix est rempli d'une sécrétion de mucus épaisse connue sous le nom de bouchon cervicale qui protège l'utérus contre les infections entrant de vagin, il ramollit pour permettre le passage de spermatozoïdes à l'accouplement et l'expulsion du fœtus à la naissance.

I.1.1.5. Les oviductes ou trompes de Fallope

Les trompes de Fallope servent à transporter des ovules ou des œufs non fécondés à partir de l'ovaire à l'utérus et de poursuivre un cours alambiqué à travers une section du ligament large, le méso-salpinx, chaque oviducte mesure 20 à 30 cm de long, on peut distinguer 3 segments : le pavillon tubaire en forme d'entonnoir après l'ampoule (siège de fécondation) et enfin l'isthme.

I.1.1.6. Les ovaires

Les ovaires ou les gonades femelles sont responsables à deux fonctions principales : la production des ovules et la synthèse de deux hormones (œstrogènes, progestérone). La vache possède deux ovaires en forme de haricot qui sont situés dans la cavité abdominale et la taille des gonades varie selon l'âge de la femelle et la période du cycle de reproduction mais généralement d'environ 1,5 à 5 cm de longueur et de 1 à 3 cm de diamètre, selon le stade de la gestation.

I.1.1.7. L'utérus

L'utérus est un organe musculaire creux, chez la vache il est court et peu développé tandis que les cornes utérines sont relativement longues et bien développées. Ainsi, lorsqu'il est redressé, le tractus est en forme de Y, la taille de l'utérus dépend de facteurs tels que l'âge, la parité et la gestation ; mais le corps utérin mesure environ 5 cm de longueur et les cornes mesurent de 20 à 40 cm de longueur et 1,5 à 4 cm de diamètre extérieur. La paroi utérine varie de 3 à 10 mm d'épaisseur et se compose de trois couches : l'endomètre ; une couche musculaire, le myomètre ; et la couche externe « séreuse ». L'endomètre ou la muqueuse se compose principalement de

l'épithélium glandulaire et a environ 120 zones surélevées spécialisées connues sous le nom de « Caroncules » caractéristiques de l'utérus des ruminants et points de fixation du placenta pendant la gestation (Whittier, 1993 ; Ball et Peters, 2004).

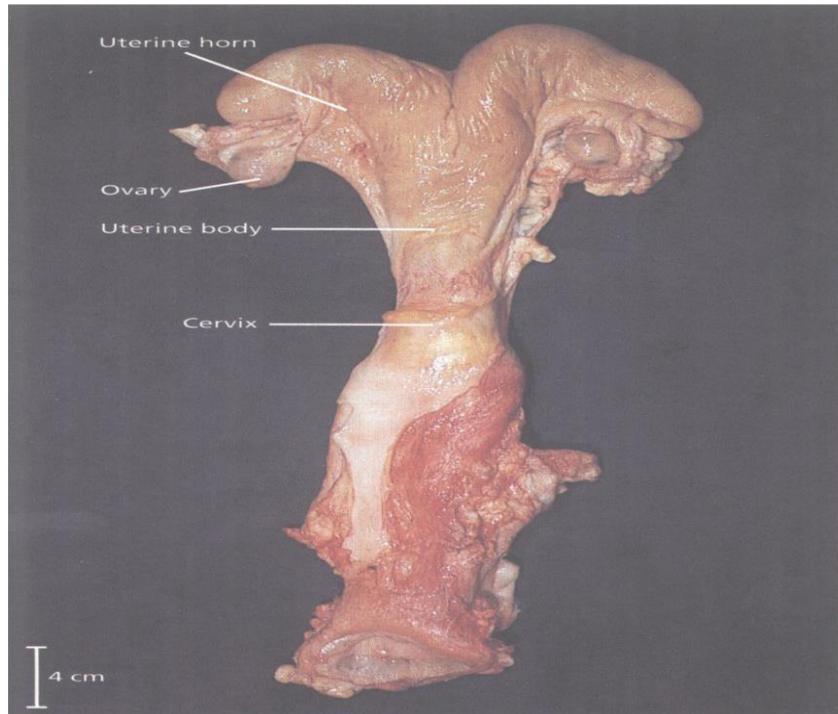


Figure 2 : Voies génitales complètes non gestantes (Sheldon et Noakes, 2002).

I.2. Physiologie de la gestation chez la vache

I.2.1. Le développement embryonnaire

La période embryonnaire est classiquement définie comme la période comprise entre la fécondation et la fin de l'organogenèse, soit le 42^e jour de gestation.

I.2.1.1. La vie libre de l'œuf

Après la fécondation, l'œuf commence immédiatement à se diviser par mitose, la division se poursuit de sorte qu'un amas solide de cellules ou de blastomères connu sous le nom de morula (forme de mûrier) se forme en cinq ou six jours. Vers le 6^{ème} jour après la fécondation, l'œuf commence à se dilater en blastocyste. Le blastocyste comprend une cavité centrale le blastocèle, entouré par une assise cellulaire appelée trophoctoderme ou trophoblaste, et par un petit groupe de cellules situé sous le trophoctoderme, la masse cellulaire interne ou disque embryonnaire.

La masse cellulaire est conçue pour former un embryon et les cellules trophoblastes lui fournissent des nutriments. Vers le huitième jour, la zone pellucide commence à se fragmenter et le blastocyste « éclot ». Ceci est ensuite suivi d'une période d'élongation du blastocyste.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

Le développement de la soi-disant couche germinale commence vers le quatorzième jour et caractérise le début de la période embryonnaire (Gayrard et al., 2003 ; Ball et Peters, 2004).

Tableau I : chronologie de développement de conceptus bovin (Gayrard et al., 2003).

Temps (en h) après le début des chaleurs	Jour	Localisation	Principaux évènements
0 h	J 0	Ovaire	Début des chaleurs
10 h (8-12h)	J0		Décharge de LH : insémination
30-32h	J1		Ovulation
33h 45h		Oviducte	Fécondation : -accolement des spermatozoïdes à la membrane de l'œuf-activation -Fusion de pronuclei
46-56h	J2		Stade 2 cellules
50-66h	J3		Stades 4 cellules
60-90h	J4	Utérus	Stade 8 cellules
90-125h	J5		Stade 16-32 cellules
120-145h	J6		Morula (30-64 cellules)
140-175h	J7		Jeune blastocyste
160-210h	J8-J9		Blastocyste
	J10		Blastocyste sorti de la zone pellucide
	J11		Début de l'élongation du blastocyste Constitution du disque embryonnaire (0.3 mm)
	J13		Longueur× largeur blastocyste : 10×1.5 mm
	J15		Longueur blastocyste : 20mm
	J16		50mm
	J17		150mm
	J18		400mm
	J30		1mm
	J30		Ébauche des villosités placentaires
	J33		Formation des cotylédons

I.2.1.2. L'implantation

L'interaction entre l'utérus et le trophoctoderme aboutit à la mise en place des structures placentaires ce processus définit l'implantation, elle assure efficacement la nutrition et la

protection des embryons. La réussite de l'implantation dépend d'une synchronisation précise entre le stade de développement du blastocyste et l'état de réceptivité endométriales au début du processus. Chez la vache l'implantation est tardive elle début le 19e jour après la mis à la reproduction (**Gayrard et al., 2003**). Elle comprend trois étapes : une longue période de pré-attachement qui dure 2 à 3 semaines pendant laquelle le concept s'allonge considérablement, une étape d'apposition où des contacts cellulaires sont établis entre le trophoblaste et l'épithélium utérin, et une étape d'adhésion qui termine le processus et donne un épithélium cellulaire au voisinage de la structure cellulaire dans le voisinage de l'embryon (**Guillomot, 1995**).

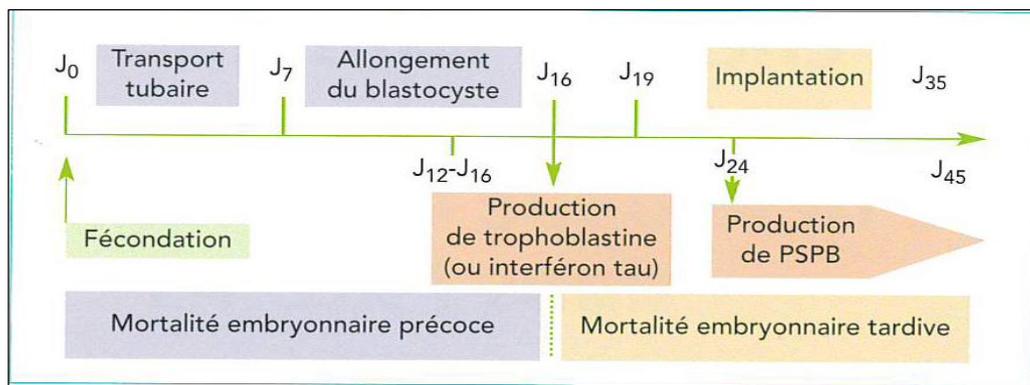


Figure 3 : chronologie de développement embryonnaire (**Gayrard et al., 2003**).

I.2.2. Formation du placenta et des annexes fœtales

I.2.2.1. Formation du placenta

Le placenta est un organe indépendant et transitoire, multifonctionnel nécessaire au développement embryonnaire chez les mammifères ; chez les bovins, le placenta sur la base de sa morphologie il est décrit comme " synepitheliochorial cotylédonaire " (**Wooding, 1992** ; **(Malassiné et al., 2000)**).

Il est formé après l'implantation du blastocyste à la muqueuse utérine et dérive d'interactions cellulaires et moléculaires complexes entre l'utérus et les tissus embryonnaires (**Chavatte-Palmer et Tarrade, 2016**).

D'après (**Ayad et al., 2006**) "chez les ruminants, l'enveloppe la plus externe du conceptus, le chorion, présent sur sa surface externe des microvillosités cotylédonaire qui s'engrènent dans des formations spécialisées de la muqueuse utérine pour donner naissance aux placentomes, véritables surfaces d'attache utéro-placentaire. Les espaces inter-cotylédonaire lisses forment le paraplacenta. L'ensemble des éléments, placentomes et para-placenta concourt à former le placenta dans son entièreté".

I.2.2.2. 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. L'ensemble des membranes et annexes fœtales associée à l'embryon est appelé conceptus, ces membranes et annexes sont formées avant la fin de l'implantation de l'embryon (**Barbry, 2012 ; Michel, 2017**).

- **L'amnios**

Il s'agit de l'enveloppe embryonnaire qui entoure le fœtus, l'amnios se forme à partir de deux replis du chorion (trophectoderme et mésoderme) qui se rejoignent en face dorsale de l'embryon à J32 de la gestation (**Taverne et Noakes, 2009**). Il protège le fœtus des chocs et de la déshydratation (**Perry, 1981**).

- **Le sac vitellin**

Le sac vitellin est Formé dès le début de l'implantation, il est transitoire. Il contient un réseau vasculaire relié à l'embryon (**Barbry, 2012**).

- **L'allantoïde**

Cette annexe embryonnaire se développe par évagination à partir des cellules de l'intestin primitif de l'embryon. Il s'étend entre l'amnios et le chorion. L'allantoïde forme un sac à paroi mince et transparente, uni à l'embryon à travers le cordon ombilical par le pédoncule allantoïdien. Il délimite la cavité allantoïdienne qui contient un liquide ambré de consistance aqueuse. Lors de sa croissance, l'allantoïde rencontre le chorion, ses deux enveloppes peuvent fusionner et donnent l'allanto-chorion. Il participera aussi à la formation du placenta (**Perry, 1981**).

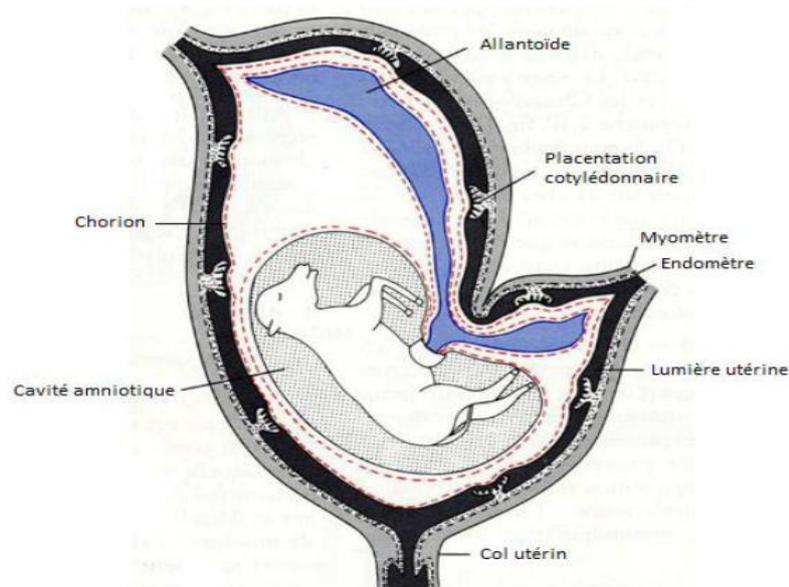


Figure 4 : Placentation et annexes extra-embryonnaires chez les bovins (**Barbry, 2012**).

I.2.3. Rôle du placenta

Le placenta c'est une barrière fœto-maternelle qui est responsable de plusieurs fonctions :

- La fonction endocrinienne implique le maintien de la gestation, l'adaptation de la mère à la gestation, la croissance et le développement du fœtus et le mécanisme de mise bas.
- Une fonction métabolique responsable de la grande majorité des échanges entre la mère et le fœtus, y compris ceux de l'eau, de l'oxygène et du dioxyde de carbone, ainsi que des nutriments pour le fœtus. C'est aussi un filtre sélectif qui empêche ou permet le transfert de certaines molécules (**Chavatte-Palmer et Tarrade, 2016**).

I.2.4. La durée de la gestation

La durée moyenne de la gestation est caractéristique de chaque espèce mais à l'intérieur d'une même espèce, on observe des variations entre races et individus. Il y a différents facteurs qui influencent la durée de gestation telle que la taille de la portée, l'âge de la femelle, le sexe du fœtus :

- Chez la vache la gestation est plus courte en cas de naissance gémellaire (de 3 à 6 jours chez la vache).
- La durée de gestation est plus courte chez les primipares, par exemple de 2 à 3 jours en moyenne chez la vache.
- Le sexe est sans influence chez les espèces polytociques, chez la vache la gestation est allongée de 2 à 3 jours avec les mâles (**Leborgne et Tanguy, 2014**).

Tableau II : Durée de gestation chez la vache (Leborgne et Tanguy, 2014).

	Durée moyenne	Variation possible (jours)
Vache	9 mois et 12 jours	279 à 295 (Moyenne pondérée : 286)
Jersiaise		279
Flamande		281
Prim'Holstein		282
Aubrac, Salers		285
Normande, Charolaise		287
Montbéliarde, Tarentaise, Rouge des près, Pathenaise		288
Abondance, Gasconne, Vosgienne		289
Bazadaise		290
Limousine, Simmental française		291
Blonde d'Aquitaine		295

I.2.5. Les modifications morphologiques au cours de gestation

I.2.5.1. L'utérus

L'utérus présente une série de changements de forme, de taille, de poids, de position, de relation et d'apparence. Chez les vaches où l'uniformité est pratiquement de règle, le développement plus important de la corne gravide rend l'utérus asymétrique à partir du deuxième mois de gestation, en particulier le troisième mois. La relation entre l'utérus et les organes abdominaux et la paroi abdominale change à mesure que la gestation se poursuit. Elle reste entre le côté droit du rumen et la paroi abdominale de la vache (Derivaux et Ectors, 1980).

I.2.5.2. Le col utérin

Après les modifications de l'utérus, le vagin s'allonge progressivement et le col de l'utérus finit par se situer en avant du bord antérieur du pubis. Le col de l'utérus est bloqué par un mucus très dense, qui est la sécrétion des glandes cervicales, il forme un bouchon muqueux qui se liquéfie lors de l'accouchement (Nyabinwa, 2009).

I.2.5.3. Les ovaires

L'ovaire ou les ovaires sont porteurs du corps jaune gestatif nécessaire au cours de première moitié de la gestation, il demeure au cours de la deuxième moitié chez la vache (**Derivaux et Ectors, 1980**).

I.2.5.4. Les glandes mammaires

Les mamelles s'hypertrophient progressivement avec le développement des canaux galactophores et des acini, et en fin de gestation, les tissus pelviens s'œdématisent et les ligaments sacro-sciatiques se ramollissent et s'affaissent pour donner lieu à ce qui est appelé « l'état croqué » (**Nyabinwa, 2009**).

I.2.6. Signaux embryonnaires et reconnaissance maternelle de la gestation

I.2.6.1. Early Pregnancy Factor (EPF)

De nature glycoprotéique, l'Early Pregnancy Factor (EPF) encore appelé early conception factor (ECP) détectable dans les 6 à 24 heures suivant la fécondation dans le sang de la plupart des espèces animales dont la vache et disparaissant entre 24 et 48 après le décès ou ablation de l'embryon, il est présent dans le sérum jusqu'à deux tiers de la gestation (**Nancararrow et al., 1981 ; Balhara et al., 2013**).

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**) (**Nancararrow et al., 1981 ; Morton et al., 1980**). Leur synthèse ovarienne est initiée par un petit peptide appelé zygotine (**Nyabinwa, 2009**), mais ce marqueur n'est pas spécifique de la gestation.

L'EPF est le facteur le plus précoce de la gestation. 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 (**Morton et al., 1984 ; Balhara et al., 2013**).

I.2.6.2. Interféron tau bovin (IFN τ)

L'interféron τ bovin (boIFN τ) est une des principales protéines sécrétées par le conceptus bovin 16 à 25 jours après la fécondation qui inhibe le développement du mécanisme lutéolytique. Il a été reconnu comme le principal agent de reconnaissance maternelle de la gestation chez les ruminants (**Barbry, 2012 ; Lonergan et al., 2016**).

L'IFN- τ a été identifié dans le liquide de lavage de la cavité utérine dès le 12^e jour de gestation chez la vache (**Humblot et al., 1984**). Cette molécule est synthétisée par des cellules mononucléées du trophoctoderme et exclusivement sécrétée dans la lymphe locale, où elle exerce

son effet anti-lutéolytique (**Roberts et al., 1992**). Malgré l'importance de l'IFN- τ dans l'établissement de la gestation chez la vache, cette protéine ne présente pas d'intérêt en tant que test diagnostique de gestation car aucune méthode ne permet de la détecter dans la circulation sanguine maternelle (**Ayad et al., 2006**).

I.2.6.3. Hormone lactogène placentaire ou hormone chorionique somatomammotrope

Au cours de la gestation, le placenta produit une hormone lactogène placentaire (PL) connue aussi sous le nom d'hormone chorionique somatomammotrope (CS).

Chez la vache en 1976, **Buttle et Forsyth** ont décrit pour la première fois l'existence d'une réponse lactogénique au niveau des cotylédons à des stades gestatifs divers. La purification et la caractérisation de l'hormone lactogène placentaire bovine (bPL) en tant que glycoprotéine ont été réalisées par plusieurs groupes de recherche (**Beckers et al., 1980 ; Murthy et al., 1982 ; Arima et Bremel, 1983**).

La glycoprotéine a plusieurs isoformes avec un poids moléculaire allant de 30 à 34 kDa et est sécrétée par les cellules binucléaires et trinucléaires du placenta (**Ayad et al., 2006**).

Le BPL agit sur le développement lobulo-alvéolaire de la mamelle. Elle stimule également le métabolisme glucidique, lipidique et protéique du fœtus. C'est une véritable hormone de croissance embryonnaire et fœtale (**Leborgne et Tanguy, 2014**).

I.2.6.4. Les protéines associées à la gestation (PAGs)

Les PAGs sont synthétisées par les cellules binucléées présentes dans les couches superficielles du trophoctoderme, et plus précisément dans les granules de ces cellules binucléées.

Les protéines spécifiques de la gestation (PSP) ou associée à la gestation (PAG) sont connues sous diverses appellations : pregnancy –specific protein B (PSPB), pregnancy-serum protein 60 KDa (PSP-60) et SBU-3 antigène (**Ayad et al., 2006 ; Carrière et al., 2012**).

Les PSPB et PAG se retrouvent dans la circulation maternelle pendant la gestation, ces protéines sont de bons indicateurs de la présence d'un embryon vivant (**Szenci, 2015**).

I.2.7. Mortalité embryonnaire

La mortalité embryonnaire correspond à l'interruption de la gestation durant la période embryonnaire (entre J0 et J45 chez les bovins) (**Calais et Dreno, 2004**). Elle peut être divisée en deux périodes : mortalité embryonnaire précoce qui se déroule avant la reconnaissance maternelle de la gestation qui a lieu vers le 15-17e jour de gestation et mortalité embryonnaire tardive qui a lieu entre le début de la reconnaissance maternelle et le 42e jour de gestation (**Descôteaux et al., 2009**).

De même, le diagnostic de mortalité embryonnaire tardive ne pourra être établi que sur la base d'un constat précoce de la gestation (progestérone, PSPB ; échographie) suivi d'un constat tardif de gestation négatif (**Badinand et al., 2000**).

Ces mortalités embryonnaires représentent une perte économique pour l'éleveur dans la mesure où elles sont à l'origine d'augmentations de l'intervalle vêlage-vêlage (**Calais et Dreno, 2004**).

I.3. Diagnostic de gestation

I.3.1. L'intérêt de diagnostic de gestation

Le diagnostic de gestation est une procédure très importante dans la gestion de la reproduction, le but de diagnostic de gestation en élevage n'est pas de détecter les animaux gravides mais plutôt les animaux non gravides afin qu'ils puissent être soit réinséminés soit réformés.

Un diagnostic précoce est un outil crucial pour :

- ✓ Mieux contrôler la reproduction d'un troupeau.
- ✓ Réduire le délai de ré-insémination des vaches non gravides ce qui est réduit par la suite l'intervalle vêlage-vêlage.
- ✓ Aider à la gestion économique du bétail : les avantages économiques de diagnostic précoce de gestation dépend de plusieurs facteurs tels que : le moment où le diagnostic est effectué, la précision de diagnostic, son effet sur la mortalité embryonnaire.
- ✓ Peut prévoir avec certitude de la date de la parturition (**De Vries et al., 2005 ; Youngquist et Threlfall, 2006 ; Bekele et al., 2016**).

I.3.2. Qualité d'une méthode de diagnostic précoce de gestation

Un test de gestation précoce idéal pour les vaches devrait suivre ces critères suivants :

- Haute sensibilité (c'est-à-dire identifier correctement les animaux gravides).
- Spécificité élevée (c'est-à-dire identification correcte des animaux non gravides).
- Peu coûteux à réaliser.
- Simple à réaliser dans des conditions de terrain.
- Possibilité de déterminer l'état de gestation au moment où le test est effectué (**Fricke et al., 2016**).

I.3.3. Types de diagnostic de gestation

I.3.3.1. Diagnostic clinique

I.3.3.1.a. Signes clinique probable

Il existe des signes visuels en fin de gestation y compris l'augmentation de la taille de l'abdomen, légères pertes vaginales (à partir de 4-5 mois et plus chez les vaches laitières), développement de la mamelle en particulier chez les génisses laitières (4mois et plus), et les mouvements des fœtus visibles de l'extérieur (en particulier chez les vaches nourries côté droit de l'abdomen à partir de 6 mois). Cependant, la précision de ces symptômes de diagnostic visuel est toujours basse, les cliniciens devraient les utiliser comme complément au diagnostic clinique (**Purohit, 2010**).

I.3.3.1.b. Le non-retour de chaleur

Traditionnellement, l'animal a été reconnu comme gestante s'il n'avait pas été vu en œstrus environ 21 jours après le service. En général, il s'agit de la première méthode utilisée par les éleveurs à différencier les animaux gravides et non gravides. Inversement, la précision de cette méthode visuelle est toujours faible et un clinicien doit l'utiliser comme complément au diagnostic clinique (**Patel et al., 2016**).

Signes cliniques de confirmation

Les signes cliniques de confirmation de la gestation sont détectés à l'aide de la palpation rectale et l'échographie.

I.3.3.1.c. La palpation transrectale

Cowie a décrit pour la première fois la palpation transrectale de l'utérus comme méthode de diagnostic de gestation chez les bovins, ce qui en fait la méthode la plus ancienne et la plus pratiquée pour le diagnostic précoce de la gestation et la plus largement utilisée à l'heure actuelle (**Balhara et al., 2013**). La palpation du système reproducteur à travers le rectum consiste à palper l'utérus à travers la paroi rectale et à examiner son contenu. Cette méthode est utilisée depuis plus de 100 ans et est une méthode courante pour juger la gestation. La première fois que la vessie fœtale peut être détectée est le 28^e jour après l'insémination chez les génisses ou le 32^e au 35^e jour chez les vaches multipares (**Singh, 2020**).

Pour un diagnostic positif de gestation chez la vache, un des quatre signes positifs de gestation doit être détecté c'est : 1) la palpation du chorio-allantoïdienne en utilisant la méthode du « glissement » de la membrane fœtale (FMS) ; 2) détection de la vésicule amniotique (VA) ; 3) palpation des placentomes ; et 4) palpation du fœtus lui-même (**Momont, 1990**).

La gestation entraînera divers degrés de modifications à différents niveaux :

- L'ovaire est porteur d'un corps jaune gestatif qui forme une saillie très nette à la surface de l'ovaire.
- Le sac amniotique est tendu, le volume des liquides fœtaux varie entre 80 et 300 cc.
- Cornes utérines asymétriques.
- La fluctuation de la come gestante.
- La perception des membranes fœtales (**Mumporeze, 2007**).

I.3.3.1.c.1. Palpation du chorio-allantoïdienne

Le glissement de la membrane peut être palpé systématiquement 30 à 32 jours après gestation et parfois dès 28 jours chez les génisses en la corne gravide et dans les deux cornes aux jours 50–60 de gestation. Après identification du col de l'utérus et rétraction de l'utérus, chaque corne peut être saisie doucement entre les doigts et le pouce est légèrement soulevé. Si gravide, une sensation d'éclatement peut être ressentie lorsque la membrane glisse la prise dans les parois utérines. À 32 jours de gestation ça donne l'impression d'un fil et au jour 45 une petite corde glissant des doigts dans la corne gravide. De jour 60, il est palpable dans les deux cornes comme une corde un peu plus grosse et au jour 75 approche de la sensation d'un morceau de fil glissant des doigts. Le glissement de la membrane est le plus souvent utilisé jusqu'au jour 90 de la gestation (**Christiansen, 2014**).



Figure 5 : Concept de trente jours notez le sac amniotique et Palpation (**Sheldon et Noakes, 2002**).

I.3.3.1.c .2. Palpation de vésicule amniotique

La vésicule amniotique est un sac très turgescent, rempli de liquide, qui entoure et protège l'embryon proprement dit au début de la gestation. Il peut être palpé comme un petit nœud ou une bosse dans la corne utérine d'environ 6 à 7 mm de diamètre à 32 à 35 jours (5 semaines) de gestation. À 6 semaines de gestation, il aura un diamètre de 1,5 cm et à 7 semaines, il aura un diamètre de 3,5 à 5 cm. Au bout de 8 semaines, la vésicule mesurera de 6 à 7 cm, perdra sa turgescence, permettant généralement la palpation du fœtus vers le 60e jour. Lorsque cela se produit, la vésicule elle-même deviendra plus difficile à identifier et ne sera généralement plus utilisée pour déterminer la gestation (**Christiansen, 2014**).

I.3.3.1.c .3. Palpation des placentoms

Les placentomes peuvent être détectés environ 75 jours à terme. La période de gestation (4 à 6,5 mois) lorsque l'utérus est descendu dans la cavité abdominale et que le fœtus n'est pas palpable, la palpation d'un placentome est l'indication la plus sûre que la vache est gravide. Il apparaît comme des bosses molles et épaissies dans la paroi utérine (**Khatti et al., 2017**).

I.3.3.1.c .4. Palpation de fœtus

À partir d'environ 65 jours de gestation, le sac amniotique perd sa turgescence. Il est donc possible de palper le fœtus directement ; cela ressemble plutôt à un petit morceau de liège ou de bois flottant dans un fluide (**Sheldon et Noakes, 2002**).

I.3.3.1.c .5. Le principe

Les organes génitaux se trouvent généralement sur le plancher pelvien pendant la gestation précoce sous le rectum et dans la cavité abdominale en fin de gestation. Les organes génitaux peuvent ainsi être palpés indirectement par placer la main dans le rectum évacué des selles. La croissance du conceptus dans l'un ou l'autre des cornes utérines entraîne une augmentation séquentielle de la taille, tension et caractéristiques palpables de l'utérus cornu (**Purohit, 2010**).

I.3.3.1.c .6. Avantages et inconvénients

Un certain nombre d'avantages importants soutiennent la PTR, il s'agit d'une méthode de diagnostic de gestation, relativement bon marché et ne nécessitant aucun équipement spécial, il demande moins de main-d'œuvre qu'autres méthodes et c'est une méthode rapide jusqu'à 100 têtes peut être contrôlée en une heure par un vétérinaire qualifié. Cependant les inconvénients de PTR est n'est pas adapté au diagnostic précoce rapide des gestations gémellaires, évaluation de la viabilité fœtale et du sexe et nécessite un vétérinaire expérimenté (**Jaśkowski et al., 2019**).

I.3.3.1.d. Echographie

L'échographie est devenue plus en plus pratique pour le diagnostic de la gestation chez les bovins car des machines portables, qu'elles sont précises et peuvent fournir une détermination immédiate de l'état de l'animal, ce qui facilite l'élevage et la gestion du bétail.

I.3.3.1.d .1. Principe de l'échographie

L'échographie est une technique d'imagerie employant des ultrasons qui sont produites par la stimulation électrique de cristaux (cristaux piézo-électriques) à l'intérieur du transducteur (sonde). Lorsque ces ondes rencontrent une interface entre des tissus de densité variable, une partie des ondes est réfléctée, tandis que le reste continue à se propager dans les tissus plus profonds. Les ondes réfléchées (échos) reviennent au transducteur ce qui induit un courant électrique : le signal échographique où l'intensité de chaque écho est enregistrée et affichée à l'écran sous la forme de différents degrés d'intensité. Les structures pleines de liquide apparaissent en noir (anéchoïques), les structures dures (comme les os) apparaissent en blanc (hyperéchogènes) et les autres structures de tissus mous de densité intermédiaire apparaissent en gris (hypoéchogènes). Le diagnostic de base de la gestation dépend sur l'identification des structures à partir de l'échelle noire, grise ou blanche (**Boin, 2001 ; Bharti et Jacob, 2019**).

En pratique, l'examen échographique permet de réaliser un diagnostic précoce de gestation à partir des 28 e– 30 e jours post insémination. Cet examen est fondé sur 3 critères principaux :

- La présence de liquide dans les cornes (sous forme de zones anéchoïques)
- La mise en évidence de l'embryon de quelques millimètres.
- L'examen de sa viabilité en visualisant ses battements cardiaques (**Julia et Taveau, 2013**).

Tableau III : Dates d'apparition des structures fœtales ou utérines lors de l'examen échographique chez la vache (**Cros, 2005**).

Structures	Age (jours)
Allantoïde	23.2+/- 0.3
Colonne vertébrale	29.1+/- 0.5
Membres antérieurs	29.1+/- 0.3
Amnios	29,5 +/- 0,5
Membres postérieurs	31,2 +/- 0,3
Placentomes	35,2 +/- 1
Globes oculaires	40,0 +/- 0,6
Fentes des sabots	44,6 +/- 0,7
Mouvements fœtaux	44,8 +/- 0,8
Côtes	52,8 +/- 0,5

I.3.3.1. d .2. Types d'échographie

Il existe trois modes d'échographie en médecine vétérinaire à savoir l'échographie de type A, l'échographie de type B et le mode TM.

I.3.3.1.d .2.1. L'échographie de type A (amplitude)

L'échographie de type A (amplitude) ou unidimensionnelle ou échoscopie émet un seul faisceau ultrasonore et explore une seule dimension, il traduit sur un écran l'intensité de l'écho retour par une amplitude en ordonnée et le délai d'émission-réception par une distance en abscisse. Bien que l'ultrasonographie unidimensionnelle puisse permettre un examen rapide (environ 100 femelles / heure), les risques élevés d'erreur ont conduit à son abandon au profit de l'échographie Mode-B (Sousa et al., 2004 ; Mumporeze, 2007).

I.3.3.1.d .2.2. L'échographie de type B (brillance)

Cette technique fait appel à une échographie fonctionnant en Mode-B (Brillance) en temps réel, appelé aussi échotomographie. L'image résulte de la juxtaposition de points lumineux : leur brillance est proportionnelle à la variation d'impédance acoustique entre les tissus.

Sur un écran, l'opérateur visualise les différentes couches traversées par les ultrasons et peut distinguer le (ou les) fœtus, les vésicules embryonnaires voire les embryons.

Cette technique permet de faire à la fois : le diagnostic de gestation, la détermination du nombre de fœtus et l'estimation de l'âge de gestation.

L'échographie en mode B peut se faire par deux voies: par voie transrectale (5 ou 7,5 MHz) ou trans-abdominale (sondes de 3 MHz, 3,5 ou 5 MHz) (Sousa et al., 2004).

I.3.3.1.d .2.3. Le mode TM (Temps mouvement)

Le mode TM permet de suivre le mouvement des structures mobiles selon la direction d'exploration, il utilise un seul transducteur, soit celui d'une monosonde, soit un des transducteurs d'une sonde d'appareil temps réel. Le mode échographique B ainsi obtenu dans l'axe du faisceau est visualisé en fonction du temps.

L'avantage du mode TM est qu'il permet de mieux apprécier les structures en mouvement et de calculer notamment des vitesses de déplacement (Boynard, 2006).

I.3.3.1.d .2.4. L'effet Doppler

L'écho Doppler est basé sur la détection d'ultrasons émis à partir d'une source fixe et réfléchi par tout obstacle mobile tel que le cœur ou le flux sanguin. Les battements cardiaques fœtaux, les mouvements fœtaux ou encore le flux de sang des artères placentaires sont ainsi détectés. Cet

examen peut se faire par voie trans-abdominale ou par voie transrectale. Pour des explorations rectales, une sonde métallique sert de support rigide au transducteur. Parmi les facteurs susceptibles d'influencer la précision d'un diagnostic par examen écho Doppler, nous pouvons citer le stade de gestation auquel l'examen est pratiqué, la position de l'animal et l'habileté de l'opérateur à détecter les modifications sonores caractéristiques (Sousa et al., 2004).

I.3.3.1.d .3. Avantages et inconvénients de l'échographie

La détection de la gestation par échographie offre un avantage par rapport à la palpation rectale car elle permet de détecter l'existence initiale de l'embryon avec plus de précision. Dans cette méthode, la gestation est déterminée par l'imagerie du liquide amniotique, du placentome et du fœtus.

Les vétérinaires formés peuvent également déterminer l'âge et le nombre du fœtus avec précision en utilisant l'échographie transrectale entre 25 et 90 jours de gestation. L'échographie est un procédé peu invasif, efficace et précis pour analyser la gestation et réduit également la fréquence des avortements dus à la palpation. Par rapport aux autres méthodes, elle est une méthode plus coûteuse et causer un risque que le transducteur endommage le rectum (Balhara et al., 2013).

I.3.3.1.d. 4. Examen échographique de l'utérus

I.3.3.1.d. 4.1. Examen échographique de l'utérus non gravide

L'examen échographique de l'utérus offre aux praticiens une des méthodes diagnostiques les plus précise, rapides et peu invasives pour évaluer l'état de l'utérus ; les variations cycliques de taux sanguins d'œstrogènes et de progestérone sont responsables des modifications de l'aspect échographique de l'utérus au cours du cycle œstral par exemple pendant la période péri-ovulatoire, la lumière utérine apparaît anéchogène en raison de l'accumulation de mucus.

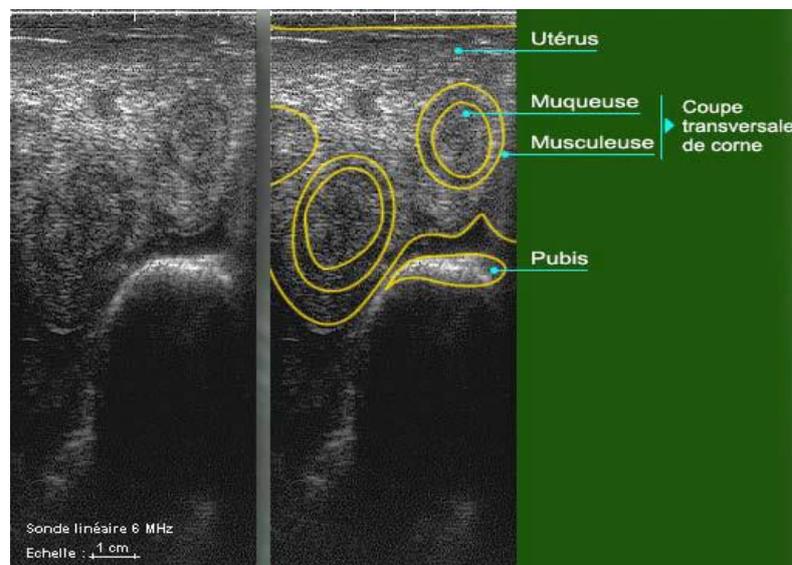


Figure 6 : Utérus non gravide hors période d'œstrus (Calais et Dreno, 2004).

I.3.3.1.d. 4.2. Examen échographique de l'utérus gravide

Le diagnostic précoce de gestation des vaches par échographie c'est une méthode rapide, importante et rentable afin d'améliorer les performances reproductrices du troupeau. Le diagnostic échographique de la gestation chez la vache peut s'effectuer avec une excellente Précision au-delà des 26 jours après l'insémination si l'opérateur est expérimenté. Un diagnostic positif de gestation peut être sans visualisation de l'embryon à l'échographie. Cela se fait par l'identification du liquide allantoïque, des membranes fœtales et des placentomes.

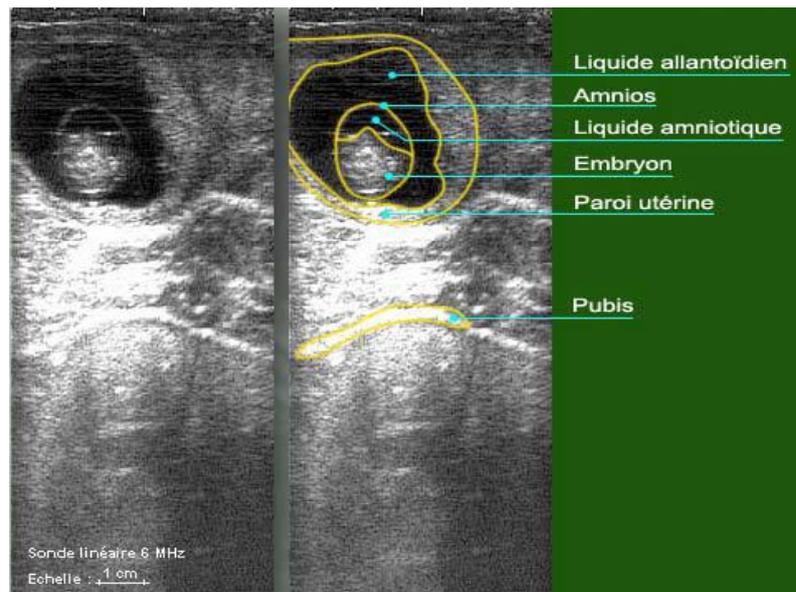


Figure 7: Utérus gravide (gestation de 34 jours) (Calais et Dreno, 2004).

I.3.3.1.d. 4.3. Sexage fœtal

L'échographie transrectale est un outil pour identifier le sexe du fœtus en évaluant l'emplacement du tubercule génital (l'origine du pénis et du clitoris). Elle peut être utilisée pour déterminer avec précision le sexe du fœtus à partir du jour 55-60 après l'ovulation. Le tubercule génital chez le mâle et chez la femelle est une structure hautement échogénique et apparaît comme une structure bilobée dont l'échogénicité ressemble à celui du tissu osseux. La position relative de celui-ci par rapport à l'ombilic et à la queue du fœtus détermine le diagnostic de sexage fœtal. Le tubercule génital atteint sa position finale caudalement à l'ombilic chez le fœtus mâle alors que chez la femelle, il terminera sa course sous la queue.

L'identification précise du sexe du fœtus peut être utile pour les programmes de gestion des troupeaux laitiers (Buczinski et DesCôteaux, 2009 ; Palgrave, 2012).

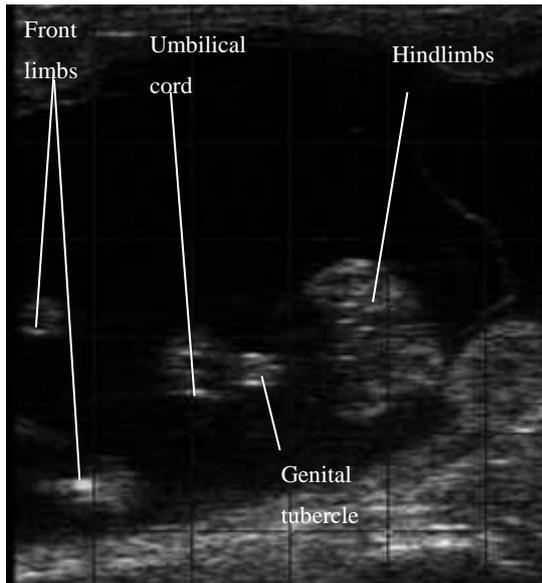


Figure 8 : Fœtus mâle (Palgrave, 2012).

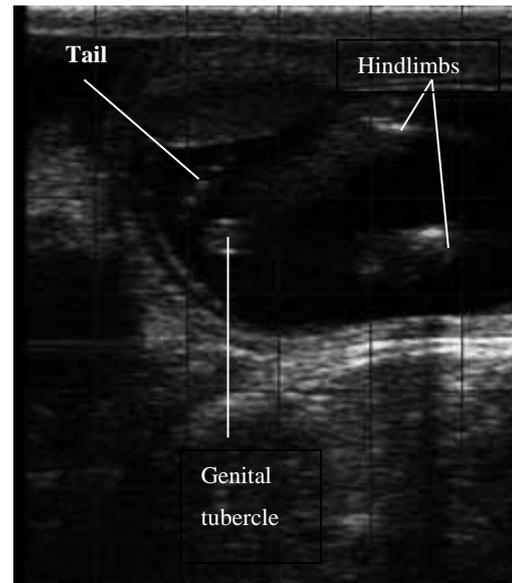


Figure 9 : Fœtus femelle (Palgrave, 2012).

I.3.3.2. Diagnostic de laboratoire

I.3.3.2.1. L'early pregnancy factor (EPF)

Test de gestation chimique, appelé facteur de grossesse précoce (EPF) ou facteur de conception précoce (ECF) a été proposé et commercialisé pour la première fois dans les années 1990 (Lucy et al., 2011). Le facteur de gestation précoce (EPF) est une protéine immunosuppressive associée à la gestation. Il a été détecté dans le sérum des femelles gestantes grâce au test d'inhibition de la rosette (TIR). Il est détecté par sa capacité immunosuppressive. Lorsque les lymphocytes sont traités avec des globules rouges allogéniques, des rosettes se forment, mais lorsque les lymphocytes sont traités avec du sérum anti-lymphocytaire, la formation de ces rosettes est inhibée. Lorsque les lymphocytes sont prétraités avec du sérum contenant de l'EPF, la formation de cette rosette est fortement inhibée, réduisant ainsi la quantité de sérum anti-lymphocytaire, conduisant au même effet inhibiteur.

La présence d'EPF dans le sérum fournit le premier signe de fécondation. Chez la vache se produire 24-48 heures après la fécondation et leur concentration doit être d'au moins 100 pg / ml pour la détection par test d'inhibition de la rosette. L'EPF Utilisé pour la détection précoce de la gestation ou de la mortalité embryonnaire précoce (Bharti et Jacob, 2019). Les propriétés rapportées et extraordinaires de l'EPF inclure : apparition précoce (en quelques heures) après l'accouplement ou insémination, disparition rapide suite à une mort provoquée ou prélèvement des embryons (Szenci, 2015).

1.3.3.2.2. Dosage de la progestérone

La progestérone c'est l'hormone responsable au maintien de gestation, détection de la gestation par analyse du plasma ou du lait pour la teneur en progestérone repose sur la baisse de concentration au moment du prochain œstrus attendu si la conception ne le fait pas survenir après l'insémination. Une faible concentration de progestérone suggère que la lutéolyse a s'est produite (non gravides) et une teneur élevée suggère qu'un maintien lutéal réponde aux stimuli du conceptus. La concentration de progestérone n'est pas un prédicteur aussi fiable de la gestation, car la durée de vie lutéale peut varier et les échantillons peuvent être prélevés trop tôt ou trop tard par rapport à la lutéolyse chez les animaux non gravides, mort embryonnaire précoce après le prélèvement de l'échantillon et avant l'examen rectal à environ 50 jours après l'insémination contribué également jusqu'à 8% d'erreur dans le test. Le temps optimal est à 23,24 ou 25 jours pour la vache pour le dosage de progestérone et la mesure de concentration de P4 se fait par la méthode immunologique (un radioimmunoessai (RIA) ou immunoessais enzymatiques ELISA) (Sasser et Ruder, 1987 ; Bharti et Jacob, 2019).

Tableau IV : Dosage de la progestérone dans le sang (Laribi et Djeriou, 2006).

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

1.3.3.2.3. Le sulfate d'œstrone

Le sulfate d'œstrone est quantitativement l'un des principaux œstrogènes et aussi un produit stéroïde conjugué de l'œstrone, produit par le conceptus et peut être mesuré dans le plasma maternel, le lait, l'urine ou les matières fécales chez toutes les espèces agricoles, détectable dans le plasma plus tôt chez la vache (jour 72). Le sulfate d'œstrone est un marqueur spécifique de la gestation. Il produit par conceptus peut être détecté par RIA ou ELISA combiné avec la chromatographie sur couche mince. Pour la détermination de la gestation 90-95% des faux positifs peuvent survenir avec des échantillons de sérum hémolysés. Un faux négatif peut survenir si les échantillons sont prélevés avant 50 jours de gestation. L'identification du sulfate d'œstrone dans le lait d'une vache à 105 jours de gestation ou plus tard est une méthode très fiable mais tardive pour le diagnostic de la gestation (Sheldon et Noakes, 2002 ; Bharti et Jacob, 2019).

I.3.3.2.4. Le dosage des protéines associées à la gestation

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. 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. Le dosage de PAG n'exige pas la connaissance de la date de saillie ou d'insémination. Il peut être réalisé à partir d'échantillon sanguin dès le 30^e jours ou à partir de prélèvement de lait.

Ce mode de diagnostic connaît un grand développement pour la facilitation de sa mise en œuvre et son exactitude. Leur concentration est généralement inférieure à 1 ng / ml avant le 30^e jour de la gestation et atteint plusieurs centaines de ng / ml au moment de mise bas (4ng / ml à la 6^e semaine, 159 ng à la 35^e semaine et 2000 ng à la 1-5 premières jours). Compte tenu de sa demi-vie extrêmement longue (7 jours), surtout lorsque la gestation est terminée, le délai d'attente de 100 jours après le vêlage doit être respecté pour éviter les cas d'animaux faux positifs (**Hanzen, 2008 ; Leborgne et Tanguy, 2014**).

I.3.3.2.4.1. Le principe de dosage

I.3.3.2.4.1.1. Principe de dosage RIA

Détermination de la concentration de PAGs en plasma s'effectue grâce au principe de compétition entre un antigène marqué (Ag*) par un élément radioactif (généralement l'iode 125) et un antigène froid (c'est-à-dire non marqué) pour les anticorps spécifiques (AC).

- Réaction 1 : liaison entre des antigènes radioactifs (Ag*) et les anticorps (Ac).
- Réaction 2 : remplacement Ag * par un antigène froid (Ag°).

Le nombre d'antigènes marqués (Ag *) et d'anticorps reste constant, toute addition d'antigènes non marqué entraîne un déplacement des antigènes déjà fixé aux anticorps et ce déplacement est proportionnel à la quantité connue d'antigènes non marqués introduite dans le milieu d'incubation. La mesure de la radioactivité du complexe Ac-Ag" (en coup/minute) s'effectue ensuite grâce à un compteur gamma et les concentrations sont déterminées à l'aide d'une courbe standard préalablement établie. Cette courbe de référence exprime la proportion (B /Bo) Ag* dans des quantités connues de sérum ou de milieux biologiques connus (**Guillaume, 2002**).

I.3.3.2.4.1.2. Principe de dosage ELISA

Le dosage ELISA des PAGs est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe de la réaction en sandwich en deux étapes pour la détection de ces molécules dans le sérum ou le plasma

des ruminants. La première étape consiste à fixer les molécules des PAGs sur des protéines porteuses suivie par deuxième étape qui consiste à former des liaisons entre les molécules PAG et substrat approprié. La formation du complexe PAGs-Substrat se matérialise par un changement de coloration (Virage de la coloration du bleu au jaune-orange) du milieu réactionnel, la détermination de la concentration plasmatique ou sérique en PAGs par la lecture de la densité optique (DO) grâce à une courbe standard (**Guillaume, 2002**).

I.3.3.2.4.2. Avantages et inconvénients

L'avantage des PAG est que, compte tenu de leur lieu d'origine, il peut prouver l'existence de tissus embryonnaires vivants, ce qui est un indicateur plus précis du bon déroulement de la gestation. Leurs détections ne nécessitent que des tests sanguins et fournissent au cours des 30 premiers jours de gestation, sa précision est meilleure que l'échographie. D'autre part, les techniques de détection passent par la radio-immunologie, ce qui est coûteux, Il existe un risque de la radioactivité et demande un délai avant d'obtenir les résultats. Il intéressant de développer une méthode de détection de type ELISA, sous forme de kit, pour s'adapter aux conditions de terrain et au budget des éleveurs (**Silva, 2012**).

I.3.3.2.5. Interféron tau

L'interféron tau est une protéine spécifique à la gestation. Chez les bovins, il a été rapporté que ce gène est exprimé le 12ème jour après l'insémination dans le trophoctoderme. Au fur et à mesure qu'il avance vers les 15 -16 ème jours, son niveau a été trouvé élevé. Dans les premiers jours, la protéine régule également les neutrophiles et les lymphocytes donc Ces rapports renforcent fortement l'hypothèse de l'interféron tau comme biomarqueur de gestation chez les bovins.

L'interféron tau prévient la lyse du corps jaune qui sécrète la progestérone, cette dernière est obligatoire pour préparer l'utérus au conceptus et maintenir la gestation. IFN τ travaille sur le mécanisme de la paracrine pour bloquer la prostaglandine utérine PGF2 α qui favorise la lutéolyse. Ainsi, P4 et IFN τ se coordonnent dans l'établissement de la gestation et l'expression génique au début de la gestation dans l'endomètre utérin chez les ruminants (**Kaur et al., 2019**).

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. L'objectif de l'étude

En raison des conditions actuelles dues à la pandémie de COVID 19, nous avons réalisé notre étude de manière théorique sous forme d'une analyse systématique de 15 articles pour comparer entre les trois méthodes les plus utilisés de diagnostic précoce de gestation chez la vache (PTR, dosage de PAG et ultrasonographie) par rapport à l'évaluation de chaque méthode selon les critères suivants : la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative.

II .2. La nature des données

La recherche en ligne nécessite des moteurs de recherche scientifique et des mots clés. Le tableau suivant présente la nature des données de notre documentation scientifique :

Tableau V : Présentation de la nature des données.

	Nature des données
Les moteurs de recherche	PubMed
	Google scholar
	ResearchGate
	Springer
Les mots clés	Early pregnancy diagnosis, cows, PAG, rectal palpation, ultrasound, cattle, diagnostic précoce de gestation.
La langue	Anglais, français.
L'année de publication	2010-2021.
Nombre d'articles	Total : 70 articles
	Éliminés : 55 articles.
	Inclus : 15 articles.

II.3. Les critères d'inclusion et d'exclusion

Nous avons traité dans notre étude trois méthodes de diagnostic précoce de gestation chez la vache, pour atteindre cet objectif nous avons restreint le choix des articles selon les critères suivants.

II .3.1. Les critères d'inclusion

✚ Etudes sur l'intérêt de diagnostic précoce de gestation.

- ✚ Etudes faites sur la vache.
- ✚ Evaluation de trois méthodes les plus utilisées de DPG (palpation transrectale, le dosage des glycoprotéines associées à la gestation "PAG", échographie).
- ✚ Evaluation des quatre critères de performances de chaque méthode : la sensibilité, la spécificité ; le degré d'exactitude des diagnostics de gestation et non-gestation.

II .3.2. Les critères d'exclusion

- ✚ Etudes de diagnostic tardif de gestation.
- ✚ Etudes sur d'autres animaux (la chèvre ; la brebis ...etc).
- ✚ Etudes sur d'autres méthodes (la progestérone, les œstrogènes ; early pregnancy factor (EPF)...etc.

II.4. Extraction et classification des données

Afin de pouvoir clarifier et organiser le travail, nous avons classé les articles selon quelques critères : la précocité, l'exactitude, la praticabilité (**voir figure 10**).

- **La précocité :**

Elle est caractérisée par le délai qui s'écoule entre l'insémination ou la saillie et le diagnostic, l'intérêt principal du diagnostic est alors de rapprocher d'une probabilité maximum de mise bas, éventuellement au déterminer de la précocité du diagnostic.

- **L'exactitude :**

L'exactitude d'une méthode mesure la validité de l'information fournie ; un diagnostic est exact si le résultat annoncé est effectivement réalisé :

- Dans le cas d'un diagnostic de gestation, le diagnostic est exact si, lorsqu'il est positif (DG+), il est suivi d'une mise bas.
- Dans le cas d'un diagnostic de non-gestation, le diagnostic est exact si, lorsqu'il est négatif (DG-), il n'est pas suivi d'une mise bas.

- **La praticabilité :**

Elle caractérise la plus ou moins grande facilité de mise en œuvre de la méthode. Elle est en particulier fonction de la nécessité (ou non) de recourir à des personnels qualifiés ou à des laboratoires spécialisés, de la simplicité de mise en œuvre et de la fragilité des appareils utilisés, de l'obligation de réaliser une contention rigoureuse des animaux, enfin du coût par animal (**Leborgne et Tangy, 2014**).

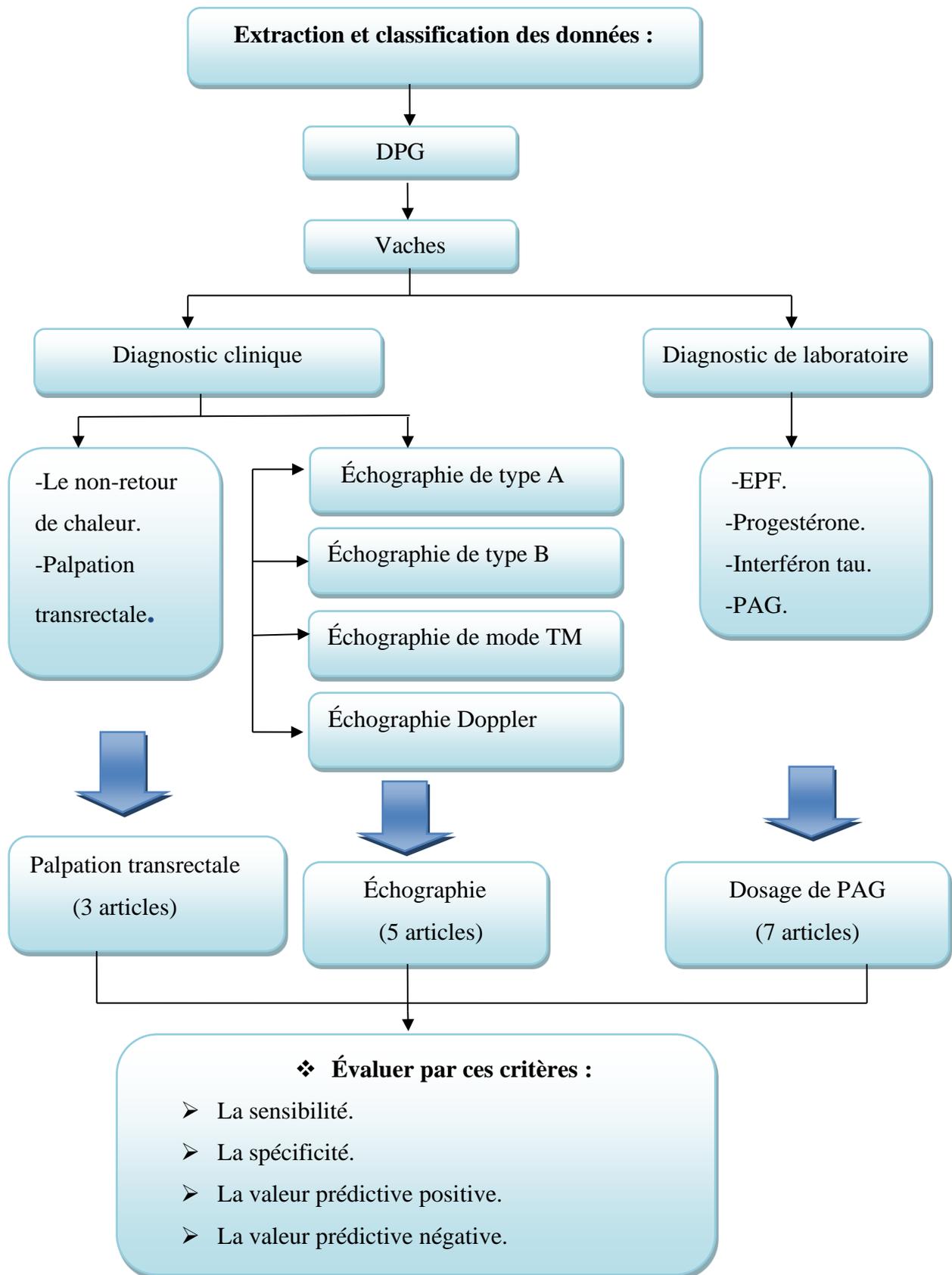
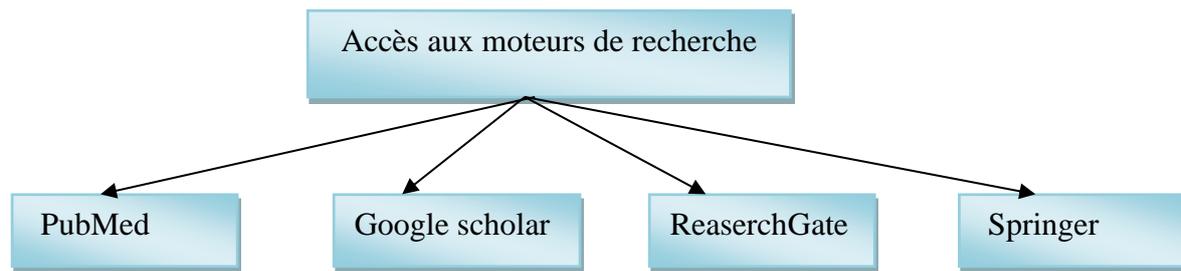
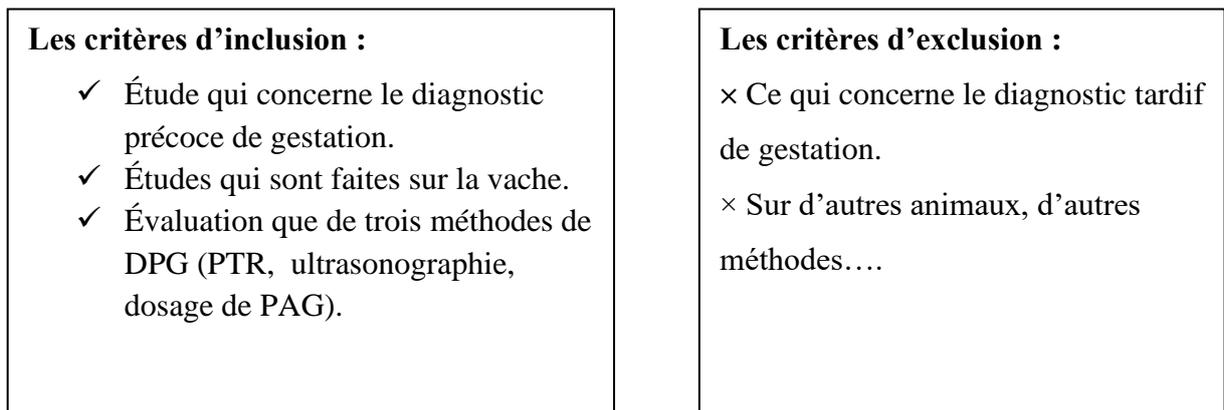


Figure 10 : Schéma représentant la recherche et classification des données.



Mots clés utilisés : Early pregnancy diagnosis, cows, PAG, rectal palpation, ultrasound, cattle, diagnostic précoce de gestation.

70 articles



15 articles inclus

PTR, ultrasonographie, dosage de PAG.

Classement des articles

Classement basé sur : la précocité, l'exactitude, la praticabilité.

Figure 11 : Démarche méthodologique.

II.5. Les trois méthodes utilisées dans cette étude

II.5.1. Palpation transrectale (palpation rectale manuelle)

II.5.1.1. Définition

La palpation transrectale est la méthode la plus courante et la plus ancienne, elle est considérée comme une méthode sûre et précise pour le diagnostic de gestation chez les vaches entre le 30^e jour et le 35^e jour de la gestation jusqu'à terme. Le diagnostic est possible quelques jours plus tôt chez les génisses. Un diagnostic de non-gestation ne doit jamais être posé tant que l'utérus n'a pas été rétracté et palpé soigneusement sur toute sa longueur (**Momont, 1990**).

II.5.1.2. Principe

La palpation transrectale repose sur la mise en évidence des modifications anatomiques de l'appareil génital et le diagnostic est basé sur l'observation des signes spécifiques de la gestation. La palpation de l'un des quatre critères suivants permet de poser avec certitude le constat de gestation.

- Le glissement des membranes.
- Les vésicules amniotique et allantoïdienne.
- Les placentomes.
- Le fœtus (**Descôteaux et Vaillancourt, 2012**).

II.5.2. Échographie (ultrasonographie)

II.5.2.1. Définition

Dans la pratique bovine, l'échographie est devenue un outil de diagnostic important pour évaluer le système reproducteur féminin. Grâce à la technologie des ultrasons, il est possible de visualiser l'ensemble du système reproducteur de manière non invasive (**Carrière et al., 2002**).

II.5.2.2. Principe

L'utilisateur doit maîtriser les principes physiques de l'échographie afin d'effectuer un examen valable avec l'instrument. La qualité des images dépend avant tout de la compréhension par l'utilisateur des interactions entre l'onde ultrasonore (**DesCôteaux et al., 2005**).

La sonde linéaire rectale de 5 MHz est la plus couramment utilisée pour l'examen reproducteur des bovins. Certains vétérinaires préfèrent des sondes avec des fréquences plus élevées (de 7.5 MHz à 10 MHz), particulièrement lors de l'examen des ovaires et pour le diagnostic très précoce

de la gestation. Les sondes sectorielles sont utilisables, mais maintenant plus délicats (**Buczinski et DesCôteaux, 2009**).

Après l'évacuation de rectum et la localisation des cornes par palpation, la sonde est introduite dans le rectum. Celle-ci est posée sur la muqueuse du plancher du rectum. La progression de la sonde dans l'ampoule permet de visualiser les organes sous-jacents. On visualise tout d'abord la vessie, puis le col et le corps utérin en maintenant la sonde horizontale. En inclinant la sonde d'un côté, puis de l'autre, les cornes utérines sont successivement mises en évidence.

Elles sont alors coupées longitudinalement par le faisceau d'ultrasons qui balaye toute la longueur des deux cornes utérines.

Les éléments caractéristiques de la gestation recherchés sont :

- La présence d'un liquide utérin aqueux (zone complètement anéchogène) correspondant aux liquides allantoidien et/ou amniotique.
- Un conceptus (échogène) correspondant à l'embryon ou au fœtus.
- Les enveloppes placentaires (échogènes).
- Les placentomes (échogènes) (**Chastant-Maillard et al., 2002**).

II.5.3. Le dosage de PAGs

II.5.3.1. Définition

Les glycoprotéines associées à la gestation (par exemple bPSPB, bPAG-1) sont produites par les cellules trophoblastes du placenta du ruminant, et comme ces molécules sont spécifiques du tissu placentaire, leur présence dans la circulation maternelle indique une gestation (**Fodor et Ózsvári, 2018**).

II.5.3.2. Principe

Récemment, de nombreuses études faites sur le dosage de protéines associées à la gestation pour le DPG, les chercheurs ont utilisée la technique ELISA et plus largement utilisé le test commercial ELISA IDEXX, donc nous allons ici détailler les étapes de principe d'ELISA en sandwich puis le principe de test d'IDEXX.

II.5.3.2.1. Principe ELISA

Les étapes de la méthode immuno-enzymatique ELISA sont résumées dans le tableau suivant : chaque étape est précédée de lavages qui éliminent les molécules non fixées.

Tableau VI : Les étapes des dosages enzymatiques « ELISA » (Molecular devices, 2021).

Étape 1	L'anticorps de capture se fixe aux puits	Tout d'abord, l'anticorps de capture se lie au fond du puits de la microplaque
Étape 2	Ajouter un échantillon	L'échantillon est ajouté au puits, et l'antigène présent dans l'échantillon se lie à l'anticorps de capture
Étape 3	Ajouter un anticorps de détection	L'anticorps de détection conjugué à une enzyme se lie à un second site sur l'antigène d'intérêt, ce qui permet de détecter l'antigène
Étape 3	Ajouter un substrat	Le substrat est converti par l'enzyme sur l'anticorps de détection, entraînant un changement de couleur, avec une intensité proportionnelle à la quantité d'antigène présente
Étape 4	Lire la microplaque	Le lecteur de microplaques détecte le produit réactionnel coloré et indique les valeurs de densité optique (D.O.) qui reflètent la quantité de lumière absorbée par les contenus de chaque puits

II.5.3.2.1. a. Le principe du test ELISA d'IDEXX

- 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 immun-absorbant permet de capter les boPAG's de la solution testée.
- L'échantillon contenant l'antigène (boPAG's) est appliqué à la plaque, il y a formation d'un immuno-complexe.
- La plaque est rincée, de façon à éliminer l'antigène non-lié.

- Les anticorps de détection (anti-boPAG polyclonaux) sont ajoutés.
- La plaque est rincée une seconde fois.
- L'enzyme couplée reconnaissant la fraction Fc des anticorps polyclonaux est ajoutée, il s'agit du conjugué.
- La plaque est rincée une troisième fois.
- Le substrat convertible par l'enzyme en signal fluorescent est ajouté, ce substrat est du Tétraméthyle Benzidine soit TMB.
- 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 (**Barbry, 2012**).

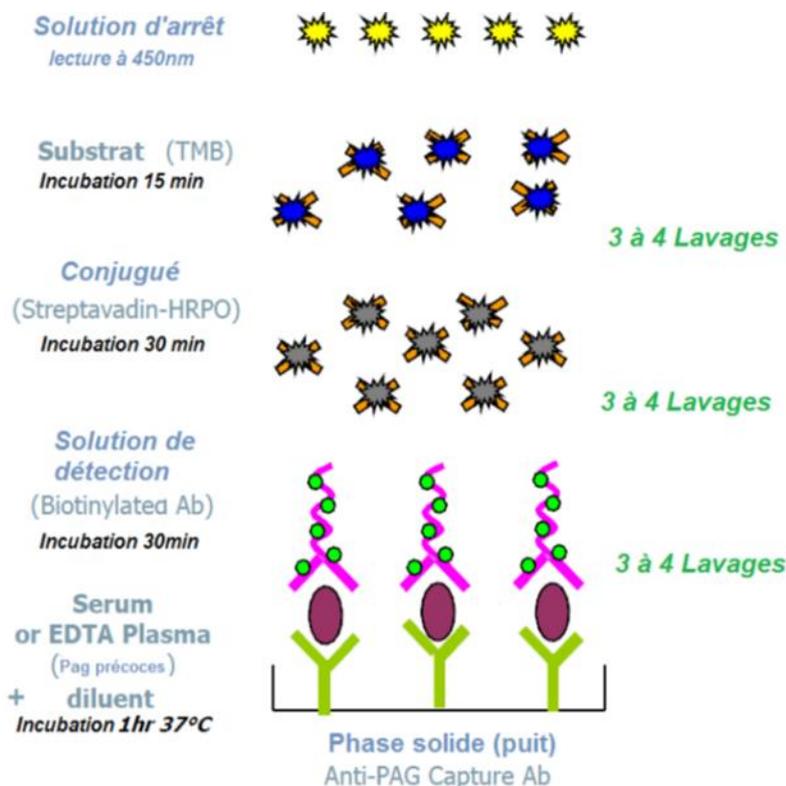


Figure 12 : Principe d'ELISA « sandwich » du test d'IDEXX (**Barbry, 2012**).

II.6. Les critères de performances de chaque méthode

- **La sensibilité** : évalue la capacité de la méthode utilisée à détecter les animaux positifs.
 $Se = \frac{\text{nombre de DG+ exacts}}{\text{nombre de femelles réellement gravides}}$,
avec : $Se = 100 \times a / (a+d)$.
- **La spécificité** : évalue la capacité de la méthode utilisée à détecter les animaux négatifs.

Sp = nombre de DG- exacts / nombre de femelles réellement non gravides,

avec : **Sp** = $100 \times c / (c+b)$.

- **La valeur prédictive positive (VPP)** : C'est la probabilité pour une vache diagnostiquée gestante d'être effectivement gestante et égale le nombre de DG+ exacts / nombre total de DG+, avec : $VPP = 100 \times a / (a+b)$.
- **La valeur prédictive négative (VPN)** : C'est la probabilité pour une vache diagnostiquée non gestante d'être effectivement non gestante et égale le nombre de DG- exacts / nombre total de DG-, avec : $VPN = 100 \times c / (c+d)$.

Où : **a** est le nombre de DG+ exacts ; **b** le nombre de DG+faux ; **c** le nombre de DG- exacts et **d** le nombre de DG- faux (Sousa et al., 2004 ; Barbry, 2012).

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (PTR)

À partir des articles étudiés, les résultats de palpation transrectale entre 31 et 42 jours montrent une Se allant de 37.5 à 100%, Sp allant de 89 à 100%, VPP allant de 60 à 100% et une VPN allant de 76.19 à 100%, sachant que la race et le nombre des vaches examinées varie d'une étude à l'autre (tableau VII).

Ghaidan et al., (2019) ont trouvés des résultats les plus précoces de DG avec une sensibilité de 84.6% et une spécificité de 88.8% et une VPP de 94.2% et une VPN de 90.3% sachant que le nombre des vaches examinées sont 204 vaches.

III.2. Résultats

Tableau VII : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de la palpation transrectale selon les études suivantes (3 articles).

Les références	Effectif	La race	Jours post-IA	Se %	Sp %	VPP%	VPN %
Karen et al., 2011	168	Buffles (<i>Bubalus bubalis</i>)	31-35 (n=39)	37.5	93.5	60	85.3
			36-40 (n=35)	75	91.3	81.8	87.5
			41-45 (n=20)	88.9	90.9	88.9	90.9
			46-50 (n=31)	93.8	100	100	93.8
			51-55 (n=43)	100	100	100	100
Ghaidan et al., 2019	204	NC	30	84.6	88.8	94.2	90.3
Rashmi et al., 2020	50	NC	35	84.84	94.11	96.55	76.19
			42	100	100	100	100

Se : Sensibilité, **Sp :** Spécificité, **VPP :** Valeur prédictive positive, **VPN :** Valeur prédictive négative, **NC :** Non Cité, **IA :** Insémination artificielle, **n :** le nombre des vaches.

Karen et al., (2011) ont fait une étude sur 168 des vaches buffles (*Bubalus bubalis*) soumises à la palpation transrectale ; 39, 35, 20, 31 et 43 ont été diagnostiqués aux jours 31-35 ; 36-40 ; 41-45 ; 46-50 ; 51-55 ; respectivement, la sensibilité de la PTR obtenus aux jours 31-40 étaient inférieurs (60%) à celle rapportée chez les bovins laitiers (89.5%) aux jours 30-36 après IA (**Warnik et al., 1995**). D'autre part, la sensibilité du PTR aux jours 41-50 (92%) et jours 51-55

(100%) sont similaires à celle rapportée chez les vaches laitières entre les jours 37-50 (94.5%) et jours 51-57 (95.1%) respectivement (**Warnik et al., 1995**), dans cette étude 8/10 de diagnostic faux négatif posé par PTR survenus entre les jours 31 et 40 après l'accouplement cela a été confirmé par (**Perera, 2008**) que la durée de gestation chez les buffles est plus longue que celle des bovins (315 contre 285 jours), par conséquent la quantité de liquide fœtal aux jours 31-40 pourrait être plus petite et plus difficile à identifier par PTR chez les buffles.

Selon l'étude de (**Karen et al., 2011**), la spécificité (93.5%) aux jours 31-35 était plus élevée que celui rapporté (85%) chez les bovins aux jours 30-36 (**Warnik et al., 1995**).

Deux cas de diagnostic faux positifs ont été observés aux jours 32 et 41 après l'accouplement indiquant que des mortalités embryonnaires auraient pu se produire avant la palpation transrectale et les signes positifs de grossesse étaient toujours détectables à la palpation. Des conditions pathologiques telles que l'endométrite chronique ou l'accumulation de liquide intra-utérin provoquant une asymétrie des cornes utérines pourraient être les raisons d'autres faux diagnostics positifs posés par la PTR (**Karen et al., 2011**).

Le glissement de la membrane fœtale et la fluctuation à l'intérieur de la corne utérine étaient détectables chez les vaches pendant 18 jours après avoir induit la mort embryonnaire en écrasant la vésicule embryonnaire (**Kassam et al., 1987**), chez les buffles n'est possible qu'à partir d'environ 42-56 jours de gestation (**Ahamed et Noakes, 2009**).

D'après l'étude de **Ghaidan et al., (2019)** sur 204 vaches, 66 ont été diagnostiquées gestantes et 78 après la confirmation par observation visuelle d'un conceptus vivant dans l'utérus. Un taux élevé de faux négatifs est rapporté (5.9%) et une précision (84.7%). Tandis que la sensibilité était de (78.5%) et la valeur prédictive positive de (87.2%), les chercheurs ont conclu que la PTR est la méthode la plus courante pour le constat de gestation surtout après le deuxième mois de gestation car la précision est faible au cours de premier mois de la gestation que celle de (**Reimers et al., 1985 ; Badtram et al., 1991**) (92.5%, 99.0%) respectivement.

Les conclusions de **Ghaidan et al., (2019)** ont été renforcées par (**Romano et al., 2016**) qui ont démontré que la palpation transrectale peut provoquer des avortements et des anomalies fœtales lorsqu'elle est effectuée avant 30 jours de gestation.

Des facteurs tels que l'expérience de l'examineur, la parité, l'âge et la taille de la mère et le volume de liquide à l'intérieur des sacs fœtaux peuvent influencer le degré de sensibilité de la méthode (**Taverne et Noakes, 2009**).

D'après l'étude de **Rashmi et al., (2020)** sur 50 vaches, 33 et 35 vaches ont été diagnostiquées gestantes aux jours 35 et 42 respectivement par palpation transrectale par rapport à la présence d'un glissement des membranes et une lumière utérine distendue avec un liquide allantoïdien.

Les résultats rapportés au jour 42 par (**Karen et al., 2011**) chez les buffles étaient inférieurs aux résultats obtenus dans l'étude de (**Rashmi et al., 2020**). Ces variations de résultats de faux positifs pourraient être dû à la présence de liquide intraluminal et à une légère asymétrie des cornes utérines, mais aussi aux résultats faux négatifs qui peuvent également être attribués à une fausse perception tactile du glissement de la double membrane lors du diagnostic de gestation. Cette explication est en accord avec les conclusions de (**Kastelic et al., 1989**) qui ont souligné que le liquide chorio-allantoïdien aux jours 18-21 et le liquide utérin accumulé pendant l'œstrus sont difficiles à différencier, un diagnostic faux positif a également été noté et cela peut être dû à un liquide pathologique dans l'utérus (endométrite chronique).

III.3. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (USG)

À partir des articles étudiés, les résultats de l'ultrasonographie entre 20 et 42 jours montre une Se allant de 62 vers 100%, Sp allant de 73 vers 100%, VPP allant de 81 à 100% et une VPN de 55 à 100%, sachant que le type de sonde rectale utilisée, la race et le nombre des vaches examinées variée à une étude à l'autre (**tableau VIII**).

Rashmi et al., (2020) ont trouvés des résultats les plus précoces de DG aux jours 20-24 avec une sensibilité de 81.7% et une spécificité de 83.33% et une VPP de 93.93% et une VPN de 58.82% sachant que le nombre des vaches examinées sont 50 vaches.

III.4. Résultats

Tableau IX : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de l'échographie selon les études suivantes (5 articles).

Les références	Effectif	La race	Le type de la sonde rectale (MHz)	Jours post-IA	Se %	Sp %	VPP %	VPN %
Abdullah et al.,2014	47	32 vaches Karen Fries 15 vaches Sahiwal	Linéaire de 6.5	30	92.0 3	97.0 5	NC	NC
Karen et al., 2015	100	Holstein	6-8	28	92.7	91.5	88.4	94.7
Racewicz et al., 2016	1583 des vaches et 396 génisses	Holstein-Frison	NC	26 et 35	82.0	73.0	80.8	74.4
Bregnança et al., 2018	130	Zébu Nellore (B. Zébu)	Transducteur linéaire à 7.5	25	62.5 0	95.2 4	96.4 9	54.79
				28	93.1 8	95.2 4	97.6 2	86.96
Rashmi et al. ; 2020	50	NC	Transducteur courbe 3 à 7	20-24	81.7	83.3 3	93.9 3	58.82
				28	88.8 8	78.5 7	91.4 2	73.33
				35	97.2 2	100	100	93.33
				42	100	100	100	100

Se : Sensibilité, **Sp :** Spécificité, **VPP :** Valeur prédictive positive, **VPN :** Valeur prédictive négative, **NC :** Non cité, **IA :** Insémination artificielle, **MHz :** Mégahertz.

Afin d'évaluer l'exactitude de l'échographie transrectale pour le diagnostic précoce de gestation, **Abdullah et al., (2014)** ont réalisé une étude sur 47 vaches (32 vaches Karen Fries et 15 vaches Sahiwal) en utilisant une sonde rectale linéaire de 6.7 (MHz) à 30 jours post reproduction qui a montré une sensibilité et une spécificité (92.30%, 97.05%) respectivement et au 45 jours post reproduction un nouveau examen a été effectué afin de confirmer la gestation. Le scan USG des vaches gestantes est représenté sur (**figure 13**).

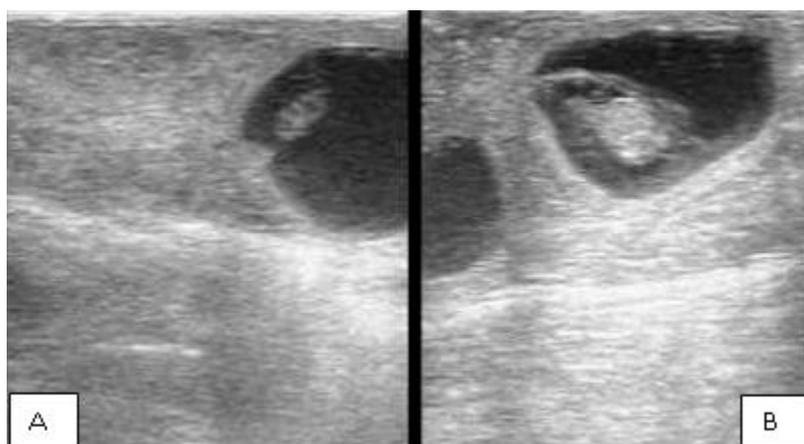


Figure 13 : Image échographique de 30 jours (A) et 45 jours (B) de gestation chez des vaches Karan Fries (**Abdullah et al., 2014**).

Par l'utilisation de l'échographie 30 jours après l'insémination, les animaux non gestants peuvent être identifiés au moins 15 jours et 30 jours plus tôt par rapport au standard par palpation transrectale qui est généralement effectué aux jours 45 et 60 respectivement.

Les résultats de cette étude à 30 jours sont similaires à celles de (**Filteau et DesCôteaux, 1998**) qui ont démontré une Se supérieure à 95 % au jour 26 post- IA.

En revanche **Pieterse et al., (1990)** ont trouvé la sensibilité et la spécificité du diagnostic de gestation avec l'échographie 44,8 et 82,3% respectivement lorsqu'ils ont menés l'étude entre 21 et 25 jours après l'IA respectivement, mais ont augmenté à 97.7% et 87.7% lorsqu'elle est menée entre 26 et 33 jours après l'IA ce qui est similaire aux résultats de cette étude (**Abdullah et al., 2014**).

Une faible sensibilité (7.69%) à 30 jours de gestation pourrait être due à une mortalité embryonnaire précoce, l'incidence de la mortalité embryonnaire précoce de cette étude est en accord aux observations de (**Whitlock et Maxwell, 2008**) (5–10% ; 28 à 42 jours) chez les vaches laitières en lactation et par (**Silke et al., 2002**) (3,2% ; à plus de 27 jours) chez les vaches à faible production.

La sensibilité et la spécificité aux 30 jours après la reproduction sont acceptables pour diagnostiquer efficacement une vache gestante / non gestante (**Abdullah et al., 2014**).

Karen et al., (2015) ont réalisé une étude sur le DPG en utilisant une échographie transrectale sur 100 vaches au jour 28 post-IA, ils ont trouvé des résultats (Se= 92.7%, Sp=91.5%) qui sont inférieurs à celle de (**Silva et al., 2007**) qui ont obtenu (Se= 96.5%, Sp=93.4%) au jour 32 après

l'insémination, et une Sp supérieure à celles (54 à 87.4%) rapportées dans différentes études (**Pieterse et al., 1990 ; Badtram et al., 1991 ; Hanzen et Laurent, 1991; Nation et al., 2003 ; Romano et al., (2006)** dans lesquelles les résultats d'USG ont été confirmés soit par USG aux jours 32 à 35, ou par une PTR entre les jours 50 et 90 (**Karen et al., 2015**).

Les vaches souffrant de mortalités embryonnaires tardives (n= 9) ont été confirmées gestantes au jour 28 post-IA et incluses dans cette étude en tant que gestante cela permet par la suite la diminution de diagnostics faux positifs et une plus grande spécificité d'USG, en plus (n=5) ont été incorrectement diagnostiquées gestantes et n'étaient pas gestantes au moment de l'examen, et de manière similaire (**Nation et al., 2003**) ont observé du liquide intra-utérin chez 4 vaches aux jours 28 -35 et 7 jours plus tard par un nouvel examen ont été diagnostiqués non gestantes.

(**Karen et al., 2015 ; Silva et al., 2007**) ont trouvé des résultats similaires dans lesquelles l'embryon proprement dit avec un cœur battant n'a été observé par USG que chez (41.5%, 43.1% au jour 27) respectivement des vaches gestantes, la raison de ce faible pourcentage de détection d'embryon pourrait être due à la petite masse d'embryon et les contraintes de temps pour le diagnostic individuel des vaches (**Silva et al., 2007**).

D'après l'étude récente de **Racewicz et al., (2016)** le pourcentage moyen de diagnostics correctes entre le 26 et le 35 jours (78.2%), ce faible pourcentage a été expliquée par les constatations de différentes études (**Fissore et al., 1986 ; Frick, 2002 ; Pieterse et al., 1990**) que l'utilisation de l'échographie n'est pas recommandée avant les jours 25-26.

L'exclusion de la gestation est également possible avec un test de diagnostic qui à une sensibilité et une valeur prédictive négative élevés puisque lorsque Se et VPN augmentent, le nombre de résultats faux négatifs diminue, par conséquent la probabilité de gestation est faible lorsque les résultats de l'examen d'un instrument à ultrasons très sensibles est négatifs (**Racewicz et al., 2016**).

La véritable utilité de l'échographie dans le diagnostic précoce d'une gestation n'est pas tant déterminée par la possibilité de confirmer la gestation que par son exclusion fiable et que la valeur prédictive négative doit être élevée et le taux de faux négatifs aussi bas que possible afin d'améliorer la précision du diagnostic des vaches non gestantes (**Romano, 2004**).

Racewicz et al., (2016) ont signalé que l'examen incorrect peut être dû à une mauvaise interprétation d'une petite quantité de liquide folliculaire sous forme de mucus œstral, en particulier dans les premiers stades de la gestation, une autre raison d'un diagnostic erroné peut être une mauvaise interprétation de la structure d'écho des cornes utérines actuellement en

œstrus. À ce stade, cela ressemble à une image échographique de l'utérus pendant l'œstrus, par conséquent, en cas de doute l'échographie doit être répétée dans quelques jours.

Les faux positifs ont été généralement faible (10 à 15%), habituellement les causes de faux positifs peuvent être indépendantes ou dépendantes de l'examineur. Les facteurs indépendants comprennent la mort embryonnaire ou fausse couche d'un embryon ou d'un fœtus. Dans ces cas, l'image échographique de l'utérus montre que les exsudats inflammatoires ont une hétérogénéité accrue. Les facteurs attribuables à l'opérateur comprennent des erreurs d'interprétation de l'image échographique le plus souvent cette erreur implique de confondre le mucus œstral et le liquide allantoïdien (**Racewicz et al., 2016**).

D'après l'étude de **Bragança et al., (2018)** sur 130 des vaches Zébu Nellore (*B. taurus indicus*) été effectué aux jours 25 et 28 post-IA en utilisant un transducteur linéaire à 7,5 MHz, l'observation de liquide allantoïde ou un fœtus visible a donné un diagnostic de gestation positif (**Szenci et al., 1995**). Ils ont trouvé que la détection précoce de la gestation par ultrasonographie était plus précise à 28 jours post-IA (Se = 93,18% et Sp=95,24%) qu'à 25 jours (Se = 62,50% et Sp= 95,24%) (**Tableau X**).

Plusieurs études (**Real et al., 2006 ; Romano et al., 2006**) en utilisant la détection du rythme cardiaque fœtal avec l'échographie a également observé une faible sensibilité au jour 25 post-IA, qui est similaire de cette étude (**Bragança et al., 2018**).

L'explication de cette faible précision de diagnostic par des difficultés de la visualisation de la vésicule gestationnelle avec des ambiguïtés dans l'interprétation de l'image de la gestation précoce, ou par le liquide allantoïde qui peut être confondu avec des fluides pathologiques ou physiologiques donc par la suite la vésicule gestationnelle ne peut être clairement observée qu'après 28 jours de gestation (**Barros et Visintin, 2001**).

En revanche, la valeur prédictive négative d'USG au jour 25 (54.79%) était inférieure à celle de (**Szenci et al., 1998**) 67,5% les jours 26 - 27 post-insémination. À partir l'explication de **Barros et Visintin (2001)** qui ont signalé qu'une faible précision de diagnostic par USG au jour 25 post-IA peut être dû aux difficultés de la visualisation de la vésicule, à l'appui de cette explication la VPN a augmenté significativement le jour 28 post-IA (86.4%) lorsque le critère de diagnostic positive est la présence de liquide allantoïde.

La quantité de fluide à l'intérieur de la lumière utérine a augmenté la difficulté de diagnostic et explique le haut pourcentage de faux négatifs dans l'étude de (**Bragança et al., 2018**) surtout au jour 25 post-IA, cette explication est n'est en accord avec celle de (**DesCôteaux et al., 2009**) qui

ont signalé que les embryons de certaines vaches pourraient être positionnés derrière les plis de l'endomètre ce qui les rend impossibles à détecter en utilisant l'USG (**Bragança et al., 2018**).

De plus, l'étude de **Rashmi et al., (2020)** sur 50 vaches soumis à une échographie transrectale en mode B le jour 20-24, 28,35 et 42 post -IA, la vache a été considérée gestante par la présence des signes comme la présence de liquide allantoïde et / ou de l'embryon proprement dit (**figure 14**).

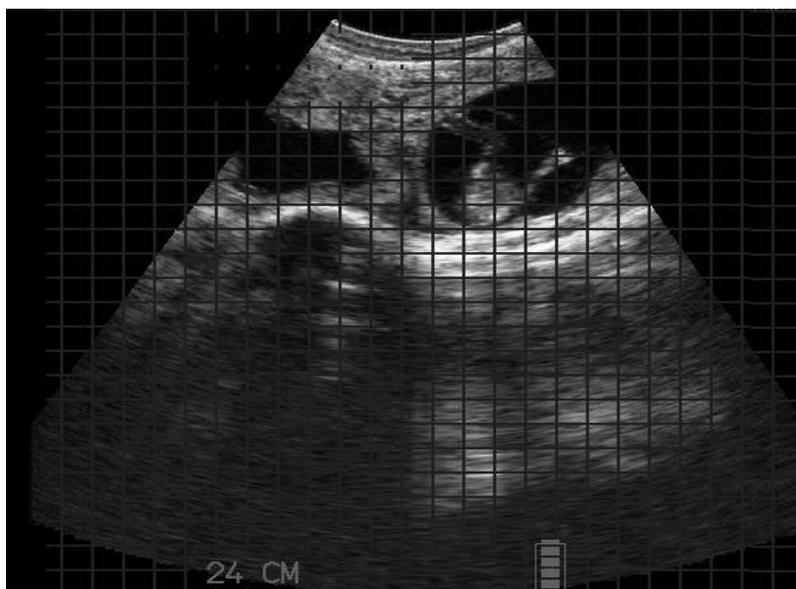


Figure 14 : Image échographique de l'embryon (**Rashmi et al., 2020**).

La présence de liquide allantoïdien anéchoïque uniquement sans embryon proprement dit a été considérée comme un faux négatif, ce qui pourrait être dû à la mortalité embryonnaire puisque l'incapacité de démontrer l'embryon en cas de mort embryonnaire a abouti à un faux diagnostic positif (**Rashmi et al., 2020**) ces résultats ne sont pas en accord avec celle de (**Badtram et al., 1991**) qui ont rapporté que les résultats faussement positifs pourraient être attribuables à l'accumulation de liquide à l'œstrus ou au pyomètre et au mucomètre et celle de **Bragança et al., (2018)** qui ont constaté qu'une faible sensibilité peut être due à une difficulté à visualiser la vésicule gestationnelle.

La mortalité embryonnaire a été détectée sur la base de la présence de liquide allantoïde seule sans embryon proprement dit par USG aux jours 20-24 et 28, donc l'USG pour être une méthode très efficace pour diagnostiquer une gestation précoce car elle aide à la visualisation directe du conceptus (**Rashmi et al., 2020**).

III.5. Lumière sur les résultats selon l'ensemble des articles (le dosage de PAG)

À partir des articles étudiés, les résultats de dosage de PAG entre 25 et 41 jours montrent une Se de 87.5 à 100%, Sp de 73 à 100%, VPP de 70 vers 100% et une VPN allant de 67 vers 100%, sachent que le type de test et l'échantillon (lait, sang), la race et le nombre des vaches examinées varié à une étude à l'autre (**tableau XI**).

III.6. Résultats

Tableau XII : La sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive, la valeur prédictive négative de dosage de PAG selon les études suivantes (**12 articles**).

Les références	Effectif	La race	J post-IA	Le test	Se%	Sp%	VPP %	VPN %	
Romano et Larson, 2010	246	NC	28-35	ELISA	94-97	94-96	92-95	95-98	
Piechotta et al., 2011	169	Holstein Friesain	26-58	ELISA (sang)	97.8	91.2	97.8	91.2	
Barbry et al., 2012	102	Prim'Holstein Ou Montbéliarde	J29±2	Sérum	ELISA d'IDEXX	100	88.57	NC	NC
				Plasma		100	88.89	NC	NC
				Lait		98.11	90.32	NC	NC
			J40±3	Sérum		98.39	96.77	NC	NC
				Plasma		100	100	NC	NC
				Lait		100	100	NC	NC
Lawson et al., 2014			30-95	Lait	ELISA	98-100	98-100	99-100	83-100
Ricci et al., 2015	141	Holstein	32	Plasma	ELISA	100	87	84	100
				Lait		98	83	79	99
Commun et al., 2016	116	Montbéliarde ou Holstein	30 ±1	Sérum	ELISA	100	88.6	93.8	100
				Plasma		100	88.9	93.8	100
				Lait		98.1	90.3	94.5	96.6
			41±2	Sérum		98.4	96.8	98.4	96.8
				Plasma		100	100	100	100
				Lait		100	92.3	96.4	100

(Suite au **tableau XIII**) :

Les références	Effectif	La race	J post-IA		Le test	Se%	Sp%	VPP%	VPN%
Kaya et al., 2016	231 (n=119 génisses, N= 112 vaches en lactation)	Les génisses Holstein-Frisonnes et les vaches en lactation	Les génisses	25(n=18)	ELISA d'IDEXX	100	100	100	100
				28 (n=33)		100	100	100	100
			Vaches en lactation	32 (n=68)		96.8	97.2	96.8	97.2
				25 (n=43)		89.4	87.5	85	91.3
				28(n=51)		95.4	100	100	96.6
				32(n=18)		100	72.7	70	100
Bragnaça et al., 2018	130	Zébu Nellore (<i>Bos indicus</i>)	25		ELISA	100	98.86	96.70	100
			28			100	92.86	96.70	100
Ghaidan et al., 2019	204	NC	30		ELISA d'IDEXX	100	96.0	93.9	100
Rashmi et al., 2020	50	NC	28		ELISA d'IDEXX	87.5	100	100	66.66
			42			100	100	100	100

Se : Sensibilité, **Sp**: Spécificité, **VPP** : Valeur prédictive positive, **VPN** : Valeur prédictive négative, **NC** : Non Cité, **IA** : Insémination artificielle.

La détection précoce et fiable de la gestation chez la vache est un élément essentiel du suivi de la reproduction, **Barbry et al., (2012)** ont réalisé un test Elisa d'IDEXX sur 102 vaches Prim'Holstein permettant de diagnostiquer précocement la gestation en détectant, dans le sang maternel et dans le lait, la présence de PAGs aux différents jours (j 16±2, j 29±2, j 40±3) suivie un examen complémentaire pour la confirmation par USG au j 40±3 sur chaque animal puisque à ce stade est 100 % fiable (**Romano et al., 2006**), à chaque session de prélèvement, ils ont calculé la sensibilité et la spécificité du test sur le sérum, le plasma et le lait.

À j16±2 les résultats d'ELISA étaient tous négatifs car le test n'est pas capable de fournir un résultat car il est trop tôt et aussi que les PAG de la gestation précédente ne sont pas détectées non plus, en revanche dès le j29±2 le teste de bonnes performances sur les différents types de

prélèvement (**voir tableau XIV**) avec un seuil de détection sur le lait abaissé de 20% par rapport au seuil de détection sur le sang (**Barbry et al., 2012**).

Ils ont trouvé que 4 vaches aient avortées avec des tests ELISA positifs à $j29\pm2$ mais échographiées vides à $j40\pm3$ ce qui montre qu'ils ont certainement avorté entre l'IA et $j40\pm3$, ces résultats sont en accord avec celle de **Silke et al., 2002** (taux d'avortement de 3.2%) sur des vaches entre le $j28$ et $j42$, ceci explique la moins bonne spécificité apparente du teste à $j29\pm2$.

En plus, un diagnostic fiable dans le lait dès $j29\pm2$ ($Se= 98.11\%$, $Sp= 90.32\%$) (**Barbry et al., 2012**).

La sensibilité du test PAG-ELISA pour diagnostiquer les vaches gestantes dans l'étude de (**Karen et al., 2015**) (90,2%) était inférieure à celui (99,4%) rapporté dans une étude utilisant le même test, mais des échantillons ont été prélevés plus tard entre les jours 29 et 36 après IA (**Paré et al., 2008**), (**Green et al., 2009**; **Friedrich et Holtz, 2010** ; **Sinedino et al., 2014**) ont expliqué cette variation de résultats de Se par l'augmentation de l'intervalle de temps après l'IA.

Dans cette étude la sensibilité était inférieure à ceux (93,9% à 98,8%) rapportés dans d'autres études utilisant différents tests PAG-ELISA commerciaux entre les jours 25 et 29 après l'IA (**Silva et al., 2007** ; **Green et al., 2009** ; **Romano et Larson, 2010** ; **Sandino et al., 2014**).

La différence de résultats de différents tests commerciaux de PAG pourrait être attribuée à la différence des sous-ensembles PAG utilisés pour le développement d'antisérums dans les différents tests commerciaux alors qu'il est important de mentionner qu'il y a plus de 22 gènes transcrits bovins codants pour l'expression de PAG qui sont exprimées temporellement à des niveaux variables tout au long de la gestation (**Green et al., 2000**).

En revanche, la spécificité du test dans cette étude était similaire ou légèrement supérieure à celles (91,1–97,2%) rapportées dans les études dans lesquelles USG était réalisé en parallèle avec le test PAG-ELISA (**Silva et al., 2007** ; **Green et al., 2009** ; **Romano et Larson, 2010** ; **Piechotta et al., 2011**).

L'étude menée par **Kaya et al., (2016)** sur l'efficacité d'un kit de test ELISA commercial IDEXX pour détecter les PAG dans le sang périphérique pour le diagnostic précoce de la gestation au jours 25,28 et 32 et comparer les taux plasmatiques de PAG au début de la gestation chez les génisses Holstein-Frisonnes et les vaches en lactation. Un total de 231 vaches Holstein-Frisonnes, y compris des génisses (18–26 mois, $n = 119$) et des vaches en lactation (3–6 ans, $n = 112$) utilisée dans cette étude.

Parmi les 231 échantillons examinés il y avait 95 vrais positifs, 125 vrais négatifs, 7 faux positifs et 4 faux négatifs. Par conséquent, la sensibilité, la spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative et la précision du test PAG-ELISA étaient 95,9%, 94,7%, 93,1%, 96,9% et 95,2% respectivement chez les génisses et les vaches en lactation (**tableau XV**).

Dans cette étude la sensibilité et la spécificité du test PAG-ELISA étaient 95,9% et 94,7% de génisses et de vaches en lactation, respectivement. Des études de (**Silva et al., 2007 ; Romano et Larson, 2010**) et **Green et al., (2009)** ils ont obtenu une sensibilité et une spécificité de 93,9%-100% et 66,7%-95,5% respectivement.

(**Zoli et al., 1992 ; Humblot, 2001**) ont expliqué la variation de performances des tests par les différences entre les kits commerciaux, l'expérience de l'utilisateur et la variabilité individuelle de la concentration sérique de PAG et que ces différences limitent la fiabilité du PAG-ELISA pour le diagnostic de la gestation entre le 26e et le 30e jour de gestation.

Silva et al., (2007) ont détecté dans 1673 vaches 29 résultats faux négatifs et estimé la valeur prédictive négative du test à 97,1% et l'étude de (**Kaya et al., 2016**) quatre faux négatifs entre le 25e et le 32e jour après l'insémination, ce qui suggère une valeur prédictive négative de 96,9%.

(**Zoli et al., 1992**) ont signalé que les résultats faux négatifs peuvent résulter de niveaux faibles et variables de PAG chez différents individus entre le 25e et le 32e jour. Après la conception, les PAG peuvent être détectés dans le sang maternel dès 22 à 24 jours après l'insémination.

La concentration de PAGs augmente pendant la gestation et atteint le niveau le plus élevé avant le vêlage (**Sasser et al., 1986 ; Green et al., 2005**) et par conséquent, la sensibilité du test devrait augmenter à mesure que la gestation progresse, tandis que le taux de résultats faux négatifs devrait diminuer.

Dans cette étude les taux plasmatiques moyens de PAG ont également augmenté du 25e au 32e jour. Par conséquent, la Sensibilité du test augmentait avec les taux plasmatiques de PAG, tandis que la fréquence des résultats faux négatifs diminuait. Ils ont observé sept résultats faux positifs parmi 231 échantillons entre le 25e et le 32e jour, dont trois au 25e jour. Des résultats faux positifs peuvent être obtenus peu de temps après la mort embryonnaire, avant que les taux de PAG dans le sang maternel ne tombent en dessous du seuil de détection à l'aide du test ELISA, sachant que la demi-vie des PAG dans le sang maternel après la mort embryonnaire induite était de 2,7 à 7 jours (**Semambo et al., 1992 ; Szenci et al., 2003**). Des résultats faux positifs du test PAG-ELISA peuvent parfois être dus à la mort embryonnaire ou à la perte du fœtus.

Cependant, les résultats faux positifs de cette étude n'étaient pas associés à la mort embryonnaire, puisque aucune perte de gestation n'a été observée.

Kaya et al., (2016) ont indiqué que l'élimination des PAG du plasma est terminée dans les 45 jours suivant le vêlage chez les vaches laitières. Ainsi, la mesure des niveaux de PAG pour déterminer la perte de gestation ne semble pas faisable dans la pratique, car les PAG peuvent encore être détectés dans la circulation même si la vache n'est plus gestante.

Une autre cause potentielle de résultats faux positifs du test PAG-ELISA peut être les PAG résiduels des gestations précédentes.

Zoli et al., (1992) ont indiqué que les niveaux de PAG chez les bovins laitiers et à viande augmentent à partir du 22^e jour de gestation jusqu'au vêlage et diminuent continuellement jusqu'à des niveaux indétectables 100±20 jours après le vêlage et (**Silva et al., 2007**) ont rapporté que des résultats faux positifs ont été observés chez certaines vaches jusqu'à 100 jours après le vêlage après leur première gestation.

Kaya et al., (2016) ont été suggérés que les résultats faux positifs observés dans leur étude étaient liés à des réactions croisées avec des protéines autres que PAG, entraînant une sensibilité réduite observée.

Dans cette étude, la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et négative du test PAG-ELISA étaient plus élevées pour les génisses que pour les vaches en lactation, alors que les taux plasmatiques de PAG ont augmenté de manière significative avec le temps chez les génisses, c'est-à-dire du jour 25 au jour 28, ils n'ont pas changées chez les vaches en lactation.

Friedrich et Holtz (2010) ont constaté que les PAG peuvent être détectés dans le lait et qu'il existe une corrélation négative entre les taux plasmatiques de PAG et le rendement laitier (**Ricci et al., 2015**), des taux plasmatiques plus faibles de PAG chez les vaches en lactation peuvent s'expliquer par l'élimination des PAG du plasma en raison de leur excrétion dans le lait (**Kaya et al., 2016**).

Bragnanca et al., (2018) ont fait une étude sur 130 vaches Zébu Nellore (*Bos indicus*) aux jours 25 et 28 post-IA par un test commercial ELISA pour détecter les concentrations sériques de PAG de façon très précise pour un diagnostic précoce de gestation, ces résultats ont été cohérents avec les recherches examinant l'efficacité de ces tests chez les vaches laitières taurines (**Karen et al., 2015; Ricci et al., 2015**).

En plus, le PAG ELISA a été précis à 100% dans la catégorisation des vaches gestantes sur la base d'échantillons de sang au jour 25, contre 93,9% (**Romano et Larson, 2010**), 94,6% (**Sinedino et al., 2014**) et 96,8% (**Silva et al., 2007**) sensibilité à 28 jours après-IA en utilisant le même test chez les vaches taurines.

Des variations mineures de ces résultats sont probablement dues au fait que les vaches Zébu ont des concentrations de PAG de base plus élevées que les vaches taurines (**Mercadante et al., 2013**) parce que la race, le nombre de fœtus et le génotype du fœtus, tous ces facteurs peuvent tout influencer des niveaux PAG (**Sousa et al., 2003**). En effet, des différences interspécifiques dans la période de gestation pourraient également entraîner des variations lorsque le PAG est détectable chez la vache (**Garbayo et al., 2008**).

En revanche, la haute précision du PAG ELISA dans cette étude est liée aux protéines immuno-réactivité tout au long de la gestation.

Ainsi, les diagnostics de gestation utilisant les concentrations de PAG sont les plus précis pendant cette période (**Green et al., 2005**) car les PAG sont détectables à partir du jour 22, l'immuno-réactivité augmente considérablement pendant les jours 24 – 28 et continue d'augmenter jusqu'à la dernière semaine de gestation (**Braghaca et al., 2018**).

Ils ont obtenu trois diagnostics faux positifs, cela peut avoir été attribué à certaines raisons, l'un de ceux-ci pourrait être la mortalité embryonnaire tardive survenant environ 25 jours après l'accouplement, cela est expliqué par (**Szenci et al., 2000**) qui ont rapporté que les concentrations de PAG chez les vaches avec mortalité embryonnaire sont très similaires à celles des vaches gestantes entre 24 et 35 jours, ce qui en fait difficile pour prédire l'apparition précoce de la perte embryonnaire et pour maintenir la haute précision des tests de gestation précoces, ou pourrait être lié à la lutéolyse tardive, car la présence de PAG est associée à la présence du corps jaune (**Humblot, 2001**). Selon cet auteur, en raison du maintien lutéal, environ 20 à 30% des femelles non gestantes ont des concentrations détectables de PAG 24 jours après l'IA par rapport aux vaches gestantes, ce qui augmente le nombre de faux positifs. Les signaux anti-lutéolytiques et les niveaux de PAG sont liés au début de la gestation puisque les deux protéines sont libérées par les cellules trophoblastiques (**Humblot et al., 1988a**). Certains facteurs peuvent être spéculés en relation avec l'exactitude des résultats faussement positifs, comme l'utilisation de vaches inséminées une ou deux fois avant l'expérience, en d'autres termes, un groupe subfertile de femelles (**Humblot et al., 1988b**).

Mialon et al., (1993) ont constaté qu'après une interruption de gestation, les concentrations de PAG diminueront et disparaîtront inévitablement. Cependant, en raison de la longue demi-vie de

cette protéine d'environ huit jours, la baisse significative de PAG dans la circulation sanguine peut être retardée compromettant même subtilement la précision du test.

Pendant la gestation, les cellules binucléées migrent du tissu trophoblastique vers l'épithélium utérin et le PAG produit par ces cellules exerce des fonctions biologiques distinctes entre les tissus placentaires (**Touzard et al., 2013**). Il s'agit d'un processus actif qui nécessite un tissu trophoblastique, par conséquent, en cas d'infections utérines ou d'autres mécanismes favorisant le maintien de ce tissu, la source de PAG n'est pas maintenue et les concentrations diminuent, ce qui permet des interprétations erronées lors du diagnostic (**Dobson et al., 1993**).

PAG ELISA a été très précise dans la détection des femelles non gestantes, corroborant les résultats précédents de 100% de valeur prédictive négative chez les bovins de boucherie (**Green et al., 2009**). Cependant, le test fait par (**Brangança et al., 2018**) était plus précis qu'un test précédent chez les bovins laitiers (94,7% ; **Romano et Larson, 2010**) et deux différents tests ELISA (91,7% et 91,2% ; **Piechotta et al., 2011**). Cela pourrait être peut-être dû aux niveaux plus élevés de PAG chez les femelles Zébu (**Mercadante et al., 2013**).

Ghaidan et al., (2019) ont déterminé la concentration de bPAG dans le plasma par ELISA en utilisant un Kit Commercial d'IDEXX, dans cette étude, cinq résultats faux positifs parmi lesquels deux vaches qui avaient récemment mis bas. Le niveau de bPAG atteint son maximum au moment du vêlage et diminue progressivement jusqu'à sa concentration la plus faible à 80 jours post-partum, ce qui pourrait probablement donner des résultats faussement positifs (**Kiracofe et al., 1993**). Les taux sériques élevés de glycoprotéine dans les deux cas provenaient probablement du vêlage précédent.

Ils ont constaté que trois résultats faussement positifs provenaient de vaches atteintes de pyomètre. Ces animaux pourraient avoir subi un avortement récent, ce qui a entraîné un taux sérique élevé de bPAG. La demi-vie estimée des bPAG est d'environ sept jours, ce qui signifie que le niveau des glycoprotéines peut rester suffisamment élevé pour être détecté quelques semaines après l'avortement (**Semambo et al., 1992**). Le test des bPAGs a donné le plus grand nombre de résultats vrais positifs (78/78) et vrais négatifs (121/126) et il s'agissait de la méthode la plus précise pour la détection de la gestation au cours du premier mois de gestation.

D'après l'étude menée par **Rashmi et al., (2020)** sur un test de PAG a été réalisé aux jours 28 et 42 chez 50 vaches en utilisant test IDEXX (ELISA), le développement de la couleur bleue des

points d'échantillon a été considéré comme positif et aucun développement de couleur comme négatif, 40 et 35 vaches ont été trouvées gestantes aux jours 28 et 42, respectivement.

Cette étude récente de **Rashmi et al., (2020)** ont rapporté une précision et une spécificité plus élevés à celle de (**Northrop et al., 2019**), cependant, une précision plus élevée a été rapportée par (**Piechotta et al., 2011 ; Commun et al., 2016**). Certains auteurs ont trouvé une sensibilité plus élevée de PAG ELISA (**Sinedino et al., 2014 ; Commun et al., 2016 Bragança ; et al., 2018; Northrop et al., 2019**).

Friedrich et Holtz (2010) ont obtenu une sensibilité similaire mais une spécificité plus faible au jour 42 en utilisant le sérum PAG ELISA par rapport à la présente étude.

Une spécificité plus élevée que la sensibilité du sérum PAG ELISA était due à la possibilité de fausse couche et à la demi-vie relativement longue des PAG dans la circulation maternelle variant entre 2,7 et 8,0 jours après l'induction de la mortalité embryonnaire (**Rashmi et al., 2020**).

Un faux diagnostic négatif peut être dû à un retard de l'augmentation de la PAG dans la circulation périphérique, la faible concentration de PAG est due soit à un retard d'augmentation, soit à un déclin dû à une perte embryonnaire précoce (**Piechotta et al., 2011**).

➤ Discussion générale

D'après notre analyse nous avons pu constater que :

La palpation rectale manuelle :

- Est une méthode assez tardive par rapport aux autres méthodes car elle est fiable à partir de 45 jours puisque lorsqu'elle a fait trop tôt ça cause des lésions qui peuvent induire une mortalité embryonnaire ou des anomalies fœtales.
- L'asymétrie des cornes et l'accumulation de liquide allantoïdienne sont des signes de gestation mais ils peuvent être confondus avec une pathologie (pyromètre ou endométrite chronique) donc par la suite, les résultats de diagnostic faux positive augmentent (**Karen et al., 2011**).
- L'expérience de manipulateur, la race, la parité, l'âge, la taille de liquide allantoïdienne de gestation ou d'une pathologie peuvent influencer sur la sensibilité et la spécificité de constat de gestation par palpation rectale manuelle (**Taverne et Noakes, 2009**).
- Les résultats sont immédiats et la méthode est moins coûteuse.

L'échographie :

- Détecter la gestation dès le jour 30 après l'insémination artificielle.
- L'avantage supplémentaire de fournir des informations sur les structures ovariennes, l'identification de gestation gémellaire, la détermination de la viabilité fœtale, de l'âge et de sexe (**Frick et al., 2002 ; Bekele et al., 2016**).
- Une méthode directe et précise.
- Les résultats sont immédiats au moment où l'examen est effectué.
- Les compétences et l'expérience de l'opérateur est nécessaire (**Frick et al., 2002**).
- Le principal inconvénient c'est le coût élevé, les échographes sont coûteux, il faut plus de temps pour le constat de gestation avec un appareil à ultrasons que par palpation manuelle.
- Faible précision est due à une difficulté de la visualisation de vésicule gestationnelle au début de gestation (**Barros et Visitions., 2001**) et les faux négatifs sont liés généralement à la mortalité embryonnaire.

Le dosage de PAG :

- Le dosage de PAG est une méthode fiable et précise à partir 28 jours post après l'insémination artificielle.
- Les différents tests commerciaux de constat de gestation induit des résultats différents (**Zoli et al., 1992 ; Humblot, 2001**)
- Les forts résultats faux négatifs dus à la demi-vie de PAG ou l'incidence de mortalité embryonnaire précoce qui influencent sur la précision de teste.
- L'expérience de l'opérateur, l'âge, la race, nombre de fœtus et le génotype, tous ces facteurs ont un impact sur le niveau de PAG (**Sousa et al., 2003**).
- Une méthode non invasive et résultats non immédiats.

Conclusion et perspectives

Conclusion

La détection précoce de la gestation de la vache est une composante essentielle des programmes actuels de gestion de la reproduction, les vétérinaires et les éleveurs utilisent la détection précoce des vaches non gravides (ouvertes) pour permettre une reproduction plus rapide et raccourcir l'intervalle de vêlage.

Au terme de ce travail portant sur l'intérêt du diagnostic précoce de gestation chez la vache par l'évaluation de trois méthodes (palpation transrectale, échographie, le dosage des protéines associées à la gestation), nous pouvons conclure que :

La palpation rectale manuelle est un moyen ancien et très simple à mettre en œuvre, néanmoins elle est utilisée jusqu'à aujourd'hui, mais il n'est pas envisageable sur de grands effectifs et il est tardif par rapport aux autres et capable aussi cause des lésions.

L'échographie est une technique qui peut être réalisée par vétérinaire expérimenté dès 30 jours après la reproduction. Par rapport à la palpation transrectale seule, l'échographie transrectale fournit des informations supplémentaires (une visualisation du conceptus, une détermination de sexe du fœtus, déterminer le rythme cardiaque et une détection efficace des problèmes gynécologiques).

Le dosage de PAG s'est révélé être un outil précis pour le diagnostic de gestation chez la vache, plusieurs tests commerciaux sont disponibles pour la détection de la PAG dans le sang et dans le lait vers le 28^e jour de gestation.

L'utilisation simultanée ou séquentielle de deux ou plusieurs méthodes peuvent permettre d'améliorer sensiblement la conduite de l'élevage et d'acquérir des données complémentaires concernant l'existence de mortalité embryonnaire ou fœtale dans les troupeaux. Le dosage des PAGs suivi par échographie peut permettre d'accéder à un bon diagnostic. Le premier dosage (PAG) permettra de détecter au plus tôt les femelles non gestantes ; seules les femelles positives au test de PAG seront ré-testées par l'échographie, ce qui permettra de confirmer la viabilité embryonnaire.

Perspectives

Notre étude est basée sur une comparaison théorique de différentes études réalisées. Pour cela plusieurs travaux de recherches seraient envisageables :

- Il pourrait être complété et renforcé par d'autres expérimentations réalisées sur terrain pour une plus grande précision et affirmation.
- Appuyer les résultats retrouvés avec une étude statistique (méta-analyse).
- Elargir le travail sur un nombre plus important d'articles pour avoir plus d'arguments sur la significativité des résultats.
- Mener des études approfondies sur la cause de la mortalité embryonnaire résultant de l'utilisation de méthodes de diagnostic précoce de gestation et le développement des moyennes pour la réduire
- Développement plus de tests commerciaux ELISA fiable, facile et non couteux pour les utiliser dans le dosage de PAG.
- Développement des laboratoires spéciaux de dosage de PAG en Algérie.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abdullah, M., Mohanty, T. K., Kumaresan, A., Mohanty, A. K., Madkar, A. R., Baithalu, R. K., & Bhakat, M. (2014).** Early pregnancy diagnosis in dairy cattle: economic importance and accuracy of ultrasonography. *Adv Anim Vet Sci*, 2(8), 464-467.
2. **Ahamed, N. and Noakes, D.E. (2009).** Reproduction in the buffalo. In: Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W. (eds.), *Veterinary reproduction and obstetrics* (Saunders Elsevier, London), 827.
3. **Arima, Y., & Bremel, R. D. (1983).** Purification and characterization of bovine placental lactogen. *Endocrinology*, 113(6), 2186-2194.
4. **Ayad, A., Sousa, N. M., Hornick, J. L., Touati, K., Iguer-ouada, M., & Beckers, J. (2006).** Endocrinologie de la gestation chez la vache: Signaux embryonnaires, hormones et protéines placentaires. *Ann. Méd. Vét*, 150, 212-226.
5. **Badinand, F., Bedouet, J., Cosson, J. L., Hanzen, C., & Vallet, A. (2000).** Lexique des termes de physiologie et de pathologie et performances de reproduction chez les bovins. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 144, pp. 289-301). Université de Liège.
6. **Badtram, G. A., Gaines, J. D., Thomas, C. B., & Bosu, W. T. K. (1991).** Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real-time ultrasound scanning of the uterus. *Theriogenology*, 35(6), 1153-1167.
7. **Balhara, A. K., Gupta, M., Singh, S., Mohanty, A. K., & Singh, I. (2013).** Early pregnancy diagnosis in bovines: current status and future directions. *The Scientific World Journal*, 2013.
8. **Ball, P. J. H., & Peters, A. R. (2004).** Reproductive efficiency in cattle production. *Reproduction in Cattle*, 1-13.
9. **Barbry, J. B. (2012).** Diagnostic de gestation chez la vache : dosage des protéines associées à la gestation dans le sang et le lait par méthode ELISA Idexx. [Diagnosis of pregnancy in cows: determination of proteins associated with pregnancy in blood and milk by ELISA method Idexx].
10. **Barbry, J. B., Velek, K., Pun, S., Rice, A., & Egli, C. (2012).** Diagnostic précoce de la gestation chez le bovin : un nouveau test à réaliser sur le sang ou le lait. *Rencontres autour des recherches sur les ruminants*, (19).
11. **Barros, B. J. P. D., & Visintin, J. A. (2001).** Controleultra-sonográfico de gestações, de mortalidad desembrionárias e fetais e do sexo de fetosbovino szebuínos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38(2), 74-79.

Références bibliographiques

12. **Beckers, J. F., Fromont-Lienard, C., Van der Zwalmen, P., Wouters-Ballman, P., & Ectors, F. (1980).** Isolement d'une hormone placentaire bovine présentant une activité analogue à la prolactine et à l'hormone de croissance. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 124, pp. 585-601). Université de Liège.
13. **Bekele, N., Addis, M., & Abdela, N. (2016).** Pregnancy diagnosis in cattle for fertility management: a review.
14. **Bharti, M. K., & Jacob, N. (2019).** Laboratory and imaging techniques for pregnancy diagnosis in animals.
15. **Boin, E. (2001).** Atlas d'échographie en gynécologie bovine. Th.: Med. vet.: Alfort, (086), 99.
16. **Boynard, M. (2006).** Bases physiques et technologiques de l'échographie ultrasonore. Radiologie et imagerie médicale : Principes et techniques-Radioprotection, 67130-8.
17. **Bragança, G. M., Monteiro, B. M., dos Santos Albuquerque, R., de Souza, D. C., Campello, C. C., Zimmerman, S. O., ... & Viana, R. B. (2018).** Using pregnancy-associated glycoproteins to provide early pregnancy diagnosis in Nelore cows. *Livestock Science*, 214, 278-281.
18. **Buczinski S, Descôteaux L (2009).** Echographie des bovins. Les Editions du Point Vétérinaire. Collection Atlas. ISBN : 978-2-86326-270-2.
19. **Buttle, H. L., & Forsyth, I. A. (1976).** Placental lactogen in the cow. *Journal of Endocrinology*, 68(1), 141-146.
20. **Calais, E., Dreno, Caroline. (2004).** Echographie en gynécologie bovine, ovine et caprine, réalisation d'un CD-Rom didactique (Doctoral dissertation).
21. **Carrière, P. D., DesCôteaux, L., & Durocher, J. (2002).** Evaluation échographique du tractus reproducteur bovin : Développement normal et anormal des follicules ovariens et du corps jaune. *Médecin vétérinaire du Québec*, 32(3-4), 128-131.
22. **Carrière, P. D., Picard-Hagen, N., & Gayrard, V. (2012).** Physiologie du système reproducteur de la vache laitière : -II. La gestation-III. La parturition.
23. **Chastant-Maillard, S., Boin, E., Constant, F., Mialot, J. P., Grimard, B., & Druart, X. (2002).** Images échographiques de la gestation chez la vache. *Gestation. Journées Européennes de la Société Française de Buiatrie*, 186-195.
24. **Chavatte-Palmer, P., & Tarrade, A. (2016).** Placentation in different mammalian species. In *Annales d'endocrinologie* (Vol. 77, No. 2, pp. 67-74). Elsevier Masson.

Références bibliographiques

25. **Christiansen, D. (2014).** Pregnancy Diagnosis: Rectal Palpation. *Bovine Reproduction*, 314-319.
26. **Commun, L., Velek, K., Barbry, J. B., Pun, S., Rice, A., Mestek, A., ... & Leterme, S. (2016).** Detection of pregnancy-associated glycoproteins in milk and blood as a test for early pregnancy in dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(3), 207-213.
27. **Cros, N. (2005).** Le sexage des fœtus par échographie chez la vache : étude de l'utilisation pratique sur le terrain (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat vétérinaire de l'école vétérinaire de Lyon, 159 p).
28. **De Vries, A., Bartolome, J., & Broaddus, B. (2005).** What is early pregnancy diagnosis worth. *Proceedings of the 2nd Florida Dairy Road Show: 7–11 February 2005*, 31-41.
29. **Derivaux, J., & Ectors, F. (1980).** *Physiologie de la gestation et obstétrique vétérinaire.* Maison Alfort : Ed. Point Vêt. -276 p.
30. **Descôteaux Luc, Gnemmi Giovanni, Colloton Jill. (2009).** *Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants.* s.l. : Med'com.
31. **DesCôteaux, L., Carrière, P. D., & Durocher, J. (2005).** *Ultrasonography of the reproductive system of the cow: A 4 languages interactive CD-rom for continuing education of veterinarians.* Continuing education services of the University of Montreal, St-Hyacinthe, Québec, Canada.
32. **Descôteaux, L., Gnemmi, G., & Colloton, J. (2009).** Ultrasonography of the bovine female genital tract. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 25(3), 733-52.
33. **DesCôteaux, L., Vaillancourt, D. (2012).** *Vade-mecum de gestion de la reproduction des bovins laitiers,* Med'com, ISBN : 2354030932.
34. **Dobson, H., Rowan, T. G., Kippax, I. S., & Humblot, P. (1993).** Assessment of fetal number, and fetal and placental viability throughout pregnancy in cattle. *Theriogenology*, 40(2), 411-425.
35. **Filteau V, DesCôteaux L (1998).** Predictive values of early pregnancy diagnosis by ultrasonography in dairy cattle. *Proc AABP Annu Meeting, Spokane, WA* 31:170-171.
36. **Fissore, R. A., Edmondson, A. J., Pashen, R. L., & Bondurant, R. H. (1986).** The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. II. Non-pregnant, pregnant and pathological conditions of the uterus. *Animal Reproduction Science*, 12(3), 167-177.

Références bibliographiques

37. **Fodor, I., & Ózsvári, L. (2018).** Early pregnancy diagnosis on large dairy farms and its role in improving profitability. Literature review. *Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia*, 14(1), 22-36.
38. **Forde, N., & Lonergan, P. (2017).** Interferon-tau and fertility in ruminants. *Reproduction*, 154(5), F33-F43.
39. **Fricke, P. M. (2002).** Scanning the future—Ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(8), 1918-1926.
40. **Fricke, P. M., Ricci, A., Giordano, J. O., & Carvalho, P. D. (2016).** Methods for and implementation of pregnancy diagnosis in dairy cows. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 32(1), 165-180.
41. **Friedrich, M., & 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*, 45(1), 142-146.
42. **Garbayo, J. M., Serrano, B., & Lopez-Gatius, F. (2008).** Identification of novel pregnancy-associated glycoproteins (PAG) expressed by the peri-implantation conceptus of domestic ruminants. *Animal reproduction science*, 103(1-2), 120-134.
43. **Garth Sasser, R., Ruder, C. A., Ivani, K. A., Butler, J. E., & Hamilton, W. C. (1986).** Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biology of Reproduction*, 35(4), 936-942.
44. **Gayrard, V., Picard-Hagen, N., & Berthelot, X. (2003).** La gestation chez les ruminants : comment l'embryon se développe et se maintient dans l'utérus. *Bulletin-gtv*, (21), 23-30.
45. **Ghaidan, M. T., Dana, O. I., & Dyary, H. O. (2019).** Accuracy of bovine pregnancy-associated glycoproteins (bPAGs) in the diagnosis of pregnancy: a comparative study of three pregnancy diagnostic methods. *Polish journal of veterinary sciences*, 769-775.
46. **Green, J. A., Parks, T. E., Avalle, M. P., Telugu, B. P., Mclain, A. L., Peterson, A. J., ... & Roberts, R. M. (2005).** The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. *Theriogenology*, 63(5), 1481-1503.
47. **Green, J. A., Xie, S., Quan, X., Bao, B., Gan, X., Mathialagan, N., ... & Roberts, R. M. (2000).** Pregnancy-associated bovine and ovine glycoproteins exhibit spatially and temporally distinct expression patterns during pregnancy. *Biology of reproduction*, 62(6), 1624-1631.

Références bibliographiques

48. **Green, J. C., Volkman, D. H., Poock, S. E., Mcgrath, M. F., Ehrhardt, M., Moseley, A. E., & Lucy, M. C. (2009).** A rapid enzyme-linked immunosorbent assay blood test for pregnancy in dairy and beef cattle. *Journal of dairy science*, 92(8), 3819-3824.
49. **Guillaume, S. M. H. (2002).** Protéines associées à la gestation (PAG) chez le zébuazawak « *Bos indicus* » au Burkina Faso, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso.
50. **Guillomot, M. (1995).** Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility-Supplements only*, (49), 39-52.
51. **Hanzen, C. (2008).** Le constat de gestation chez les ruminants. Faculté de Médecine Vétérinaire. Service de Thériogénologie des animaux de production. Université de Liège, Belgique. 17p. www.therioruminant.ulg.ac.be/notes/200809/R05_Constat_gestation_2009.pdf
52. **Hanzen, C. (2015).** Sémiologie : Le constat de gestation chez les ruminants.
53. **Hanzen, C., & Laurent, Y. (1991).** Application de l'échographie bidimensionnelle au diagnostic de gestation et à l'évaluation de l'incidence de la mortalité embryonnaire dans l'espèce bovine. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 135, pp. 481-487). Université de Liège.
54. **Humblot, P. (2001).** Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*, 56(9), 1417-1433.
55. **Humblot, P., & Dalla Porta, M. A. (1984).** Effect of conceptus removal and intrauterine administration of conceptus tissue on luteal function in the cow. *Reproduction Nutrition Développement*, 24(5A), 529-541.
56. **Humblot, P., Camous, S., Martal, J., Charlery, J., Jeanguyot, N., Thibier, M., & Sasser, R. G. (1988a).** Pregnancy-specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *Reproduction*, 83(1), 215-223.
57. **Humblot, P., Camous, S., Martal, J., Charlery, J., Jeanguyot, N., Thibier, M., & Sasser, G. (1988b).** Diagnosis of pregnancy by radioimmunoassay of a pregnancy-specific protein in the plasma of dairy cows. *Theriogenology*, 30(2), 257-267.
58. **Jaśkowski, J. M., Kaczmarowski, M., Kulus, J., Jaśkowski, B. M., Herudzińska, M., & Gehrke, M. A. R. E. K. (2019).** Rectal palpation for pregnancy in cows: A relic or an alternative to modern diagnostic methods. *Medycyna Weterynaryjna*, 75(05).

Références bibliographiques

59. **Julia, J., &Taveau, J. (2013).** Physiologie et pathologie de la reproduction de la vache : élaboration de ressources pédagogiques en ligne à partir d'images échographiques de l'appareil génital (Doctoral dissertation).
60. **Karen, A. M., Darwish, S., Ramoun, A., Tawfeek, K., Van Hanh, N., de Sousa, N. M., ... &Beckers, J. F. (2011).** Accuracy of transrectal palpation for early pregnancy diagnosis in Egyptian buffaloes. *Tropical animal health and production*, 43(1), 5-7.
61. **Karen, A., De Sousa, N. M., Beckers, J. F., Bajcsy, Á. C., Tibold, J., Mádl, I., & Szenci, O. (2015).** Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radioimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Animal reproduction science*, 159, 31-37.
62. **Kassam, A., Bondurant, R. H., Basu, S., Kindahl, H., &Stabenfeldt, G. H. (1987).** Clinical and endocrine responses to embryonic and fetal death induced by manual rupture of the amniotic vesicle during early pregnancy in cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 191(4), 417-420.
63. **Kastelic, J. P., Curran, S. And Ginther, O. J. (1989).** Accuracy of ultrasonography for pregnancy diagnosis on days 10 to 22 in heifers. *Theriogenology*, 31(4): 813-820.
64. **Kaur, M., Magotra, A., Shilpa, L. K., Menon, V., Kaur, P. S., & Babu, A. M.(2019).** Novel Approaches to Early Pregnancy Detection with Decreased Mortality Rate.
65. **Kaya, M. S., Köse, M., Bozkaya, F., Mutlu, H., Uçar, E. H., & Atli, M. O. (2016).** Early pregnancy diagnosis using a commercial ELISA test based on pregnancy-associated glycoproteins in Holstein-Friesian heifers and lactating cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 40(6), 694-699.
66. **Khatti, A., Singh, S. K., Jena, D., Singh, S. V., Mondal, T., & Choudhary, S. S. (2017).**Cardinals of pregnancy diagnosis in bovines with different methods: an overview.
67. **Kiracofe, G. H., Wright, J. M., Schalles, R. R., Ruder, C. A., Parish, S., & Sasser, R. G. (1993).** Pregnancy-specific protein B in serum of postpartum beef cows. *Journal of Animal Science*, 71(8), 2199-2205.
68. **Laribi, M. Djeriou, N. (2006).** Diagnostic clinique de gestation chez la vache. Thèse Doct. Vét., Université de Blida 1.p74.
69. **Leborgne, M. C., & Tanguy, J. M. (2014).** Reproduction des animaux d'élevage (édition 2013). Educagri Editions.

Références bibliographiques

70. **Lonergan, P., Forde, N., & Spencer, T. (2016).** Role of progesterone in embryo development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(2), 66. Doi :10.1071/rd15326
71. **Lucy, M., Green, J., & Poock, S. (2011).** Pregnancy determination in cattle: a review of available alternatives. *Proceedings of applied reproductive strategies in beef cattle*.
72. **Malassiné, A., Tarrade, A., Guibourdenche, J., Rochette-Égly, C., & Évain-Brion, D. (2000).** Le placenta. *Med Sci (Paris)*, Vol. 16, N° 3 ; p.329-35
73. **Mercadante, P. M., Waters, K. M., Mercadante, V. R. G., Lamb, G. C., Elzo, M. A., Johnson, S. E., ... & Ealy, A. D. (2013).** Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle. *Journal of animal science*, 91(8), 3693-3701.
74. **Mialon, M. M., Camous, S., Renand, G., Martal, J., & Ménissier, F. (1993).** Peripheral concentrations of a 60-kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. *Reproduction Nutrition Development*, 33(3), 269-282.
75. **Michel, C. (2017).** Test rapide de diagnostic de gestation sur sang chez les bovins : étude économique dans le cas d'élevages laitiers avec suivi de reproduction (Doctoral dissertation).
76. **Molecular devices. (2021).** Dosage d'immunoabsorption enzymatique (ELISA). En ligne URL : <https://fr.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa#workflow>. Consulté [le 23/06/2021].
77. **Momont, H. (1990).** Rectal palpation. *The Bovine Practitioner*, 122-123.
78. **Morton, H. (1984).** Early pregnancy factor (EPF): a link between fertilization and immunomodulation. *Australian journal of biological sciences*, 37(6), 393-408.
79. **Morton, H., Rolfe, B. E., Mcneill, L., Clarke, P., Clarke, F. M., & Clunie, G. J. A. (1980).** Early pregnancy factor: tissues involved in its production in the mouse. *Journal of Reproductive Immunology*, 2(2), 73-82.
80. **Moumene, A. (2002).** Intérêt du diagnostic précoce de gestation dans l'optimisation de la gestion de la reproduction bovine (Doctoral dissertation, Blida).
81. **Mumporeze, N. (2007).** Evaluation comparée de trois méthodes de diagnostic de gestation chez la vache inséminée au Sénégal : Progesterone, protéines associées à la gestation et palpation transrectale. [Comparative evaluation of three methods of pregnancy diagnosis

Références bibliographiques

- in Senegalese inseminated cows: progesterone, pregnancy-associated proteins and rectal palpation], 106.
82. **Murthy, G. S., Schellenberg, C., & Friesen, H. G. (1982).** Purification and characterization of bovine placental lactogen. *Endocrinology*, 111(6), 2117-2124.
 83. **Nancarrow C.D., Wallace A.L.C. et Grewal A.S. (1981).** The early pregnancy factor of sheep and cattle. *J. Reprod. Fertil., Suppl.*; 30: 191-199.
 84. **Nation, D. P., Malmo, J., Davis, G. M., & Macmillan, K. L. (2003).** Accuracy of bovine pregnancy detection using transrectal ultrasonography at 28 to 35 days after insemination. *Australian veterinary journal*, 81(1-2), 63-65.
 85. **Noakes, D. E., Dipecar, D., Parkinson, T. J., DBR, F., England, G. C., Dvetmed, D. V. R., ... & Arthur, G. H. (2001).** Arthur's veterinary reproduction and obstetrics.
 86. **Northrop, E. J., Rich, J. J., Rhoades, J. R., & Perry, G. A. (2019).** Comparison of two bovine serum pregnancy tests in detection of artificial insemination pregnancies and pregnancy loss in beef cattle. *PloS one*, 14(1), e0211179.
 87. **Nyabinwa, M. P. (2009).** Synthèse des connaissances actuelles sur les avortements dans l'espèce bovine (Doctoral dissertation, Université CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR).
 88. **Palgrave, K. (2012).** Bovine Reproduction: Clinical ultrasound booklet with Easi-Scan. BCF Technology Ltd, UK, P.
 89. **Paré, J., Audet-Grenier, M. H., Rouillier, P., & Sirard, M. A. (2008).** Evaluation of the DG29 test for early detection of pregnancy in cattle. *The Canadian Veterinary Journal*, 49(11), 1119.
 90. **Patel, M. D., Parmar, S. C., Patel, A. S., Makwana, P. P., Rajput, M. B., Patel, J. H., & Patel, A. G. (2016).** Early pregnancy diagnosis in dairy animals. *International Journal of Agriculture Sciences*, ISSN, 0975-3710.
 91. **Perera, B. M. A. O. (2008).** Reproduction in domestic buffalo. *Reproduction in Domestic Animals*, 43, 200-206.
 92. **Perry, J. S. (1981).** The mammalian fetal membranes. *Reproduction*, 62(2), 321-335.
 93. **Piechotta, M., Bollwein, J., Friedrich, M., Heilkenbrinker, T., Passavant, C., Branen, J., ... & Bollwein, H. (2011).** Comparison of commercial ELISA blood tests for early pregnancy detection in dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 57(1), 72-75.
 94. **Pieterse, M. C., Szenci, O., Willemse, A. H., Bajcsy, C. S. A., Dieleman, S. J., & Taverne, M. A. M. (1990).** Early pregnancy diagnosis in cattle by means of linear-array

Références bibliographiques

- real-time ultrasound scanning of the uterus and a qualitative and quantitative milk progesterone test. *Theriogenology*, 33(3), 697-707.
95. **Point, F. (2007)**. Contribution à l'étude de la détection des chaleurs par vidéosurveillance chez la vache laitière (comparaison avec les profils de progestérone) (Doctoral dissertation).
96. **Purohit, G. (2010)**. Methods of pregnancy diagnosis in domestic animals: The current status.
97. **Racewicz, P., Sickinger, M., Włodarek, J., & Jaśkowski, J. M. (2016)**. Ultrasonographic diagnosis of early pregnancy in cattle using different ultrasound systems. *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere/Nutztiere*, 44(03), 151-156.
98. **Rashmi, S., Sahadev, A., Swamy, M. N., Ravindranath, B. M., Santhosh, C. R., Kumar, S. N., & Nagaraja, B. N. (2020)**. Comparative evaluation of early pregnancy diagnostic methods in dairy cows. *Int J Livestock Res*, 10(5), 71-77.
99. **Real, L. M. M., Valencia, G. L., Corral, A., Rentería, T., Evangelista, A. D. L. M. V., & Quintero, S. S. (2006)**. Evaluation of ultrasound for pregnancy diagnosis between 20- and 40-days post insemination in dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(11), 949-951.
100. **Reimers, T. J., Smith, R. D., & Newman, S. K. (1985)**. Management factors affecting reproductive performance of dairy cows in the northeastern United States. *Journal of Dairy Science*, 68(4), 963-972.
101. **Ricci, A., Carvalho, P. D., Amundson, M. C., Fourdraine, R. H., Vincenti, L., & Fricke, P. M. (2015)**. Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of Holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *Journal of dairy science*, 98(4), 2502-2514.
102. **Roberts, R. M., Cross, J. C., & Leaman, D. W. (1992)**. Interferons as hormones of pregnancy. *Endocrine Reviews*, 13(3), 432-452.
103. **Romano, J. E. (2004)**. Early pregnancy diagnosis and embryo/fetus mortality in cattle. Texas A&M University.
104. **Romano, J. E., & Larson, J. E. (2010)**. Accuracy of pregnancy specific protein-B test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Theriogenology*, 74(6), 932-939.
105. **Romano, J. E., Bryan, K., Ramos, R. S., Velez, J., & Pinedo, P. (2016)**. Effect of early pregnancy diagnosis by per rectum amniotic sac palpation on pregnancy loss, calving rates, and abnormalities in newborn dairy calves. *Theriogenology*, 85(3), 419-427.

Références bibliographiques

106. **Romano, J. E., Thompson, J. A., Forrest, D. W., Westhusin, M. E., Tomaszewski, M. A., & Kraemer, D. C. (2006).** Early pregnancy diagnosis by transrectal ultrasonography in dairy cattle. *Theriogenology*, 66(4), 1034-1041.
107. **Sasser, R. G., & Ruder, C. A. (1987).** Detection of early pregnancy in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl*, 34, 261-271.
108. **Sasser, R. G., Ruder, C. A., Ivani, K. A., Butler, J. E., & Hamilton, W. C. (1986).** Detection of pregnancy by radioimmunoassay of a novel pregnancy-specific protein in serum of cows and a profile of serum concentrations during gestation. *Biology of Reproduction*, 35(4), 936-942.
109. **Semambo, D. K. N., Eckersall, P. D., Sasser, R. G., & Ayliffe, T. R. (1992).** Pregnancy-specific protein B and progesterone in monitoring viability of the embryo in early pregnancy in the cow after experimental infection with *Actinomyces pyogenes*. *Theriogenology*, 37(3), 741-748.
110. **Sheldon, M., & Noakes, D. (2002).** Pregnancy diagnosis in cattle. In *Practice*, 24(6), 310-317.
111. **Silke, V., Diskin, M. G., Kenny, D. A., Boland, M. P., Dillon, P., Mee, J. F., & Sreenan, J. M. (2002).** Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 71(1-2), 1-12.
112. **Silva, E., Sterry, R. A., Kolb, D., Mathialagan, N., Mcgrath, M. F., Ballam, J. M., & Fricke, P. M. (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*, 90(10), 4612-4622.
113. **Silva, L. (2012).** Recherche de marqueurs précoces de la gestation dans les cellules immunitaires circulantes chez les ruminants (Doctoral dissertation).
114. **Sinedino, L. D. P., Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Cerri, R. L. A., & Santos, J. E. P. (2014).** Effect of early or late resynchronization based on different methods of pregnancy diagnosis on reproductive performance of dairy cows. *Journal of dairy science*, 97(8), 4932-4941.
115. **Singh, G. (2020).** Recent Advances In The Detection Of Pregnancy In Bovine: Mini Review. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(7), 3986-3991.
116. **Sousa, N. M., Gonzalez, F., Karen, A., El Amiri, B., Sulon, J., Baril, G., ... & Beckers, J. F. (2004).** Diagnostic et suivi de gestation chez la chèvre et la brebis. *Renc. Rech. Ruminants*, 11, 377-380.

Références bibliographiques

117. **Sousa, N. M., Zongo, M., Pitala, W., Boly, H., Sawadogo, L., Sanon, M., ... & Beckers, J. F. (2003).** Pregnancy-associated glycoprotein concentrations during pregnancy and the postpartum period in Azawak Zebu cattle. *Theriogenology*, 59(5-6), 1131-1142.
118. **Szenci, O. (2015).** Recent possibilities for the diagnosis and pharmacological control of pregnancy loss in dairy cow. *J. Life Sci. (Libertyville)*, 9, 171-180.
119. **Szenci, O., Beckers, J. F., Humblot, P., Sulon, J., Sasser, G., Taverne, M. A. M., ... & Schekk, G. (1998).** Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50(1), 77-88.
120. **Szenci, O., Beckers, J. F., Sulon, J., Bevers, M. M., Börzsönyi, L., Fodor, L., ... & Taverne, M. A. M. (2003).** Effect of induction of late embryonic mortality on plasma profiles of pregnancy associated glycoprotein 1 in heifers. *The Veterinary Journal*, 165(3), 307-313.
121. **Szenci, O., Cyulai, G., Nagy, P., Kovács, L., Varga, J., & Taverne, M. A. M. (1995).** Effect of uterus position relative to the pelvic inlet on the accuracy of early bovine pregnancy diagnosis by means of ultrasonography. *Veterinary Quarterly*, 17(1), 37-39.
122. **Szenci, O., Humblot, P., Beckers, J. F., Sasser, G., Sulon, J., Baltusen, R., ... & Taverne, M. A. M. (2000).** Plasma profiles of progesterone and conceptus proteins in cows with spontaneous embryonic/fetal mortality as diagnosed by ultrasonography. *The Veterinary Journal*, 159(3), 287-290.
123. **Taverne, M., & Noakes, D. E. (2009).** Parturition and the care of parturient animals, including the newborn. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 9th edition. Edinburgh, UK: Saunders (Elsevier), 154-193.
124. **Touzard, E., Reinaud, P., Dubois, O., Guyader-Joly, C., Humblot, P., Ponsart, C., & Charpigny, G. (2013).** Specific expression patterns and cell distribution of ancient and modern PAG in bovine placenta during pregnancy. *Reproduction*, 146(4), 347-362.
125. **Warnick, L. D., Mohammed, H. O., White, M. E., & Erb, H. N. (1995).** The relationship of the interval from breeding to uterine palpation for pregnancy diagnosis with calving outcomes in Holstein cows. *Theriogenology*, 44(6), 811-825.
126. **Whitlock BK, Maxwell HS (2008).** Pregnancy associated glycoproteins and pregnancy wastage in cattle. *Theriogenol.* 70: 550–559.

Références bibliographiques

127. **Whittier, J. C. (1993).** Reproductive Anatomy and Physiology of the Cow (1993). Extension publications (MU).
128. **Wooding, F. B. P. (1992).** The synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta*, 13(2), 101-113.
129. **Youngquist, R. S., & Threlfall, W. R. (2006).** Current Therapy in Large Animal Theriogenology-E-Book. Elsevier Health Sciences.
130. **Zoli, A. P., Guilbault, L. A., Delahaut, P., Ortiz, W. B., & Beckers, J. F. (1992).** Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biology of Reproduction*, 46(1), 83-92.