

PARTENAIRE Repro

MAGAZINE D'INFORMATION
EN REPRODUCTION BOVINE DE MSD SANTÉ ANIMALE

MAG

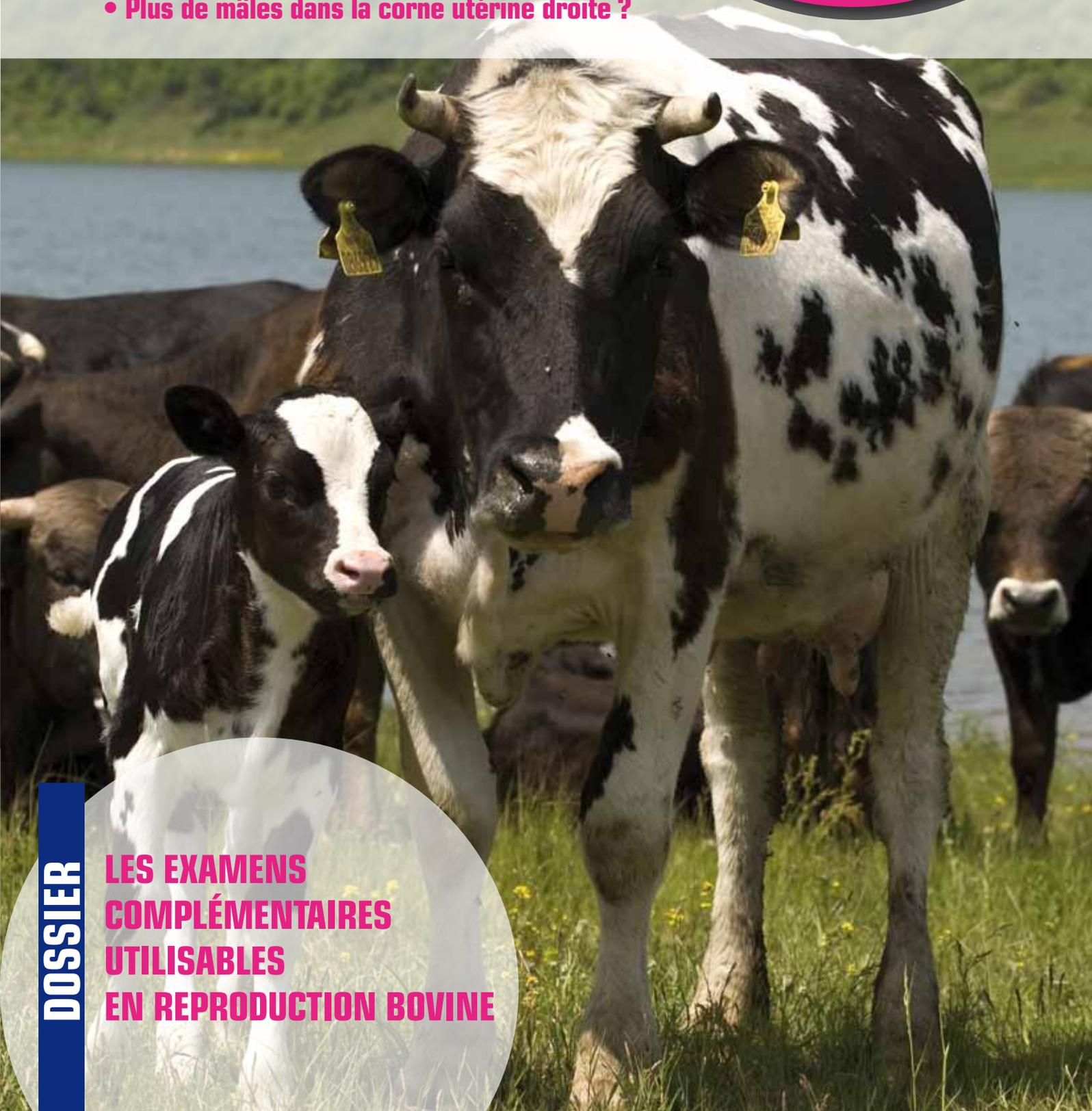
Numéro 16

Au sommaire :

- Les voies d'amélioration du protocole GPG
- Plus de mâles dans la corne utérine droite ?

DOSSIER

**LES EXAMENS
COMPLÉMENTAIRES
UTILISABLES
EN REPRODUCTION BOVINE**





SOMMAIRE

03 ÉDITO

04 SYNCHRONISATION LE PROTOCOLE GPG, UNE SOLUTION POUR L'INSÉMINATION SANS DÉTECTION DES CHALEURS

10 DOSSIER LES EXAMENS COMPLÉMENTAIRES EN REPRODUCTION BOVINE

24 PHYSIOLOGIE CHEZ LES BOVINS, PLUS DE MÂLES POUR LES GESTATIONS DANS LA CORNE DROITE ?

32 LE SAVIEZ-VOUS ? QUELQUES CHIFFRES

Partenaire Repro Mag' Décembre 2015 - MSD Santé Animale

Rédacteur en chef : René FOURNIER

Ont collaboré à ce numéro : Dr Yves FOUQUE, Dr Dominique CHAMPENOIS,
Dr Guillaume BELBIS, Pr Sylvie CHASTANT-MAILLARD

Relecture : Arnaud RÉBILLARD

Réalisation : Christine BESSON

GÉRER POUR GAGNER !

Et si, à l'heure où chacun cherche à trouver ou conforter sa place dans les élevages laitiers de demain, le vétérinaire œuvrait pour une meilleure reprise de la cyclicité des VLHP ?

En effet, le suivi de reproduction proposé par le vétérinaire est dans les faits davantage un suivi de troupeau. Facturé 3 euros par 1000 litres de lait (par vache et par an)*, il peut vite faire gagner beaucoup plus à l'éleveur. A fortiori avec la meilleure accessibilité actuelle aux données globales du troupeau via certaines passerelles entre logiciels qui rend possible une analyse facile et pertinente.

Ce suivi par le praticien est de nature à améliorer ou favoriser :

- la maîtrise du tarissement via un rationnement adapté et des contrôles biologiques (AGNE, pH urinaire...)
- la gestion de la transition du début de lactation et de la concentration énergétique avec des points de contrôle biologiques (test acétone, glycémie,...) et physiques (notes d'état corporel (NEC) et de remplissage du rumen)
- le traitement précoce – et donc plus efficace – des métrites et endométrites.

Ces actions participent largement à une reprise de cyclicité plus précoce ; au besoin, une « aide hormonale » pourra être mise en place pour accélérer davantage cette reprise.

Le suivi régulier de l'auge au « cul de la vache » assure une bonne vision globale du troupeau et permet rapidement de gagner, entre autres, quelques jours au niveau de l'intervalle vêlage – vêlage (IVV). Sachant qu'un jour gagné au-delà de 400 jours d'IVV peut rapporter jusqu'à 3 euros/vache, le retour sur investissement est rapide pour l'éleveur.

Par ailleurs, ce suivi est également bénéfique dans la mesure où :

- il améliore la valorisation du produit lait (TP, TB, leucocytes), ce poste pouvant coûter jusque plus de 80 euros/1000 litres de lait !
- il contribue à une meilleure efficacité alimentaire et à l'amélioration de la stratégie d'utilisation des fourrages, ce poste pouvant varier de plus de 90 euros par 1000 litres de lait !

Alors, n'hésitons pas/plus à parler chiffres et retour sur investissement de notre travail !

(*à raison de 24€ par vache et par an, pour une production moyenne de 8000 litres de lait par an ; le poste comptable « vétérinaire » coûte en moyenne 15 euros/1000 l sur les 350 euros/1000 l de coût de revient moyen du lait).

Dr Yves Fouqué,
Vétérinaire à Lecousse (35)



« ... n'hésitons pas à parler retour sur investissement de notre travail »



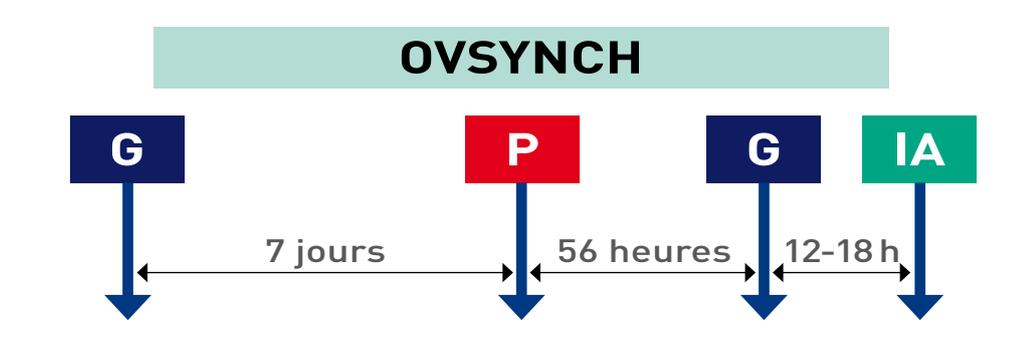
LE PROTOCOLE GPG, UNE SOLUTION POUR L'INSÉMINATION SANS DÉTECTION DES CHALEURS

Le protocole GPG (« Ovsynch », figure 1) est une méthode de synchronisation permettant l'insémination à temps fixe sans détection des chaleurs. Il garantit en effet une bonne synchronisation entre ovulation et insémination, condition sine qua non à la réalisation d'une insémination programmée efficace. Néanmoins, le protocole présente certaines limites et les facteurs influençant son efficacité sont bien connus. En condition optimale, le GPG permettrait même l'obtention de taux de gestation pouvant dépasser ceux obtenus chez la vache laitière inséminée sur chaleur naturelle.



*Dr Dominique Champenois
Vétérinaire à Saint Marcel (56)*

Figure 1: Représentation schématique de la chronologie des injections dans le cadre du protocole OVSYNCH (G = GnRH, P = Prostaglandine F2 α , IA = Insémination artificielle).



Objectif N°1 : Synchroniser, une histoire de follicule dominant

Le taux de synchronisation représente la proportion d'animaux soumis au protocole hormonal qui ovuleront au moment voulu. Obtenir un bon taux de synchronisation est l'essence même d'un protocole de reproduction. Dans cet objectif, l'état de cyclicité préalable de l'animal est un paramètre essentiel. Cartmill et al. (2001) ont mesuré les concentrations sériques en progestérone au cours des semaines précédant le démarrage du GPG ou de certaines de ses variantes. Les animaux présentant des concentrations au moins une fois supérieures à 1ng/ml étaient considérés comme cyclés. Ces derniers obtenaient les meilleurs taux de synchronisation.

Pour synchroniser l'ovulation chez la vache (même cyclée), il est important d'agir bien avant le jour de l'IA. En effet, avant de parvenir à un stade autorisant l'ovulation, le follicule doit passer par différentes étapes dont les dernières sont regroupées dans un processus appelé vague folliculaire. Ces vagues folliculaires se succèdent sans répit chez la femelle cyclée en débutant par le recrutement de multiples follicules. Chaque vague se conclut par la sélection d'un seul follicule apte à ovuler, le follicule dominant. Synchroniser l'ovulation implique donc, dans une certaine mesure, de contrôler le moment de départ d'une nouvelle vague folliculaire.



Dans le cas du GPG, la méthode employée pour synchroniser cette vague est d'éliminer l'élément empêchant son départ, c'est-à-dire le follicule dominant. Il s'agit là précisément du rôle de la 1^{ère} injection de GnRH du GPG qui, par son effet LH indirect, provoque la fin de la vague en cours, en lutéinisant le follicule dominant (à condition que l'injection initiale de GnRH soit réalisée en présence d'un follicule dominant). Une nouvelle vague débute alors dans les 48 heures après l'injection de GnRH.

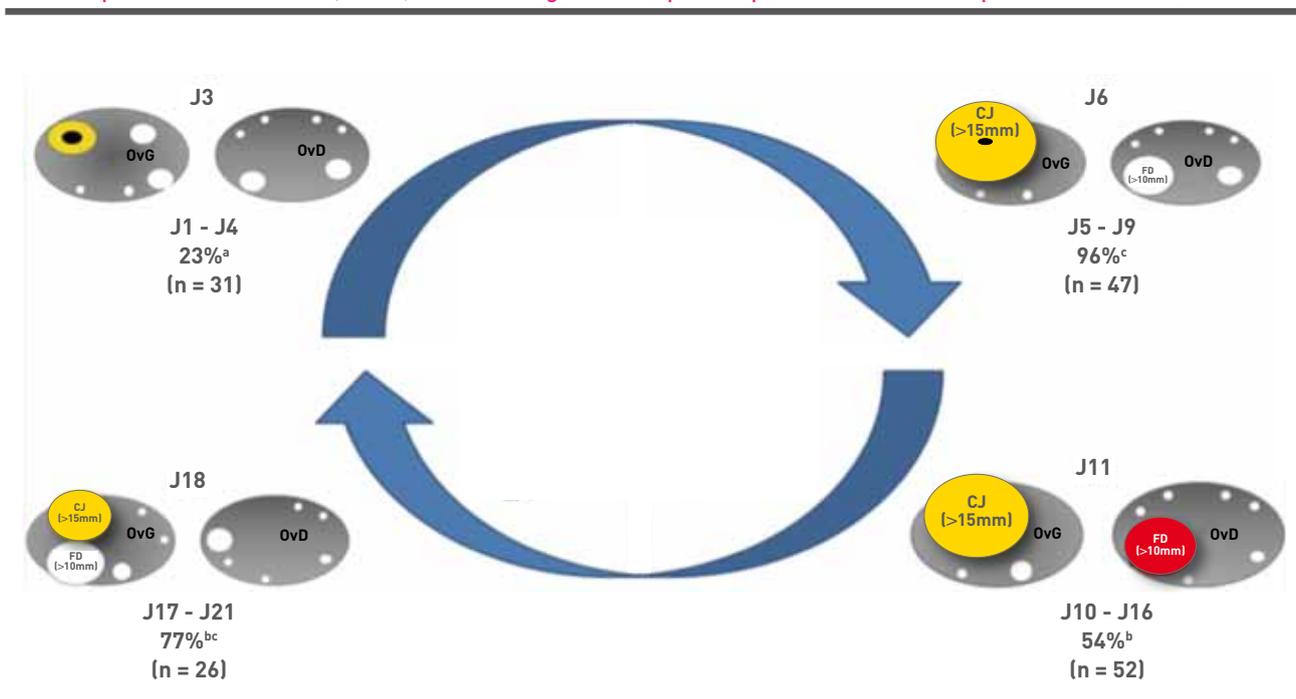
Les taux de synchronisation obtenus grâce au GPG vont de **70 à 85%** lorsque le protocole est appliqué sur des animaux à tous stades œstraux (Wiltbank et al., 2011). Néanmoins lorsqu'une ovulation en réaction à la 1^{ère} injection de LH est observée, les taux de synchronisation s'avèrent nettement supérieurs. Vasconcelos et al. (1999) ont ainsi observé un taux de synchronisation global de 87%. Néanmoins, les taux variaient de 92% à 79% selon que les animaux ovulaient ou non en réaction à la 1^{ère} injection (tableau 1).

Tableau 1 : Taux de synchronisation de vaches soumises à la méthode GPG en fonction de l'induction ou non d'une ovulation suite à la première injection du protocole (d'après Vasconcelos et al, 1999).

Ovulation après la 1 ^{ère} GnRH	Taux de synchronisation
Non	0,79
Oui	0,92
Total	0,87

Lors de l'injection de GnRH, la présence d'un follicule dominant en croissance constitue une condition indispensable pour obtenir l'ovulation. Ainsi, l'injection d'une GnRH à des stades œstraux aléatoires provoque une ovulation chez seulement **50 à 70%** des animaux. Néanmoins, si l'injection initiale de GnRH est appliquée entre les jours 5 à 9 du cycle, 96% des animaux ovulent (Vasconcelos et al., 1999 ; figure 2). Cette période coïncide en effet avec une forte probabilité de présence d'un follicule dominant ; de nombreuses autres publications font état de meilleurs taux de synchronisation lorsque le protocole est démarré à ce stade (Bello et al., 2006 ; Wiltbank et al., 2011 ; Wiltbank and Pursley, 2014).

Figure 2 : Taux de synchronisation de vaches soumises à la méthode GPG en fonction du jour du cycle au démarrage du GPG (d'après Vasconcelos et al, 1999 ; différence significative ($p < 0.05$) pour des lettres en exposant différentes).



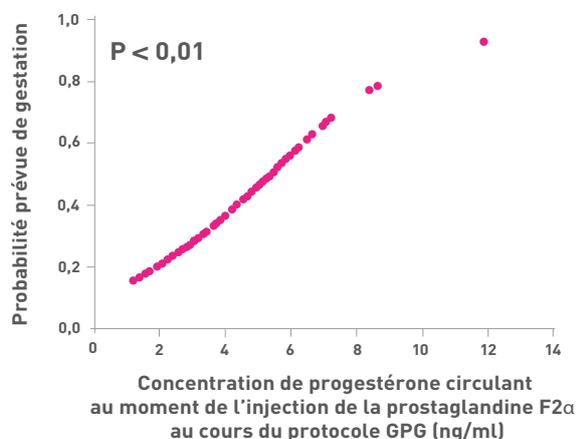


Objectif N°2 : Synchroniser mais aussi et surtout féconder

Le taux de synchronisation constitue donc un facteur important influençant les résultats obtenus. Néanmoins, plus que synchroniser, il faut féconder ! L'efficacité globale de la méthode GPG se mesure à sa capacité à produire des animaux gestants. Les taux de réussite à l'IA (nombre de gestations/nombre d'IA) obtenus seraient de l'ordre de **30 à 45%** selon les élevages. Ces taux sont similaires à ceux obtenus sur chaleurs naturelles, voire un peu plus faibles (Pursley et al., 1997a, 1997b ; Bisinotto et al., 2014). Cette diminution s'explique par les 15 à 30% d'animaux non synchronisés par le GPG.

Outre le taux de synchronisation, d'autres facteurs influencent les taux de réussite à l'IA. Néanmoins, Giordano et al. (2006) confirment que le taux d'ovulation (en réaction à la 1^{ère} GnRH) constitue la pierre angulaire de l'efficacité de la méthode. Il est en effet observé que plus les concentrations sériques en progestérone mesurées 7 jours après la 1^{ère} injection de GnRH sont élevées, plus le taux de réussite à l'IA augmente (figure 3). Les progestéronémies supérieures en cas d'injection de la GnRH entre J5 et J9 résultent d'une part du volume plus important de tissu lutéal suite à l'ovulation du follicule dominant et la formation d'un corps jaune accessoire (voir aussi à ce sujet l'encadré 1 sur l'influence de la production laitière sur la progestéronémie). Et d'autre part, de la présence jusqu'à l'injection de PGF2 α du corps jaune primaire, spontané, présent au début du protocole.

Figure 3 : Probabilité de gestation en fonction des concentrations sériques en progestérone mesurées lors de l'injection de PGF2 α du protocole GPG (Bello et al., 2006)



Encadré 1 : Production de lait, progestérone et fertilité

L'augmentation de la productivité est régulièrement avancée comme une des causes de la diminution des taux de réussite à l'IA et de l'expression des chaleurs chez les vaches en lactation. Plus précisément, il s'agirait de l'augmentation de l'ingestion des vaches à haut potentiel laitier qui en serait l'explication. En effet, il existe une corrélation positive entre flux sanguin hépatique et matière sèche ingérée. Or, ce flux sanguin hépatique supérieur, dû à une ingestion plus importante, est à l'origine d'un catabolisme hépatique plus élevé des œstrogènes et de la progestérone. Il en résulte des concentrations sériques en œstrogènes et progestérone inférieures chez les animaux ayant les ingestions les plus élevées et donc un risque accru de diminution de la fertilité et de l'expression des chaleurs (Wiltbank et coll., 2006).





Quand recourir au GPG en pratique ?

L'efficacité du protocole GPG sur les animaux non cyclés est insuffisante. L'absence de cyclicité s'avérant être la 1^{ère} cause d'anœstrus chez les bovins de races allaitantes, l'utilisation « aveugle » du GPG sans présélection des animaux cyclés n'est pas recommandable sur ce type de femelles. De plus, le GPG n'est pas recommandé non plus sur les génisses. Une forte baisse de la fertilité est en effet observée du fait d'un manque de réponse à la synchronisation (Purlsey et al. 1997b ; Riveira et al., 2004, tableau 2).

Tableau 2 : Taux de réussite à l'IA obtenus sur des vaches et génisses après insémination sur chaleur observée (témoins) et ou après méthode GPG (Ovsynch) selon Purlsey et al., 1997b.

	Taux de réussite à l'IA		p
	Témoins	Méthode GPG	
	%		
Vaches	38,9 (n = 154)	37,8 (n = 156)	> 0,10
Génisse	74,4 (n = 78)	35,1 (n = 77)	< 0,01
p	< 0,01	> 0,10	

Chez les vaches laitières, la présence d'une cyclicité n'est pas un frein majeur, la problématique de la détection/expression du comportement de chaleur dominant clairement le tableau. Dans ce contexte, le principal argument du GPG est d'assurer l'insémination sous 10 jours en ne détériorant pas ou peu la fertilité. Ni la détection des chaleurs, même aidée d'un système de mesure de l'activité, ni l'utilisation d'autres protocoles hormonaux n'amène cette garantie.

Pour exemple, les prostaglandines, injectées sur des femelles cyclées à tous stades du cycle œstral, aboutissent à une ovulation dans les jours qui suivent chez environ 66% des animaux. Appliquées sur des animaux porteurs d'un corps jaune fonctionnel, elles permettent une ovulation entre 2 et 5 jours plus tard sur plus de 90% des animaux (Leblanc, 2003). Néanmoins, au même titre que lors d'une ovulation « naturelle » non contrôlée par l'injection d'une PGF2 α , l'ensemble des animaux ne manifestent pas nécessairement les chaleurs. De surcroît, la réalisation d'une insémination à temps fixe sans détection des chaleurs n'est pas envisageable sans détériorer fortement les taux de conception (Stevenson et., 1987). L'insémination reste donc dans ces conditions fortement tributaire de la détection des chaleurs !

L'apport de l'échographie ovarienne

Le GPG s'affirme comme un traitement utilisable pour l'anœstrus de détection (vaches cyclées sans chaleurs exprimées ou observées). Dans ce cadre, une sélection préalable des animaux présentant des signes de cyclicité à la palpation ou à l'examen échographique du tractus vaginal et des ovaires est recommandée. La présence d'un corps jaune fonctionnel et/ou d'une tonicité utérine associée à la présence d'un follicule dominant indiquent une plus forte probabilité de réponse au GPG.

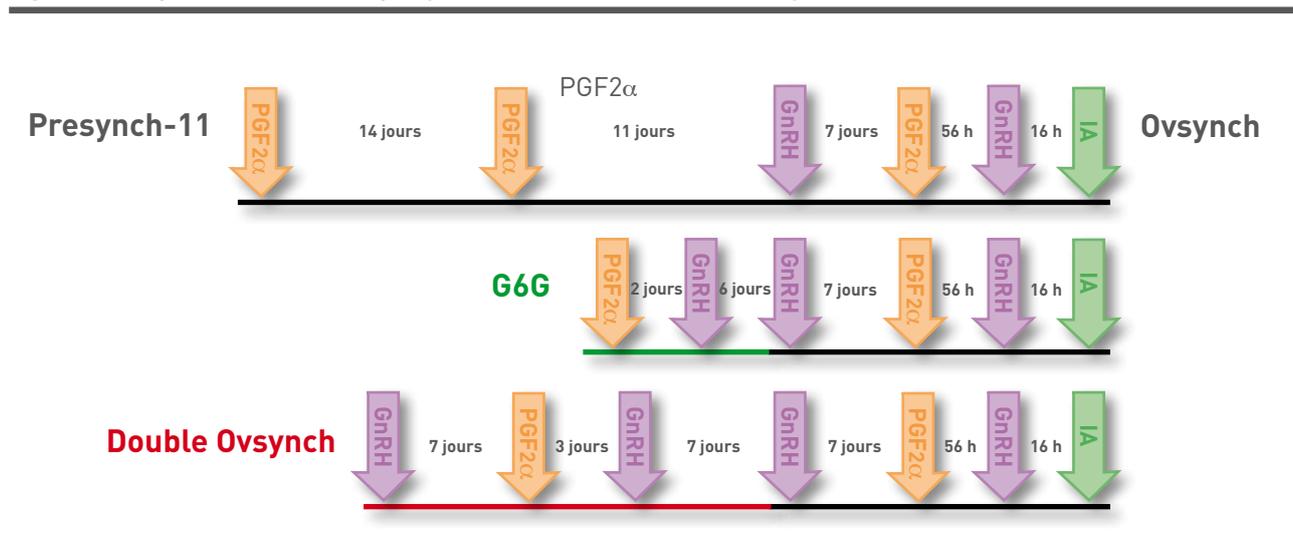
Les animaux présentant l'image d'un follicule dominant (>10mm) et d'un corps jaune actif (> 15mm) sembleraient être encore de meilleurs candidats pour la mise en place du GPG (situation observée notamment entre J5 et J9 du cycle). Néanmoins il s'agit là d'une extrapolation. L'examen échographique ne peut garantir que, bien que présent, le follicule dominant n'est pas entré dans une phase d'atrésie le rendant incapable de se lutéiniser. De même, il ne peut garantir que le corps jaune n'a pas cessé depuis peu sa production de P4 en réaction à la sécrétion de PGF2 α par l'utérus. Cette sélection par échographie est donc d'un apport certain pour la réalisation d'un diagnostic de cyclicité. Elle comporte par contre des limites quant à l'identification du stade du cycle le plus opportun pour démarrer le protocole.



Présynchroniser pour optimiser les résultats du GPG

Pour optimiser les résultats du GPG, une présynchronisation peut être réalisée (figure 4). Le principe de cette présynchronisation est de soumettre les animaux à un premier protocole dont le but essentiel sera de synchroniser les animaux. Le GPG peut ensuite être démarré au jour le plus opportun du cycle (J5-9).

Figure 4 : Les protocoles GPG avec présynchronisation (Wiltbank et Pursley, 2014)



Il en résulte un taux de synchronisation et des concentrations sériques en progestérone élevés lors de l'injection de PGF2α pour les animaux soumis au protocole. Les taux de réussite à l'IA en résultant dépasseraient même, dans certains cas, de **5 à 15%** les taux obtenus sur chaleurs observées (Bello et coll., 2006 ; Herlihy et coll., 2012 ; Souza et coll., 2008 ; Wiltbank et coll., 2014a, tableau 3). Ces protocoles présentent néanmoins le désavantage d'être longs (18, 27 et 35 jours respectivement pour le G-6-G, le Double Ovsynch et le Presynch-Ovsynch contre 10 jours pour l'Ovsynch). Leur utilisation est dès lors peu envisageable dans une approche individuelle pour la soumission à l'IA des animaux retardataires (vaches non-gestantes ou dont la période d'attente serait déjà fortement prolongée). Par contre, appliqués systématiquement à tous les animaux, ils constituent une solution de choix pour la soumission à la première IA.

Tableau 3 : Performances comparées des protocoles GPG présynchronisés et de la fertilité sur chaleur naturelle par rapport au GPG simple

Méthode	Durée	Taux de réussite de l'IA	Références
Ovsynch	10 j	Référence	
Chaleur " naturelle " observée	21 j x Taux de soumission à l'IA	+0% à +10%	Pursley et coll., 1995 Pursley et coll., 1997 Santos, 2012
Ovsynch sélection échographique	10 j	?	
Ovsynch + P4 exogène	10 j	+ 0% (si cyclées) + 10% (si non cyclées)	Bisinotto et coll., 2013 Bisinotto et coll., 2015(a) Bisinotto et coll., 2015(b)
Presynch - Ovsynch	35 j	+ 5 à 10%	Santos, 2012
G-6-G	18 j	+ 10 à 15%	Bello et coll., 2006 Santos, 2012
Double Ovsynch	27 j	+ 12 à 15%	Herlihy et coll., 2012 Santos, 2012



ECHOGRAPHIE

par Sylvie CHASTANT MAILLARD

Bibliographie

BELLO NM, STEIBEL JP, PURSLEY JR. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006 Sep;89(9):3413-24

BISINOTTO RS, RIBEIRO ES, SANTOS EP. Synchronisation of ovulation for management of reproduction in dairy cows. *Animal.* 2014 May;8 Suppl 1:151-9

LEBLANC S. Outils de gestion de la reproduction. Symposium sur les bovins laitiers. CRAAQ. 30 OCT. St Hyacinthe, Québec, Canada. 2003

PURSLEY JR, KOSOROK MR, WILTBANK MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 1997a Feb;80(2):301-6

PURSLEY, J. R., M. C. WILTBANK, J. S. STEVENSON, J. S. OTTOBRE, H. A. GARVERICK, AND L. L. ANDERSON. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 1997b Nov;8:295-300

RIVEIRA H, LOPEZ H., FRICKE PM. Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI or AI after removed tail chalk. *J. Dairy Sci.* 2004 Juil ; 87:2051-2061

VASCONCELOS JL, SILCOX RW, ROSA GJ, PURSLEY JR, WILTBANK MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 1999 Oct 15;52(6):1067-78

WILTBANK MC, LOPEZ H, SARTORI R, SANGSRITAVONG S, GÜMEN A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology.* 2006 Jan 7;65(1):17-29

WILTBANK MC, SARTORI R, HERLIHY MM, VASCONCELOS JLM, NASCIMENTO AB, SOUZA AH, AYRES H, CUNHA AP, KESKIN A, GUENTHER JN, GÜMEN A. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 2011 Dec 9; 76(9): 1568-1582

WILTBANK MC, PURSLEY JR. The cow as an induced ovulator: timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology.* 2014 (a) Jan 1;81(1):170-85

Un éleveur de bovins Blanc Bleu Belge souhaite vendre une vache de son troupeau inséminée il y a 102 jours et déjà diagnostiquée gestante. Il aimerait pouvoir informer l'acheteur du sexe du veau à naître. L'image obtenue lors de l'examen échographique est présentée ci-dessous (sonde linéaire par voie transrectale, Unité de Reproduction, ENVT. Echographe MyLabOne, ESAOTE France).



A ce stade de gestation, le sexage repose sur la visualisation chez le mâle du pénis en arrière de l'insertion du cordon ombilical dans l'abdomen et/ou du scrotum entre les membres postérieurs ; chez la femelle, ces deux structures sont absentes et entre les postérieurs, on met en évidence quatre bourgeons mammaires (4 spots hyperéchogènes formant un rectangle ou un trapèze ; voir *ReproMag* numéro 8). Si la vache avait été présentée entre 60 et 80 jours, le sexage aurait été effectué sur la base de la position du tubercule génital, zone hyperéchogène en forme de signe « = » situé soit derrière le cordon (en tant que précurseur du pénis et du fourreau) chez le mâle, soit sous la queue (puisque destiné à donner la vulve et le clitoris) chez la femelle.

La plus grande difficulté du sexage est le positionnement adéquat de la sonde par rapport au fœtus. Contrairement au diagnostic de gestation, où la sonde va rester sur la partie supérieure de l'utérus, plongeant éventuellement verticalement cranialement aux cornes, avec un plan échographique en général vertical, lors du sexage, la sonde peut être positionnée de façon très différente, échographiant dans un plan horizontal, la sonde placée latéralement, voire sous les cornes. L'objectif est de se rapprocher du fœtus à sexer et de s'adapter à sa position. Lors de sexage tardif, repérer le cordon ombilical est la première étape : en coupe transversale (deux sont visible sur l'image), il apparaît sous une forme circulaire, avec une paroi échogène entourant quatre zones circulaires anéchogènes (artères et veine ombilicales et canal de l'ouraque). On peut suivre assez facilement cette image caractéristique jusqu'à son insertion en partie ventrale de l'abdomen. Sur l'image, apparaît alors une masse hyperéchogène collée caudalement au cordon : il s'agit du pénis. **Le fœtus est donc un mâle.**



« Avec les protocoles GPG présynchronisés, des taux de réussite à l'IA jusque 5 à 15% supérieurs à la fertilité naturelle »



LES EXAMENS COMPLÉMENTAIRES UTILISABLES EN REPRODUCTION BOVINE

La maîtrise de la reproduction est souvent difficile sur le terrain : avant d'aboutir à la naissance d'un veau, la détérioration de plusieurs paramètres (délai entre le vêlage et la 1^{ère} insémination ; détection de l'œstrus ; délai de détection des vaches non gestantes ne revenant pas en chaleur, etc...) et la présence de différentes affections (endométrite, cétose, hypocalcémie, ...) ou troubles alimentaires (déficit énergétique, excès d'azote soluble alimentaire,...) peuvent conduire à un allongement de l'intervalle entre deux vêlages, et à une détérioration de la reproduction dans un troupeau.

Différentes analyses sont accessibles pour le praticien afin de détecter certains troubles collectifs ayant un impact sur la reproduction, pour permettre d'améliorer le taux de réussite lors d'insémination artificielle, ou encore pour permettre une détection de la gestation la plus précoce possible : cet article se propose de recenser les principales, et de présenter leurs modalités d'utilisation.



Guillaume Belbis⁽¹⁾
[gbelbis@vet-alfort.fr]

Sarah El-Bay⁽²⁾,
Fabienne Constant⁽²⁾,
Vincent Mauffré⁽²⁾

⁽¹⁾EnvA, Pathologie des animaux de production et Hospitalisations Grands Animaux, Maisons-Alfort
⁽²⁾EnvA, Reproduction Animale, Maisons-Alfort

1 - Avant et après le vêlage – Détecter les affections du postpartum pour optimiser l'intervalle vêlage – 1^{ère} insémination

De très nombreuses affections du postpartum (infection et inflammation utérines, affections métaboliques comme la cétose ou l'hypocalcémie, qu'elles soient cliniques ou subcliniques, etc.) sont à l'origine d'une détérioration des performances de reproduction dans un troupeau en allongeant l'intervalle entre le vêlage et la 1^{ère} insémination ; les examens complémentaires permettant l'évaluation de certaines de ces affections sont utiles pour améliorer la détection et la gestion de ces affections dans les troupeaux.

• **Evaluation avant vêlage du risque de déficit énergétique et de cétose : les acides gras non estérifiés (AGNE)**

- Le contexte

Le dosage des AGNE permet d'estimer le degré de lipomobilisation en pré- ou postpartum. Plusieurs études révèlent qu'une augmentation des AGNE pré-partum est associée à une augmentation du risque de développement de rétention placentaire (Chapinal et al., 2011), de métrite (Ospina et al., 2010a), et est corrélée avec l'hypocalcémie subclinique.



Les outils disponibles

Ce dosage est actuellement réservé aux laboratoires d'analyse et n'est pas disponible directement pour le praticien. Le prix de ces analyses auprès du Labéo Franck Duncombe est d'environ 12€ HT, les résultats étant rendus 24 heures plus tard.



Un spectrophotomètre, permettant le dosage des AGNE, était il y a peu disponible pour le vétérinaire (DVM NEFA Test, Veterinary Diagnostics, Newburn, Wisconsin, USA), mais celui-ci n'est désormais plus produit. Un photomètre équivalent au DVM NEFA Test est disponible en Allemagne, et peut être utilisé en pratique : il s'agit du VetPhotometer (Quidee, Allemagne ; photo 1). L'analyse peut être réalisée sur sérum ou sur plasma, et le dosage est réalisé en environ 20 minutes. L'analyseur coûte 650€ HT, les réactifs 3,60€ HT pour un dosage. La corrélation entre les dosages du VetPhotometer et le dosage des AGNE au Labéo Franck Duncombe est excellente ($r^2=0,93$) même si le photomètre semble légèrement sous-évaluer les valeurs (Chastant-Maillard, communication personnelle). Enfin, cet analyseur permet également de doser le calcium, les lactates et le magnésium.



© S. Chastant

Photo 1. Le photomètre VetPhotometer peut être utilisé par le vétérinaire pour doser les AGNE (Acides Gras Non Estérifiés)



Comment bien les utiliser en pratique ?

Le dosage des AGNE, dans le cadre évoqué dans cet article, est un dosage à raisonner à l'échelle du troupeau : l'échantillonnage des animaux à prélever est essentiel pour obtenir une image fiable du risque de déficit énergétique. Les analyses devraient porter sur une douzaine d'animaux du troupeau, afin de pouvoir interpréter en termes de proportion d'animaux supérieurs au seuil (les valeurs de seuil seront évoquées par la suite). Si l'échantillon est de taille insuffisante (en raison de la taille du troupeau essentiellement), l'utilisation de la proportion d'animaux supérieurs au seuil est difficile et il conviendra d'interpréter les résultats individuellement et non plus collectivement.

Plusieurs précautions doivent être mises en œuvre lors de la réalisation d'un dosage des AGNE. Tout d'abord, les prélèvements devraient être réalisés sur tube avec anticoagulant (classiquement héparinate de sodium) même si certains laboratoires travaillent sur tube sec (cas du Labéo Franck Duncombe), placés sur glace immédiatement après prélèvement, conservés à 4°C jusqu'à utilisation, et le plasma collecté dans les 24 heures après prélèvement. Les résultats obtenus lors d'hémolyse marquée du prélèvement doivent être interprétés avec précaution (augmentation ou diminution de la concentration en AGNE possible) : mieux, le prélèvement devrait être refait. Lors du dosage des AGNE pré-partum, les animaux testés devront se situer entre 14 et 3 jours avant le vêlage, les concentrations en AGNE n'augmentant que quelques jours avant le vêlage (LeBlanc et al., 2005) ; l'imprécision de la prédiction d'une date de vêlage à venir rend par conséquent son utilisation pratique difficile. Enfin, le moment de prélèvement par rapport au repas est important, les concentrations en AGNE étant généralement plus élevées d'environ 15% avant le repas (Quiroz-Rocha et al., 2010). Les AGNE sont néanmoins moins impactés que les corps cétoniques par le moment de prélèvement (les corps cétoniques fluctuent au cours de la journée et sont généralement à leur valeur maximale 4 à 5 heures après consommation de la ration (Oetzel, 2004)). Il est par conséquent recommandé de prélever les animaux juste avant le repas, afin d'améliorer la sensibilité de la détection (prélèvement au moment du pic d'AGNE).

Concernant les valeurs seuils de détection (valables lorsque les prélèvements sont réalisés avant le repas), de nombreuses études ont démontré que les valeurs seuils de concentration en AGNE en pré-partum avec la meilleure sensibilité et spécificité pour la prédiction des désordres du postpartum correspondent à une concentration de 0,3 à 0,5 mmol/L (ou mEq/L) ; les seuils utilisés sont de 0,7 à 1 mmol/L lorsque le dosage est réalisé sur des animaux juste après le vêlage (Ospina et al., 2010a ; Chapinal et al., 2011 ; Roberts et al., 2012). A l'échelle du troupeau, on considérera que le déficit énergétique peut avoir un effet préjudiciable lorsque la proportion d'animaux au-dessus du seuil dépasse 10, voire 15% des animaux testés (lorsque l'échantillonnage réalisé est suffisant).

EN RÉSUMÉ

Il est conseillé de prélever une douzaine de vaches, tarées, à moins de 15 jours du vêlage ; si plus de 10% de ces vaches présentent une concentration en AGNE supérieure à 0,4 mmol/L, un risque de cétose est présent dans le troupeau. Si des vaches sont prélevées le jour du vêlage ou à plus de 3 jours du vêlage, un seuil respectivement de 1 et 0,7 mmol/L sera utilisé. Il est bien évidemment possible de réaliser ces analyses « en plusieurs fois » pour obtenir un nombre suffisant d'animaux.



• **Evaluation avant vêlage du risque d'hypocalcémie subclinique**

- **Le contexte**

L'hypocalcémie rencontrée chez la vache laitière en postpartum immédiat peut avoir un impact sur la santé de l'animal : en parallèle de la « fièvre de lait », ou hypocalcémie clinique, des formes subcliniques, caractérisées par une calcémie inférieure à 2,0 mmol/L (soit 80 mg/L) ou 2,1 mmol/L (soit 84,2 mg/L) dans la semaine ou les deux semaines suivant le vêlage, peuvent être rencontrées et sont à l'origine d'une plus grande proportion de non-délivrance, d'une augmentation de la fréquence des infections utérines, d'une reprise plus tardive de la cyclicité, d'un taux de réussite plus faible en 1^{ère} IA et d'un taux de mortalité embryonnaire et fœtale plus élevé (Martinez et al. 2012, Ribeiro et al. 2013, Heppelmann et al. 2015). Une corrélation entre hypocalcémie subclinique et élévation des concentrations en AGNE suggère que les vaches en hypocalcémie subclinique sont également en déficit énergétique, ce qui pourrait intervenir dans la détérioration des performances de reproduction.

Le monitoring avant le vêlage du risque d'hypocalcémie subclinique (c'est-à-dire avant que ne puissent s'installer ses effets délétères) est difficile, en raison des mécanismes très efficaces de maintien de la calcémie. Plusieurs facteurs peuvent contribuer au développement d'une hypocalcémie autour du vêlage : les rations trop riches en calcium et trop pauvres en magnésium au tarissement, l'état d'engraissement excessif et les rations alcalogènes constituent des facteurs de risque importants d'hypocalcémie. La connaissance de ces causes principales permet de comprendre l'une des stratégies utilisée sur le terrain pour évaluer le risque d'hypocalcémie, à savoir la mesure du pH urinaire.

Plusieurs études rapportent une corrélation entre pH urinaire et valeurs du BACA (Bilan Alimentaire Cations-Anions) (De Garris et al., 2005). La mesure du pH urinaire chez des vaches tarées permet d'apprécier le risque d'hypocalcémie au vêlage en repérant les rations à BACA faible (Raboisson et Schelcher, 2009), rations ayant une tendance à être alcalogènes : un pH urinaire légèrement alcalin est en faveur d'une alcalose métabolique modérée (associée à une augmentation du risque d'hypocalcémie), alors qu'un pH urinaire acide (5,5 à 6,5), en faveur d'une acidose métabolique modérée, ne révèle aucun risque particulier. Un pH sanguin modérément diminué, et donc un pH urinaire acide doit donc être recherché chez les vaches en fin de tarissement ; selon les auteurs, l'objectif de valeurs de pH pour prévenir les fièvres de lait est situé autour de 6,2 à 6,8 (Goff et coll. 2003), ou entre 5,5-6,2 (Horst et coll. 1997).



Comment procéder en pratique ?

L'estimation du pH urinaire dans le cadre de l'estimation du risque d'hypocalcémie doit être réalisée sur des vaches en fin de tarissement. Des urines seront collectées sur 5 à 8 vaches recevant une ration anionique (minimum 24 heures après le début de la distribution de la ration anionique). Si des vaches présentent un pH supérieur à 7, un risque de fièvre de lait est présent mais celui-ci est difficilement quantifiable (le BACA est supérieur à 0, mais il n'est pas possible de déterminer à quel point celui-ci est élevé). Le pH urinaire optimal pour prévenir le risque d'hypocalcémie postpartum correspond à un pH compris entre 6 et 6,8, valeurs correspondant à un BACA négatif. Enfin, un risque de décalcification est présent pour des pH urinaires inférieurs à 5,5. L'utilisation d'un pH mètre (photo 2) régulièrement étalonné, ou de bandelettes pH (avec graduations de 0,2 à 0,3 permettant une certaine précision de la mesure) est recommandée afin d'estimer précisément la valeur du pH. Le prix d'un pH mètre au tarif Centrale est de 115€ HT (les deux solutions d'étalonnage coûtant 2€ HT pour un étalonnage) ; les bandelettes pH avec graduation de 0,2 à 0,3 coûtent à l'achat près de 30€ HT pour une boîte de 100 bandelettes.



Photo 2. Le pH urinaire peut être mesuré très facilement à l'aide d'un pH mètre convenablement étalonné

© G. Belbis



• Evaluation avant et après vêlage du déficit énergétique : les corps cétoniques

Le dosage des corps cétoniques est un dosage très répandu sur le terrain pour diagnostiquer les états de déficit énergétique chez les bovins, plusieurs types de tests étant facilement disponibles pour le praticien. Cependant, cet indicateur est moins fiable que le dosage des AGNE selon plusieurs études récentes (Ospina et al., 2010a, 2010b). Le dosage du β -hydroxybutyrate (β -OH) est classiquement utilisé en raison de sa stabilité post prélèvement, et sa facilité de dosage sur le terrain. Cependant, sa corrélation avec le bilan énergétique est moyenne, alors que celles des autres corps cétoniques (acétone et acétoacétate) est meilleure ($r = +0,4$ à $+0,6$ pour le β -OH ; $+0,87$ pour l'acétoacétate) ; cependant, le dosage de ces derniers est difficile sur le terrain.

Les outils disponibles

Plusieurs outils sont disponibles pour le dosage des corps cétoniques, différant par la matrice utilisée (lait, urine, sang), les corps cétoniques testés (acétoacétate, β -OH, acétone), mais aussi par leur sensibilité et leur spécificité. Les différents tests disponibles pour estimer les concentrations en corps cétoniques, ainsi que leurs caractéristiques, sont synthétisés dans le tableau 1. Le dosage sanguin du β -OH peut être réalisé par le praticien, au chevet du malade, à l'aide du lecteur FreeStyle Xceed (ex-Optium Xceed), ce lecteur pouvant également être utilisé pour mesurer la concentration en β -OH dans le lait (Michaux, 2008). Le KetoTest, distribué par le laboratoire Elanco, est un test estimant de manière semi-quantitative le taux de β -OH dans le lait. Enfin, d'autres tests (Vétotest Cétonose, bandelettes Ketostix) peuvent également être utilisés sur le terrain.

Tableau 1 : Comparaison de la sensibilité et de la spécificité entre différents tests utilisés dans le diagnostic de la cétose subclinique. Les valeurs diagnostiques sont données en comparaison du dosage sanguin du β -OH (seuil utilisé : 1,4 mmol/L)

	Type de prélèvement	Seuil	Sensibilité	Spécificité
KétoTest	Lait	100 μ L/L	75 à 80%	69 à 93%
		200 μ L/L	27 à 75%	90 à 99%
KétoTest	Urines	200 μ L/L	97%	60%
KétoStix	Urines	Trace (5 μ mol/L)	90%	75 à 85%
		Faible (15 μ mol/L)	79 à 80%	92 à 96%
		Modérée (15 μ mol/L)	50 à 70%	97 à 99%
Nitroprussiate de sodium (VétoTest Cétonose)	Urines	Trace	42 à 89%	96 à 99%

Les autres outils de détection des corps cétoniques, sur le lait ou les urines, sont souvent comparés dans la littérature au test de référence, le dosage sanguin du β -OH. Le test KétoTest permet une détection semi-quantitative des β -OH, alors que les autres tests utilisant le nitroprussiate de sodium détectent l'acétone, une partie de l'acétoacétate mais pas les β -OH. Lorsque le test KétoTest est utilisé, un seuil de 200 μ mol/L permet d'avoir le meilleur couple sensibilité/spécificité (LeBlanc, 2010).

Le lecteur FreeStyle Xceed (photo 3) a un prix Centrale moyen d'environ 55€ HT, et les bandelettes « β -OH » coûtent environ 50€ HT pour une boîte de 50 bandelettes. La boîte de 25 ampoules du test Vétotest Cétonose coûte 40€ HT en prix Centrale, le Kétostix près de 10€ pour une boîte de 50 bandelettes, et le KétoTest environ 30€ HT la boîte de 20 tests. Pour chacun de ces tests, le résultat est obtenu en quelques secondes à quelques minutes.

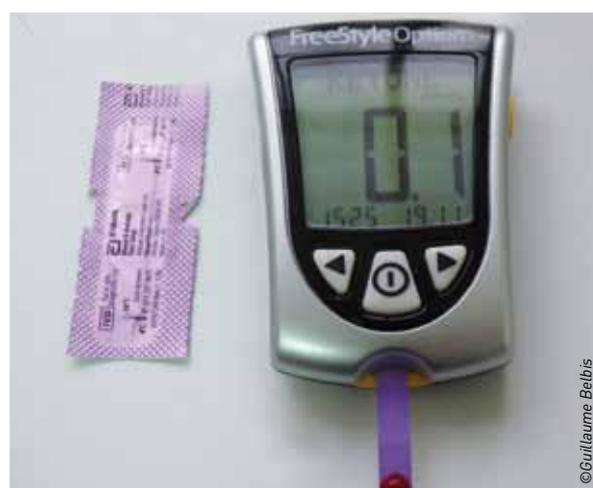


Photo 3. Mesure du béta-hydroxybutyrate à l'aide du test FreeStyle Xceed



Comment bien les utiliser en pratique ?

Tout comme pour les paramètres vus précédemment (AGNE, pH urinaire), l'échantillonnage doit être suffisant pour permettre d'évaluer objectivement la situation. Concrètement, les vaches en début de lactation, entre 5 et 15 jours de lactation doivent être prélevées, un nombre minimal de 12 animaux (voire 20 pour certains auteurs) permettant une interprétation de la proportion de bovins par rapport à un seuil critique. A l'échelle du troupeau, on considérera que le déficit énergétique peut avoir un effet préjudiciable lorsque la proportion d'animaux au-dessus du seuil dépasse 10 à 15% des animaux testés (sous réserve de pouvoir tester un nombre d'animaux suffisant).

Lorsque le dosage du β -OH sanguin est utilisé dans le diagnostic de la cétose, plusieurs précautions d'emploi doivent être prises ; le repas s'accompagne d'une augmentation modérée (lors de repas « normal ») à élevée (lors de repas cétogène et à densité énergétique élevée) des corps cétoniques, et plus particulièrement du β -OH (produits en partie par la paroi ruminale). Cette augmentation physiologique peut être à l'origine d'une confusion avec une cétose : par conséquent, le dosage du β -OH devra être réalisé avant la distribution de la ration. Le type de matrice (sang total, sang total sur tube anticoagulant, sérum ou plasma) a également un impact sur le résultat du dosage : si les valeurs mesurées sont identiques entre une analyse réalisée sur sang total ou sang additionné d'un anticoagulant, et entre une analyse réalisée sur sérum ou sur plasma, il existe une différence entre une analyse réalisée sur sang total ou sur sérum, et entre une analyse réalisée sur sang total avec anticoagulant ou sur plasma. Par conséquent, il convient de réaliser les analyses au sein du troupeau sur le même type de matrice. Enfin, si la température de conservation des bandelettes réactives permettant le dosage du β -OH n'influe pas sur la valeur du résultat (même si la conservation au froid peut conduire à un message d'erreur de l'analyseur portable), la température à laquelle est conservé le sang avant analyse peut faire varier le résultat jusqu'à 30%. La valeur seuil individuelle utilisée classiquement pour le diagnostic de déficit énergétique est de 1,2 à 1,4 mmol/L chez une vache en lactation, et de 0,6 mmol/L chez une vache tarie. Collectivement, moins de 10% des vaches testées doivent présenter une valeur supérieure au seuil de 1,4mmol/L en première semaine post vêlage, et pas plus de 20% en deuxième semaine post partum.

• Evaluation après vêlage du déficit énergétique : la glycémie

Le dosage de la glycémie a parfois été proposé pour évaluer le déficit énergétique après le vêlage. Sa mesure au chevet de l'animal est très facile, grâce à l'avènement des lecteurs portables de glycémie (type FreeStyle Xceed). Cependant, la pertinence de ce paramètre dans l'évaluation du déficit énergétique est limitée, sa corrélation déjà moyenne avec celui-ci (r entre +0,4 et +0,6) n'étant de surcroit valable qu'en début de lactation. Enfin, le stress induisant une augmentation non négligeable de la glycémie, des valeurs normales ou subnormales peuvent être rencontrées chez des animaux en déficit énergétique : par conséquent, seules des valeurs faibles ($<0,45$ mg/L) signent un déficit énergétique chez l'animal.





2 - Autour de l'insémination – Optimiser l'insémination

Afin d'améliorer la réussite de l'IA, le timing de l'insémination est primordial : ainsi, le taux de réussite à l'IA est amélioré lorsque l'IA est réalisée 12 heures avant ovulation, c'est-à-dire 12 heures après le pic de LH (Lafri et al., 2002). La détection des chaleurs étant souvent limitante dans la gestion d'un troupeau (chaleurs silencieuses, durée des chaleurs, temps alloué par l'éleveur), différents dosages ont été développés afin de permettre une meilleure détection du moment le plus propice à la réussite de l'insémination.

• Détecter l'œstrus : évaluation de la progestéronémie

- Le contexte

Au moment des chaleurs, il n'y a pas de corps jaune présent et donc la progestéronémie doit être à son niveau basal. Une proportion non négligeable des inséminations étant effectuées sur des animaux qui ne sont pas réellement en œstrus, le dosage de la progestérone permet d'estimer le degré d'exactitude de la détection des chaleurs.



Les outils disponibles

Plusieurs méthodes pour évaluer la concentration en progestérone sont disponibles pour le praticien : la concentration en progestérone peut être évaluée sur le lait de façon automatisée, dans des systèmes utilisant le robot de traite DeLaval, via le Herd Navigator. Une seconde possibilité est le dosage de la progestérone par ELISA sur sang ou échantillon de lait, comme le propose le Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR, Maisons-Alfort). Enfin, le dosage de la progestérone dans le lait peut être réalisé à l'aide de bandelette (test P4-R, laboratoire Heproxys), par immunochromatographie de type « lateral flow » (même principe que les tests utilisés pour le diagnostic étiologique des entérites néonatales sur le terrain). *L'utilisation pratique de la bandelette P4-R est détaillée dans le chapitre concernant le dosage de la progestérone après IA.*

• Inséminer au bon moment : évaluation du pic de LH

Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'objectif des tests permettant d'optimiser la réussite de l'insémination est de détecter le moment le plus propice à celle-ci par rapport à l'ovulation. L'un de ces tests, Prédi'Bov® (laboratoire Repropharm) permet de détecter le pic de LH à partir d'un prélèvement sanguin directement en ferme, sans nécessité de recours à un laboratoire. Le sang est prélevé sur tube hépariné. En cas de résultat positif, la vache sera à inséminer 12 heures après ; en cas de résultat négatif, le test sera à répéter. Le coffret de 5 tests a un coût à l'achat de 75€ HT (soit 15 à 20€ par test). Les résultats sont obtenus en une vingtaine de minutes.

Son utilisation dans des protocoles de production d'embryons a été évaluée à la fois en station et en ferme (Dupuy et al., 2012a) et a fourni des résultats très satisfaisants. Aucune donnée quant à son utilisation dans le cadre d'IA en élevage (notamment ses effets en termes d'amélioration de la fertilité) n'est à l'heure actuelle disponible dans la littérature.





• Assurer un environnement utérin de qualité : évaluation de l'excès azoté

La relation entre excès d'azote soluble d'origine alimentaire et diminution des performances de reproduction est bien décrite. Son effet délétère sur la réussite d'une insémination est notamment connu, et est associé à une diminution du pH utérin rencontré en phase lutéale lors d'excès d'azote soluble (Butler, 1998 ; Elrod et Butler, 1993), à un effet cytotoxique (ovocyte, embryon) et à une diminution de la maturation des ovocytes, une diminution de la sécrétion de progestérogène et une augmentation de la synthèse de prostaglandine PGF2 α . Ainsi, lors d'élévation de la concentration plasmatique en urée (> 19 mg/dL) le jour de l'insémination, une diminution du taux de gestation de 20 points de pourcentage est observée (Butler et al., 1996). Des résultats équivalents sont observés lors d'élévation des concentrations en urée dans le lait. Les variations d'origine alimentaire de l'urémie sont moins prononcées que celle de l'ammoniac ruminal, mais demeurent élevées. Un prélèvement sanguin ou de lait au pic d'urémie qui intervient quelques heures après le repas améliore la sensibilité de la recherche d'excès azoté.

Plusieurs méthodes sont accessibles pour évaluer l'urée : les dosages mensuels d'urée du tank permettent un suivi des apports azotés dans le troupeau (l'évaluation étant réalisée concomitamment de celle du taux protéique, avec un objectif de 250 à 350 mg/dL pour l'urée). Le dosage sanguin, à l'aide d'analyseurs portables (type I-Stat $^{\circledast}$, Abbott ou Epoc $^{\circledast}$, Kitvia) qui demeurent très coûteux (environ 9000€ pour l'I-Stat $^{\circledast}$, avec un coût des cassettes de 10 à 20€ HT ; 6000€ environ pour l'Epoc $^{\circledast}$, avec un prix des cassettes de 6 à 14€) ou à la clinique, peut également être réalisé. Lorsqu'un dosage de l'urée sanguine est réalisé pour estimer un excès d'azote soluble, l'interprétation devra être différente de celle d'une analyse individuelle face à un animal malade : des urémies, réalisées sur plusieurs animaux, dans le quart supérieur des valeurs de référence (c'est-à-dire comprises entre 0,20 et 0,27 g/L, ou entre 4,9 et 6,5 mmol/L) suggèreront la présence d'un excès azoté.



Enfin, une évaluation de la concentration en urée du lait (individuel ou de tank) peut être réalisée à l'aide de bandelettes réactives. Les bandelettes disponibles il y a quelques années (Azotest), puis retirées du marché, avaient tendance à surestimer les valeurs d'environ 50 mg/L. Depuis quelques mois, des bandelettes réactives permettant la mesure directement dans le lait sont à nouveau disponibles en Centrales (Uremilk, laboratoire Kitvia). A notre connaissance, aucune évaluation sur la précision de la mesure avec ces bandelettes n'est disponible dans la littérature scientifique. Le prix d'achat Centrale est d'environ 40 à 50€ HT pour une boîte de 25 bandelettes. Le résultat est obtenu en moins de 2 minutes.



3 - Après l'insémination - Permettre un diagnostic de gestation ou de non-gestation le plus précoce possible

La détection la plus précoce possible de la gestation (mais surtout de la non gestation) constitue un défi dans le cadre d'un suivi de reproduction, en permettant la remise à la reproduction la plus précoce possible des vaches non gravides. Au cours des dernières années, plusieurs technologies, basées sur la détection des PAG (Pregnancy Associated Glycoproteins) et de la PSPB (Pregnancy Specific Protein type B) ont été développées. Le dosage de la progestérone peut également être proposé afin de diagnostiquer une non-gestation.

• L'estimation de la progestéronémie par dosage dans le lait

Le taux de progestérone peut être utilisé pour le diagnostic précoce de la gestation (ou plus précisément de la non-gestation) : lorsqu'une vache est fécondée lors de l'IA, le maintien du corps jaune est à l'origine de la persistance d'un taux de progestérone élevé, alors que la non-fécondation s'accompagne d'une lyse du corps jaune. Si un dosage de la progestérone ne permettra pas de réaliser un diagnostic de gestation, elle permettra de réaliser un diagnostic de présomption de gestation, qui devra être confirmé par une échographie ou un diagnostic de gestation manuel. Le dosage de la progestérone dans le sang, ou son évaluation dans le lait 23 ou 24 jours après insémination (voire dès 19 jours après insémination), permet de déterminer la présence ou non d'un corps jaune : si la concentration sanguine est inférieure à 1 ng/mL (ou la concentration dans le lait inférieure à 4 ng/mL), aucun corps jaune n'est présent, et la vache est non gestante (valeur prédictive négative entre 90 et 93%, Seida et al. 1990). Si la concentration est supérieure à ces seuils, la vache présente un corps jaune le jour du test, pouvant signifier une gestation mais également un corps jaune persistant, ou encore une résorption embryonnaire (l'exactitude du diagnostic de gestation par cette technique est faible, comprise entre 56 et 79%, Seida et al. 1990).



Comment procéder en pratique ?

Le dosage de la progestérone dans le lait par l'intermédiaire du Herd Navigator ne sera pas détaillé ici, la mesure étant automatique. Le praticien peut néanmoins consulter la courbe individuelle de l'animal concerné, afin de s'orienter dans sa démarche diagnostique.

Le dosage de la progestérone dans le lait peut être réalisé à l'aide de bandelette (test P4-R, laboratoire Heproxys) évoqué précédemment. La spécificité indiquée par le fabricant est élevée (98,7%). Il est ainsi possible de prédire dès 19 à 21 jours post insémination qu'une vache n'est pas gravide (c'est-à-dire qu'elle présente une valeur de progestérone faible, inférieure à 1,5 ng/mL). Le lot de 4 tests coûte près de 30€ HT ; le lot de 40 test 240€ HT.

Le test P4-R est réalisé sur un échantillon de lait ne devant pas dépasser 7 ml (pour éviter que la bandelette ne soit trop immergée dans le lait). Il convient de ne pas prélever les trois premiers jets pour cette analyse. Après agitation du flacon (afin de permettre le mélange de la matière grasse du lait, la progestérone étant lipophile et donc associée à la matière grasse), la bandelette est placée dans le tube. La lecture est réalisée au bout de 5 minutes (et peut être réalisée jusqu'à 30 minutes après la mise en place de la bandelette) : une ligne de contrôle (témoin de migration) doit systématiquement apparaître ; une seconde ligne (L2) de test fournira le résultat : cette ligne apparaît lorsque la concentration en progestérone est faible, en faveur d'une vache non gravide.



• Le dosage des PAG

Une seconde approche permettant un diagnostic précoce repose sur le dosage de glycoprotéines associées à la gestation (« PAG » en anglais), glycoprotéines secrétées par les cellules mono et binucléées des cellules trophoblastiques des placentomes. Plusieurs PAG sont décrites dans la littérature : les boPAG (22 sont décrites), et la PSPB.

Plusieurs tests sérologiques pour le dosage des PAG « PAG » sont décrits dans la littérature. Un test ELISA a notamment été développé par le laboratoire IDEXX, permettant de détecter d'après le producteur une gestation 28 jours après insémination, et à partir de 60 jours après le vêlage précédent. Les PAG dosées par ce test sont les boPAG-4, -6, -9, -20 et -21. Ce test ELISA est réalisable sur le sang (5 ml sur tube sec ou EDTA,) et le lait (25 ml par animal, avec ou sans conservateur type bronopol). Une étude récente (Lawson et al., 2014) a évalué ce test : le taux de précision du test est de 99% pour les contrôles de gestation réalisés 33 à 52 jours après insémination, et de 98% pour ceux réalisés entre 60 et 74 jours de gestation (les PAG déclinent légèrement en concentration entre 46 et 72 jours de gestation). De plus, si une augmentation du taux de PAG dans le lait est observée dès 23 jours post IA, il n'est possible de détecter une gestation de manière fiable (100%) qu'à partir de 30 jours post insémination, les tests réalisés 25 jours post IA ne permettant de détecter comme gravide qu'une des 6 vaches réellement gestante (Lawson et al., 2014). Ces résultats ont été confirmés dans une étude française, avec une sensibilité du test réalisé sur prélèvement sanguin (sérum et plasma) de 100% et une spécificité de 88,57 et 88,89% à 29 jours post IA respectivement sur sérum et plasma, et des performances légèrement inférieures dans le lait (Se de 98,11% et Sp de 90,32%) (Barbry et al. 2013). La spécificité augmente lors de tests à 40 jours post IA (96,77% sur sérum, 100% sur plasma et 92,31% sur lait). Les performances du test sont cependant moins bonnes lorsque l'analyse est réalisée sur des échantillons provenant de vaches à moins de 29 jours post IA. Enfin, comme nous le verrons par la suite, la PSPB est présente dans le sang de vaches jusqu'à 80 à 100 jours post partum : ce délai post partum n'existe pas pour le test ELISA Idexx.

L'analyse est réalisée par le laboratoire d'analyse en moins de 4h, permettant l'obtention d'un résultat rapide une fois l'échantillon pris en charge.

• Le dosage de la PSPB

Une seconde possibilité de diagnostic de gestation via des protéines produites au cours de la gestation est le dosage des PSPB (Pregnant Specific Protein B). La concentration en PSPB augmente et devient supérieure chez les vaches gravides par rapport aux vaches non gravides 22 jours après insémination (Giordano et al., 2012). La PSPB est détectable dans le sérum des vaches gestantes dès environ 4 semaines de gestation, et ce jusqu'à plusieurs semaines après le vêlage : les concentrations circulantes de PSPB jusqu'à 80 à 100 jours postpartum limitent leur utilisation pour le diagnostic de gestation, à l'exception de celui des génisses (Kiracofe 1993).

Le dosage de la PSPB peut être réalisé auprès du Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs (LNCR, Maisons Alfort), au prix de 9,50€ HT environ. Le résultat est obtenu le lendemain de la réception de l'échantillon.





CONCLUSION

De très nombreux tests sont à la portée du praticien désireux de s'investir dans la reproduction bovine, en complément de l'examen génital par palpation et de l'échographie. Connaître les précautions lors de la réalisation des prélèvements et des analyses, ainsi que la nécessité de la qualité de l'échantillonnage est cependant nécessaire pour permettre une interprétation des résultats, permettant ainsi de proposer à l'éleveur une aide dans la gestion de la reproduction de son troupeau. Lorsque la taille du troupeau est trop petite pour atteindre à un instant-t le nombre de vaches au stade physiologique à tester, il est possible d'étaler dans le temps les analyses, et de les interpréter quand le nombre suffisant d'échantillon a été obtenu.

Tableau de synthèse

Quoi?	Pourquoi?	Qui?	Quand?	Quel prélèvement?	Combien d'animaux?	Quelles précautions?	Quel seuil?	Interprétation
AGNE	Estimation du déficit énergétique	Vaches taries	Entre 14 et 3 jours avant vêlage	Sang sur héparinate de sodium (vert) ou EDTA Tube sec pour certains laboratoires	12 (ou interprétation à l'échelle du troupeau quand obtention de 12 résultats)	- Prélèvement juste avant repas - Prélèvements sur glace après collecte - Collecte du plasma dans les 24h - Attention à l'interprétation si hémolyse	0,4 mmol/L	Risque de cétose si > 10% des animaux prélevés sont supérieurs au seuil
		Vaches en début de lactation	Jour du vêlage Premiers jours suivant le vêlage				1 mmol/L 0,7 mmol/L	
pH urinaire	Estimation du risque d'hypocalcémie	Vaches taries (fin de tarissement)	Après mise en place d'une ration anionique	Urines	5 à 8 animaux		pH 7	pH>7 : risque d'hypocalcémie chez le groupe de vaches taries (impossible d'estimer le degré de risque) 6<pH<6,5 : risque d'hypocalcémie absent 5,5<pH : risque de décalcification osseuse
β-OH	Estimation du déficit énergétique	Vaches en lactation	5 à 50 jours en lait	Sang total (+/- anticoagulant) Sérum ou plasma	12 (ou interprétation à l'échelle du troupeau quand obtention de 12 résultats)	- Prélèvement avant repas - Toujours travailler sur la même matrice (sang ou sérum/plasma) - Température de conservation des prélèvements	1,2 à 1,4 mmol/L	Cétose si > 10% des animaux prélevés sont supérieurs au seuil



Bibliographie

- Barbry, J.B., Velek, K., Pun, S., Rice, A., Egli, C., Leterme, S., Commun, L., 2013. Diagnostic précoce de la gestation chez le bovin : un nouveau test à réaliser sur le sang ou le lait
- Butler, W.R., 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81, 2533–2539. doi:10.3168/jds.S0022-0302(98)70146-8
- Butler, W.R., Calaman, J.J., Beam, S.W., 1996. Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 74, 858–865
- Chapinal, N., Carson, M., Duffield, T.F., Capel, M., Godden, S., Overton, M., Santos, J.E.P., LeBlanc, S.J., 2011. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. *J. Dairy Sci.* 94, 4897–4903. doi:10.3168/jds.2010-4075
- Dupuy, L., Joly, C., Decourtye, J., Salvetti, P., Kara, E., Morel, A., Charreaux, F., Lacaze, S., Schwartz, J.L., Ponsart, C., Maurel, M.-C., 2012a. 153 DETECTING PRE-OVULATORY LUTEINIZING HORMONE PEAKS IN ORDER TO OPTIMIZE THE RATIO OF VIABLE EMBRYOS USING PREDIBOV®, A NEW ON-FARM OVULATION TEST. *Reprod. Fertil. Dev.* 25, 225–225
- Elrod, C.C., Butler, W.R., 1993. Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J. Anim. Sci.* 71, 694–701
- Giordano, J.O., Guenther, J.N., Lopes, G., Fricke, P.M., 2012. Changes in serum pregnancy-associated glycoprotein, pregnancy-specific protein B, and progesterone concentrations before and after induction of pregnancy loss in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 95, 683–697. doi:10.3168/jds.2011-4609
- Goff J.P., Horst R.L., 2003. Milk fever control in the United States. *Acta Vet Scand Suppl.* 97, 145-147
- Heppelmann, M., Krach, K., Krueger, L., Benz, P., Herzog, K., Piechotta, M., Hoedemaker, M., Bollwein, H., 2015. The effect of metritis and subclinical hypocalcemia on uterine involution in dairy cows evaluated by sonomicrometry. *J. Reprod. Dev.*, <http://doi.org/10.1262/jrd.2015-015>
- Horst, R.L., Goff, J.P., Reinhardt, T.A., Buxton, D.R., 1997. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 80:126
- 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. *J. Anim. Sci.* 71(8), 2199-2205
- Lafri, M., Ponsart, C., Nibart, M., Durand, M., Morel, A., Jeanguyot, N., Badinand, F., De Mari, K., Humblot, P., 2002. Influence of CIDR treatment during superovulation on embryo production and hormonal patterns in cattle. *Theriogenology* 58, 1141–1151
- Lawson, B.C., Shahzad, A.H., Dolecheck, K.A., Martel, E.L., Velek, K.A., Ray, D.L., Lawrence, J.C., Silvia, W.J., 2014. A pregnancy detection assay using milk samples: Evaluation and considerations. *J. Dairy Sci.* 97, 6316–6325. doi:10.3168/jds.2014-8233
- LeBlanc, S.J., Leslie, K.E., Duffield, T.F., 2005. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 88, 159–170. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72674-6
- LeBlanc, S.J., 2010. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J. Reprod. Dev.* 56
- Martinez, N., Risco, C.A., Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Greco, L.F., Ribeiro, E.S., Galvao, K., Santos, J.E., 2012. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *J. Dairy Sci.* 95, 7158-7172
- Michaux, H., 2008. Cétose de la vache laitière : dosage du béta-hydroxybutyrate dans le lait avec le lecteur Optium Xceed. Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 136 p
- Oetzel, G.R., 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 20, 651–674. doi:10.1016/j.cvfa.2004.06.006
- Ospina, P.A., Nydam, D.V., Stokol, T., Overton, T.R., 2010a. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *J. Dairy Sci.* 93, 1596–1603. doi:10.3168/jds.2009-2852
- Ospina, P.A., Nydam, D.V., Stokol, T., Overton, T.R., 2010b. Evaluation of nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.* 93, 546–554. doi:10.3168/jds.2009-2277
- Quiroz-Rocha, G.F., LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Jefferson, B., Wood, D., Leslie, K.E., Jacobs, R.M., 2010. Short communication: Effect of sampling time relative to the first daily feeding on interpretation of serum fatty acid and beta-hydroxybutyrate concentrations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 93, 2030–2033. doi:10.3168/jds.2009-2141
- Raboison, D., Schelcher, F., 2009. Critères diagnostiques des maladies métaboliques. *Point Vétérinaire* numéro spécial, 40, 109-115
- Ribeiro, E.S., Lima, F.S., Greco, L.F., Bisinotto, R.S., Monteiro, A.P., Favoreto, M., Ayres, H., Marsola, R.S., Martinez, N., Thatcher, W.W., Santos, J.E., 2013. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving dairy cows supplemented with concentrates. *J. Dairy Sci.* 96, 5682-5698. doi: 10.3168/jds.2012-6335
- Roberts, T., Chapinal, N., Leblanc, S.J., Kelton, D.F., Dubuc, J., Duffield, T.F., 2012. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. *J. Dairy Sci.* 95, 3057–3063. doi:10.3168/jds.2011-4937
- Seida, A.A., Bretzlaff, K.N., Elmore, R.G., 1990. Pregnancy diagnosis by milk progesterone on days 18, 22, and 24 postbreeding in dairy cows. *Arch. Exp. Veterinarmed* 44(3), 489-491



CHEZ LES BOVINS, PLUS DE MÂLES

POUR LES GESTATIONS DANS LA CORNE UTÉRINE DROITE ?



La distribution asymétrique des sexes selon la corne utérine siège de la gestation est un phénomène bien décrit chez plusieurs espèces de Mammifères. Ainsi, chez la lapine, davantage de fœtus femelles sont issus de la corne droite ; c'est la situation inverse chez la souris et la gerbille de Mongolie (photo 1) avec plus de mâles dans la corne droite. La répartition variable des sexes selon la corne observée chez les Rongeurs et les Lagomorphes tiendrait son origine de l'asymétrie des cornes et des ovaires.

Photo 1. Chez la gerbille de Mongolie, les fœtus mâles sont plus nombreux pour les gestations se déroulant dans la corne utérine droite.

Chez les Ruminants (bovins, ovins et caprins), l'ovaire droit est réputé présenter une activité supérieure à l'ovaire gauche : plus de corps jaunes et de gros follicules y sont trouvés que sur l'ovaire gauche, davantage d'ovulations y ont lieu (56% selon les résultats concordants de 2 publications différentes : FJERDINGBY & KARLBERG, 2013 ; GINTHER & al., 2014).

2/3 de mâles pour les gestations dans la corne utérine droite ?

Aux USA, Giraldo & al.(2010) ont déterminé le sexe de 64 fœtus collectés à l'abattoir sur des femelles gravides. Pour un sex ratio (défini comme la proportion de mâles dans une population) global de 53,1% (34 mâles pour 30 femelles), **le sex ratio dans la corne droite a été trouvé supérieur à celui de la corne gauche (65,7% vs 37,9%, $p < 0,05$)** ; malgré la faiblesse des effectifs, la différence est significative (tableau 1). VAZQUEZ & al. (1993) avaient déjà fait le même constat d'une surreprésentation du sexe mâle dans les cornes droites d'appareils génitaux de bovins collectés en abattoir.

Tableau 1 : Distribution des fœtus mâles et femelles entre les cornes gauche et droites sur des appareils génitaux de vaches collectés en abattoir (GIRALDO & al. 2010)

	Total	Corne gauche	Corne droite
Total	64 (100%)	29 (45,3%)	35 (54,7%)
Mâles	34 (53,1%)	11 (37,9%) a, c	23 (65,7%) a, d
Femelles	30 (46,9%)	18 (62,1%) b, c	12 (34,3%) b, d

(a, b : dans une même colonne, différence significative pour des lettres différentes - c, d : dans une même ligne, différence significative pour des lettres différentes)



Les mêmes auteurs ont également analysé le sex ratio de 113 génisses à viande de race croisée (Angus, Brangus, Brahman, Hereford et Simmental) dont l'insémination avait été synchronisée à l'aide du protocole GPG. La corne utérine où se trouvait le fœtus a été déterminée à l'occasion du diagnostic de gestation réalisé par un opérateur expérimenté par palpation transrectale entre 95 et 100 jours post IA. Le sexe a été noté à la naissance des veaux. Pour un sex ratio global de 50,4% (57 mâles, 56 femelles), la distribution des sexes a montré un **sex ratio significativement plus élevé dans la corne droite : 63,3%** vs 35,8% dans la corne gauche (tableau 2).

Tableau 2 : Distribution des veaux mâles et femelles issus des cornes gauches et droites sur des génisses inséminées (GIRALDO & al. 2010)

	Total	Corne gauche	Corne droite
Total	113 (100%)	53 (46,9%)	60 (53,1%)
Mâles	57 (50,4%)	19 (35,8%) a, c	38 (63,3%) a, d
Femelles	56 (49,6%)	34 (64,2%) b, c	22 (36,7%) b, d

(a, b : dans une même colonne, différence significative pour des lettres différentes - c, d : dans une même ligne, différence significative pour des lettres différentes)

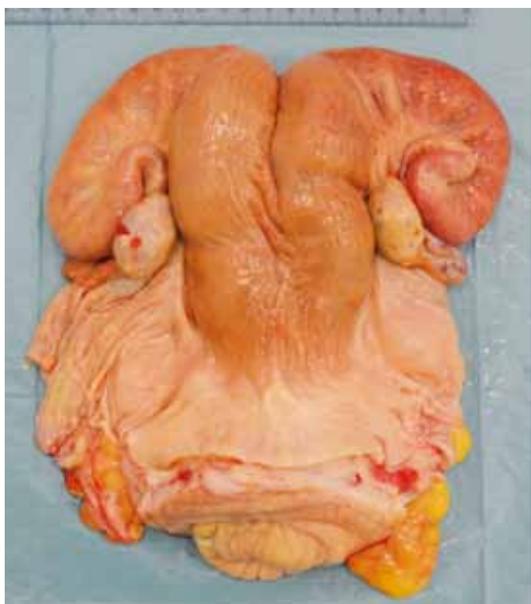
Les mêmes résultats (2/3 de mâles dans les cornes droites) ont été obtenus sur des vaches à viande de race croisée, en monte naturelle (tableau 3, photo 2).

Tableau 3 : Distribution des veaux mâles et femelles issus des cornes gauches et droites sur des vaches en monte naturelle (HYLAN & al. 2009)

	Total	Corne gauche	Corne droite
Total	2904 (100%)	1360 (46,8%) c	1544 (53,2%) d
Mâles	1508 (51,9%)	468 (34,4%) a, c	1040 (67,4%) a, d
Femelles	1396 (48,1%)	892 (65,6%) b, c	504 (32,6%) b, d

(a, b : dans une même colonne, différence significative pour des lettres différentes, p<0.001)

(c, d : dans une même ligne, différence significative pour des lettres différentes, p<0.001)



A noter toutefois que cette déviation du sex ratio à l'avantage des mâles dans la corne droite n'a pas été notée dans un autre essai conduit sur 365 vaches Red Norwegian et Hereford (FJERDINGBY & KARBERG, 2013).

Photo 2. Chez les bovins, les gestations dans la corne utérine droite correspondraient à un veau mâle dans 2/3 des cas.



Le sex ratio dépendrait plus de l'ovaire d'origine que de la corne utérine

Afin de déterminer l'origine du déséquilibre du sex ratio à l'avantage des mâles dans la corne droite chez les bovins, d'autres observations ont été conduites en utilisant la Transplantation Embryonnaire (TE) et la super-ovulation.

Observation 1 : Les résultats de 521 gestations obtenues par TE ont été analysées en fonction de la corne utilisée chez la receveuse. Le sex ratio des veaux issus des 2 cornes était identique, égal à 50% (tableau 4).

Tableau 4 : Distribution des veaux mâles et femelles résultant du transfert d'embryon dans les cornes gauches et droites sur des vaches receveuses (HYLAN & al. 2009)

	Total	Corne gauche	Corne droite
Total	521 (100%)	202 (38,8%) a	319 (61,2%) b
Mâles	262 (50,3%)	101 (50,0%)	161 (50,5%)
Femelles	259 (49,7%)	101 (50,0%)	158 (49,5%)

(a, b : dans une même ligne, différence significative pour des lettres différentes, $p < 0.001$)

Observation 2 : 20 femelles croisées (Brahman et races continentales et européennes) ont fait l'objet d'un traitement de super-ovulation. Les embryons ont été collectés 7 jours après le début des chaleurs, séparément à partir des cornes droite et gauche, et sexés par PCR. Le sex ratio des embryons collectés dans les cornes droites était significativement supérieur à celui des cornes gauches (58,6% vs 45,7%, $p < 0.05$).

L'augmentation du sex ratio dans la corne droite, observée en conditions naturelles de reproduction, a été confirmée pour des embryons collectés suite à super-ovulation de donneuses, mais pas chez des receveuses en TE. Ceci semble indiquer que c'est l'ovaire d' « origine » de l'embryon (celui où a été produit l'ovocyte) qui oriente le sex ratio, plutôt que la corne utérine où siège la gestation. Ce constat va dans le même sens que celui effectué par CLARK & al (1991) sur des gerbilles de Mongolie : ceux-ci ont montré que la « translocation » chirurgicale des ovaires droit et gauche aboutit à une inversion du sex ratio, suggérant que c'est l'ovaire d'origine plutôt que la corne gravide qui peut influencer le sex ratio. Le mécanisme exact de cette interrelation n'est pas connu.

Références

GIRALDO & al. Theriogenology 2010, 73 : 496-500
VAZQUEZ & al. Vet Mex 1993, 24 : 155-157
HYLAN & al. Biology of Reproduction 2009, 81 : 933-938
GINTHER & al., Theriogenology 2014, 81 : 481-489
FJERDINGBY & KARLBERG. EBF 2013, Marseille. Poster Proceedings page 135
CLARK & al. Journal of fertility and reproduction 1994, 101 : 393-396

« C'est l'ovaire
d' « origine »
de l'embryon
qui oriente
le sex ratio »

« En transplantation
embryonnaire,
un sex ratio
identique entre
les 2 cornes »

LE SAVIEZ-VOUS ?



17,2

C'est le diamètre moyen, en millimètres, des follicules ovulant spontanément chez des vaches Holstein. Ce diamètre est supérieur à celui observé en cas d'application d'un protocole de synchronisation. Dans le cadre d'un protocole GPG, c'est 16,4 mm en moyenne. Il est supérieur aussi à celui de génisses Holstein âgées de 10 à 16 mois (15,0mm).

COLAZO & al. *Theriogenology* 2015, 84 : 377-383
SARTORI & al. *Journal of Dairy Science* 2014, 87 : 905-920

19

C'est le nombre de jours approximatif s'écoulant entre la fécondation et le début de l'implantation (fixation du blastocyste sur la muqueuse utérine, aussi appelée nidation) chez les bovins. L'attachement est considéré finalisé vers 30 jours après le début de gestation.

SPENCER & al. *Journal of Dairy Science* 2015, 98 : 1-10
JOHNSON & EVERITT. *Reproduction. DeBoeck Université 5^{ème} édition 2002 (300p.)*

52%

C'est le sex ratio des veaux qui naissent chez les bovins laitiers de race Holstein (52% de mâles). Ce résultat est issu de différentes observations correspondant au total à plusieurs centaines de milliers de gestations.

Plusieurs facteurs sont capables d'influencer le sex ratio chez les bovins : la concentration en testostérone du liquide folliculaire, le moment de l'insémination (plus de femelles pour les IA précoces), le stade de développement de l'ovocyte (stade nucléaire de maturation) au moment de l'insémination, la corne hébergeant le veau (plus de mâles issus de la corne utérine droite), la variation de l'état corporel maternel entre vêlage et conception (plus de mâles lorsque l'amaigrissement est limité),...

FITZGERALD & al. *Theriogenology* 2015, 84 : 358-364
HYLAN & al. *Biology of Reproduction* 2009, 81 : 933-938
GIRALDO & al. *Theriogenology* 2010, 73 : 496-500
BERRY & CROMIE. *Theriogenology* 2007, 67 : 346-352

89%

C'est la proportion de vétérinaires déclarant réaliser une délivrance manuelle en cas de rétention placentaire, dans le cadre d'une enquête internet conduite et publiée par ONIRIS (89 répondants). Parmi ceux-ci, 15% indiquent qu'ils enlèvent le placenta systématiquement et 74% parfois seulement. Leur choix est motivé par la demande expresse de l'éleveur et par la volonté de prévenir les endométrites.

Les 11% de vétérinaires ne « délivrant » pas considèrent que ce n'est pas nécessaire et motivent leur décision sur la base de ce qu'ils ont appris lors de leur formation vétérinaire ou à l'occasion de leurs expériences pratiques.

Longtemps recommandée, et souvent réclamée par l'éleveur, la délivrance manuelle est une pratique pouvant augmenter le risque d'infection utérine. Si elle est réalisée, elle doit être rapide et respectueuse des caroncules utérines.

La littérature scientifique recommande de ne pas intervenir en cas de non délivrance et de traiter aux antibiotiques par voie générale les seules femelles présentant de la fièvre.

STEPHAN & al. *Poster at the 19th annual ESDAR Conference 2015*