

Diagnostic et suivi de gestation chez la brebis : réalités et perspectives

Au cours de ces dernières années, les impératifs d'une meilleure maîtrise de la reproduction afin d'augmenter la rentabilité des troupeaux ovins ont conduit éleveurs et chercheurs à s'intéresser de plus près aux différentes méthodes de diagnostic de gestation.

Le diagnostic de gestation revêt une grande importance économique en production ovine. En effet, il permet de détecter au plus tôt les saillies ou les inséminations artificielles (IA) infructueuses, de repérer les cas d'infertilité et d'effectuer les réformes au moment opportun. Par ailleurs, il facilite la constitution de lots d'animaux présentant des états physiologiques voisins, ce qui permet d'optimiser leur

alimentation. En effet, un rationnement par défaut ou par excès peut entraîner des états d'embonpoint défavorables à la fertilité, voire même des désordres métaboliques. Par exemple, dans les cas de gestation multiple, la capacité d'ingestion d'aliments grossiers diminue car les fœtus occupent une part importante du volume abdominal. Dans les cas extrêmes, il se produit une dégradation excessive des lipides et une production importante de corps cétoniques : c'est la toxémie de gestation. Cette dernière est fréquemment accompagnée de la naissance d'agneaux chétifs et de taux de mortalité élevés chez les agneaux et chez les mères.

Différentes revues bibliographiques sur les méthodes de diagnostic de gestation chez la brebis ont été publiées, la plus récente étant, à notre connaissance, celle de Karen *et al* (2001). Deux approches ont particulièrement retenu l'attention des chercheurs durant les 30 dernières années. D'une part, les méthodes de laboratoire, parmi lesquelles on peut citer les dosages hormonaux (sulfate d'oestrone, hormone lactogène placentaire, progestérogène) et les dosages de protéines spécifiques ou associées à la gestation. D'autre part, les

Résumé

Cet article décrit les différentes méthodes cliniques et de laboratoire utilisables pour établir le diagnostic de la gestation chez les ovins. Etant destinées à des applications dans les élevages, ces méthodes sont présentées en insistant sur la précocité de leur utilisation, sur les paramètres de sensibilité, de spécificité, d'exactitude de diagnostic positif, d'exactitude de diagnostic négatif et enfin sur leurs possibilités de dénombrement des fœtus. La méthode la plus précoce est le dosage de la progestérogène. Elle fournit dès le 17^e jour des valeurs élevées d'exactitude mais nécessite de connaître exactement le moment de la fécondation. Le dosage des protéines spécifiques ou associées à la gestation (PSPB, PAG) est également une méthode précoce, le diagnostic étant obtenu dès le 22^e jour pour un dosage dans le sang et le 32^e jour pour un dosage dans le lait. Il présente d'excellentes performances de sensibilité et de spécificité, mais ne permet pas de dénombrer les fœtus. Enfin, l'échographie mode-B, utilisable dès le 30^e jour de gestation, donne, selon l'opérateur, de très bonnes à d'excellentes performances de sensibilité et de spécificité et permet de dénombrer les fœtus en temps réel.

méthodes cliniques, dont la radiographie, la palpation recto-abdominale et l'ultrasonographie (Doppler, mode-A et mode-B).

L'objectif de cet article est de présenter les différentes méthodes avec leurs avantages et leurs inconvénients en faisant référence aux publications scientifiques récentes.

1 / Critères de qualité d'une méthode de diagnostic de gestation

La comparaison objective des méthodes de diagnostic de gestation fait appel à un certain nombre de paramètres dont il importe de connaître la signification. Selon Jardon *et al* (1984) la technique est exacte si elle permet de constater, à un instant donné, l'état de gestation d'un animal. Il est convenu de définir l'exactitude d'un diagnostic en séparant les diagnostics de non-gestation (DG-), dits négatifs, de ceux de gestation (DG+), dits positifs. L'exactitude des diagnostics négatifs ou de non-gestation est définie par : (Nombre de femelles n'ayant pas mis bas suite à un DG- / Nombre de femelles diagnostiquées non gravides) x 100.

L'exactitude des diagnostics positifs ou pronostics de mise bas est définie par : (Nombre de femelles ayant mis bas suite à un DG+ / Nombre de femelles diagnostiquées gravides) x 100.

Par la suite, d'autres auteurs, (Laplanche *et al* 1987) ont proposé les termes de sensibilité, spécificité et valeurs prédictives. Ils définissent la sensibilité d'un test comme la probabilité pour une femelle gravide d'avoir un résultat positif au test ou à l'examen. La spécificité est la probabilité pour une femelle non gravide d'avoir un résultat négatif au test ou à l'examen. La valeur prédictive est définie comme la probabilité pour une femelle d'être gravide ou non quand le résultat du test ou de l'examen a été déclaré positif ou négatif. Ces définitions, très couramment utilisées aujourd'hui, sont résumées dans les équations suivantes :

Sensibilité = Nombre de DG+ exacts / Nombre de femelles réellement gravides = $a/(a+d)$

Spécificité = Nombre de DG- exacts / Nombre de femelles réellement non gravides = $c/(c+b)$

Valeur prédictive positive = Nombre de DG+ exacts / Nombre total de DG+ = $a/(a+b)$

Valeur prédictive négative = Nombre de DG- exacts / Nombre total de DG- = $c/(c+d)$

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.

Dans cet article, nous utiliserons indifféremment les termes : exactitude des diagnostics de gestation positifs, exactitude des diagnostics de gestation négatifs, sensibilité et spécificité selon les expériences originales décrites dans les articles consultés.

INRA Productions Animales, Mai 2003

2 / Méthodes de laboratoire

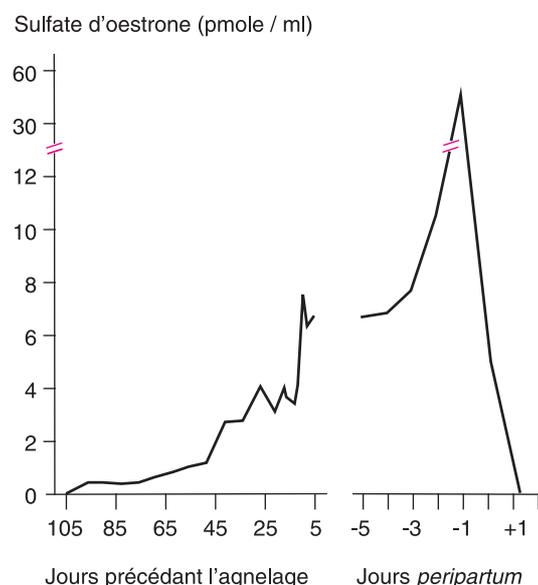
2.1 / Dosage du sulfate d'œstrone

L'origine des hormones œstrogènes dépend du stade de gestation. Au début, elles proviennent des ovaires. Elles sont ensuite produites par le placenta, surtout pendant les deux derniers tiers de la gestation (Dwyer et Robertson 1980). L'augmentation des taux d'œstrogènes après le 50^e jour de gestation est probablement d'origine foeto-placentaire. Le sulfate d'œstrone est quantitativement le principal œstrogène présent dans la circulation maternelle durant la gestation. Cette forme conjuguée est facilement dosable par la méthode radio-immunologique (RIA) ou immuno-enzymatique (EIA) sur des prélèvements de sang ou de lait.

La figure 1 illustre un profil de concentration plasmatique de sulfate d'œstrone chez une brebis ayant une portée double. Les concentrations de cette hormone dans le plasma augmentent à partir du 50^e jour de gestation ; toutefois, il faut attendre le 70^e jour pour que toutes les brebis présentent des concentrations détectables. Aux environs du 100^e jour, la concentration augmente à nouveau pour atteindre un pic peu avant la mise bas. Le taux chute très rapidement au moment de la parturition pour revenir à une valeur très faible peu de temps après l'agnelage. Au début, les concentrations varient de 0,3 à 0,7 pmol/ml (0,1 à 0,3 ng/ml). A l'avant-dernier jour de gestation, les valeurs atteignent 40 à 130 pmol/ml (15 à 50 ng/ml) (Tsang 1978). Au 85^e jour de gestation, la sensibilité du test est de 87,9 % alors que sa spécificité n'est que de 44 % (Worsfold *et al* 1986).

Selon Mialot *et al* (1991) et Worsfold *et al* (1986), cette technique ne permet pas le dénombrement des fœtus vu les variations individuelles importantes. Cependant, Illera *et al* (2000) ont observé qu'entre le 80^e et le 124^e

Figure 1. Evolution de la concentration plasmatique de sulfate d'œstrone chez une brebis ayant une portée double (d'après Tsang 1978).



jours de gestation, la concentration sérique de sulfate d'œstrone est significativement plus élevée chez les brebis ayant une portée multiple que chez celles ayant une portée simple. Selon ces auteurs, ce dosage pourrait offrir un intérêt pour prédire le nombre de fœtus, mais cela reste à confirmer.

En conclusion, chez la brebis, le diagnostic de gestation par dosage du sulfate d'œstrone est tardif. Un résultat négatif peut exprimer un état de non-gestation mais n'exclut pas une gestation débutante. Cependant, ce dosage permet de s'assurer de la viabilité fœtale durant la période qui couvre les deux derniers tiers de la gestation. Du fait des variations individuelles importantes, le dosage n'est guère utilisable pour dénombrer les fœtus. En conséquence, la méthode reste peu utilisée à l'échelle des troupeaux et même dans des conditions expérimentales ou de recherche.

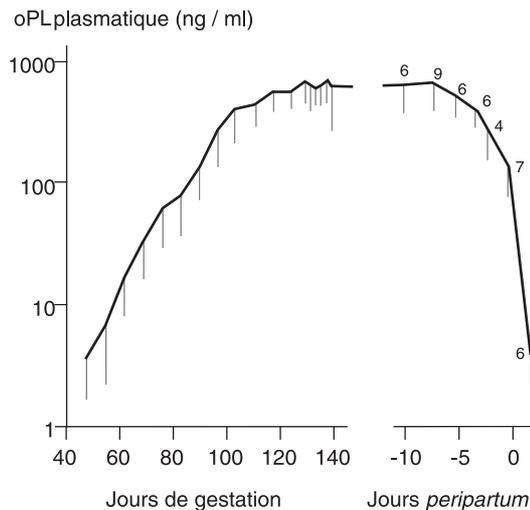
2.2 / Dosage de l'hormone lactogène placentaire (ou hormone chorionique somatomammotrope)

L'hormone lactogène placentaire ovine (oPL) appelée aussi hormone chorionique somatomammotrope ovine (oCS) est sécrétée par le trophoblaste dès l'apparition des cellules mono et binucléées à partir du 16^e ou 17^e jour de gestation (Martal *et al* 1977). Elle est déversée dans la circulation maternelle à partir des 40^e-50^e jours de gestation et intervient dans le développement du fœtus et dans l'activité des glandes mammaires. Le séquençage après clonage moléculaire de l'ADN a montré que la molécule de l'oPL est constituée de 198 acides aminés (Colosi *et al* 1989). Elle présente une homologie structurelle et fonctionnelle avec l'hormone de croissance (GH) et la prolactine (PRL). La purification et la caractérisation biochimique de l'oPL ont été réalisées par plusieurs équipes (Martal et Djiane 1975, Chan *et al* 1976 et 1986, Warren *et al* 1990). Chan *et al* (1986) ont montré que l'oPL existe sous deux formes (oPL-I et oPL-II) similaires pour le poids moléculaire, la composition en acides aminés et les propriétés immunologiques. Cette distinction des deux formes n'est plus de mise aujourd'hui.

La figure 2 illustre l'évolution des concentrations plasmatiques moyennes d'oPL chez 11 brebis. L'oPL devient détectable dans le sérum de brebis après le 48^e jour de gestation. La concentration plasmatique atteint un plateau vers 131-141 jours (649 ± 205 et 565 ± 347 ng/ml). Elle commence à diminuer 5 jours avant la mise bas et disparaît au cours des cinq jours qui suivent l'agnelage (Chan *et al* 1978). Le dosage RIA de cette hormone présente une sensibilité de 97 % et une spécificité de 100 % à partir du 64^e jour de gestation (Robertson *et al* 1980).

Chan *et al* (1978) ont montré qu'entre le 46^e et le 110^e jours après la conception, la concentration d'oPL est approximativement neuf fois plus élevée dans le sérum fœtal (137 ng/ml) que dans le sérum maternel (13 ng/ml). Au-delà de cette période, la concentration

Figure 2. Evolution de la concentration plasmatique de l'hormone lactogène placentaire chez la brebis (moyenne \pm écart type, $n=11$). Quand le nombre de brebis utilisées est inférieur à 11, le nombre réel est indiqué (d'après Chan *et al* 1978).



fœtale chute tandis que la concentration maternelle augmente rapidement. La concentration plasmatique de l'hormone lactogène placentaire maternelle est corrélée positivement avec le poids du placenta et donc avec la taille de portée (Butler *et al* 1981). Il est possible de déterminer le nombre de fœtus du 110^e au 145^e jour de gestation. En effet, les concentrations d'oPL chez les brebis portant un, deux ou trois fœtus se sont révélées significativement différentes ($P < 0,05$) avec des valeurs respectives de 718 ± 227 ; 1387 ± 160 et 1510 ± 459 ng/ml (Taylor *et al* 1980).

En conclusion, l'apparition tardive de l'oPL dans le sang maternel prive ce dosage d'intérêt pour un diagnostic précoce de gestation. A ce jour, ce dosage ne se réalise pas en routine, ni pour le diagnostic précoce, ni pour le dénombrement des fœtus.

2.3 / Dosage de la progestérone

La progestérone est une hormone stéroïde à 21 atomes de carbone et d'un poids moléculaire de 314 daltons. Elle provient du cholestérol sanguin (libre ou estérifié) et de l'acétate. Le rôle indispensable de la progestérone dans le maintien de la gestation est connu depuis le début du siècle dernier et a été à la base du développement des premières méthodes de diagnostic hormonal par dosage dans le sang et le lait dès les années soixante-dix. Après fécondation, le corps jaune devient rapidement fonctionnel. Il se maintient chez les femelles gravides suite à l'intervention du signal embryonnaire -un interféron chez les ruminants- et sécrète la progestérone. Cette sécrétion est ensuite relayée par le placenta à des périodes variables selon les espèces. L'ovariectomie peut être pratiquée au-delà du 50^e jour de gestation chez la brebis sans entraîner l'interruption de la sécrétion. A partir du 55^e jour de gestation, le taux de progestérone augmente jusqu'au 4^e mois. Selon

Les dosages d'hormone placentaire lactogène ou de sulfate d'œstrone ne permettent pas un diagnostic fiable avant 65 ou 70 jours de gestation.

Linzell et Heap (1968), chez la brebis, le placenta en produit 5 fois plus que l'ovaire. Deux types de dosages sont actuellement utilisés : le dosage RIA et le dosage EIA ; ils peuvent être réalisés sur des prélèvements de sang, de lait entier ou écrémé et encore dans la crème du lait (Shemesh *et al* 1979).

La figure 3 illustre un profil théorique de concentration plasmatique de progestérone au cours du cycle sexuel et de la gestation. Minimale pendant l'œstrus (0,2 à 0,3 ng/ml), la concentration s'élève progressivement à partir des 3^e-4^e jours du cycle, pour atteindre un maximum (environ 2 ng/ml) entre les 7^e et 10^e jours (Cunningham *et al* 1975). Cette concentration reste stable jusqu'aux 14^e-15^e jours, pour chuter ensuite brutalement suite à la lutéolyse du corps jaune induite par la prostaglandine F_{2α}. En cas de fécondation, le corps jaune se maintient, et la concentration plasmatique de progestérone égale voire dépasse celle observée en phase lutéale. Le dosage de la progestérone peut fournir des informations tout au long de la gestation car la concentration augmente régulièrement au cours du temps (figure 4). Deux semaines avant la mise bas, la progestéronémie baisse progressivement puis chute brusquement au moment de l'agnelage pour atteindre des valeurs basales de 0,3 ng/ml.

Le dosage de la progestérone permet un diagnostic dès 17 jours de gestation si on connaît la date de saillie ou d'insémination. Il est surtout utilisé pour détecter les brebis non gravides.

A partir des données enregistrées chez 4752 femelles des races Préalpes du Sud, Ile de France et Romanov, Jardon *et al* (1984) rapportent que pour le dosage RIA de la progestérone, l'exactitude du diagnostic de gestation est de 90,6 % (n=3223) et celle du diagnostic de non-gestation de 99,2 % (n=1529). Un dosage EIA du pregnendiol-3-glucuronide (IPDG), un métabolite de la progestérone présent dans les matières fécales a été également utilisé pour suivre la gestation de façon non invasive chez des animaux en liberté dans un parc, dans un désert ou en montagne. Chez la brebis Bighorn, cette technique a permis d'obtenir une sensibilité et une spécificité de 100 % à partir du 60^e jour de la gestation (Borjesson *et al* 1996).

Figure 3. Evolution théorique de la concentration de progestérone plasmatique périphérique au cours d'un cycle sexuel puis de la gestation.

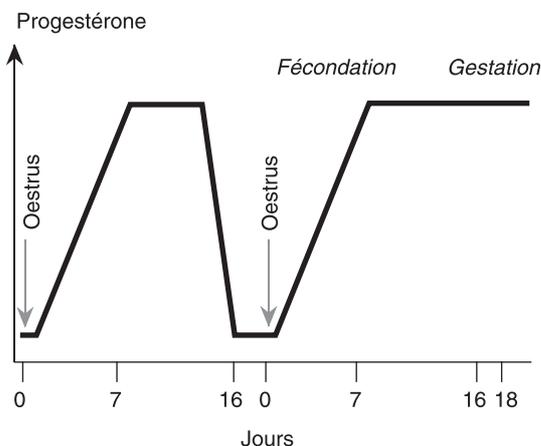
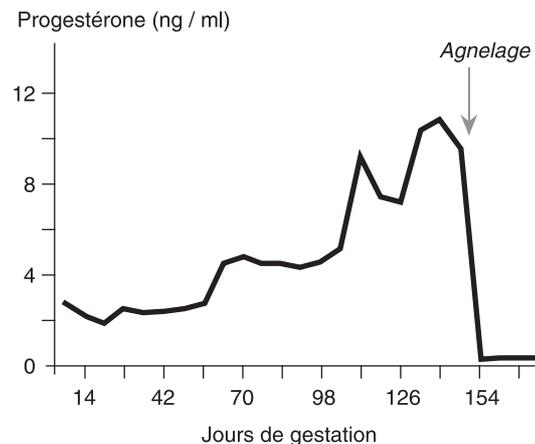


Figure 4. Evolution de la concentration de progestérone plasmatique périphérique au cours de la gestation et jusqu'après l'agnelage chez la brebis Mérinos (d'après Ranilla *et al* 1994).



Le dénombrement précis des fœtus par le dosage de la progestérone n'est pas possible bien que certains auteurs aient observé des corrélations positives en fin de gestation. Kalkan *et al* (1996) et Chauhan et Waziri (1991) ont rapporté des concentrations sériques de progestérone significativement plus élevées chez les brebis portant 2 et 3 fœtus que chez celles n'en portant qu'un (19,2 et 29,9 ng/ml vs 9,2 ng/ml, respectivement).

L'élément le plus en faveur du dosage de la progestérone est qu'il permet un diagnostic précoce dès le 17^e jour de la gestation. Cependant, il faut insister sur le fait qu'il nécessite une connaissance précise de la date de la dernière saillie ou IA. Il donne lieu à de faux diagnostics positifs selon l'importance de la mortalité embryonnaire précoce ou dans le cas d'une connaissance imprécise de la date de fécondation. Une concentration élevée de progestérone chez une brebis non gravide peut résulter d'une anomalie de la durée du cycle (cycle court ou cycle long), de la présence d'un kyste lutéal, d'infections du tractus génital ou encore de l'occurrence de mortalités embryonnaires (Derivaux et Ectors 1980). En outre, on reproche à cette technique le fait qu'elle ne permet pas une intervention unique en troupeau, surtout en cas de monte naturelle (Mialot *et al* 1991).

En terme de recommandation, il faut rappeler que pour le dosage de progestérone, un soin particulier doit être apporté à l'identification du jour du prélèvement (date de la dernière saillie ou insémination), ainsi qu'au prélèvement de l'échantillon lui-même. Les échantillons de sang doivent être centrifugés rapidement après le prélèvement ou prélevés en tubes contenant de l'azide de sodium (5 mg/ml sang) car, *in vitro*, la progestérone se métabolise rapidement au contact des globules rouges (Delahaut *et al* 1979). Les échantillons de lait doivent être préservés par l'addition de bichromate de potassium ou de chlorure mercurique. Les échantillons doivent être conservés à 4°C jusqu'à la réalisation du dosage (Derivaux et Ectors 1980).

On peut conclure que le dosage de la progestérone est efficace pour le diagnostic de non gestation et qu'il permet surtout de remettre sans retard à la reproduction des animaux diagnostiqués non gravides.

2.4 / Dosage des protéines spécifiques ou associées à la gestation

Dès le début de la gestation, le placenta synthétise toute une série de protéines spécifiques ou associées à la gestation. Lorsque ces molécules sont sécrétées dans le sang maternel à des niveaux détectables, elles présentent un intérêt pour le diagnostic de la gestation et de la fonction placentaire. Chez la brebis, les protéines associées à la gestation ont été isolées essentiellement par trois équipes et ont pris les nominations de protéine spécifique de gestation (PSPB), protéines associées à la gestation (PAG) et antigène spécifique des cellules binucléées de l'utérus gravide (SBU-3). Elles appartiennent à la famille des protéases aspartiques au même titre que le pepsinogène, la pepsine, la cathepsine D, la cathepsine E et la rénine. Elles sont synthétisées par les cellules binucléées typiques du placenta des ruminants. En dépit d'une caractérisation biochimique très poussée, les molécules SBU-3 identifiées pour la première fois par Gogolin-Ewens *et al* (1986) ont été considérées comme restant confinées dans les cellules binucléées et, de ce fait, elles n'ont pas fait l'objet de développement pour le diagnostic de gestation. Les PSPB/PAG sont des glycoprotéines dont le poids moléculaire varie entre 43 kDa et 70 kDa et le point isoélectrique entre 4 et 6,8 (Zoli *et al* 1990 et 1995, Willard *et al* 1995). Elles sont stables dans le sang, aussi bien *in vivo* qu'après prélèvement, ce qui en fait d'excellents marqueurs de gestation. Les protéines spécifiques ou associées à la gestation (PSPB ou PAG) présentes dans la circulation maternelle ont été utilisées dans le diagnostic de gestation pour la première fois chez les bovins (Butler

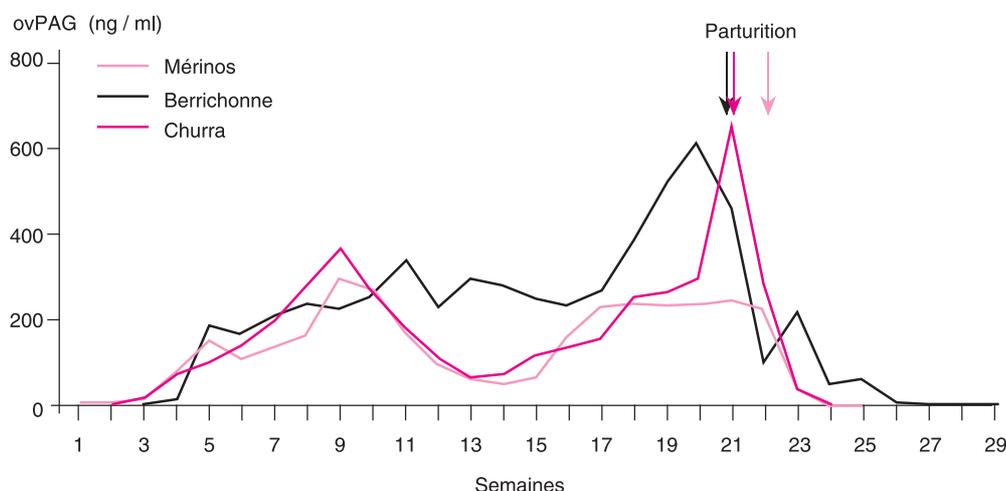
et al 1982, Zoli *et al* 1991) puis chez de nombreuses espèces de ruminants, entre autres la brebis (Dobson *et al* 1993, Ranilla *et al* 1994, Willard *et al* 1995, Gajewski *et al* 1999, Karen *et al* 2003).

Chez les races Mérinos, Churra (Ranilla *et al* 1994) et Berrichonne (Gajewski *et al* 1999) le profil plasmatique de PAG montre des différences qui sont bien marquées de la 10^e semaine de gestation à l'agnelage (figure 5). De la 10^e à la 16^e semaine, les brebis Mérinos et Churra présentent une décroissance ce qui n'est pas le cas de la Berrichonne. L'origine de cette décroissance n'est pas élucidée à l'heure actuelle bien que l'on puisse suspecter l'expression temporaire d'une forme de PAG moins bien reconnue dans le RIA utilisé. De la 16^e semaine de gestation jusqu'à la mise bas, la brebis Mérinos présente un profil particulier avec des concentrations constantes alors qu'elles augmentent chez les brebis Churra et Berrichonne. D'une façon générale, chez la brebis, les PAG sont facilement détectables dès le 22^e jour après fécondation et jusqu'à la parturition. Après l'agnelage, le niveau des PAG diminue rapidement pour atteindre des valeurs basales dès la 4^e semaine post-partum. Récemment, Karen *et al* (2003) ont confirmé la possibilité de diagnostiquer la gestation par le dosage des PAG, dès le 22^e jour avec une spécificité de 100 % et une sensibilité de 94 % et, à partir du 29^e jour, avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 99,2 %.

Le dosage de PAG peut être également utile pour dénombrer les fœtus. Plus tard dans la gestation (84^e jour), les brebis ayant une portée double montrent des concentrations plus élevées de PAG que celles n'en portant qu'un seul. Cependant, la différence n'est vraiment significative qu'après le 133^e jour (Ranilla *et al* 1997). Willard *et al* (1995) ont utilisé le dosage de la PSPB pour établir le dénombrement des fœtus et ont obtenu à 60, 90 et 120 jours de gestation une exactitude de respectivement 71, 78 et 81 %.

Les protéines associées à la gestation sont synthétisées très tôt par le placenta et permettent un diagnostic dès 20 jours.

Figure 5. Evolution de la concentration plasmatique périphérique de la protéine associée à la gestation (ovPAG) au cours de la gestation et du post-partum chez des brebis Mérinos, Churra (d'après Ranilla *et al* 1994) et Berrichonne (d'après Gajewski *et al* 1999).



A ce jour, des travaux sont en cours dans notre laboratoire pour mettre en place un dosage homologue sensible et spécifique des différentes formes moléculaires identifiées à différentes périodes de la gestation (El Amiri *et al* 2003). Parallèlement, nous testons actuellement le dosage des PAG dans le lait de façon à rendre le prélèvement de l'échantillon accessible aux éleveurs. Les premiers résultats sont prometteurs, les concentrations de PAG dans le lait au 32^e jour permettent de prédire la gestation chez toutes les brebis (n= 20).

Les PAG synthétisées par le placenta se trouvent très tôt dans la circulation maternelle. Leur dosage permet un diagnostic précoce de la gestation avec une grande spécificité et une grande sensibilité.

3 / Méthodes cliniques

3.1 / Radiographie

Le diagnostic de gestation et le dénombrement des fœtus peuvent être réalisés avec succès par radiographie avec une qualité de clichés qui dépend de l'appareil, de la contention de l'animal et du centrage des rayons X. D'une manière générale, le diagnostic de gestation peut s'établir à partir du 3^e mois de gestation. C'est ainsi que Wenham et Robinson (1972) ont obtenu sur 417 brebis de races différentes 70, 97, 100 % de sensibilité dans les périodes respectives de 60-70 jours, 70-80 jours et plus de 81 jours de gestation. De même, à partir de l'examen de 322 brebis au 70^e jour de gestation, Ford *et al* (1963) ont obtenu une exactitude de 100 %.

La méthode permet le dénombrement des fœtus. Wenham et Robinson (1972) ont obtenu des exactitudes de 88, 94 et 99 % dans les périodes respectives de 60-70 jours, 70-80 jours et plus de 81 jours. Pour Ford *et al* (1963), l'exactitude a été de 90 % tandis que Grace *et al* (1989) ont obtenu des valeurs de 94 à 100 %.

La méthode radiologique permet de diagnostiquer la gestation et de déterminer le nombre des produits à naître avec une exactitude élevée à partir du 70^e jour après la fécondation. Malheureusement, cette précision est assortie d'un certain nombre d'inconvénients qui ont limité l'extension d'utilisation de la méthode. Etant donné la sophistication de l'appareillage, son coût élevé et surtout le risque d'irradiation de l'animal et du manipulateur, elle ne peut être pratiquée à grande échelle dans le domaine de l'élevage ovin. Cette méthode reste peu utilisée en pratique, si ce n'est dans des protocoles expérimentaux particuliers impliquant un suivi de la gestation.

3.2 / Palpation recto-abdominale

La palpation recto-abdominale est couramment et largement utilisée pour le diagnostic

de la gestation chez la vache et la jument. Elle a été adaptée à l'anatomie des petits ruminants par Hulet (1972). Le principe consiste à mettre en évidence la masse fœto-utérine en associant d'une part la palpation manuelle transabdominale et, d'autre part, une manipulation à l'aide d'une baguette en matière plastique rigide, creuse et à extrémité mousse, présentant une longueur de 50 cm et un diamètre de 1,5 cm. La baguette est introduite par voie rectale au moyen de la main droite, sur une profondeur comprise entre 30 et 35 centimètres. Le diagnostic de gestation est positif quand la main qui fait mouvoir la baguette perçoit la résistance de la masse fœto-placentaire et quand l'autre main identifie une masse solide correspondant au fœtus. Le diagnostic de gestation est considéré comme négatif quand la baguette se déplace librement, sans rencontrer d'obstacle notable.

Hulet (1972) et Mac-Farlane (1973) ont montré que la sensibilité et la spécificité de la technique sont de 100 % après le 50^e jour suivant l'accouplement. Les tentatives de réaliser des diagnostics plus précoces se sont soldées par une faible sensibilité (Tyrrell et Plant 1979, Trapp et Slyter 1983).

Selon Hulet (1973), cette technique offre la possibilité de distinguer les gestations simples des gestations multiples, à condition de pratiquer l'examen entre les 90^e et 105^e jours qui suivent la saillie. Toutefois, pour des raisons de sécurité, l'auteur recommande de ne plus utiliser cette technique après 120 jours de gestation, la masse fœtale exerçant alors une pression trop importante sur le rectum. Par ailleurs, on peut se demander dans quelle mesure une telle manipulation de l'utérus par des personnes inexpérimentées ne risque pas d'entraîner des avortements. Morgan (1973) signale 2,5 % de mortalité due à des perforations du rectum et à la péritonite consécutive. Turner et Hindson (1975) donnent des chiffres plus élevés : parmi 167 brebis examinées 34 ont avorté et 5 sont mortes.

La palpation recto-abdominale est simple et peu coûteuse, mais elle présente des risques non négligeables de blessures rectales et d'avortements. De ce fait, elle n'est plus pratiquée à l'heure actuelle.

3.3 / Ultrasonographie

L'utilisation des ultrasons pour le diagnostic de gestation et le suivi du développement embryonnaire chez les animaux de rente date de la fin des années soixante. Depuis 30 ans, trois systèmes d'ultrasonographie ont été employés pour le diagnostic de gestation chez les petits ruminants⁽¹⁾.

a / Le Doppler à ultrasons

Le principe de l'écho Doppler fut appliqué dès les années soixante-dix dans le cadre du

Malgré sa précision, la radiographie est peu utilisée du fait de son coût et des risques d'irradiation. L'échoscopie a été abandonnée en raison de sa faible fiabilité.

⁽¹⁾ Il faut préciser que d'après un jugement rendu par la Cour d'appel de Besançon (France) en mars 2001, « (...) l'échographie n'est nullement un diagnostic mais constitue une technique de constat de gestation (...) ». Ce problème de vocabulaire étant lié à la personne qui réalise l'échographie, on utilise « diagnostic de gestation » lorsque c'est un vétérinaire qui pratique l'échographie et « constat de gestation » autrement.

diagnostic de gestation pour détecter les battements cardiaques fœtaux, les mouvements fœtaux ou encore le flux de sang dans les artères placentaires. Les ultrasons émis à partir d'une source fixe sont réfléchis par tout obstacle mobile tel que le cœur ou le flux sanguin ; ils subissent alors une modification de fréquence proportionnelle à la vitesse de déplacement de l'obstacle. La sonde exploratrice possède deux cristaux permettant une émission continue d'ultrasons. Elle est reliée à un appareil qui convertit la différence de fréquence entre ultrasons incidents et réfléchis en signaux audibles caractéristiques des ensembles réflecteurs (Bosc 1971). Plusieurs facteurs sont susceptibles d'influencer la précision d'un diagnostic ultrasonique. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer le stade de gestation auquel l'examen est pratiqué, la position de l'animal, la fréquence d'émission d'onde et l'habileté de l'opérateur à détecter les modifications sonores caractéristiques.

L'examen peut se faire par voie transabdominale ou par voie transrectale. Pour des explorations rectales, une sonde métallique sert de support rigide à la sonde. Lindahl (1971) rapporte que le Doppler intra-rectal peut être utilisé avec une exactitude totale d'au moins 90 % à partir du début de la deuxième moitié de gestation (50^e au 75^e jour de gestation). Selon Deas (1977), la sensibilité et la spécificité de cette technique sont respectivement de 82 % et 91 % entre le 41^e et le 60^e jours de gestation et se maintiennent entre 85 % et 94 % après le 71^e jour d'après Watt *et al* (1984). Pour ces derniers, l'utilisation d'une sonde externe donne une sensibilité proche de 100 % pour le diagnostic de gestation au cours du 4^e mois.

L'estimation de l'âge fœtal par effet Doppler a été sujette à controverses. En effet, si une corrélation étroite entre la fréquence cardiaque fœtale et le stade de gestation a pu être établie par Fraser *et al* (1970), Royal et Tainturier (1976) ainsi que Russel et Goddard (1995) ont rapporté que l'utilisation du Doppler n'était pas satisfaisante pour l'estimation de l'âge du fœtus chez les ovins.

Le diagnostic de gestation par sonde Doppler nécessite un examen long si l'on cherche une bonne exactitude. Il ne peut, de ce fait, être recommandé aux éleveurs. Pour le diagnostic de gestation, cette méthode a été abandonnée au profit de l'échographie bidimensionnelle (mode-B). Elle a toutefois conservé un certain intérêt pour l'examen de la viabilité fœtale en cours de gestation et pour l'estimation de la date de mise bas.

b / L'ultrasonographie unidimensionnelle (mode-A)

Appelé échoscope (mode-A), l'appareil émet un son et éventuellement un signal lumineux lorsque le faisceau d'ultrasons rencontre une poche de liquide. L'opérateur doit évaluer si ce signal correspond bien, selon l'orientation, au liquide amniotique. Dans ce système, le transducteur porte un seul cristal

qui joue en même temps le rôle d'émetteur et de récepteur et engendre une émission d'ultrasons intermittente. En passant d'un milieu à un autre d'impédance acoustique différente, une partie seulement de l'énergie sonore continue à se propager, le reste étant réfléchi par l'interface. Le transducteur reçoit donc les échos réfléchis et les convertit en différents pics. L'intensité de chaque écho détermine la hauteur du pic. La distance entre deux pics correspond à celle qui sépare deux interfaces d'impédances acoustiques différentes ou égales. L'amplitude des différents échos est visualisée sur un écran gradué.

L'examen réalisé chez des brebis de 61 à 151 jours après saillie a été considéré positif quand la réflexion des ultrasons avait une amplitude supérieure à 10,5 cm sinon le test a été considéré comme négatif (Meredith et Madani 1980). Dans ces conditions, la sensibilité a été de 96 % et la spécificité de 87,5 %. De même, du 51^e jour après la saillie jusqu'à l'agnelage, Watt *et al* (1984) rapportent une sensibilité de 97 % et une spécificité de 96 %. Chez des brebis primipares, entre le 73^e et le 103^e jours de gestation, Madel (1983) trouve des valeurs plus faibles : 86,7 % pour la sensibilité et 69 % pour la spécificité. Jardon (1988) rapporte une exactitude de diagnostic positif de 92,2 % (n= 3121) et une exactitude de diagnostic négatif de 89 % (n=600). Selon cet auteur, du fait que la technique est basée sur la mise en évidence du liquide amniotique, les risques d'erreur concernant aussi bien les diagnostics négatifs que positifs sont de deux types : soit il s'agit de liquide utérin autre qu'amniotique ou bien les masses de liquide ne sont pas dans la position classique, soit la brebis est en début de gestation. Dans ce cas, l'opérateur ne trouve rien. Le meilleur moment pour le diagnostic se situe entre le 75^e et 120^e jours. Au-delà, l'exactitude semble baisser (Jardon 1988). Si elle est utilisée au bon stade de gestation, l'ultrasonographie unidimensionnelle permet un examen rapide (80 à 100 brebis/heure). Cependant, elle ne permet pas de dénombrer les fœtus (Jardon 1988).

Le diagnostic de gestation par ultrasonographie unidimensionnelle peut conduire à des erreurs du fait qu'il est basé essentiellement sur la détection du liquide amniotique. En plus, il n'est pas précoce et ne peut déterminer le nombre de fœtus ni leur viabilité. Cela a conduit très tôt à son abandon au profit de l'échographie mode-B.

c / L'ultrasonographie bidimensionnelle (mode-B)

La technique fait appel à un échographe fonctionnant en mode-B (Brillance) en temps réel, appelé aussi échotomographe. L'image résulte de la juxtaposition de points lumineux. Leur brillance est proportionnelle à la variation d'impédance acoustique entre les tissus (Levy *et al* 1990). 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 est utilisée à la fois pour le diagnostic de gestation, la détermination du nombre de fœtus et l'estimation de l'âge de gestation (Russel et Goddard 1995).

Diagnostic de gestation

Dès le début de son utilisation dans la pratique vétérinaire, l'échographie en mode-B a montré son efficacité pour le diagnostic de gestation (les premières publications apparaissent vers 1981). Les débuts de son utilisation en élevage ovin se situent vers 1983. En 1984, Jardon *et al* ont obtenu une exactitude de diagnostic positif de 94,8 % (n = 2550) et de non-gestation de 96,6 % (n = 892), Fowler et Wilkins (1984) quant à eux, ont obtenu des valeurs de respectivement 99,9 % (n = 5007) et 93,9 % (n = 523).

Dès le départ la méthode s'est montrée rapide puisqu'elle offre la possibilité d'examiner de 50 à 100 brebis en une heure (Levy *et al* 1990). Le tableau 1 résume les valeurs de la sensibilité et de la spécificité obtenues lors d'examens échographiques réalisés par des sondes transrectales (5 MHz et 7 MHz) et transabdominales (3 MHz, 3,5 MHz et 5 MHz). L'utilisation d'une sonde transrectale (7,5 MHz) permet de visualiser l'embryon dès le 20^e jour (Schrick et Inskeep 1993) voire le 19^e jour (González *et al* 1998). Avec une sonde de 5 MHz, ce délai est retardé de 5 jours (Buckrell *et al* 1986) car, avant le 25^e jour, la sensibilité n'est que de 12 % (Gearhart *et al* 1988). Par la suite, cette valeur augmente avec le stade de gestation et atteint 65 % à 85 % entre le 25^e et le 50^e jours. L'utilisation d'une sonde transabdominale (3,5 MHz) permet de détecter l'embryon entre le 25^e jour (Gearhart *et al* 1988) et le 30^e jour après la saillie (Bretzlaff *et al* 1993). D'après Taverne *et al* (1985), la sensibilité et la spécificité de cette technique sont élevées après le 29^e jour et atteignent pratiquement 100 % entre le 46^e et le 106^e jours de la gestation.

A ce jour, l'échographie en mode-B est largement utilisée aussi bien dans les élevages que dans les centres de recherche. Son utilisation requiert un personnel spécialisé et un

appareillage coûteux. Cependant, vu la vitesse de diagnostic, son coût d'utilisation dans les grands élevages est relativement faible.

Dénombrement des fœtus

Selon Mialot *et al* (1991), l'échographie mode-B représente un bon moyen pour dénombrier les fœtus. Un examen détaillé est nécessaire pour diagnostiquer de façon certaine une gémellité. L'exactitude du dénombrement des fœtus dépend aussi de la nature de la sonde utilisée.

Vu sa facilité d'utilisation en ferme, la sonde transabdominale est couramment utilisée. Entre le 46^e et le 106^e jours de gestation, Fowler et Wilkins (1984) ont détecté des gestations simples (n=3661) avec une exactitude de 97,7 %, des doubles (n=1318) avec une exactitude de 97,1 % et des triples (n= 28) avec une exactitude de 82,1 %. White *et al* (1984) ainsi que Jardon (1988) donnent des résultats de même ordre. Ces valeurs dépendent essentiellement de la période de gestation au cours de laquelle le dénombrement est effectué. Tous les auteurs s'accordent sur le fait qu'un meilleur résultat est obtenu après le 45^e jour de gestation (White *et al* 1984, Taverne *et al* 1985, Davey 1986, Logue *et al* 1987, Gearhart *et al* 1988). Par ailleurs, l'utilisation d'une sonde transrectale de 7,5 MHz permet de déterminer les gestations simples ou multiples avec une exactitude de 88 % à partir du 25^e jour après la saillie (Schrick et Inskeep 1993). Cependant, cette valeur diminue lorsqu'une sonde de 5 MHz est utilisée.

Le dénombrement des fœtus est un paramètre important pour distribuer une alimentation adéquate aux brebis en fin de gestation. L'échographie mode-B permet de réaliser le dénombrement avec des sensibilités et des spécificités nettement supérieures à celles des autres techniques d'ultrasonographie déjà présentées.

L'échographie mode B permet un diagnostic à 30 jours. Elle est aussi utilisée pour dénombrier les fœtus et permet de déterminer leur âge à partir de leurs mensurations.

Tableau 1. Valeurs de sensibilité (Se) et spécificité (Sp) du diagnostic de gestation basé sur l'échographie transrectale et transabdominale chez les ovins (n = nombre d'animaux ayant subi l'examen).

Echographie	Jour d'examen	MHz	Se (%)	Sp (%)	Référence
transrectale	0 à 60 (n = 117)	7,5	98	62	Schrick et Inskeep 1993
	0 à 25 (n = 26)	5	12	100	Gearhart <i>et al</i> 1988
	25 à 50 (n = 64)	5	87	96	Buckrell <i>et al</i> 1986
	26 à 50 (n = 26)	5	65	100	Gearhart <i>et al</i> 1988
	24 à 26 (n = 91)	5	65	95	Garcia <i>et al</i> 1993
transabdominale	32 à 34 (n = 91)	5	85	98	Garcia <i>et al</i> 1993
	51 à 75 (n = 26)	5	100	100	Gearhart <i>et al</i> 1988
	46 à 106 (n = 5530)	3,5	99	100	Fowler et Wilkins 1984
	46 à 93 (n = 554)	3,5	100	100	White <i>et al</i> 1984
	50 à 100 (n = 516)	3,5	99	100	Davey 1986
	29 à 89 (n = 724)	3	99	98	Taverne <i>et al</i> 1985
	< 40 à > 100 (n = 2499)	-	100	87	Logue <i>et al</i> 1987

Estimation de l'âge de l'embryon ou du fœtus

L'estimation de l'âge du fœtus repose sur différentes mesures tels que le développement de la vésicule embryonnaire (González *et al* 1998), la longueur de l'embryon (la longueur tête-croupe) (Schrick et Inskeep 1993), les mesures céphaliques, particulièrement le diamètre bipariétal (Haibel et Perkins 1989, Sergeev *et al* 1990, Aiumlamai *et al* 1992, González *et al* 1998) et la longueur occipito-nasale (Kelly et Newham 1989). Par ailleurs, le diamètre thoracique (Sergeev *et al* 1990, González *et al* 1998), la fréquence cardiaque fœtale (Aiumlamai *et al* 1992, Garcia *et al* 1993, Schrick et Inskeep 1993) et la taille des ébauches cotylédonaire (Buckrell *et al* 1986, Doize *et al* 1997, González *et al* 1998) ont également été utilisés.

Deux paramètres sont relativement faciles à mesurer et fréquemment utilisés, la longueur de l'embryon et le diamètre bipariétal. Le premier est basé sur la distance entre la nuque et la queue. Cette mesure augmente régulièrement de 1,1 à 1,4 mm par jour. L'échographie transrectale avec une sonde de 7,5 MHz (Schrick et Inskeep 1993) a permis d'établir une relation entre la taille de l'embryon et l'âge du fœtus entre le 20^e et le 40^e jours de gestation, selon l'équation $Y = 14,05 + 1,16 X - 0,012 X^2$. En utilisant la même approche, González *et al* (1998) rapportent un coefficient de corrélation élevé ($r = 0,94$) entre les deux paramètres (la longueur et l'âge de fœtus) du 19^e au 48^e jour de gestation.

Le second paramètre, illustré sur la figure 6, concerne la mesure transrectale du diamètre bipariétal. Chez des fœtus de brebis Manchega, un coefficient de corrélation élevé ($r = 0,96$) entre ce paramètre et l'âge du fœtus a été montré entre le 32^e et le 90^e jours (González *et al* 1998). Une corrélation similaire a été établie en utilisant la voie transabdominale chez les brebis Booroola x South Australian Mérinos

entre le 49^e et le 109^e jours de gestation (Sergeev *et al* 1990) et chez les brebis Swedih Pelt de la 10^e semaine avant l'agnelage jusqu'à la mise bas (Aiumlamai *et al* 1992). Haibel et Perkins (1989) ont trouvé des coefficients de corrélations élevés chez les brebis Suffolk ($r = 0,98$) et Finnoise ($r = 0,98$) du 40^e au 95^e jour de gestation.

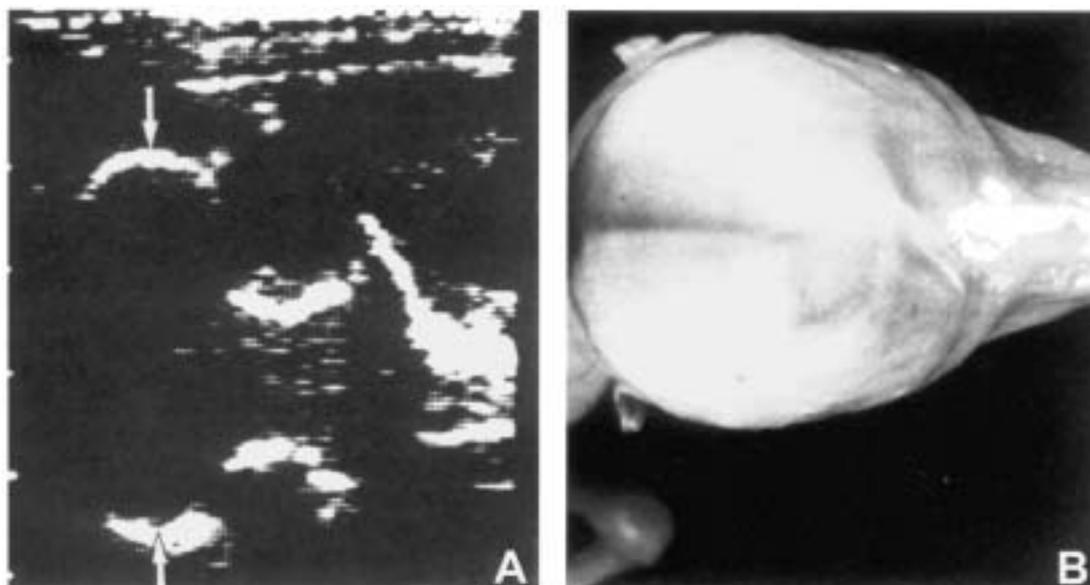
Toutes ces mesures réalisées pour estimer l'âge de l'embryon ou du fœtus sont rarement demandées par l'éleveur mais intéressent plutôt le chercheur pour vérifier la normalité du développement du fœtus en cas de fécondation *in vitro* ou en cas de clonage. Les mesures les plus fiables et les plus faciles à obtenir pour déterminer l'âge du fœtus dans le cadre d'un diagnostic de routine sont la taille de l'embryon et le diamètre bipariétal.

En résumé, la technique d'ultrasonographie bidimensionnelle (mode-B) offre l'avantage de pouvoir déterminer le nombre de fœtus et le stade de gestation par la prise des mensurations de l'embryon ou du fœtus.

Conclusion

Différentes approches sont utilisables pour poser ou confirmer le diagnostic de gestation chez la brebis. Parmi les paramètres importants à considérer pour juger de ces techniques, nous retiendrons la précocité du diagnostic, l'exactitude du diagnostic positif - correspondant assez bien à la sensibilité, l'exactitude des diagnostics négatifs - correspondant assez bien à la spécificité, la facilité de mise en oeuvre et, enfin, le coût de l'examen ou de l'analyse. Si l'on considère la précocité, le dosage de la progestérone garde la faveur. Applicable dès le 17^e jour après la fécondation, ce test offre des valeurs d'exactitude de diagnostic de gestation d'environ 90 % tandis que les valeurs de diagnostic de non-gestation approchent les 100 %. Les limites

Figure 6. Mesure du diamètre bipariétal par échographie transabdominale (5 MHz). A : Les flèches indiquent le diamètre bipariétal (DBP). B : Vue dorsale de la tête du fœtus dans un alignement similaire (d'après Haibel et Perkins 1989).



résident dans l'obligation de connaître avec précision la date de la saillie ou de l'insémination et d'en tenir compte individuellement. Son coût varie entre 3 et 4 euros et peut être considéré comme raisonnable dans le cas de petits troupeaux.

Le dosage de la PSPB/PAG permet un diagnostic un peu moins précoce, dès le 20^e jour s'il est effectué dans le sang et le 32^e jour s'il est réalisé dans le lait. Il n'est pas nécessaire de connaître ni de tenir compte de la date de saillie pour autant qu'un délai minimum de 22 jours sépare la dernière fécondation possible de la date du prélèvement s'il s'agit du sang et de 32 jours pour le lait. Dans ces conditions, la sensibilité est de 94 % et la spécificité est de 100 %. Au 29^e jour de gestation, ces valeurs augmentent pour atteindre 100 % de sensibilité et 99,2 % de spécificité. Le coût de l'analyse, établi aujourd'hui entre 3 et 5 euros, est susceptible de diminuer lorsque l'ELISA et un test simplifié entreront en application.

Parmi les méthodes applicables à la ferme, l'échographie en mode-B est la seule réellement efficace. Elle est réalisable précocement dès le 30^e jour, et permet un rythme d'examen élevé (50 à 100 brebis par heure). Elle nécessite néanmoins un personnel spécialisé et

un matériel coûteux. Elle se rentabilise assez facilement. Le prix de l'examen, dégressif en fonction du nombre d'animaux examinés dans le troupeau, est de l'ordre de 2,5 à 1 euro. Cette méthode permet en outre de dénombrer les foetus, ce qui ne manque pas d'intérêt pour la constitution de lots d'animaux et la bonne conduite du troupeau.

En conclusion, il ne faut pas opposer les différentes approches car elles peuvent être complémentaires dans la recherche des causes de faible fertilité dans un troupeau (détection des mortalités embryonnaire ou foetale, pseudogestation...).

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier Mme R. Noucaïri, Dr F. Ben Hayoun, Dr H.H. Tamboura et Dr F. González pour leurs remarques au cours de la rédaction de cette revue, ainsi que les journaux qui nous ont aimablement autorisés à reproduire les figures qu'ils ont conceptualisées. Ce travail a été réalisé grâce au soutien du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) et du Ministère de l'Agriculture Belge. B. El Amiri est boursière de la Coopération Technique Belge (BTC/CTB).

Références

- Aiumlamai S., Fredriksson G., Nilfors L., 1992. Real-time ultrasonography for determining the gestational age of ewes. *Vet. Rec.*, 131, 560-562.
- Borjesson D.L., Boyce W.M., Gardner I.A., Deforge J., Lasley B., 1996. Pregnancy detection in Bighorn sheep (*Ovis canadensis*) using a fecal-based enzyme immunoassay. *J. Wildl. Dis.*, 32, 67-74.
- Bosc M.J., 1971. Etude d'un diagnostic de gestation par ultrasons et effet Doppler chez la brebis. *Ann. Zootech.*, 20, 107-110.
- Bretzlaff K., Edwards J., Forrest D., Nuti L., 1993. Ultrasonographic determination of pregnancy in small ruminants. *Vet. Med.*, 88, 12-24.
- Buckrell B.C., Bonnett B.N., Johnson W.H., 1986. The use of real-time ultrasound rectally for early pregnancy diagnosis in sheep. *Theriogenology*, 25, 665-673.
- Butler J.E., Hamilton W.C., Sasser R.G., Ruder C.A., Hass G.M., Williams R.R., 1982. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol. Reprod.*, 26, 925-933.
- Butler W.R., Fullenkamp S.M., Cappiello L.A., Handwerker S., 1981. The relationship between breed and litter size in sheep and maternal serum concentrations of placental lactogen, estradiol and progesterone. *J. Anim. Sci.*, 53, 1077-1081.
- Chan J.S., Robertson H.A., Friesen H.G., 1976. The purification and characterization of ovine placental lactogen. *Endocrinology*, 98, 65-76.
- Chan J.S.D., Robertson H.A., Friesen H.G., 1978. Maternal and fetal concentration of ovine placental lactogen measured by RIA. *Endocrinology*, 102, 1606-1613.
- Chan J.S., Nie Z.R., Seidah N.G., Chretien M., 1986. Purification of ovine placental lactogen (oPL) using high-performance liquid chromatography. Evidence for two forms of oPL. *FEBS Lett.*, 199, 259-264.
- Chauhan F.S., Waziri M.A., 1991. Evaluation of rectal-abdominal palpation technique and hormonal diagnosis of pregnancy in small ruminant. *Indian J. Anim. Reprod.*, 12, 63-67.
- Colosi P., Thordarson G., Hellmiss R., Singh K., Forsyth I.A., Gluckman P., Wood W.I., 1989. Cloning and expression of ovine placental lactogen. *Mol. Endocrinol.*, 3, 1462-1469.
- Cunningham N.F., Symons A.M., Saba N., 1975. Levels of progesterone, LH and FSH in the plasma of sheep during the oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.*, 45, 177-180.
- Davey C.G., 1986. An evaluation of pregnancy testing in sheep using a real-time ultrasound scanner. *Aust. Vet. J.*, 63, 347-348.
- Deas D.W., 1977. Pregnancy diagnosis in the ewe by an ultrasonic rectal probe. *Vet. Rec.*, 101, 113-115.
- Delahaut P., Beckers J.F., Ectors F., 1979. Effet de l'azide de sodium sur la dégradation de la progestérone dans des échantillons de sang total chez les bovines. *Ann. Méd. Vét.*, 123, 567-572.
- Derivaux J., Ectors F., 1980. Physiopathologie de la gestation et obstétrique vétérinaire. Les Editions du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, France, 31-45.
- Dobson H., Davies D., Ward W.R., Winter A.C., Humblot P., 1993. Pregnancy specific protein B, oestrone sulphate and echography as possible indices of embryonic death and fetal number in prolific ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 12 (abstr), 29.
- Doize F., Vaillancourt D., Carabin H., Belanger D., 1997. Determination of gestational age in sheep and goats using transrectal ultrasonographic measurement of placentomes. *Theriogenology*, 48, 449-460.
- Dwyer R.J., Robertson H.A., 1980. Oestrogen sulphatase and sulphotransferase activities in the endometrium of the sow and ewe during pregnancy. *J. Reprod. Fertil.*, 60, 187-191.
- El Amiri B., Remy B., Sousa N.M., Joris B., Ottiers N.G., Perenyi Z., Mboko H.B., Beckers J.F., 2003. Isolation and partial characterization of three pregnancy-associated glycoproteins from the ewe placenta. *Mol. Reprod. Dev.*, 64, 199-206.
- Ford E.J.H., Clark J.W., Gallup A.L., 1963. The detection of fetal numbers in sheep by means of X-rays. *Vet. Rec.*, 75, 958-960.
- Fowler D.G., Wilkins J.F., 1984. Diagnosis of pregnancy and number of the fetuses in sheep by real-time ultrasonic imaging. 1. Effect of number of fetuses, stage of gestation, operator and breed of ewe on accuracy of diagnosis. *Livest. Prod. Sci.*, 11, 437-450.
- Fraser A.F., Nagaratnam V., Calli-Cott R.B., 1970. A correlation between heart rate and age in the sheep fetus and

its use in predicting the birth date. *Trop. Anim. Health and Prod.*, 2, 65.

Gajewski Z., Beckers J.F., Melo De Sousa N., Thun R., Sulon J., 1999. Determination of pregnancy associated glycoprotein concentrations in sheep : A retrospective study. *Advances Cell Biol.*, 26 (Suppl. 12), 89-96.

Garcia A., Neary M.K., Kelly G.R., Pierson R.A., 1993. Accuracy of ultrasonography in early pregnancy diagnosis in the ewe. *Theriogenology*, 39, 847-861.

Gearhart M.A., Wingfield W.E., Knight A.P., Smith J.A., Dargatz D.A., Boon J.A., Stokes C.A., 1988. Real-time ultrasonography for determining pregnancy status and viable fetal numbers in ewes. *Theriogenology*, 30, 323-337.

Gogolin-Ewens K.J., Lee C.S., Mercer W.R., Moseby A.M., Brandon M.R., 1986. Characterization of a sheep trophoblast-derived antigen first appearing at implantation. *Placenta*, 7, 243-255.

González B.A., Santiago M.J., Lopez S.A., 1998. Estimation of fetal development in Manchega dairy ewes by transrectal ultrasonographic measurements. *Small Rumin. Res.*, 27, 243-250.

Grace N.D., Beach A.D., Quinlivan T.D., Ward B., 1989. Multiple pregnancy diagnosis of using real time ultrasonic body scanner and video-fluoroscopy systems. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.*, 49, 107-111.

Haibel G.K., Perkins N.R., 1989. Real-time ultrasonic biparietal diameter of second trimester Suffolk and Finn sheep fetuses and prediction of gestational age. *Theriogenology*, 32, 863-869.

Hulet C.V., 1972. A rectal-abdominal palpation technique for diagnosing pregnancy in the ewe. *J. Anim. Sci.*, 35, 814-818.

Hulet C.V., 1973. Determining fetal numbers in pregnant ewes. *J. Anim. Sci.*, 36, 325-330.

Illera J.C., Gracia O., Silvan G., Illera M.J., Munro C.J., Illera M., 2000. Assessment of fetal number and fetal viability throughout pregnancy in Manchega ewe. *Proc. 14th Intl Cong. Anim. Reprod.*, Stockholm, 2, 181.

Jardon C., 1988. Utilisation actuelle du diagnostic de gestation, en élevage, chez la brebis. *Rec. Méd. Vét.*, 164, 135-140.

Jardon C., De Montigny G., Andre D., Corteel J.M., Baril G., Cognié Y., Botero-Herrera O., Humblot P., 1984. Les méthodes de diagnostic de gestation applicables aux ovins et aux caprins. *IXe Journées Rech. ovine et caprine*, Inra-Itovic, Paris, 452-473.

Kalkan C., Cetin H., Kaygusuzoglu E., Yilmaz B., Ciftci M., Yildiz H., Yildiz A., Devci H., Apaydin A.M., Ocal H., 1996. An investigation on plasma progesterone levels during pregnancy and parturition in the Ivesi sheep. *Acta. Vet. Hung.*, 44, 335-340.

Karen A., Kovács P., Beckers J.F., Szenci O., 2001. Review article pregnancy diagnosis in sheep : review of the most practical methods. *Acta. Vet. Brno*, 70, 115-126.

Karen A., Beckers J.F., Sulon J., Sousa N.M., Szabados K., Reczigel J., Szenci O., 2003. Early pregnancy diagnosis in sheep by progesterone and pregnancy-associated glycoprotein tests. *Theriogenology*, 59, 1941-1948.

Kelly R.W., Newnham J.P., 1989. Estimation of gestational age in Merino ewes by ultrasound measurement of fetal head size. *Aust. J. Agric. Res.*, 40, 1293-1299.

Laplanche, A., Com-Nougue, C., Flamant, R., 1987. Méthodes de statistiques appliquées à la recherche clinique. Ed. Flammarion Méd. Sci., Paris.

Levy I., Emery P., Mialot J.P., 1990. Echographie et gestion des troupeaux ovins. *Rec. Méd. Vét.*, 166, 751-764.

Lindahl I.L., 1971. Pregnancy diagnosis in the ewe by intrarectal Doppler. *J. Anim. Sci.*, 32, 922-925.

Linzell J.L., Heap R.B., 1968. A comparison of progesterone metabolism in the pregnant sheep and goat: sources of production and an estimation of uptake by some target organs. *J. Endocrinol.*, 41, 433-438.

Logue N.D., Hall J.T., McRoberts S., Waterhouse H., 1987. Real-time ultrasonic scanning in sheep: The results of first year of its application on farms in south-west Scotland. *Vet. Rec.*, 121, 146-149.

Mac Farlane J.S., 1973. Diagnosis pregnancy. *Vet. Rec.*, 93, 270.

Madel A.J., 1983. Detection of pregnancy in ewe lambs by A-mode ultrasound. *Vet. Rec.*, 112, 11-12.

Martal J., Djiane J., 1975. Purification of a lactogenic hormone in sheep placenta. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 65, 770-778.

Martal J., Djiane J., Dubois M.P., 1977. Immunofluorescent localization of ovine placental lactogen. *Cell Tissue Res.*, 184, 427-433.

Meredith M.J., Madani M.O.K., 1980. The detection of pregnancy in sheep by A-mode ultrasound. *Br. Vet. J.*, 136, 325-330.

Mialot J.P., Levy I., Grimard B., 1991. L'échographie dans la gestion de la reproduction chez les bovins. *Rec. Méd. Vét.*, 167, 21-31.

Morgan L., 1973. Pregnancy detection in ewes. A new technic. *N.Z. J. Agric.*, 126, 15-17.

Ranilla M.J., Sulon J., Carro M.D., Mantecon A.R., Beckers J.F., 1994. Plasmatic profiles of pregnancy-associated glycoprotein and progesterone levels during gestation in Churra and Merino sheep. *Theriogenology*, 42, 537-545.

Ranilla M.J., Sulon J., Mantecon A.R., Beckers J.F., Carro A.D., 1997. Plasma pregnancy-associated glycoprotein and progesterone concentrations in pregnant Assaf ewes carrying single and twin lambs. *Small Rumin. Res.*, 24, 125-131.

Robertson H.A., Chan J.S.D., Riesen H.G., 1980. The use of a pregnancy-specific antigen, chorionic somatomammotrophin, as an indicator of pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 58, 279-281.

Royal L., Tainturier D., 1976. Mise au point sur les procédés modernes de diagnostic de gestation chez la brebis. *Rev. Méd. Vét.*, 127, 1009-1034.

Russel A.J.F., Goddard P.J., 1995. Small ruminant reproductive ultrasonography. In : Goddard P.G. ed), *Veterinary ultrasonography*, 257-274. CAB International, Wallingford, UK.

Schrick F.N., Inskeep E.K., 1993. Determination of early pregnancy in ewes utilizing transrectal ultrasonography. *Theriogenology*, 40, 295-306.

Sergeev L., Kleemann D.O., Walker S.K., Smith D.H., Grosser T.L., Mann T., Seamark R.F., 1990. Real-time ultrasound imaging for predicting ovine fetal age. *Theriogenology*, 34, 593-601.

Shemesh M., Ayalon N., Mazor T., 1979. Early pregnancy diagnosis in the ewe, based on milk progesterone levels. *J. Reprod. Fert.*, 56, 301-304.

Taverne M.A.M., Lavoit M.C., Van Oord R., Van Der Weyden G.C., 1985. Accuracy of pregnancy diagnosis and prediction of fetal numbers in sheep with linear-array real-time ultrasound scanning. *The Vet. Quart.*, 7, 256-263.

Taylor M.J., Jenkin G., Robinson J.S., Thorburn G.D., Friesen H., Chan J.S., 1980. Concentrations of placental lactogen in chronically catheterized ewes and fetuses in late pregnancy. *J. Endocrinol.*, 85, 27-34.

Trapp M.J., Slyter A.L., 1983. Pregnancy diagnosis in the ewe. *J. Anim. Sci.*, 57, 1-5.

Tsang C.P.W., 1978. Plasma levels of oestrone sulfate, free estrogens and progesterone in the pregnant ewe throughout gestation. *Theriogenology*, 10, 97-110.

Turner C.B., Hindson J.C., 1975. Assessment of a method of manual pregnancy diagnosis in the ewe. *Vet. Rec.*, 96, 56-58.

Tyrell R.N., Plant J.W., 1979. Rectal damage in ewes following pregnancy diagnosis by rectal-abdominal palpation. *J. Anim. Sci.*, 48, 348-350.

Warren W.C., Liang R., Krivi G.G., Siegel N.R., Anthony R.V., 1990. Purification and structural characterization of ovine placental lactogen. *J. Endocrinol.*, 126, 141-149.

Watt B.R., Andreson G.A., Campell I.P., 1984. A comparison of six methods used for detecting pregnancy in sheep. *Aust. Vet. J.*, 61, 377-382.

Wenham G., Robinson J.J., 1972. Radiographic pregnancy diagnosis in sheep. *J. Agric. Sci. (Camb.)*, 78, 233-238.

White I.R., Russel A.J.F., Fowler D.G., 1984. Real-time ultrasonic scanning in the diagnosis of pregnancy and the determination of fetal numbers in sheep. *Vet. Rec.*, 115, 140-143.

Willard J.M., White D.R., Wesson C.A.R., Stellflug J., Sasser R.G., 1995. Detection of fetal twins in sheep using radioimmunoassay for pregnancy-specific protein B. *J. Anim. Sci.*, 73, 960-966.

Worsfold A.I., Chamings R.J., Booth J.M., 1986. Measurement of oestrone sulfate in sheep as a possible indicator of pregnancy and the number of viable fetuses present. *Br. Vet. J.*, 142, 195-197.

Zoli A.P., Beckers J.F., Ectors F., 1990. Isolation of a ovine pregnancy specific protein. *Theriogenology*, 33, 366.

Zoli A.P., Beckers J.F., Wouters-Ballman P., Closset J., Falmagne P., Ectors F., 1991. Purification and characteriza-

tion of a bovine pregnancy-associated glycoprotein. *Biol. Reprod.*, 45, 1-10.

Zoli A.P., Beckers J.F., Ectors F., 1995. Isolement et caractérisation partielle d'une glycoprotéine associée à la gestation chez la brebis. *Ann. Méd. Vét.*, 139, 177-184.

Abstract

Diagnosis and monitoring of pregnancy in sheep: reality and perspectives.

The present review aims at presenting different methods for pregnancy diagnosis. Since these methods are to be used in the herds, precocity, sensitivity, specificity, accuracy to predict pregnant and non-pregnant ewes, and the possibility to determine fetal numbers are carefully analysed. The progesterone assay is accurate as early as day 17th after fecundation; but the fertilization day must be precisely known. The pregnancy specific or associated glycoproteins (PSPB/PAG) assay is highly sensitive and specific at day 22 in blood and

at day 32 in milk samples. However, this assay does not allow to predict the fetal number. The ultrasonography B-mode used on 30 days of gestation gives very good or excellent performance in terms of sensitivity and specificity depending on the practitioner. The method is also able to predict the real time fetal number.

EL AMIRI B., KAREN A., COGNIE Y., SOUSA N.M., HORNICK J.L., SZENCI O., BECKERS J.F., 2003. Diagnostic et suivi de gestation chez la brebis : réalités et perspectives. *INRA Prod. Anim.*, 16, 79-90.