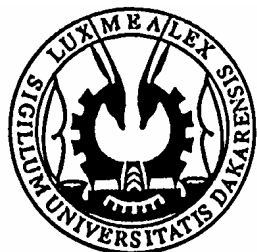


UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

FACULTE DES SCIENCES
ET TECHNIQUES

ECOLE INTER-ETATS DES
SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR



Année 2007

N° : 07

Etude du profil électrophorétique des protéines sériques de vaches ayant avorté après insémination artificielle au Sénégal

MEMOIRE DE DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES DE PRODUCTIONS ANIMALES

Présenté et soutenu publiquement le 26 Décembre 2007 à 09h à l'EISMV
Par

Mohamed Moctar MOUCHE MOULIOM

Né le 03 Mars 1985 à NJISSE (CAMEROUN)

MEMBRES DU JURY

PRESIDENT :

M. Louis Joseph PANGUI
Professeur à l'EISMV de Dakar

MEMBRES :

M. Bhen Sikina TOGUEBAYE
Professeur à la FST de l'UCAD

M. Malang SEYDI
Professeur à l'EISMV de Dakar

DIRECTEUR DE MEMOIRE :

M. Germain J. SAWADOGO
Professeur à l'EISMV de Dakar

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer notre immense gratitude à l'endroit de tout ceux qui ont œuvrés de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail :

- ✎ **A L'ETERNEL DIEU TOUT PUISSANT**, qui n'a jamais cessé de m'accorder aide et protection, tout au long de mes études;
- ✎ A mes parents : **MOULIOM Amidou** et **NTIENTIE Mariatou**, pour tout le sacrifice consenti;
- ✎ A Toute ma famille (grands-parents, oncles, tantes et cousins) pour tout l'amour qu'ils me portent;
- ✎ Au Pr. **SAWADOGO**, pour toute l'aide accordée, sincère gratitude;
- ✎ Au Dr **NONGASIDA**, pour tout ces conseils et sa disponibilité;
- ✎ A la Coordination des stages et formations post-universitaires;
- ✎ A Madame **DIOUF** de la bibliothèque de l'**EISMV** de Dakar;
- ✎ Aux techniciens de Technologies services pour leurs appuis techniques;
- ✎ A mes collègues et amis : Dr **KOUAMO**, Dr **MPOUAM**, Dr **YEPKA** ; Dr **ASSANI**, Dr **DADELE**, Dr **KAMANZI**, Dr **KAMANA**, Dr **VIBAN** Dr **KABERA** ; **DOMBOU** ; **FEUSSOM** ; **ANDELA** ; **ETENE** et **CAMILLE** pour leurs soutiens ;

HOMMAGES A NOS MAITRES ET JUGES

A notre président de jury, Monsieur Louis Joseph PANGUI, Professeur à L'EISMV de Dakar.

Vous nous faites l'insigne honneur, malgré vos multiples occupations de présider ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde et sincère gratitude.

A notre Directeur et Rapporteur de Mémoire, Monsieur Germain J. SAWADOGO, Professeur à L'EISMV de Dakar.

Vous avez accepté d'encadrer et de diriger ce travail avec rigueur scientifique et pragmatisme. Nous avons été fasciné par votre abord facile et votre simplicité. Vos qualités scientifiques et humaines nous ont profondément marqué. Trouvez ici l'assurance de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge, Monsieur Malang SEYDI, Professeur à l'E.I.S.M.V de Dakar.

Vous nous faites l'insigne honneur de siéger dans notre jury de mémoire. Vos qualités scientifiques et d'éducateur averti nous ont profondément marqué. Soyez assuré de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et Juge, Monsieur Bhen Sikina TOGUEBAYE, Professeur à la FST (UCAD).

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury. Vos énormes qualités d'homme de science suscitent respect et admiration. Veuillez trouver ici, l'assurance de notre sincère gratitude.

ABREVIATIONS

A/G : Albumine/Globuline

dl : décilitre

eCG: equine Chorionic Gonadotropin

E.T: Ecart Type

EISMV: Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar

FSH: Follicle Stimulating Hormone

g: gramme

IA : Insémination Artificielle

Ig : Immunoglobuline

J : Jour

mA : milliampère

mg : milligramme

ml : millilitre

mm : millimètre

mmol: millimole

mn: minute

Moy: Moyenne

n : nombre

P : Pie value

PAG : Protéines associées à la gestation

pH : Potentiel hydrogène

r : Coefficient de corrélation

RIA: Radioimmunity Assay

s: seconde

% : Pourcentage

°C : Degrés Celsius

µl : microlitre

α : alpha

β : bêta

γ : gamma

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Moyennes en pourcentage des différentes fractions protéiques obtenues.....	17
Tableau II : Moyenne en pourcentage des différentes fractions protéiques obtenues chez les vaches ayant avorté en fonction de la période d'avortement..	20
Tableau III : Résultat du test au Rose Bengale.....	23

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Profil électrophorétique et principales protéines des différentes fractions.....	7
Figure 2 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches non gestantes.....	10
Figure 3 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches gestantes...	10
Figure 4 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches ayant avorté.....	10
Figure 5 : Profil électrophorétique chez une vache non gestante DK 2110	18
Figure 6 : Profil électrophorétique chez une vache ayant avorté SL 306.....	18
Figure 7 : Profil électrophorétique chez une vache gestante LG 422	19
Figure 8: Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'albumine.....	20
Figure 9 : Répartition des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'alpha1globuline.....	21
Figure 10: Répartition des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'alpha2globuline.....	21
Figure 11 : Répartition des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage de Bêtaglobuline.....	22
Figure 12 : Répartition des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage de gammaglobuline.....	22
Figure 13: Répartition des animaux ayant avortée en fonction de la valeur du rapport A/G.....	23
Figure 14 : Profil électrophorétique de la vache Brucellique KD 357.....	24

LISTE DES PHOTOS

Photo 1: Décongélation du sérum à température ambiante avant le dosage.....	14
Photo 2: Générateur branché au bac de migration.....	15
Photo 3 : Lecture au densitomètre PROG HYDRAGEL PROTEINE.....	15
Photo 4 : Test au rose Bengale.....	16

TABLES DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
CHAPITRE I: LES MORTALITES EMBRYONNAIRES CHEZ LES BOVINS.....	2
I.1- Types de mortalités embryonnaires.....	2
I.2- Manifestations cliniques.....	2
I.3.- Etiologie des mortalités embryonnaires.....	3
I.3.1- Facteurs propres à l’embryon.....	3
I.3.2- Facteurs parentaux.....	3
I.3.3-. Facteurs biologiques.....	3
I.3.4- Facteurs environnementaux.....	4
I.3.5- Traitements hormonaux.....	4
I.4- Diagnostic des Mortalités embryonnaires.....	4
CHAPITRE II : L’ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES.....	5
II.1 Principe.....	5
II.2- Résultats.....	7
II.2.1- Profil électrophorétique des protéines sériques.....	7
II.2.2- Composition protéique des fractions de l’électrophorèse.....	8
II.2.3- Interprétation.....	8
CHAPITRE III: ETUDE DE LA RELATION ENTRE LE STATUT NUTRITIONNEL DES VACHES INSEMINEES ET LEUR ETAT PHYSIOLOGIQUE PAR DOSAGE D’UN BIOMARQUEUR DE GESTATION.....	9
III.1- Généralités.....	9
III.2- Répartition des animaux en fonction de leur état physiologique.....	10
III.3- Relation entre l’état physiologique et les paramètres nutritionnels....	11
III.4- Relation entre les concentrations de PAGs et les paramètres nutritionnels.....	11
III.5- Conclusion.....	12
DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE.....	13
CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES.....	13
I.1- Matériel.....	13
I.1.1- Periode d’étude.....	13

I.1.2- Matériel animal.....	13
I.1.3- Matériel technique.....	13
I.1.3.1- Matériel de conservation.....	13
I.1.3.2- Matériel de dosage.....	13
I.2- Méthodes.....	14
I.2.1- Sérums utilisés.....	14
I.2.2- Analyse des prélèvements.....	14
I.2.2.1- Electrophorèse des Protéines sériques sur gel d'agarose.....	14
I.2.2.2- Diagnostic de la brucellose par le test du rose Bengale.....	16
I.2.3- Analyse statistique.....	16
Chapitre II : RÉSULTATS.....	17
II.1- Profil electrophorétique chez les vaches.....	17
II.2- Profil électrophorétique chez les vaches ayant avorté.....	19
II.2.1- Profil électrophorétique chez les vaches en fonction de la période d'avortement.....	19
II.2.2- Répartition des vaches ayant avorté en fonction des proportions en fraction protéique.....	20
II.2.2.1- Albumine.....	20
II.2.2.2- Alpha1globulines.....	21
II.2.2.3- Alpha2globulines.....	21
II.2.2.4- Bêtaglobulines.....	22
II.2.2.5- Gammaglobulines.....	22
II.2.2.6- Rapport Albumine/globuline (A/G).....	23
II.3- Dépistage de la brucellose.....	23
Chapitre III : DISCUSSION.....	25
III.1- Profil electrophorétique chez les vaches.....	25
III.2- Profil électrophorétique chez les vaches ayant avorté.....	26
III.3- Dépistage de la brucellose.....	26
CONCLUSION.....	27
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	28

INTRODUCTION

Au Sénégal, le secteur de l'élevage est l'objet d'importantes mutations liées à la très forte demande en viande et en lait. La facture d'importation de lait et produits laitiers au Sénégal a été évaluée à environ 46 milliards de Francs CFA en 2006 (**DIREL, 2006**). Le challenge pour répondre à cette demande est d'augmenter la productivité animale. Le pays s'est investi depuis lors dans l'intensification de la production laitière par la réalisation de programmes annuels d'insémination artificielle. Les taux de réussite obtenus jusqu'à présent restent toujours faibles après plus d'une décennie d'insémination. Ils sont en effets généralement inférieurs à 50% : 44,93% selon **SAWADOGO (2007)**, 39,32% selon **DIENG (2003)** ou 45,41% selon **NGOM (2002)**. Plusieurs contraintes sont la cause de ces résultats. Parmi celles-ci figure le problème des mortalités embryonnaires précoces ou tardives dont les proportions et les causes demeurent inconnues au niveau du Sénégal.

Ainsi, une étude préliminaire menée sur la relation entre le statut nutritionnel des vaches inséminées et leur état physiologique par le dosage des Protéines Associées à la Gestation (PAGs), montre que chez des vaches ayant avorté il y a une augmentation significative de la globulinémie en fonction du stade de gestation (**MOUCHE, 2007**). Il est donc nécessaire de rechercher les causes de cette augmentation.

L'électrophorèse des protéines sériques est actuellement une analyse très utilisée en biologie clinique. Elle permet donc d'explorer les indicateurs métaboliques de l'efficacité du système de défense des animaux (globulines totales). Il s'agira de ce fait de déterminer, après migration, les proportions des différentes fractions protéiques (Albumine, α globuline, β globuline et γ globuline) qui ont un intérêt diagnostique différent en fonction du sens de variation de chaque fraction.

Ainsi, l'objectif général de notre travail est d'étudier le profil électrophorétique des protéines sériques de vaches ayant avorté avant la fin du premier trimestre de gestation après insémination artificielle au Sénégal. Cette étude permettra d'expliquer l'augmentation des protéines totales et de la globulinémie que nous avons constaté. Comme objectifs spécifiques, il s'agira de :

- ✎ déterminer le profil électrophorétique des protéines sériques en fonction des états physiologiques (gestantes, non gestantes et avortées),
- ✎ analyser le profil électrophorétique des protéines sériques des vaches ayant avorté,
- ✎ diagnostiquer la présence de brucellose.

Ce travail comporte deux parties :

- une première partie bibliographique basée, sur l'étude de mortalités embryonnaires chez les bovins, l'électrophorèse des protéines sériques et le contexte général de cette étude
- une seconde partie qui présente la méthodologie, les résultats et la discussion



**PREMIERE PARTIE : SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I: LES MORTALITES EMBRYONNAIRES CHEZ LES BOVINS

Chez les bovins, les pertes économiques dues aux mortalités embryonnaires observées après Insémination Artificielle restent importantes à côté de l'absence de fécondation, de l'avortement et de mortinatalités embryonnaires. De ce fait, un accent particulier doit être mis sur ces mortalités pour limiter les pertes économiques car le coût de l'insémination artificielle reste élevé pour l'éleveur africain.

Dans le contexte actuel de gestion des élevages en Afrique où les politiques d'élevage penchent pour une amélioration du progrès génétique des vaches locales, il est important de connaître les causes des mortalités embryonnaires, leurs moyens de diagnostic et de lutte.

I.1- Types de mortalités embryonnaires

Selon le moment d'apparition, on distingue deux types de mortalités embryonnaires : l'une précoce et l'autre tardive. La première qualifiée de mortalité embryonnaire précoce se définit comme étant toute perte embryonnaire survenant avant le 20^e jour de la gestation (**DUNNE et al., 2000**). Cette période correspondant à la fin de l'élongation et à l'implantation de l'embryon. De tels échecs sont sans conséquences sur la durée du cycle sexuel (**PINTO et al., 2000**). Une autre définition stipule qu'elle correspond à la période durant laquelle on ne dispose d'aucun moyen de diagnostic de gestation soit environ les 20 premiers jours suivant l'Insémination artificielle.

La seconde fait référence à toute mortalité embryonnaire survenant aux alentours de l'implantation, retardant ainsi le retour en cycle des femelles et contribuant, par conséquent, à accroître l'intervalle vêlage - vêlage (**PINTO et al., 2000**). Des méthodes de diagnostic hormonales, échographiques ou manuelles peuvent être mises en place durant cette période.

I.2- Manifestations cliniques

Les manifestations cliniques de la mortalité embryonnaire dépendent du moment de son apparition.

En cas de mortalité embryonnaire précoce, les conséquences cliniques sont frustrées. Elles sont liées à la possibilité de l'embryon d'avoir ou non le temps de synthétiser le signal inhibiteur de la lutéolyse (trophoblastine). Lorsqu'elle survient au 14-16^e jour de la gestation, elle ne modifie pas la durée du cycle des femelles (**PINTO et al., 2000**).

Concernant la mortalité embryonnaire tardive, l'absence de battement cardiaque constitue l'un des signes les plus évidents (**KHAN et LEIDL, 1989**). Dans ces

deux cas, l'embryon et ses enveloppes sont plus fréquemment expulsés à travers le col utérin ou résorbés.

I.3.- Etiologie des mortalités embryonnaires

Les causes des mortalités embryonnaires sont diverses. Les facteurs liés à l'environnement (substances toxiques, stress), les facteurs biologiques, les anomalies chromosomiques, mais le plus souvent des dérégulations physiologiques au cours de la période de l'implantation (AYALON, 1978 ; CROSS, 2001) sont à l'origine de ces mortalités.

I.3.1- Facteurs propres à l'embryon

- ❖ **Anomalies chromosomiques** : Une altération du caryotype ou plus spécifiquement de l'un des chromosomes (délétion, translocation, inversion, duplication) peut apparaître au moment de la maturation des gamètes (non disjonction), de la fécondation (polyspermie, non expulsion du second globule polaire) ou des premières divisions des cellules embryonnaires (variations de ploïdie). (KING, 1985; HARE et al., 1980).
- ❖ **Nombre d'embryons** : Un nombre élevé d'embryons s'accompagne ou non, en cas de gestation (SREENAN et DISKIN 1989), d'un plus grand risque de mortalité embryonnaire (GORDON et al., 1962 ; ROWSON et al., 1971 ; DAY et al., 1995).

I.3.2- Facteurs parentaux

- ❖ **Facteurs paternels** : Plusieurs auteurs ont fait état de l'effet négatif exercé par un sperme de mauvaise qualité sur le risque de la mortalité embryonnaire précoce (COUROT et COLAS 1986 ; DEJARNETTE et al., 1992 ; SETCHELL et al., 1988).
- ❖ **Facteurs maternels** : La morphologie de l'appareil génital femelle peut être la cause de nombreuses mortalités embryonnaires (oviducte à sa jonction utéro-tubulaire).

I.3.3-. Facteurs biologiques

Les pathologies affectant l'appareil génital femelle sont à majorité responsables des avortements et d'autres pertes embryonnaires chez les génisses. Les germes spécifiques et non-spécifiques du tractus génital au cours du post-partum, lors d'endométrites ou d'avortements ont été incriminés. En effet, plusieurs études ont montré la relation entre la manifestation par l'animal d'une pathologie utérine et la possibilité d'une interruption de la gestation.

Par ailleurs, une mortalité embryonnaire est observée dans les 6 jours suivant l'injection expérimentale d' *Actinomyces pyogenes* entre le 27^{ème} et le 41^{ème} jour

de gestation (**SEMAMBO et al., 1991**). L'administration intra-utérine au moment de l'insémination (**GRAHN et al., 1984**) ou en début de gestation du virus de la maladie des muqueuses (BVD) induit une diminution du pourcentage de fécondation et augmente celui d'embryons dégénérés.

Signalons que certains germes connus pour leur tropisme génital ont la capacité de se fixer à la membrane pellucide de l'embryon lors de son transit dans l'oviducte ou à la corne de l'utérus, c'est le cas de *Brucella*, *Campylobacter*, *Leptospira*, *Vibrio*, *Infectious Pustular Vaginitis virus*, *Haemophilus somnus*, *Chlamydia*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovis genitalium*, *Ureaplasma diversum* (**OTOI et al., 1992**).

I.3.4- Facteurs environnementaux

❖ Alimentation

L'alimentation des vaches ou génisses a un effet sur la gestation. En effet, les animaux qui gagnent du poids pendant la période de reproduction ont un taux de gestation supérieur à ceux qui en perdent (**WITBANK et al., 1962**).

❖ Température et saison

Dans les régions tropicales et subtropicales, divers auteurs ont enregistré une diminution de la fertilité au cours des mois d'été coïncidant habituellement avec des périodes prolongées de température élevée (**BADINGA et al., 1985 ; COLEMAN et al., 1985**).

I.3.5- Traitements hormonaux

- ❖ **Traitements de superovulation :** Les traitements de superovulation réalisés au moyen d'eCG et de FSH sont responsables d'une absence de fécondation et d'une augmentation de la fréquence d'embryons dégénérés. (**HYTTEL et al., 1991**).
- ❖ **Prostaglandines :** Administrées par erreur à des femelles gestantes, elles induisent une mortalité embryonnaire précoce.

I.4- Diagnostic des mortalités embryonnaires

On a recours au dosage hormonal (Progestérone, PAGs).

En cas de mortalité embryonnaire, la concentration des Protéines associées à la gestation (PAGs) chute brutalement (**SOUSA et al., 2003**). Le dosage des protéines associées à la gestation permet d'envisager des études sur les mortalités embryonnaires et les avortements en vue d'en déterminer la fréquence et l'époque à laquelle ils surviennent, en relation avec l'incidence de pathologies telles que l'anaplasmose, la brucellose, les métrites, les vaginites et toute maladie affectant le déroulement de la gestation (**TAINTURIER et al ;1996**).

CHAPITRE II : L'ELECTROPHORESE DES PROTEINES SERIQUES

II.1 Principe

C'est une méthode générale permettant la séparation des constituants d'un mélange protéique sous l'action d'un champ électrique. Elle utilise le caractère amphotère des protéines dû à la présence des radicaux amine et carboxylique dans la molécule (PELTRE, 1990).

a) Charge des protéines : A un pH supérieur à leur pHi moyen, les protéines sont toutes chargées négativement et se comportent comme des anions par suite de l'ionisation des groupements carboxyliques des AA dicarboxyliques (glutamine et acide aspartique). Sous l'action d'un champ électrique, elles vont migrer vers l'anode (+).

b) pH de migration : La migration est en général réalisée à pH 8,2 à 8,6 obtenu par le système tampon véronal - véronal sodique, additionné ou non de TRIS (tri hydroxy méthyl amino méthane).

c) Vitesse de migration des protéines : Elle dépend de plusieurs paramètres :

- *la charge électrique* globale de la molécule
- *la taille des particules* : A charge égale une molécule plus petite migrera plus vite. C'est l'effet de tamisage qui est plus important sur certains supports (gels de polyacrylamide).
- *la force ionique* du milieu
- *la porosité du support* :

- Electroendosmose : les supports à pH alcalin ont des charges électro négatives créant un potentiel de surface entraînant la formation d'une couche électro positive dans le solvant. Sous l'action du champ électrique, ces charges positives se déplacent en sens inverse de celui des protéines, gênant le déplacement des protéines de faible mobilité.

- Effet JOULE : le courant électrique crée un échauffement et une perte de liquide par évaporation ; il s'ensuit l'apparition de courant liquidien perturbant la migration. Les techniques modernes en atmosphère étanche limitent ce processus.

- Diffusion : les particules incluses dans le gel ont tendance à diffuser des zones les plus concentrées vers les moins concentrées, perturbant la migration.

d) Mobilité électrophorétique : Elle est exprimée par la relation suivante :

μ	$= \frac{v}{E}$	$v =$ vitesse de la molécule : elle est d'autant plus grande que le
		pH du milieu est éloigné de son pH_i .
		$E =$ champ électrique

e) Supports : Trois types de supports sont utilisés actuellement

i. Membranes d'acétate de cellulose

Ce furent les premières à apparaître ; elles sont encore largement utilisées de nos jours.

Elles ont permis de stabiliser la phase liquide (tampon). Les protéines sont séparées en 5 fractions en fonction de leur charge électrique. La migration est suivie d'une coloration au rouge Ponceau, reconnu pour sa fixation linéaire sur les protéines en fonction de leur concentration. Mais son affinité est différente vis-à-vis de l'albumine et des globulines (plus faible).

ii. Gels d'agar et d'agarose

Ils ont progressivement remplacé les précédents supports et ont amélioré l'électrophorèse de zones. La quantité de tampon y est plus importante, se rapprochant des 100 % utilisés dans le système de TISELIUS.

➤ *Intérêts :*

L'agarose a une meilleure sensibilité et permet une meilleure résolution des fractions protéiques. La détection des bandes de faible intensité est plus performante. Le gel initial est transparent, ce qui permet une bonne évaluation par densitométrie et évite tout traitement complémentaire (transparisation). La faible concentration en agarose (0,5 à 1 % proche du système idéal en veine liquide) explique la large porosité du gel et la libre migration des molécules sans phénomène de distorsion (grosses protéines et lipides). Les gels à haute résolution (HR) ont encore amélioré les performances.

➤ *Coloration et traitement des gels*

- L'amidoschwartz est le plus couramment utilisé pour les protéines sériques: il est plus sensible que le rouge Ponceau, et permet la détection des gammopathies de faible intensité.

- Dans les techniques qualitatives ou l'électrophorèse des protéines dans des liquides biologiques à faibles concentrations en protéines, on utilise le bleu de coomassie ou le violet acide de meilleure sensibilité et d'affinité voisine pour l'albumine et les globulines.

- Le traitement des gels est simple et consiste à un séchage, une coloration et une décoloration.

iii. Gels à haute résolution : amidon ou polyacrylamide

Ils font intervenir la filtration ou le tamisage moléculaire associés à la charge. Essentiellement utilisés en recherche, ils permettent d'obtenir un très grand nombre de fractions et d'identifier les protéines.

f) Protocole opératoire général

Le sérum est déposé sur le support à l'aide de la pipette ou d'un applicateur. La migration est réalisée dans un tampon en général de pH 8,6. La durée de la migration dépend du support : 15 à 25 minutes pour l'acétate de cellulose, 30 à 60 minutes pour les gels d'agarose et de polyacrylamide. La fixation et la coloration sont réalisées avec le même réactif. Le colorant dépend de la nature des composants à révéler : pour les protéines des liquides biologiques, on utilise l'amidoschwartz, le rouge ponceau, le bleu de Coomassie, le violet acide. Les étapes sont :

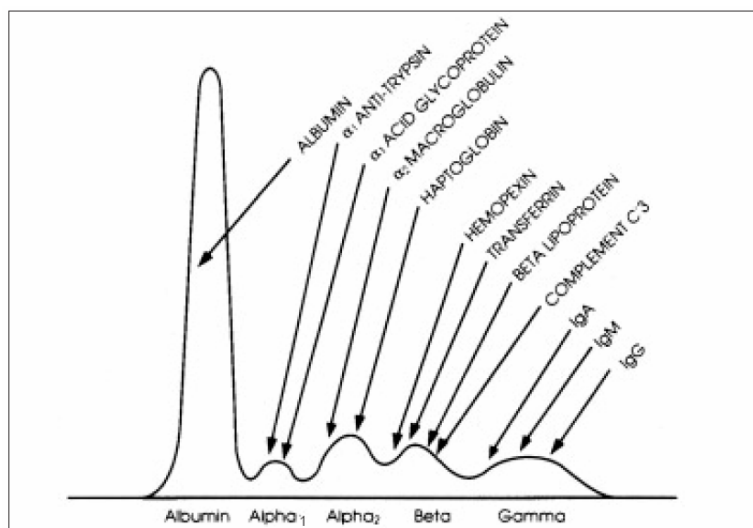
- . la décoloration en milieu acide (acide acétique)
- . la transparence (pour l'acétate de cellulose)
- . le séchage du gel
- . la lecture densitométrique de la coloration de chaque bande. On

obtient un tracé à 5 pics correspondant à l'albumine et aux globulines α_1 , α_2 , β et γ . La surface de chaque pic est intégrée : les résultats sont donc obtenus en pourcentage de la surface totale et en concentration (g/l) à partir du taux de protéines totales.

II.2- Résultats

II.2.1- Profil électrophorétique des protéines sériques

En général, on considère que les albumines représentent 50% des protéines totales. Un exemple de profil est donné dans la figure 1 (DAUNIZEAU, 2003)



Les valeurs usuelles sont :	
Albumine	46-50 %
Alpha 1 globulines	2 - 4%
Alpha 2 globulines	8- 10%
Bêta globulines	9 - 13 %
Gamma globulines	26 - 30%

Figure 1 : Profil électrophorétique et principales protéines des différentes fractions **Source** : (DAUNIZEAU, 2003)

II.2.2- Composition protéique des fractions de l'électrophorèse

Les principales protéines des différentes fractions protéiques (**Figure1**) sont :

- ❖ **Albumine** : pré albumine
- ❖ **Globulines**
 - **Zone $\alpha 1$** : $\alpha 1$ -antitrypsine, orosomucoïde, $\alpha 1$ -antichymotrypsine
 - **Zone $\alpha 2$** : haptoglobine, céruléoplasmine, globuline Gc, $\alpha 2$ -macroglobuline, α -lipoprotéines
 - **Zone $\beta 1$** : transferrine, hémopexine
 - **Zone $\beta 2$** : β -lipoprotéines, complément C3
 - **Zone γ** : IgG, IgA, IgM, (IgD – IgE) (**SICARD D., 1990**)

II.2.3- Interprétation

Les fluctuations pathologiques des principales protéines dépendent de leur sens de variation (**VAN DEN ABELLE, 1986**) .

- ❖ **Augmentation**
 - **Albumine** : Déshydratation (confirmer avec l'hématocrite)
 - **$\alpha 1$** : peu significatif en médecine vétérinaire
 - **$\alpha 2$** : inflammation aiguë (pic le plus flagrant en général)
 - **β** : inflammation chronique et atteinte hépatique
 - **γ** : inflammation, infection, si très important néoplasie de la lignée B des lymphocytes, plasmocytome avec un pic généralement monoclonal en limite de β (myelome multiple, lymphome malin, leucémie lymphoïde ou myéloïde).
 - **Confusion des pics β et γ** : hépatite active chronique ("bloc").

- ❖ **Diminution**
 - **Albumine** : inflammation, alimentation, protéinurie (insuffisance rénale, surtout syndrome néphrotique), insuffisance hépatique, fuites digestives (diarrhées chroniques, lymphangectasie), hémodilution
 - **$\alpha 1, \alpha 2, \beta$** : peu significatif
 - **$\alpha 1$ seul** : pertes digestives
 - **γ** : déficit immunitaire, défaut de transfert passif (colostrum)
 - **Causes d'erreur** : l'hémolyse post prélèvement produit un pic en début de pic β , qui peut être très important quantitativement.

CHAPITRE III : ETUDE DE LA RELATION ENTRE LE STATUT NUTRITIONNEL DES VACHES INSEMINEES ET LEUR ETAT PHYSIOLOGIQUE PAR DOSAGE D'UN BIOMARQUEUR DE GESTATION (MOUCHE, 2007)

III.1- Généralités

L'influence de la nutrition sur les capacités de reproduction des mammifères domestiques et des bovins en particulier est connue des éleveurs depuis très longtemps. L'impact du statut nutritionnel de la vache sur sa reproduction est donc indéniable : bonne expression des chaleurs et réussite à l'insémination en sont les effets positifs. La nécessité d'alimenter les génisses et les vaches avec des rations adéquates s'impose. Les animaux en mauvaise condition ou perdant du poids ont généralement des performances reproductrices décevantes. Aristote a écrit que la nutrition est le facteur environnemental le plus important dans le contrôle de la conception.

L'optimisation des performances zootechniques passe par une parfaite maîtrise de l'alimentation. D'une manière générale, les capacités de reproduction des animaux domestiques sont fortement perturbées si les besoins énergétiques et protéiques de l'organisme ne sont pas couverts en cas de sous-nutrition, de malnutrition dans les élevages extensifs ou de forte augmentation des besoins (lactation, gestation) en élevage intensif (MONGET, 2004).

Pour déterminer cet impact de la nutrition sur la reproduction, l'auteur a réalisé une étude, qui avait pour objectif d'établir la relation entre le statut nutritionnel des vaches inséminées et leur état physiologique par le dosage des Protéines Associées à la Gestation (MOUCHE, 2007). De façon spécifique, il s'agissait de :

- ✎ Caractériser le statut nutritionnel en fonction de l'état physiologique ;
- ✎ Déterminer les concentrations de PAGs en fonction de l'état physiologique.

Pour atteindre ces objectifs, l'auteur a travaillé sur 81 vaches inséminées provenant de la région de Dakar et celle de Thiès (Mbour). Ces animaux sont principalement des zébus Gobra évoluant en élevage extensif pour la zone de Mbour. Dans la région de Dakar, nous avons des métisses F2 de montbéliarde (3) et des zébus Gobra qui évoluent respectivement en élevage semi intensif et extensif.

L'étude a duré 7 mois. Elle consistait en des prélèvements de sang par ponction de la veine jugulaire de l'animal le jour de l'insémination (J_0) puis 35 jours (J_{35}) et 60 jours (J_{60}) après, en vue du dosage des PAGs et des paramètres

nutritionnels (glucose, urée, cholestérol, albumine, protéines totales, calcium, phosphore et magnésium). Les résultats obtenus sont les suivants :

III.2- Répartition des animaux en fonction de leur état physiologique

Le diagnostic par dosage des PAGs (35 et 60 jours après IA) et par palpation transrectale (à 60 jours après IA) nous a permis de classer les vaches inséminées en gestantes, non gestantes et avortées. Les avortées correspondent aux vaches diagnostiquées positives au dosage de la PAG à J₃₅ (Figure 4) et négatives au dosage de la PAG ainsi qu' à la palpation transrectale à J₆₀ (MUMPOREZE, 2007).

Sur 81 vaches inséminées, 46,91% sont gestantes, 25,92% ont avorté et 27,16% sont non gestantes au 60ème jour de l'IA. La proportion de vaches ayant avorté est très élevée. Par conséquent ce taux de mortalité embryonnaire réduit considérablement le taux de réussite de l'IA.

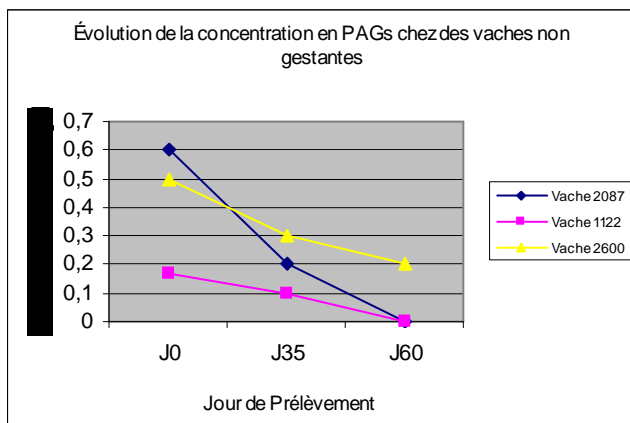


Figure 2 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches non gestantes

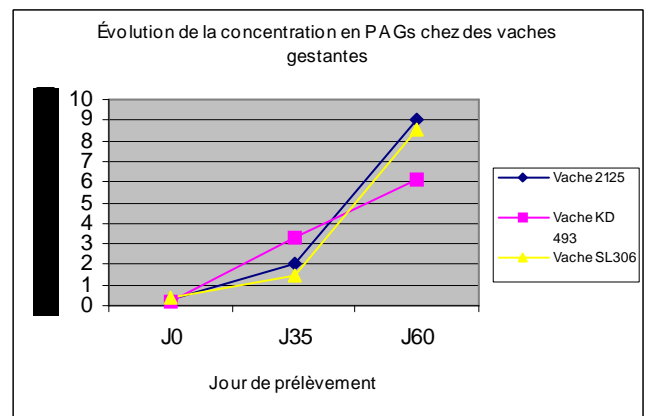


Figure 3 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches gestantes

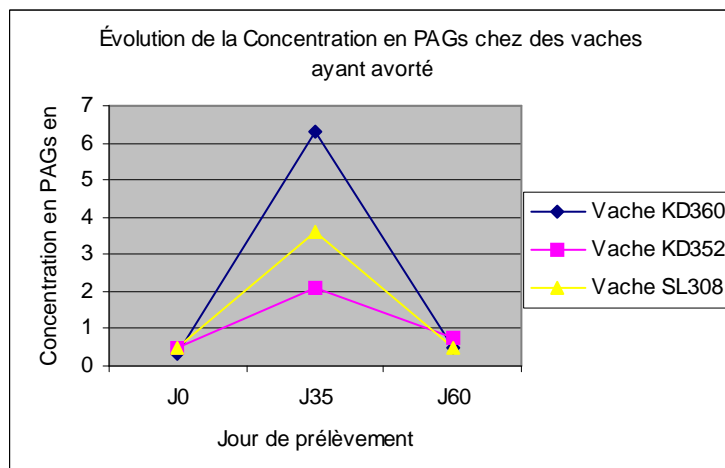


Figure 4 : Evolution de la concentration en PAGs chez des vaches ayant avorté

III.3- Relation entre l'état physiologique et les paramètres nutritionnels

La majorité des animaux sélectionnés pour l'insémination sont en hypoglycémie (55%). De plus chez les vaches avortées, la moyenne est plus faible que dans les autres groupes.

Les proportions de vaches gestantes et avortées ont une urémie supérieure aux valeurs physiologiques, respectivement de $6,99 \pm 2,62$ mmol/l et $6,7 \pm 2,45$ mmol/l.

Les concentrations moyennes de cholestérol montrent que les vaches gestantes et avortées ont une cholestérolémie statistiquement plus élevée que les vaches non gestantes ($p < 0,05$).

Les concentrations en globulines chez les vaches gestantes et avortées sont statistiquement plus élevées à J_0 et J_{35} que chez les vaches non gestantes ($p < 0,05$). Les vaches avortées en hyperglobulinémie représentent 10% des vaches inséminées. Chez les avortées, il y a une augmentation significative de la globulinémie de J_0 à J_{35} .

Les concentrations moyennes en protéines totales montrent que les vaches gestantes et avortées ont une protéinémie statistiquement plus élevée à J_0 et J_{35} que les vaches non gestantes ($p < 0,05$).

Les concentrations moyennes en magnésium chez les vaches gestantes et avortées sont statistiquement plus élevées à J_{35} que chez les vaches non gestantes ($p < 0,05$).

III.4- Relation entre les concentrations de PAGs et les paramètres nutritionnels

La concentration en PAGs augmente au fur et à mesure de l'état d'avancement de la gestation. Il existe une différence significative de production de ces molécules en fonction de l'état physiologique.

L'étude de la relation entre PAGs et les paramètres nutritionnels nous montre que :

- ✓ Les corrélations entre les concentrations de PAGs et celles des paramètres énergétiques (glucose et cholestérol), des paramètres indicateurs de l'équilibre nutritionnel en protéines (urée et albumine) et des paramètres indicateurs de l'équilibre minéral (calcium et phosphore) chez les animaux sont faibles ;
- ✓ La corrélation entre les concentrations de PAGs et celles des paramètres indicateurs du système de défense des animaux (globulines et protéines totales) est élevée ($r=0,7$ pour les protéines totales et $r=0,71$ pour les globulines).

- ✓ Il existe une corrélation négative entre la phosphorémie et les concentrations de PAGs ($r = -0,6$).

III.5- Conclusion

Parmi tous ces résultats, la relation entre la globulinémie et l'état physiologique des vaches a attiré notre attention. Les globulines sont synthétisées par les lymphocytes et les plasmocytes et augmentent dans le sang en cas de processus infectieux et inflammatoire. Elles jouent un rôle très important dans l'immunité (gammaglobuline). La concentration physiologique en globulines dans le sang chez les vaches varie de 26,2 à 45,2 g/l. La moyenne de globulines totales chez les vaches non gestantes, avortées et gestantes était respectivement de $29,82 \pm 11,07$ g/l, $42,19 \pm 9,1$ g/l, $42,19 \pm 10,77$ g/l à J_0 et $30,69 \pm 13,1$ g/l, $45,54 \pm 14,63$ g/l, $42,11 \pm 11,87$ g/l à J_{35} . Les concentrations en globulines chez les vaches gestantes et avortées sont statistiquement plus élevées à J_0 et J_{35} que les vaches non gestantes ($p < 0,05$). Les vaches avortées étant en hyperglobulinémie représentent 10% des vaches inséminées. Chez ces dernières, on note une augmentation de la globulinémie de J_0 à J_{35} . On peut donc suspecter des pathologies ou des phénomènes inflammatoires comme étant à l'origine de ces avortements.

Eu égard à ces résultats, nous nous sommes donc proposés, de faire une étude plus approfondie sur la globulinémie chez les vaches ayant avorté par l'utilisation d'un procédé de séparation des macromolécules : l'électrophorèse. Cette technique va nous permettre de séparer les différentes fractions de globulines (alpha, bêta et gamma).



**DEUXIEME PARTIE : PARTIE
EXPERIMENTALE**

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I.1- Matériel

I.1.1- Période d'étude

Notre étude s'est déroulée dans deux localités différentes à savoir la zone périurbaine de Dakar et le département de Mbour. Cette étude a duré 12 mois, elle a été faite en plusieurs phases :

- ☞ Novembre 2006 à Janvier 2007 pour effectuer les prélèvements de sang sur le terrain,
- ☞ Février 2007 à Mai 2007 pour les dosages des PAGs et des paramètres nutritionnels (glucose, urée, cholestérol, albumine, protéines totales, calcium, phosphore et magnésium), les deux premières phases concernent l'étude préliminaire,
- ☞ Juin 2007 à Novembre 2007 pour la réalisation de l'électrophorèse et le diagnostic des pathologies de la reproduction.

Les différents dosages se sont déroulés au laboratoire d'endocrinologie et radioimmunologie de l'EISMV (Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires) de Dakar.

I.1.2- Matériel animal

Ce travail a été effectué sur 81 vaches inséminées dans les départements de Mbour et Dakar. Ces vaches sont toutes de race zébu Gobra sauf quelques métisses F1 (3) issues d'une Gobra et d'une Montbéliarde à Dakar.

Dans les départements de Mbour et Dakar, le système traditionnel ou extensif est dominant et est caractérisé par la transhumance avec comme objectif primordial la recherche de pâturage et de points d'eau.

I.1.3- Matériel technique

I.1.3.1- Matériel de conservation

Un congélateur réglé à -20°C a été utilisé pour la conservation du sérum.

I.1.3.2- Matériel de dosage

a) Matériel de diagnostic de la brucellose

Le matériel est composé d'une plaque munie de cupules, d'une pipette de 100µl, des petites baguettes, les réactifs et un sérum témoin brucellique.

b) Matériel d'électrophorèse sur gel d'agarose

Le matériel comprend :

- ☞ un sérum de contrôle

- ✗ un Kit de dosage Hydragel K20
- ✗ un générateur de courant : GD 61 D SEBIA ;
- ✗ un applicateur ;
- ✗ une chambre humide ;
- ✗ une cuve d'électrophorèse K20 SEBIA ;
- ✗ un bac et des portoirs pour le traitement de demi-sels : kit accessoires Hydragel K20 SEBIA ;
- ✗ des pipettes de 10 μ l et 100 μ l ;
- ✗ un incubateur-sécheur : IS 80 SEBIA ;
- ✗ un densitomètre/scanner capable de lire un film de 82 x 51mm à 570nm (filtre jaune) : HYRYS SEBIA.

I.2- Méthodes

I.2.1- Sérums utilisés

On a utilisé les sérums de vaches, obtenus dans l'étude précédente (Photo 1), qui avaient déjà fait l'objet d'un certain nombre de dosage et qui ont été conservés au congélateur à -20°C .



Photo 1: Décongélation du sérum à température ambiante avant le dosage

I.2.2- Analyse des prélèvements

I.2.2.1- Electrophorèse des Protéines sériques sur gel d'agarose

Nous avons fait une électrophorèse sur gel d'agarose. Les étapes de la réalisation de celle ci sont les suivantes :

- ✗ déposer 10 μ L de sérum dans chaque puits de l'applicateur ;
- ✗ incuber 5 minutes en chambre humide ;
- ✗ déposer une goutte de 120 μ L d'eau sur la plaque du porte applicateur pour l'humidifier ;
- ✗ ôter la protection des dents ;

- ✗ placer l'applicateur en position N°5 sur le porte applicateur ;
- ✗ abaisser le chariot du porte applicateur et laisser déposer pendant 40 secondes ;
- ✗ relever le chariot, retirer le peigne et le jeter ;
- ✗ placer le gel dans la cuve, la face du gel vers le tampon ;
- ✗ brancher la cuve et lancer le PROG 1 en appuyant sur le bouton start du générateur (Photo 2) ;
- ✗ vérifier l'intensité de départ. Elle doit être de 12+/-mA par gel ;
- ✗ laisser migrer pendant 22 minutes ;
- ✗ éteindre le générateur ;
- ✗ débrancher la cuve, récupérer les gels et les placer à 80°C pendant au moins 10 minutes pour fixer et sécher les gels ;
- ✗ placer les gels sur un portoir et le plonger dans le colorant pendant 4 minutes ;
- ✗ décolorer avec trois bains successifs jusqu'à obtention d'un fond clair ;
- ✗ éliminer l'excès de liquide en surface du gel avec un papier ouate ;
- ✗ sécher à 80°C sous air chaud ;
- ✗ nettoyer le dos du gel (support plastique) avec un papier ouate ;
- ✗ lecture au densitomètre PROG HYDRAGEL PROTEINE b1-b2 (Photo 3).

L'électrophorèse des protéines sériques a été réalisée sur 37 vaches réparties de la manière suivante : 21 vaches ayant avorté, 8 vaches gestantes et 8 vaches non gestantes.



Photo 2 : Générateur branché au bac de migration



Photo 3 : lecture au densitomètre PROG HYDRAGEL PROTEINE

I.2.2.2- Diagnostic de la brucellose par le test du rose Bengale

Le dépistage sérologique de la brucellose chez les différentes vaches de l'étude a été préconisé, afin de savoir si la brucellose était impliquée dans les avortements observés pendant l'étude. A cet effet, la méthode de détection à l'antigène tamponné (Rose Bengale) a été mise en œuvre (Photo 4). Basée sur la réaction d'agglutination, elle consiste à mettre en présence sur une plaque, une goutte (25 μ L) de sérum pur et une goutte de suspension antigénique (Brucelles colorés au Rose Bengale, en milieu acide). Au bout de quelques minutes (4 minutes environs), la lecture se fait par comparaison à deux témoins (l'un positif et l'autre négatif).

Ce test a été réalisé sur l'ensemble des animaux (Gestantes, non gestantes et avortées)



Photo 4 : Test au rose Bengale

I.2.3- Analyse statistique

Les données obtenues ont été traitées à l'aide du logiciel Excel 2003 pour les différents calculs (moyenne, écart type) et les représentations graphiques. Après analyse des résultats, ceux-ci ont été exprimés en moyenne bornée d'écart type et présentés sous forme de tableaux et graphiques. Le logiciel Epi-Info a été utilisé pour l'analyse statistique des résultats. Les tests de significativité de variation ont été effectués par l'analyse de variance (ANOVA) ($p < 0,05$).

Chapitre II : RÉSULTATS

II.1- Profil électrophorétique chez les vaches

Le tableau I présente les moyennes des fractions protéiques obtenues après électrophorèse chez les vaches en fonction de leur état physiologique.

Tableau I : Moyennes (\pm E.T.) en pourcentage des différentes fractions protéiques obtenues

	Avortées (n=21)	Non gestantes (n=8)	Gestantes (n=8)	
Albumine	46,08 \pm 6,08% ^a	50,2 \pm 1,96 ^b	47,64 \pm 1,96 ^c	*
α1Globuline	2,76 \pm 1,01% ^a	3,25 \pm 1,97 ^a	4,4 \pm 1,36 ^b	*
α2Globuline	9,36 \pm 2,08% ^a	9,9 \pm 1,56 ^a	10,56 \pm 3,27 ^a	ns
β Globuline	8 \pm 2,16% ^a	7,55 \pm 1,34 ^a	7,32 \pm 1,42 ^a	ns
γ Globuline	33,53 \pm 5,67% ^a	28,6 \pm 0,04 ^b	30,32 \pm 3,03 ^c	*
Protéines Totales	100.00%	100.00%	100.00%	
A/G	0,85 \pm 0,19 ^a	1,07 \pm 0,17 ^b	0,91 \pm 0,08 ^a	*

ns (non significatif)

* (significatif pour $p < 0,05$)

^{a,b} les moyennes affectées de lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$).

La fraction d'albumine représente en moyenne 46-50% des protéines totales chez l'ensemble des vaches. Il existe une différence significative entre les différentes proportions de cette fraction en fonction de l'état physiologique. Les vaches gestantes ont des proportions d'alpha1globuline statistiquement plus élevées que les vaches ayant avorté ($p < 0,05$).

Il existe une différence significative entre les proportions de gammaglobuline des vaches ayant avorté (33,53 \pm 5,67%) et celles des autres groupes. Le rapport albumine sur globuline(A/G) est compris en moyenne entre 0,85-1, ce qui signifie qu'en moyenne, il y'a sensiblement autant d'albumine que de globuline.

Les figures 5, 6 et 7 présentent l'allure des profils électrophorétiques obtenus chez les vaches en fonction de leur état physiologique.

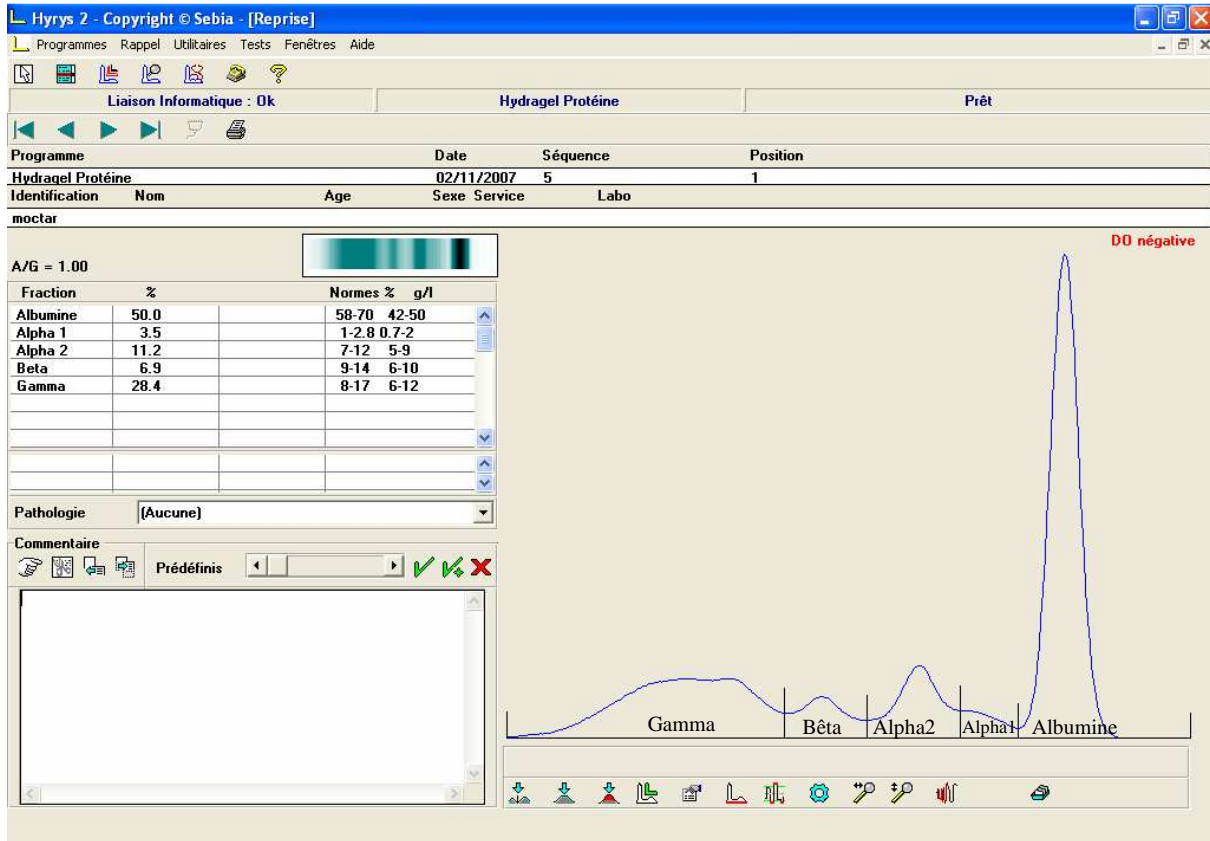


Figure 5 : Profil électrophorétique chez une vache non gestante DK 2110

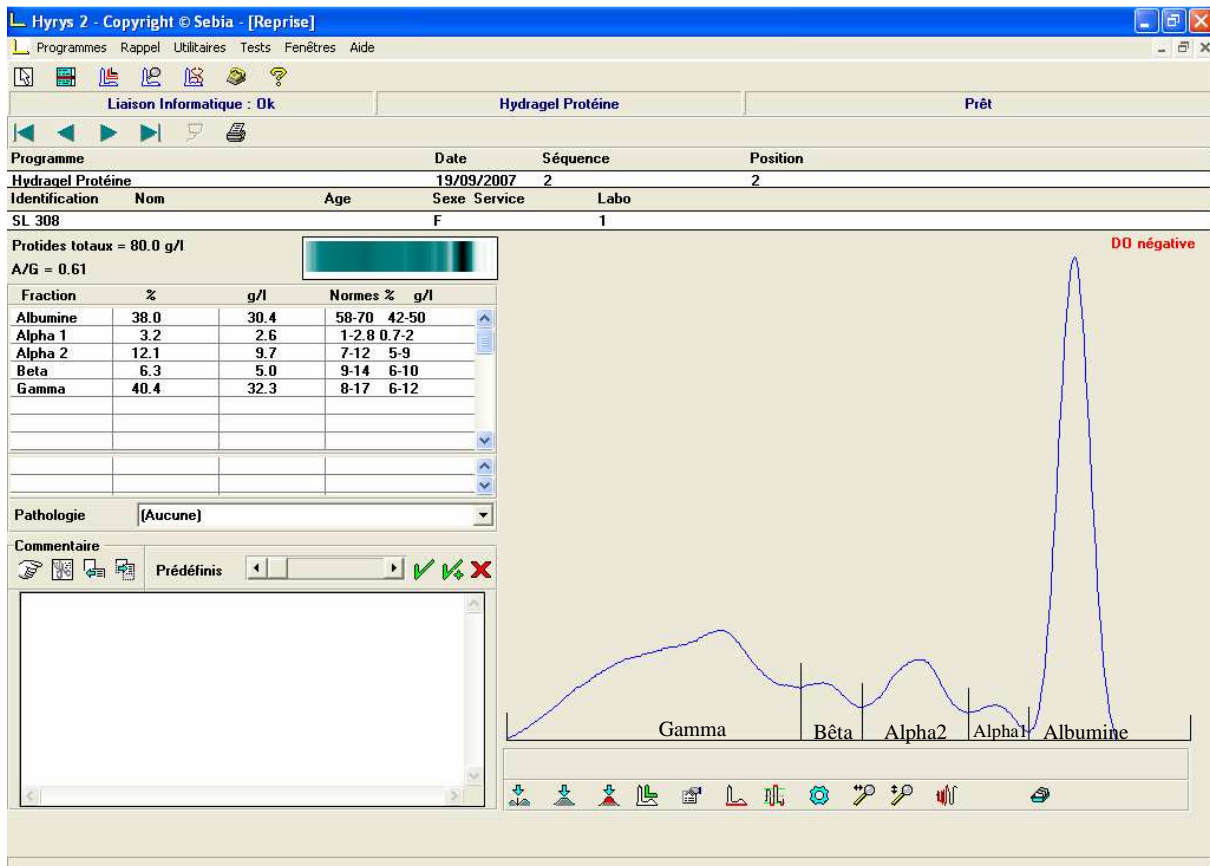


Figure 6 : Profil électrophorétique chez une vache ayant avorté SL 308

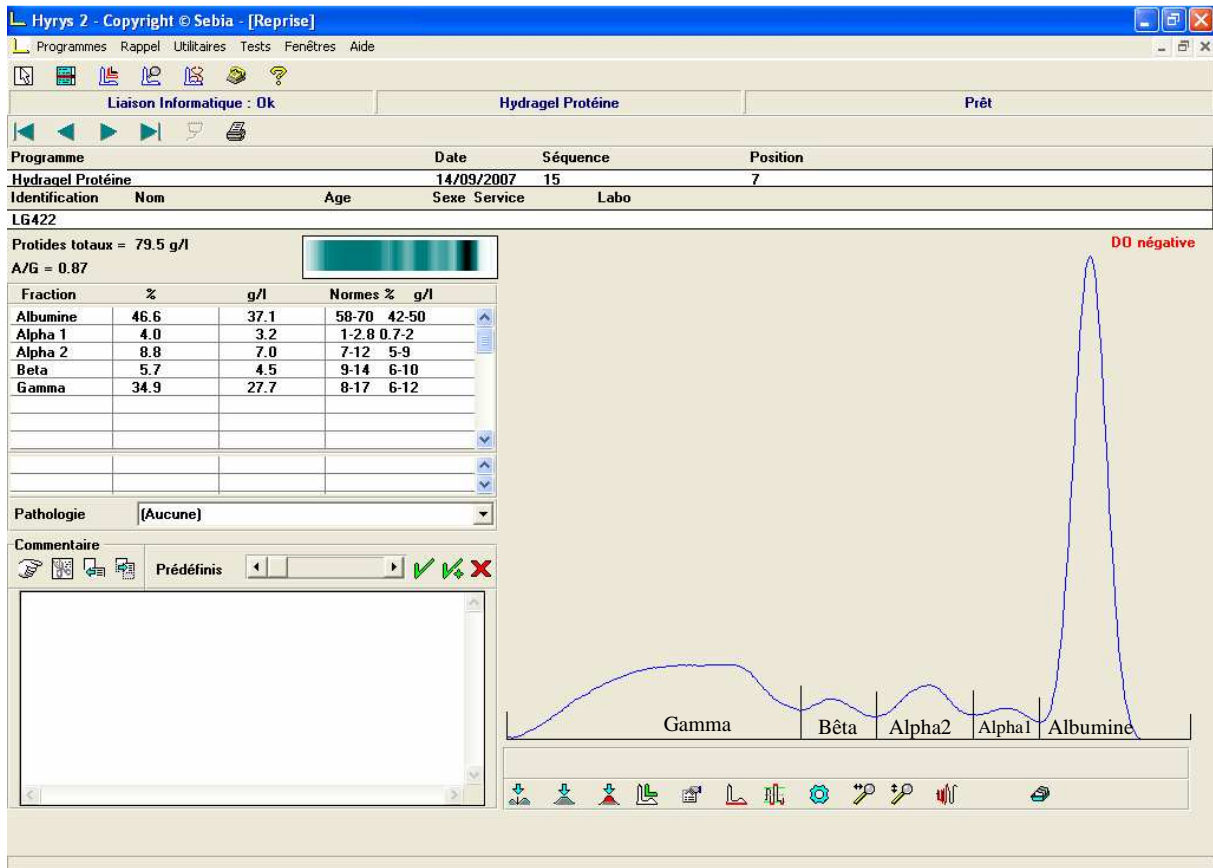


Figure 7 : Profil électrophorétique chez une vache gestante LG 422

II.2- Profil électrophorétique chez les vaches ayant avorté

II.2.1- Profil électrophorétique chez les vaches en fonction de la période d'avortement

Le tableau II présente les moyennes des fractions protéiques obtenues après électrophorèse chez les vaches ayant avorté en fonction de la période d'avortement. On distingue des avortements avant et après le 35^{ème} Jour. On constate donc qu'il n'existe pas de différence significative entre les différentes fractions protéiques et la période d'avortement.

Tableau II : Moyenne (\pm E.T.) en pourcentage des différentes fractions protéiques obtenues chez les vaches ayant avorté en fonction de la période d'avortement

	Avortées (n=21)	Avortées avant J35 (n=11)	Avortées après J35 (n=10)	
Albumine	46,08 \pm 6,08%	45,33 \pm 7,43%	46,91 \pm 4,42%	ns
α1Globuline	2,76 \pm 1,01%	2,56 \pm 0,840%	2,99 \pm 1,19%	
α2Globuline	9,36 \pm 2,08%	9,13 \pm 1,28%	9,62 \pm 2,77%	
β Globuline	8 \pm 2,16%	7,62 \pm 2,72%	8,43 \pm 1,35%	
γ Globuline	33,53 \pm 5,67%	34,90 \pm 6,08%	32,03 \pm 5,07%	
Protéines Totales	100%	100%	100,00%	
A/G	0,85 \pm 0,19	0,86 \pm 0,21	0,95 \pm 0,15	

ns (non significatif)

II.2.2- Répartition des vaches ayant avorté en fonction des proportions en fraction protéique

II.2.2.1- Albumine

En général, on considère que les albumines constituent 50% des protéines totales. Les proportions acceptables d'albumine sont comprises entre 46-50%. La figure 8 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de leur proportion en albumine. On constate que 47,62% des animaux ayant avorté ont des proportions d'albumine comprises entre 46-50% et que 28% ont des proportions supérieures à 50%.

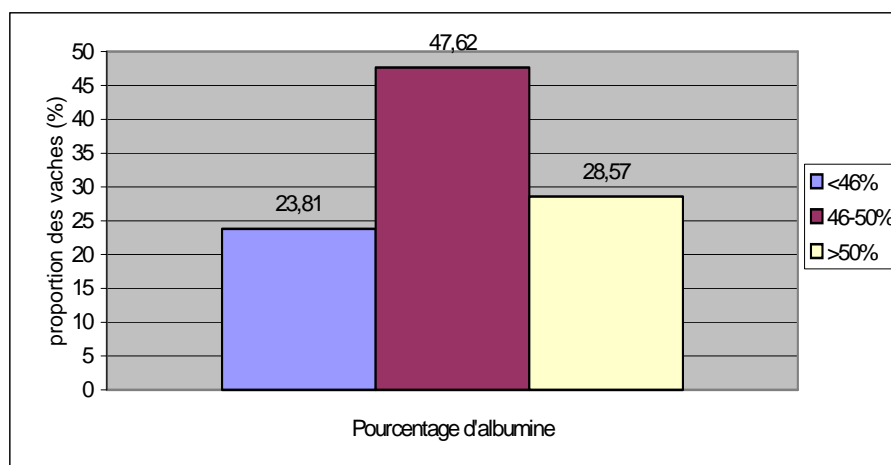


Figure 8: Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'albumine

II.2.2.2- Alpha1globulines

Les alpha1globulines à elles seules n'ont pas trop d'intérêt en médecine vétérinaire. Les proportions acceptables d'alpha1globulines sont comprises entre 2-4%. La figure 9 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de leur proportion en alpha1globulines. On constate que 3/4 des animaux ayant avorté ont des proportions d'alpha1globulines comprises dans le seuil d'acceptabilité et que 19% ont des proportions inférieures à 2%.

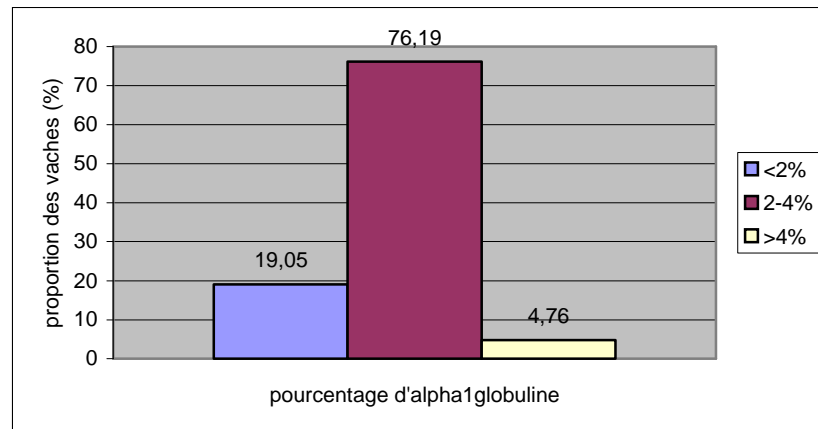


Figure 9 : Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'alpha1globuline

II.2.2.3- Alpha2globulines

Les alpha2globulines correspondent à la portion la plus importante du groupe des alphaglobulines. Les proportions acceptables d'alpha2globulines sont comprises entre 8-10%. La figure 10 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de leur proportion en alpha2globulines. On constate que plus de la moitié des animaux ayant avortées ont des proportions d'alpha2globulines comprises dans le seuil d'acceptabilité et que 28% ont des proportions supérieures à 10%.

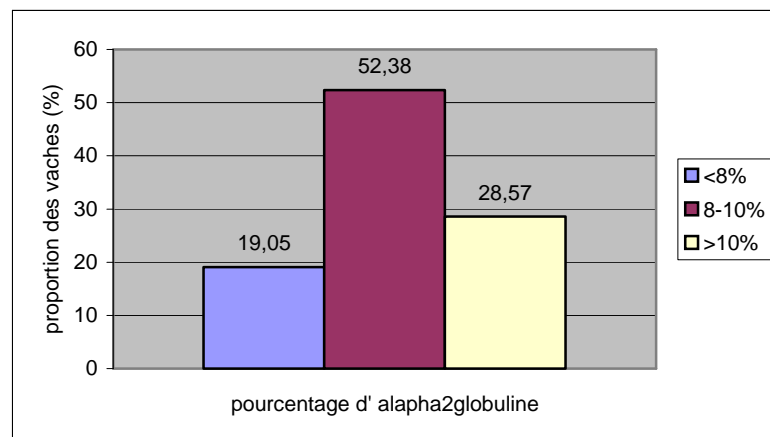


Figure 10: Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage d'alpha2globuline

II.2.2.4- Bêtaglobulines

Les bêtaglobulines représentent les fractions protéiques liées le plus souvent à des problèmes inflammatoires. Les proportions acceptables de bêtaglobulines sont comprises entre 9-10%. La figure 11 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de leur proportion en bêtaglobulines. On constate que 66,67% des animaux ayant avorté ont des proportions de bêtaglobulines inférieures à 9% et que 28,57% ont des proportions comprises entre 9-10%.

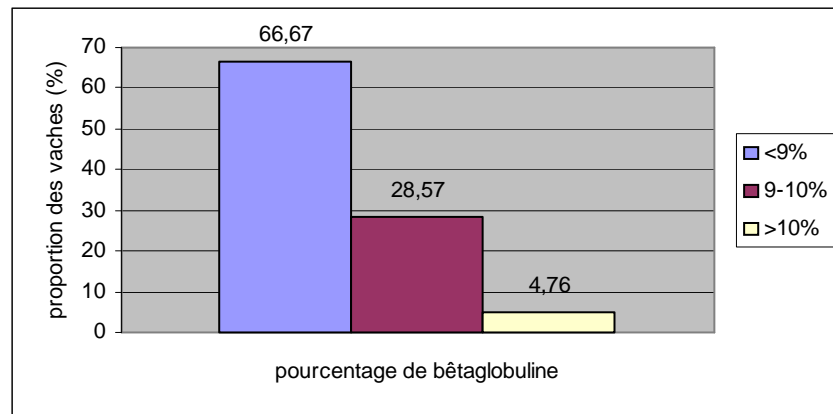


Figure 11 : Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage de Bêtaglobuline

II.2.2.5- Gammaglobulines

La fraction gammaglobuline représente la zone de migration des protéines de l'immunité (IgG, IgM, IgA, et IgE). Les proportions acceptables de gammaglobulines sont comprises entre 28-30%. La figure 12 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de leur proportion en gammaglobulines. On constate que 66% des animaux ayant avorté ont des proportions de gammaglobulines supérieures à 30% ; ces proportions élevées de gammaglobulines peuvent être à l'origine d'hypergammaglobulinémie avec des causes diverses.

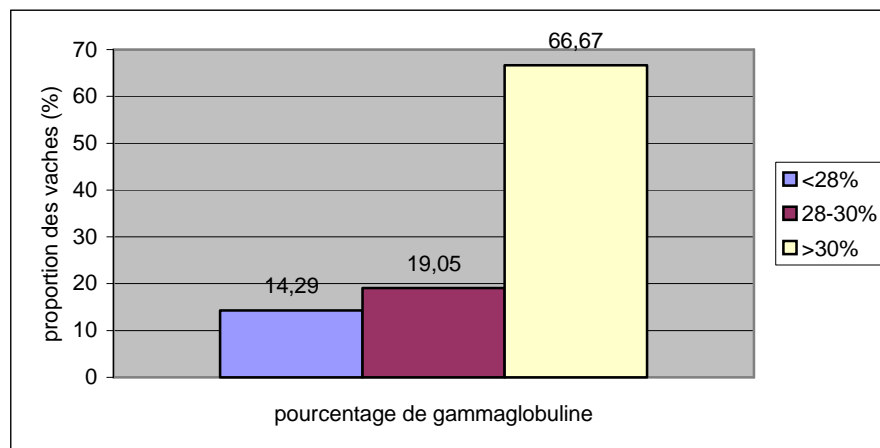


Figure 12 : Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction du pourcentage de gammaglobuline

II.2.2.6- Rapport Albumine/globuline (A/G)

Ce rapport permet d'évaluer la proportion d'albumine par rapport aux globulines. Les valeurs acceptables du rapport (A/G) sont comprises entre 0,7-1,3. La figure 13 présente la répartition des animaux ayant avorté en fonction de la valeur du rapport A/G. On constate que 85% c'est-à-dire la majorité des animaux ayant avorté ont leur rapport A/G comprises dans le seuil d'acceptabilité et que seulement 14% ont des valeurs inférieures à 10%.

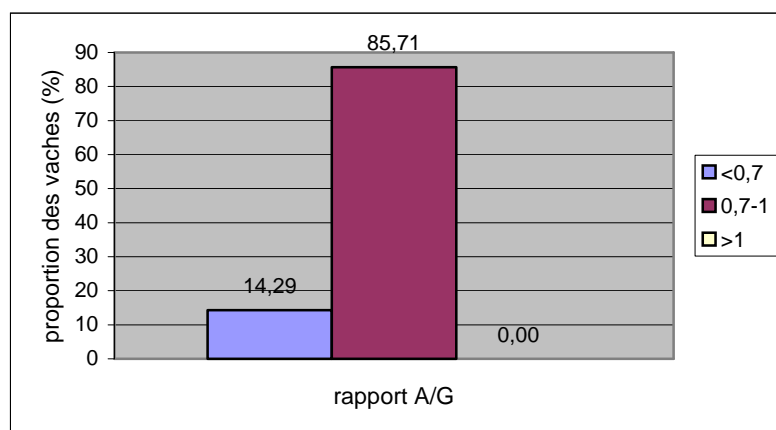


Figure 13: Répartition (%) des animaux ayant avorté en fonction de la valeur du rapport A/G

II.3- Dépistage de la brucellose

Le test au Rose Bengale a été positif sur une seule vache ayant avorté. Le tableau III récapitule l'ensemble des résultats de ce test.

Tableau III : Résultat du test au Rose Bengale

	Test au rose Bengale		
	Négatif	Positif	
Vaches Non gestantes	20	0	
Vaches Gestantes	40	0	
Vaches ayant Avorté	20	1	
Total	80	1	81

L'analyse du profil électrophorétique de la vache positive au rose Bengale indique une hypergammaglobulinémie (Figure 14).

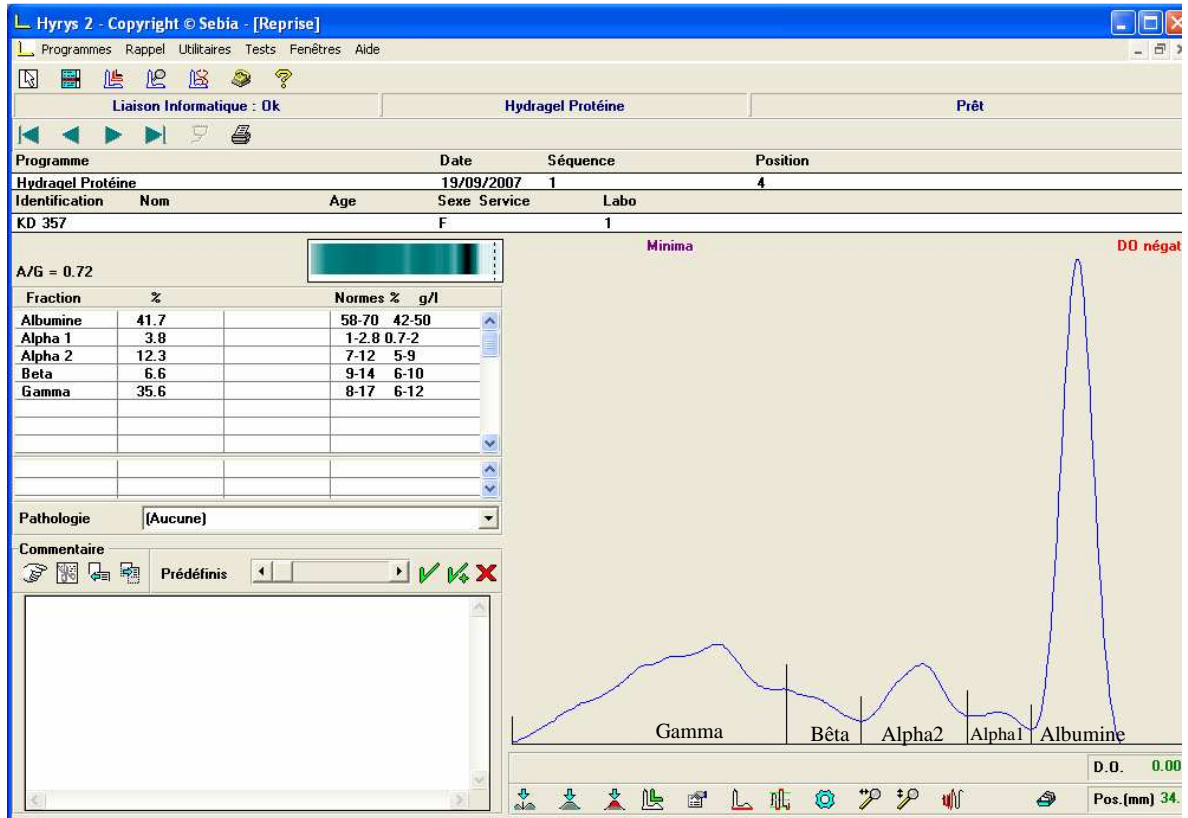


Figure 14 : Profil électrophorétique de la vache Brucellique KD 357

Chapitre III : DISCUSSION

III.1- Profil électrophorétique chez les vaches

L'électrophorèse des protéines sériques nous donne des informations supplémentaires sur les proportions des différentes fractions protéiques observées dans le sang. Ainsi, on observe que le rapport albumine sur globuline (A/G) est significativement différent ($p < 0,05$) entre les vaches non gestantes et celles ayant avorté. Ce rapport est de 0,85 pour les vaches ayant avorté, ce qui traduit une proportion plus élevée de globulines que d'albumine chez ces vaches. Les vaches non gestantes ont en moyenne un rapport A/G égal à 1.

On note aussi une augmentation significative des bêtaglobulines chez les vaches gestantes, pouvant être due à l'ensemble des phénomènes inflammatoires qui sont mis en jeu en début de gestation.

Les moyennes des fractions protéiques obtenues après électrophorèse chez les vaches en fonction de leur état physiologique (Tableau I) peuvent être comparées à celles obtenues par d'autres auteurs:

- **GIDEL** (1962) en Haute-Volta chez des zébus locaux, trouve les proportions des protéines sériques suivantes : $41,3 \pm 2,9\%$ pour l'albumine ; $5,1 \pm 0,8\%$ pour les alpha1globulines ; $8,3 \pm 0,56\%$ pour les alpha2globulines ; $12,7 \pm 1,9\%$ pour les bêtaglobulines ; $32,3 \pm 3\%$ pour les gammaglobulines ; $0,72 \pm 0,08\%$ pour le rapport albumine sur globuline (A/G).
- **SAWADOGO** (1998) au Sénégal chez des femelles zébu Gobra gestantes âgées de 2-3 ans trouve les proportions des protéines sériques suivantes : $45,2 \pm 4,2\%$ pour l'albumine ; $14,25 \pm 1,3\%$ pour les alpha globulines ; $12,5 \pm 2,3\%$ pour les bêtaglobulines ; $28,1 \pm 3\%$ pour les gammaglobulines ; $0,82 \pm 0,06$ pour le rapport albumine sur globuline (A/G).

Nos résultats sur les vaches gestantes sont comparables à ceux obtenus par **SAWADOGO** (1998). Par contre **GIDEL** (1962) avait obtenu une moyenne très faible d'albumine comparée au nôtre, ceci pourrait s'expliquer par les techniques anciennes d'électrophorèse utilisées qui ne permettent pas une bonne migration des protéines en particulier les fractions d'albumine (**PELTRE, 1990**).

L'analyse des profils électrophorétiques obtenus chez les vaches nous permet de constater que même en cas de protéinémie normale, on peut avoir un dysfonctionnement au niveau de la répartition des différentes fractions protéiques. Le dosage des protéines par électrophorèse est une méthode d'analyse qualitative des protéines, car toute interprétation d'un protéinogramme suppose en premier lieu la connaissance des variations physiopathologiques de la protéinémie (**CARRER, 1998**).

III.2- Profil électrophorétique chez les vaches ayant avorté

La période d'avortement dans le cas des mortalités embryonnaires n'influence pas sur le profil électrophorétique. On constate qu'il n'existe pas de différence significative entre les différentes fractions protéiques et la période de l'avortement (Tableau II).

Chez les vaches ayant avorté, on constate une globulinémie élevée. L'élévation de la concentration des globulines pourrait être la conséquence d'un processus infectieux ou inflammatoire aigu ou chronique (abcès, mammites...) (**BRAUN et al., 1992; BRUGERE-PICOUX et al., 1995; SATTLER, 2003**).

L'analyse des différentes fractions de globulines (Figures 8 à 12) nous montre que 66% des animaux ont des proportions de bêtaglobulines < 9% des protéines totales, la diminution de cette fraction est peu significatif (**VAN DEN ABELLE, 1986**).

On constate aussi que 66% des animaux ont une proportion de gammaglobuline élevée (> 30% des protéines totales), avec une moyenne de gammaglobulines ($33,53 \pm 5,67\%$) significative par rapport aux moyennes des autres groupes d'animaux (gestantes et non gestantes). La fraction gammaglobuline représente les protéines de l'immunité. L'augmentation de cette fraction chez les vaches peut être due à des problèmes infectieux (**VAN DEN ABELLE, 1986**) qui peuvent être la cause probable de ces mortalités embryonnaires.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par **MPOUAM (2007)**, sur des vaches ayant avorté en fin de gestation au Burkina Faso. Cet auteur trouve des proportions de bêtaglobulines élevées et soupçonne un processus inflammatoire chronique (abcès, mammites...).

III.3- Dépistage de la brucellose

Le dépistage de la brucellose chez les vaches de l'étude a donné un résultat positif (Tableau III) parmi les vaches ayant avorté sur l'ensemble des 81 vaches qui ont subi le test. Les résultats que nous avons obtenus pourraient se justifier entre autres comme étant la conséquence des différents programmes de lutte anti-brucellique mis en œuvre par l'Etat pour éradiquer cette maladie ces dernières années. De plus la brucellose n'est pas une pathologie spécifique des avortements dans le premier trimestre de gestation. Une des limites de ce diagnostic des pathologies abortives en reproduction est due au fait de l'impossibilité d'explorer un nombre plus élevé de pathologies spécifiques des mortalités embryonnaires (maladie de muqueuses, listériose, chlamydie...), en raison d'un manque de réactifs et de kits pour permettre le dépistage.

CONCLUSION

Les méthodes d'exploration qualitative et quantitative des protéines sériques et urinaires ont beaucoup évolué depuis quelques années en ce qui concerne leur praticabilité et leur sensibilité. Les techniques actuelles permettent à tout laboratoire de biologie médicale de disposer de kits commerciaux faciles à utiliser et dont les performances analytiques sont parfois équivalentes à celles des méthodes sophistiquées réservées jusqu'à présent à des laboratoires spécialisés (CARRER, 1998). S'il était difficile, voire même impossible, il y a quelques années, encore de mettre en évidence par une technique simple, rapide et sensible certaines anomalies qualitatives des protéines, c'est aujourd'hui un diagnostic biologique aisé qui peut être obtenu en moins de deux heures.

Ainsi cette étude, qui avait pour objectif général d'étudier le profil électrophorétique des protéines sériques des vaches ayant avorté avant la fin du premier trimestre de gestation après insémination artificielle au Sénégal, nous a permis de mettre en place un nouvel outil complémentaire de diagnostic simple, rapide et fiable, qui pourra nous permettre de confirmer des états infectieux ou inflammatoires déjà évoqués sur le plan clinique. L'électrophorèse doit être obligatoirement complétée par le dosage quantitatif des protéines totales, car toute interprétation d'un protéinogramme suppose en premier lieu la connaissance des variations physiopathologiques de la protéinémie.

D'après nos résultats, on observe que le rapport albumine sur globuline (A/G) est significativement différent ($p < 0,05$) entre les vaches non gestantes et celles ayant avorté. Chez ces vaches ayant avorté, les fractions de gammaglobulines sont élevées chez presque 75% des vaches étudiées. Ainsi donc, des causes infectieuses de ces avortements peuvent être suspectées. Le dépistage de la brucellose nous a révélé un cas positif sur les 81 vaches de l'étude.

Cette étude demanderait à être poursuivie en particulier par l'immunoélectrophorèse, pour savoir quelles sont les différentes immunoglobulines impliquées et en explorant un nombre plus élevé de pathologies de la reproduction spécifiques des mortalités embryonnaires précoces et tardives.

Un accent particulier doit être mis pour rechercher les causes sur ces mortalités afin de pouvoir les éradiquer et limiter les pertes économiques dans les productions animales, car le coût de l'insémination artificielle reste élevé pour l'éleveur africain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **AYALON N., 1978.** A review of embryonic mortality in cattle. *J.Reprod.Fert.*, 54,483-493.
2. **BADINGA L., COLLIER R.J., THATCHER W.W.et WILCOX C.J., 1985.** Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environments. *J.Dairy Sci.*,68,78-85.
3. **BRAUN J.P., BEZILLE P., GARNIER F., RICO A.G., 1992.** Techniques de diagnostic rapide en biochimie clinique chez les bovins. In : Société française de buiatrie (ed.).Le recours au laboratoire en buiatrie, Paris 16-17 decembre 1992, J. ESPINASSE,124-129.
4. **BRUGERE-PICOUX J., REMY D. ,1995.** Biochimie clinique. La dépêche technique. Maladies métaboliques chez la vache laitière. 46, 26-29.
5. **COLEMAN D.A., THAY N.E. et DAILEY R.A., 1985.** Factors affecting reproductive performance of dairy cows. *J.Dairy Sci.*, 68,1793-1803.
6. **COUROT M. et COLAS G., 1986.** The role of the male in embryonic mortality (cattle and sheep). In, Greenan J.M., Diskin M.G. (eds), *Embryonic mortality in Farm Animals*. Dordrecht, Martinus Nijhoff, 195-203.
7. **CARRER LE D., 1989.** L'interprétation de l'électrophorèse des protéines sériques. *L'Eurobiologiste*, vol. XXX, n°176, 27-33.
8. **CARRER LE D., 1998.** Electrophorèse et immunofixation des protéines sériques :Interprétations illustrées, Laboratoire SEBIA ;122.
9. **DAUNIZEAU A.,2003.** Immunoglobines Monoclonales. Cahier de formation Biologie Médicale N°28,120,26-33.
10. **DAY J.D., WEAVER L.D. et FRANTI C.E., 1995.** Twin pregnancy diagnosis in holstein cows - discriminatory powers and accuracy of diagnosis by transrectal palpation and outcome of twin pregnancies. *Can.Vet.J.*, 36,93-97.
11. **DEJARNETTE J.M., SAACKE R.G., BAME J. et VOLGER C.J., 1992.** Accessory sperm, Their importance to fertility and embryo quality, and attempts to alter their numbers in artificially inseminated cattle. *J. Anim. Sci.*, 70,484-491.
12. **DIENG D. A., 2003.** Bilan d'une campagne d'insémination artificielle dans les régions de Kaolack, Fatick et Diourbel. Thèse : Méd. Vét: Dakar ; 1.
13. **DIREL., 2006.** Rapport annuel sur l'état des ressources animales et zoo sanitaires. Ministère de l'élevage, Sénégal.
14. **DUNNE L., DISKIN M. ET SREENAN J. 2000.** Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. *Anim Reprod Sci.*, 58, 39-44.
15. **GIDEL R., 1962.** Etude électrophorétique quantitative en gelose des protéines sériques de bovins. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*,vol.15, 259-263.

16. **GORDON I., WILLIAMS G. et EDWARDS J., 1962.** The use of sérum gonadotrophin (P.M.S.) in the induction of twin-pregnancy in the cow. *J. Agric. Sci. (Cambridge)*, 59,143-198.
17. **GRAHN T.C., FAHNING M.L. et ZEMJANIS R., 1984.** Nature of early reproductive failure caused by bovine viral diarrhoea virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*,185,429-432.
18. **HARE W.C.D., SINGH E.L., BETTERIDGE K.J., EAGLESOME E.D., RANDALL G.C.B., MITCHELL D., BILTON R.J. et TROUNSON A.O., 1980.** Chromosomal analysis of 159 bovine embryos collected 12 to 18 days after estrus. *Can.J.Genet.Cytol.*, 22,615-626.
19. **HUMBLLOT P., 1988.** Pregnancy specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* 1988, 83, 215- 223.
20. **HYTTEL P., CALLESEN H., GREVE T. et SCHMIDT M., 1991.** Oocyte maturation and sperm transport in superovulated cattle. *Theriogenology*, 35,91-108.
21. **KAHN W. et LEIDL W., 1989.** Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. *Diagnostic ultrasound and animal reproduction*. M.M. Taverne and A.H. Willemse (Eds), Kluwer Academic Publisher, 53-65.
22. **KING W.A., 1985.** Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology*, 23,161-174.
23. **MONGET P. ; FROMENT P. ; MOREAU C. ; GRIMARD B. et BUPONT J., 2004.** Les interactions métabolismes - Reproduction chez les bovins : 23e Congrès Mondial de Bucararie, 11-16 juillet 2004, -Québec : CRAQ 2003. -7p.
24. **MOUCHE M. M. M., 2007.** Etude de la relation entre le statut nutritionnel des vaches inséminées et leur état physiologique par dosage d'un biomarqueur de gestation : Les Protéines Associées à la Gestation (PAG). Thèse : Méd. Vét: Dakar ; 13.
25. **MPOUAM S. 2007.** Etude des relations entre les problèmes de reproduction et les concentrations des métabolites proteo-energetiques autour du vêlage chez les vaches locales de la zone peri-urbaine de bobo-dioulasso (Burkina Faso). Thèse : Méd. Vét: Dakar ; 57.
26. **MUMPUREZE N., 2007.** Evaluation Comparée de trois méthodes de diagnostic de gestation chez la vache inséminée au Sénégal : Progestérone, Protéines associés à la gestation et la Palpation transrectale. Thèse : Méd. Vét: Dakar ; 14.
27. **NGOM R., 2002.** Evaluation du diagnostic précoce de gestation par le dosage de la progestérone dans le sang chez les vaches inséminées en élevage traditionnel. Mémoire DEA : Productions Animales : Dakar (EISMV) ; 2.

28. **OTOI T., TACHIKAWA S., KONDO S. et SUSUKI T., 1992.** Effect of antibiotic treatment of in vitro fertilised embryos to remove adhering bacteria. *J.Vet.Med.Sci.*,54,763-765.
29. **PELTRE G., 1990.** Electrophorèse, les trois principes de base. *Technique et biologie*,1,16-23.
30. **PINTO A., BOUCA P., CHEVALLIER A., FRERET S., GRIMARD B. et HUMBLLOT, 2000.** Sources de variation de la fertilité et des fréquences de mortalité embryonnaire chez la vache laitière. Rencontres autour des recherches sur les ruminants N°7, Paris , FRANCE (06/12/2000).
31. **ROWSON L.E.A., LAWSON R.A.S. et MOOR R.M., 1971.** Production of twins in cattle by egg transfer. *J. Reprod. Fertil.*, 25,261-268.
32. **SATTLER N.,2003.** Intérêts et limites des analyseurs en buiatrie. *Le Point Vét. Num. Spé.* 34,32-35.
33. **SAWADOGO G.J., 1998.** Contribution à l'étude des conséquences nutritionnelles sub-sahéliennes sur la biologie du Zébu Gobra au Sénégal. Thèse : Doctorat Institut National Polytechnique : Toulouse.
34. **SAWADOGO J.G, 2007.** Mise au point de stratégies d'inséminations artificielles plus efficaces basées sur des chaleurs naturelles de vaches locales et métisses dans la zones d'intervention du PAPEL. Rapport final. 97p.
35. **SEMAMBO D.K.N., AYLIFFE T.R., BOYD J.S. et TAYLOR D.J., 1991.** Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actinomyces pyogenes*. *Vet. Rec.*, 129,12-16.
36. **SETCHELL B.P., D'OCCHIO M.J., HALL M.S., LOURIE M.S., TUCKER M.J. et ZUPP J.L., 1988.** Embryonic mortality increased in normal female rats mated to subfertile males ? *J.Reprod.Fertil.* ,567-574.
37. **SICARD D., 1990.** Du bon usage de l'électrophores des protéines. *Le concours médical*, 112,1503-1515.
38. **SOUSA N.M.; ZONGO M.; PITALA W.; BOLY H.; SAWADODO L.; SANON M.; DE FIGUEIREDO J. R.; EL AMIRI B. et BECKERS J.F., 2003.** Pregnancy associated glycoprotein concentrations during pregnancy and post partum period in azawak zebu cattle. *Theriogenology*: 59: 1131-1142.
39. **SREENAN J.M. et DISKIN M.G., 1989** Effect of a unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J.Reprod. Fertil.*, 87,657-664.
40. **TAINTURIER D.; BEDEL M.; BECKERS J. F. et FIENI F., 1996.** Cinétique de la bPAG (Bovine Pregnancy Associated Glyco Protin) dans le plasma et dans le lait au cours des trois mois suivant le part chez la vache laitière (129-134). - In : *Reproduction et production laitière.* - Tunis : SERVICED, -294 (Actualité Scientifique AUPELF-UREF).
41. **VAN DEN ABELLE, 1986.** Electrophorèse des protéines sériques. Intérêts, limites apport du profil protéique. *Larc Médical*, n°7, Vol. VI, 348-351.

42. **WILTBANK J.N., ROWDEN W.W., INGALLS J.E., GREGORY K.E. et KOCH R.M., 1962.** Effect of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. *J. Anim. Sci.*, *21*,219-225.

<p align="center">Etude du profil électrophorétique des protéines sériques des vaches ayant avorté après insémination artificielle au Sénégal</p>	<p align="center">Study of the serum protein electrophoretic profile of cows having aborted after artificial insemination in Senegal.</p>
<p align="center">Mohamed Moctar MOUCHE MOULIOM Mémoire de DEA-PA, option Zootechnie- Reproduction Economie</p>	<p align="center">Mohamed Moctar MOUCHE MOULIOM Masters memory of animal productions, Zootecnic- Reproduction and Economic option</p>
<p align="center">Résumé</p>	<p align="center">Abstract</p>
<p>Chez les bovins, les pertes économiques dues aux mortalités embryonnaires observées après Insémination Artificielle restent importantes. Les proportions et les causes de celles-ci demeurent inconnues au niveau du Sénégal. Cette étude se propose d'évaluer des causes de mortalités embryonnaires chez les bovins par l'exploration des indicateurs métaboliques de l'efficacité du système de défense.</p> <p>Pour ce faire, nous avons utilisés le sérum de 21 vaches ayant avorté, 40 vaches gestantes et 20 vaches non gestantes inséminées, provenant des régions de Dakar et Thiès (Mbour). Ces sérums ont fait l'objet d'analyse électrophorétique des protéines sériques et de dépistage de la brucellose par le test au rose Bengale.</p> <p>De nos résultats, on observe que le rapport albumine sur globuline (A/G) est significativement différent ($p < 0,05$) entre les vaches non gestantes et celles ayant avorté. Chez ces vaches ayant avorté, les fractions de gammaglobulines sont élevées chez presque 75% des vaches étudiées. Ainsi donc, des causes infectieuses de ces avortements peuvent être suspectées. Le dépistage de la brucellose nous a révélé un cas positif sur les 81 vaches de l'étude.</p> <p>Un accent particulier doit être mis sur ces mortalités pour limiter les pertes économiques car le coût de l'insémination artificielle reste élevé pour l'éleveur africain.</p> <p>Mots clés : électrophorèse, insémination artificielle, mortalités embryonnaires, protéines sériques</p>	<p>In cattle, the economic losses due to embryonic mortality observed after artificial insemination remain important. The proportions and causes of this remain unknown at the level of Senegal. This study assesses the causes of embryonic mortality in cattle through the exploration of metabolic indicators associated to the effectiveness of the defense system.</p> <p>To do this, we used the serum of 21 cows that had aborted, 40 pregnant cows and 20 inseminated unpregnant cows, from the regions of Dakar and Thies (Mbour). These serums were analysed electrophoretically for serum proteins and tested for brucellosis by the rose bengal test.</p> <p>From our results, we found that the ratio of albumin to globulin (A / G) was significantly different ($p < 0.05$) between the unpregnant cows and those who aborted. Almost three quarters of cows having aborted, had high gammaglobulins levels. Thus, abortions related to pathological causes can be suspected. Brucellosis testing revealed one positive case on 81 cows tested.</p> <p>Since the cost of artificial insemination remains high for the African farmer, particular emphasis should be placed on these deaths to limit economic losses.</p> <p>Keywords: electrophoresis, artificial insemination, embryonic mortality, serum proteins</p>
<p>Tél : 00 221 77.539.93.66 (Sénégal) 00 237 99228669 (Cameroun) E-mail : mouichemoctar@yahoo.fr mouichemoctar@orange.sn</p>	<p>Phone number : 00 221 77.539.93.66 (Senegal) 00 237 99228669 (Cameroun) E-mail : mouichemoctar@yahoo.fr mouichemoctar@orange.sn</p>

