

ANNEE 2006

**CARACTERISATION DE LA CROISSANCE FŒTALE
IN UTERO PAR ECHOGRAPHIE
CHEZ LA LAPINE**



THESE

pour le

DOCTORAT VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

LA FACULTE DE MEDECINE DE CRETEIL

le

.....

par

**Eugénie, Anne-Laure MACHET née
SIMONOFF**

Née le 29 juillet 1978 à Fontenay-aux-Roses (Hauts-de-Seine)

JURY

Président : M.....

Professeur à la Faculté de Médecine de Créteil

Membres

Directeur : Dr Sylvie CHASTANT

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Assesseur : Pr Dominique BEGON

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

Invitée : Dr Pascale CHAVATTE-PALMER

UMR 1198 INRA/ ENVA/CNRS

ANNEE 2006

CARACTERISATION DE LA CROISSANCE FŒTALE IN UTERO PAR ECHOGRAPHIE CHEZ LA LAPINE

NOM et prénom : MACHET Eugénie

Résumé : Dans le cadre de recherches sur le déroulement de la gestation chez la lapine , il est devenu important de savoir mesurer la croissance fœtale in utero par imagerie médicale. Dans cette étude, 30 lapines néo-zélandaises ayant reçu des embryons produits in vivo (2, 4 ou 6 par lapine) ont été échographiées par voie transabdominale avec une sonde de 7,5MHz tous les 2 ou 3 jours à partir de J7 post-coït. Les tailles de la vésicule embryonnaire, du placenta, du corps, de la tête et de différentes structures anatomiques ont été mesurées en fonction du temps et du nombre de fœtus présents. En fin de gestation, les fœtus issus de transferts d'un nombre limité d'embryons sont significativement plus grands que ceux issus de transferts d'un nombre plus élevé d'embryons.

Mots-Clés : ECHOGRAPHIE, EMBRYON, TRANSFERT D'EMBRYONS, FŒTUS, DEVELOPPEMENT, MESURE, PLACENTA, CORPS, TÊTE, LAPIN

Jury :

Président :

Directeur : Dr Sylvie CHASTANT

Assesseur : Pr Dominique BEGON

Invitée : Dr Pascale CHAVATTE-PALMER

Adresse de l'auteur :

Mme Eugenie Machet

13 rue Lucien Petit

28320 Jonvilliers

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT

ANNEE 2006

IN UTERO CHARACTERISATION OF FÆTAL GROWTH BY ULTRASOUND SCANNING IN THE RABBIT

SURNAME: MACHET

Given name: Eugénie

Summary: In the objective of developing research on pregnancy development in rabbits, it has become important to be able to measure foetal growth in utero using medical imaging. In this study, 30 New Zealand does transferred with in vivo produced embryos (2, 4 or 6 embryos/doe) have been scanned with a 7.5 MHz transabdominal probe from Day 7 post-coitum to measure foetal and placental growth. Vesicle, placental, embryo and head size have thus been determined according to number of foetuses and time. In late gestation, foetuses that had been transferred in limited numbers to the uterus of does were significantly larger than foetuses that had been transferred in large numbers.

Key words: ULTRASOUND SCANNING, EMBRYO, TRANSFER, FOETUS, DEVELOPMENT, MEASURE, PLACENTA, HEAD, RABBIT

Jury:

President:

Director: Dr Sylvie CHASTANT

Assessor: Pr Dominique BEGON

Guest: Dr Pascale CHAVATTE-PALMER

Mrs Machet Eugenie
13 rue Lucien Petit

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier :

Sylvie Chastant
Dominique Begon
Pascale Chavatte-Palmer
Patrice Laigre
Jean-Paul Renard
Patrick Chesné
Mireille Challah
Michel Baratte

Ainsi que le personnel de la lapinerie et de l'UMR Biologie du Développement et reproduction de l'INRA

Je remercie aussi :

Toutes les personnes qui m'ont soutenue
mon mari et ma fille,
mes parents,
mes frères et belles sœurs,
Monsieur Lenoir et mes collègues,

Ainsi que toutes les personnes que je ne cite pas mais qui me sont chères.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	2
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
<u>ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT.....</u>	<u>1</u>
<u>CARACTERISATION DE LA CROISSANCE FŒTALE.....</u>	<u>1</u>
<u>IN UTERO PAR ECHOGRAPHIE.....</u>	<u>1</u>
<u>CHEZ LA LAPINE.....</u>	<u>1</u>
<u>ECOLE NATIONALE VETERINAIRE D'ALFORT.....</u>	<u>3</u>
<u>IN UTERO CHARACTERISATION OF FŒTAL GROWTH.....</u>	<u>3</u>
<u>BY ULTRASOUND SCANNING IN THE RABBIT.....</u>	<u>3</u>
<u>Ainsi que le personnel de la lapinerie et de l'UMR Biologie du Développement et reproduction de l'INRA.....</u>	<u>4</u>
<u>Toutes les personnes qui m'ont soutenue.....</u>	<u>4</u>
<u>I. DEVELOPPEMENT FŒTAL CHEZ LE LAPIN.....</u>	<u>4</u>
<u> A. ANATOMIE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE LA LAPINE.....</u>	<u>4</u>
<u> B. ACCOUPLEMENT ET OVULATION.....</u>	<u>5</u>
<u> C. FECONDATION, DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET FŒTAL.....</u>	<u>10</u>
<u> D. LA MISE BAS.....</u>	<u>20</u>
<u>II. LES ECHOGRAPHIES DE GESTATION.....</u>	<u>22</u>
<u> A. PRINCIPES GENERAUX.....</u>	<u>22</u>
<u> B. ECHOGRAPHIES AU COURS DE LA GESTATION DANS DIFFERENTES ESPECES.....</u>	<u>28</u>
<u> 1) Techniques échographiques.....</u>	<u>28</u>
<u> C. ECHOGRAPHIE DE GESTATION CHEZ LA LAPINE.....</u>	<u>33</u>
<u>I. ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES.....</u>	<u>39</u>
<u> MOIS.....</u>	<u>40</u>
<u> 1IÈRE SÉRIE.....</u>	<u>40</u>
<u> (3 LAPINES PAR GROUPE).....</u>	<u>40</u>
<u> 2IÈME SÉRIE.....</u>	<u>40</u>
<u> (3 LAPINES PAR GROUPE).....</u>	<u>40</u>
<u> TOTAL.....</u>	<u>40</u>
<u> FÉVRIER.....</u>	<u>40</u>
<u> GROUPE 3.....</u>	<u>40</u>
<u> GROUPE 3.....</u>	<u>40</u>
<u> 6.....</u>	<u>40</u>
<u> MARS.....</u>	<u>40</u>
<u> GROUPE 2.....</u>	<u>40</u>

<u>GROUPE 2</u>	40
<u>6</u>	40
<u>AVRIL</u>	40
<u>GROUPE 2</u>	40
<u>GROUPE 2</u>	40
<u>6</u>	40
<u>MAI</u>	40
<u>GROUPE 1</u>	40
<u>GROUPE 2</u>	40
<u>6</u>	40
<u>JUIN</u>	40
<u>GROUPE 1</u>	40
<u>GROUPE 2</u>	40
<u>6</u>	40
<u>TOTAL</u>	41
<u>30</u>	41
<u>FIGURE 36 : INCISION DES DIFFÉRENTS PLANS AU NIVEAU DE LA LIGNE BLANCHE</u>	41
<u>FIGURE 40 : SONDE ÉCHOGRAPHIQUE LINÉAIRE DE 7,5 MHZ</u>	43
<u>C. METHODES</u>	43
<u>FIGURE 40 : LES DIFFÉRENTES ÉTAPES POUR LA CONTENTION DE LA LAPINE</u>	44
<u>FIGURE 41 : PLANNING MENSUEL POUR LES ÉCHOGRAPHIES DE LAPINES</u>	45
<u>FIGURE 42 : MESURES RÉALISÉES SYSTÉMATIQUEMENT SUR CHAQUE FŒTUS</u>	46
<u>EN FONCTION DU TEMPS</u>	46
<u>II. JOURS DE GESTATION</u>	46
<u>Tableau 13 : Pourcentage de réussite après transfert</u>	51
<u>(nombre de naissances dans une portée par rapport au nombre d'embryons transférés)</u>	51
<u>FIGURE 52 : LARGEUR MOYENNE (MM) DES VÉSICULES</u>	55
<u>FIGURE 53 : LONGUEUR MOYENNE (MM) DES VÉSICULES</u>	56
<u>FIGURE 58 : MESURE DE LA LONGUEUR (MM), LARGEUR (MM), PÉRIMÈTRE (CM) ET SURFACE (CM2)</u>	58
<u>III. DU PLACENTA À J15 CHEZ UNE LAPINE PORTANT 6 FŒTUS</u>	58
<u>B. RESULTATS DES ECHOGRAPHIES</u>	70
<u>1. LA FIABILITÉ DU MATÉRIEL ET DE LA TECHNIQUE UTILISÉE</u>	70
<u>Figure 77 : Echo-Doppler de l'aorte à J29</u>	70
<u>Figure 78 : Lapine dormant dans la boîte de contention</u>	71
<u>2. COMPARAISON DES OBSERVATIONS ÉCHOGRAPHIQUES AVEC LES DONNÉES PUBLIÉES DANS LA LITTÉRATURE</u>	71
<u>Figure 79 : Comparaison des tailles des vésicules embryonnaires</u>	72
<u>rapportées dans la littérature et dans notre étude</u>	72
CONCLUSION	72
BIBLIOGRAPHIE	73
ANNEXES	76

INTRODUCTION

Des échographies de gestation menées sur des lapines gestantes ont été réalisées à l'INRA de Jouy-en-Josas afin d'apporter de nouvelles données sur le développement foetal chez la lapine encore peu étudié par imagerie.

Les recherches menées au sein de l'Unité Mixte de Recherche (UMR) en Biologie et Reproduction de l'INRA ont pour objectifs de caractériser l'origine des mortalités embryonnaires qui persistent en élevage bovin et d'étudier les approches nutritionnelles essentielles pour la fertilité des femelles d'élevage. Elle propose aussi de nouveaux modèles animaux génétiquement modifiés pour tenter de mieux comprendre certaines maladies humaines et d'essayer de produire des protéines d'intérêt thérapeutique.

Le clonage, par exemple, qui consiste au transfert de noyaux somatiques dans des ovules énucléés, entraîne des taux de mortalités embryonnaire et foetale très élevés et montre que des perturbations de l'embryon qui s'exercent très précocement au cours du développement ont des conséquences à long terme, sur le développement foetal (dont la croissance avec l'exemple du syndrome des gros veaux) et post-natal. Ces influences retardées sont également suspectées par l'environnement que fournit la mère au cours de la gestation (hypothèse de Barker).

Toutes ces recherches ne peuvent, le plus souvent, plus se limiter aux études *in vitro* et obligent à conduire les expérimentations jusqu'à la naissance de l'animal. Cela implique donc des besoins techniques supplémentaires tels que la chirurgie ou l'imagerie pour pouvoir analyser les différents temps du développement.

Le lapin est un bon modèle pour ces études car la durée de gestation est courte (environ 31 jours) et la taille compatible avec les examens (à la différence de la souris). Mais avant de pouvoir étudier l'influence de différents facteurs sur la croissance foetale, il est nécessaire de définir la normalité.

C'est pourquoi, un atlas de mesure de foetus normaux suivis tout au long de la gestation par échographie permettrait aux chercheurs de s'y référer pour détecter précocement des anomalies de développement.

L'étude menée tient compte des données déjà publiées tels que l'anatomie de la lapine, le développement des foetus ou encore les quelques échographies précédemment réalisées sur lapines gestantes.

Puis, l'ensemble des mesures et des observations échographiques des foetus est répertorié en un atlas de données.

Enfin, l'analyse des résultats permet d'apporter de nouvelles références en ce qui concerne le développement des foetus normaux de lapines.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

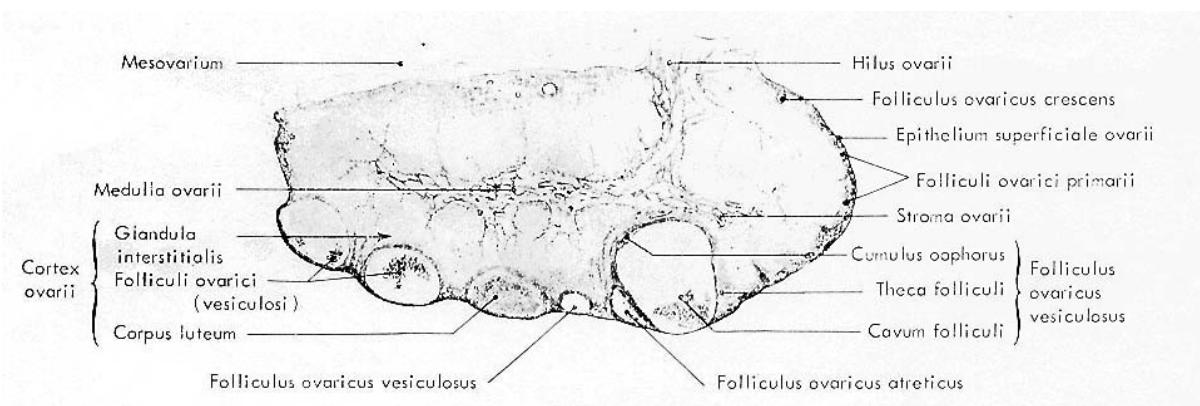
I. DEVELOPPEMENT FŒTAL CHEZ LE LAPIN

A. ANATOMIE DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR DE LA LAPINE

Les organes sexuels femelles du lapin sont constitués de deux ovaires, deux oviductes, deux utérus, deux conduits cervicaux, un vagin et une vulve (Barone, 1973).

Les ovaires sont localisés dans la partie dorsale et postérieure de l'abdomen, au niveau de la 4^{ème} vertèbre lombaire, environ 1 cm en arrière des reins. Ils sont maintenus en place à l'aide d'un ligament, le mésovarium, mais aussi grâce à la pression qu'exercent les autres organes abdominaux sur eux. Les ovaires sont ovoïdes et atteignent de 1 à 1,5 cm dans leur plus grande dimension. Ils sont composés d'une portion centrale ou médulla et d'une portion externe ou cortex ; c'est au niveau de ce dernier que l'on retrouve les follicules ovariens, les corps lutéaux, les follicules atrésiques ou encore les kystes. L'ensemble est recouvert d'un épithélium superficiel sauf au niveau du hile où les vaisseaux sanguins et les nerfs entrent dans la glande (figure 1). Les ovaires produisent les cellules germinales femelles, les ovocytes, ainsi que les hormones sexuelles femelles, les oestrogènes.

Figure 1 : Coupe sagittale d'un ovaire de lapine (Barone, 1973)

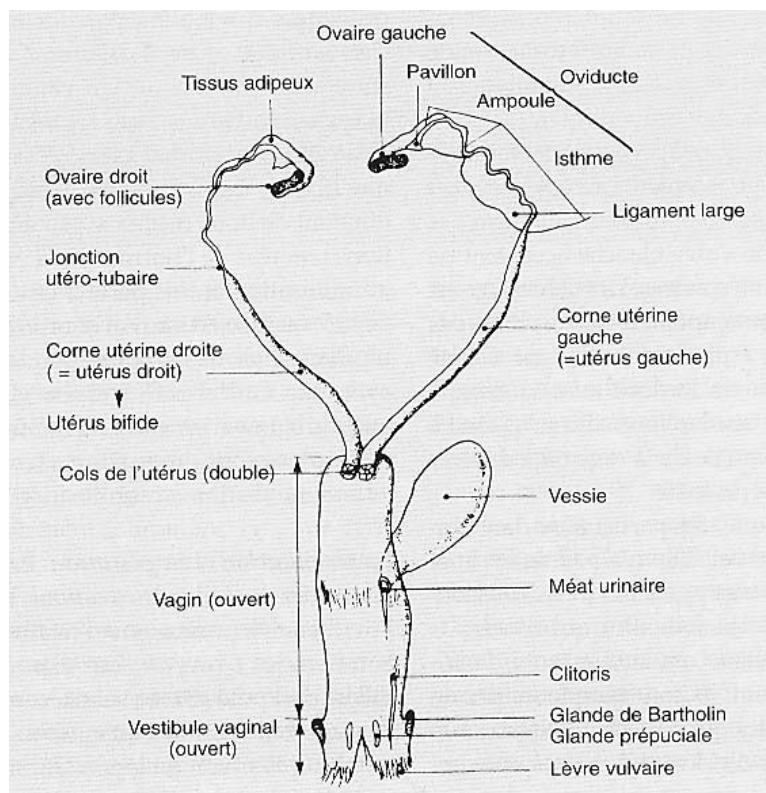


Puis, suit l'oviducte constitué du pavillon, de l'ampoule et de l'isthme, qui permet la connexion entre les ovaires et les utérus. Chaque oviducte, encore appelé trompe de Fallope, forme des circonvolutions dans les plis du mésovarium.

Contrairement à beaucoup d'autres espèces de mammifères, la lapine possède un double utérus. Bien que l'anatomie extérieure de l'appareil reproducteur laisse penser que les cornes utérines se réunissent dans leur partie postérieure en un seul corps, il y a en réalité deux utérus indépendants

de 6 à 12 cm de long et de 2 à 7 mm de large, s'ouvrant séparément par deux conduits cervicaux dans le vagin, long de 6 à 10 cm (figure 2 et annexe n°1)

Figure 2 : Appareil urinaire et génital de la lapine (Lebas et al., 1996)



Le vagin est un canal musculaire droit formé d'un épithélium squameux stratifié et contenant un grand nombre de glandes muqueuses. Il sert de passage au fœtus lors de la naissance et pour l'entrer du pénis lors de l'accouplement.

La partie terminale du vagin constitue le vestibule vaginal, lieu où s'ouvre l'urètre. Sur la paroi ventrale du vestibule, juste en avant de la vulve, une petite masse de tissu érectile forme le clitoris, homologue du pénis chez le mâle.

Il est possible de distinguer sur les parois latérales du vagin des glandes vestibulaires qui secrètent du mucus et des glandes prépucales.

La vulve s'ouvre à l'extérieur, ventralement par rapport à l'anus.

B. ACCOUPLEMENT ET OVULATION

1) Physiologie

La physiologie de la reproduction de la lapine est caractérisée par une ovulation provoquée. Contrairement à la plupart des mammifères domestiques chez lesquels l'ovulation a lieu spontanément à des intervalles réguliers au cours de la période d'œstrus (ou communément appelé chaleurs), la lapine ne présente pas de cycle œstrien. Elle est considérée en œstrus plus ou moins permanent, et l'ovulation ne se produit que s'il y a accouplement (Parez, 1994).

Il est possible que la lapine présente des périodes d'œstrus et de diœstrus successifs dont il est impossible actuellement de prévoir la durée ainsi que les facteurs hormonaux déterminant celle-ci. Le seul critère retenu par de nombreux auteurs pour caractériser la réceptivité de la femelle est la coloration de la vulve. On constate que 90% des lapines ayant une vulve rouge acceptent l'accouplement et ovulent, mais que seulement 10% des lapines ayant une vulve blanche acceptent l'accouplement et sont fécondées (Lebas et al., 1996).

Les femelles acceptent l'accouplement vers l'âge de 10 ou 12 semaines alors qu'elles ne pourront être véritablement fécondées et conduire une gestation qu'à partir de 16 à 32 semaines selon la race et la taille de la lapine (Parez, 1994 et Lebas et al., 1996).

La précocité sexuelle est plus importante chez les races de petit format comme le lapin Russe ou le Papillon Anglais, de même qu'elle est améliorée chez les animaux à croissance rapide et nourris à volonté (Periquet, 1998). Bolet et al. (2004) montrent que les races de petit format tels que les Chinchilla ou les Russes ont une faible prolifcité mais une bonne fertilité.

La Néo-Zélandaise est un lapin de race moyenne élevée en élevage intensif car elle est calme et très prolifique. Elle peut être fécondée à partir de la 28^{ème} semaine.

Le taux de fertilité enregistré en première saillie est supérieur à celui des femelles multipares. La mémoire de la femelle nullipare est vierge de tout contact sexuel ; elle est donc très sensible aux premiers stimulus du coït (Tableau 1).

Tableau 1 : Effet du stade physiologique sur le taux de fertilité (Questel, 1984)

Stade physiologique	Effectif	Taux de fertilité
Nullipares	1643	81%
Suite mise bas	7849	68%
Sortant de repos*	868	64%

*plus de 21 jours post-partum

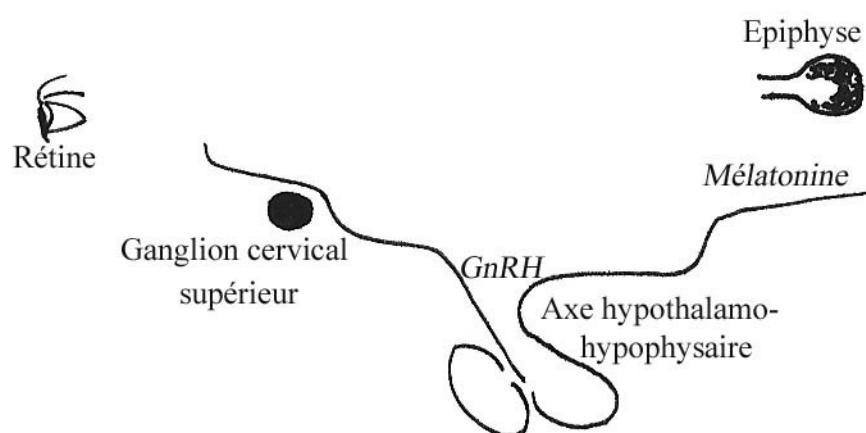
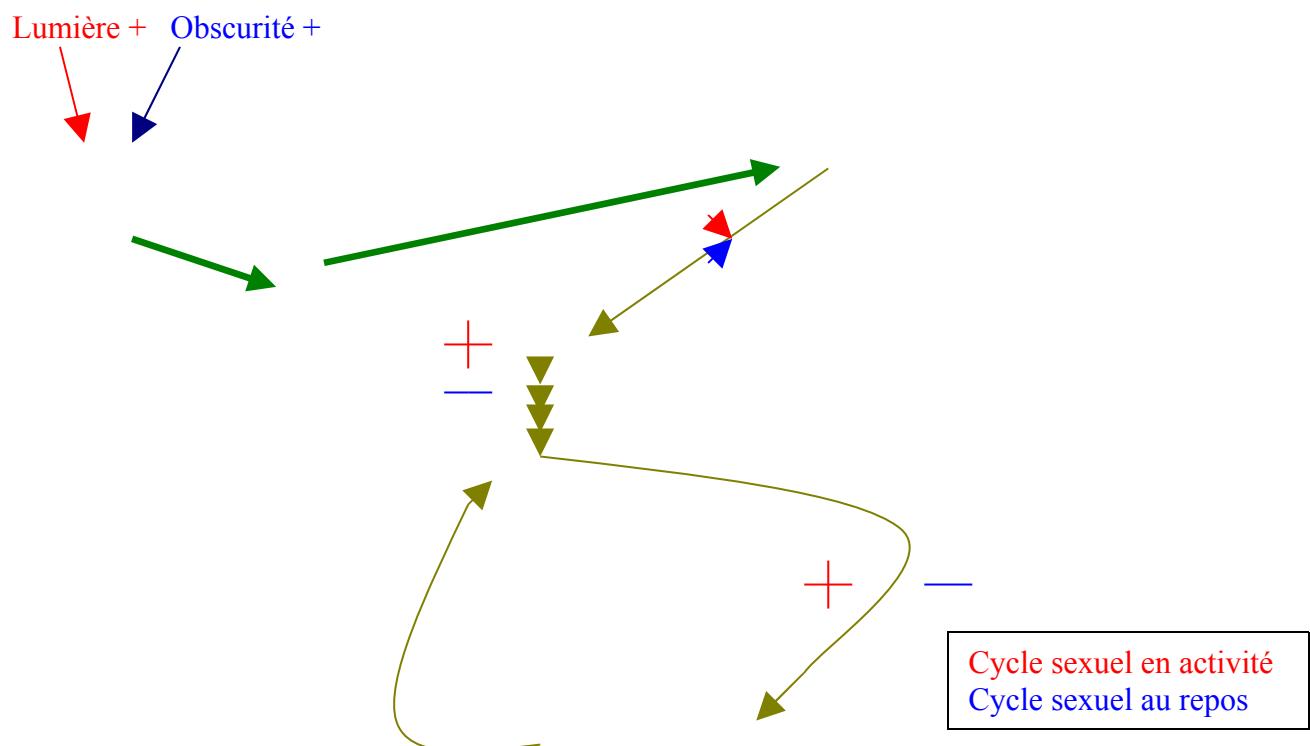
2) Facteurs de variation liés au milieu

- L'environnement

L'environnement, en particulier la saison joue un rôle important dans la fertilité. La lapine se reproduit pendant les jours longs. Cette espèce est donc en activité sexuelle durant la période estivale, de la fin de l'hiver au début de l'automne. La valeur critique de la photopériode est de 12 heures. Lorsque le cycle lumière/obscurité passe de 12h/12h à 11h/13h, l'activité génitale décline (Lefrançois et Tiret, 2000).

Ce phénomène est expliqué par l'intervention de l'épiphysé qui permet de convertir le « signal » photopériodique en « signal » endocrinien, le médiateur étant la mélatonine. Les variations saisonnières de luminosité perçues par l'œil sont transmises au ganglion cervical supérieur puis à l'épiphysé par l'intermédiaire des voies nerveuses périphériques. Lorsque la durée de lumière régresse, les décharges de mélatonine par l'épiphysé diminuent, entraînant une inhibition de la synthèse de GnRH et l'entrée en repos sexuel (Figure 3).

Figure 3 : Mécanisme d'action du cycle sexuel en fonction de la saison chez la lapine (Lefrançois et Tiret, 2000)



→ Voie nerveuse (Green arrow)

→ Voie endocrinienne (Yellow arrow)

- La température

Les températures extrêmes diminuent la fertilité. Au-dessus de 30°C, l'activité sexuelle de la lapine est amoindrie ; il semblerait toutefois que les réductions de prolificité seraient imputables moins à la température elle-même qu'à la réduction du poids corporel entraînée par la baisse du niveau d'ingestion liée à la température élevée (Lefrançois et Tiret, 2000).

- L'alimentation

De nombreux auteurs ont montré l'effet défavorable du rationnement des futures reproductrices sur la fertilité, surtout lors de la première portée (tableau 2), ainsi que l'importance des minéraux, vitamines (A, D) et oligoéléments. La qualité des matières premières est donc primordiale (Boussit, 1989).

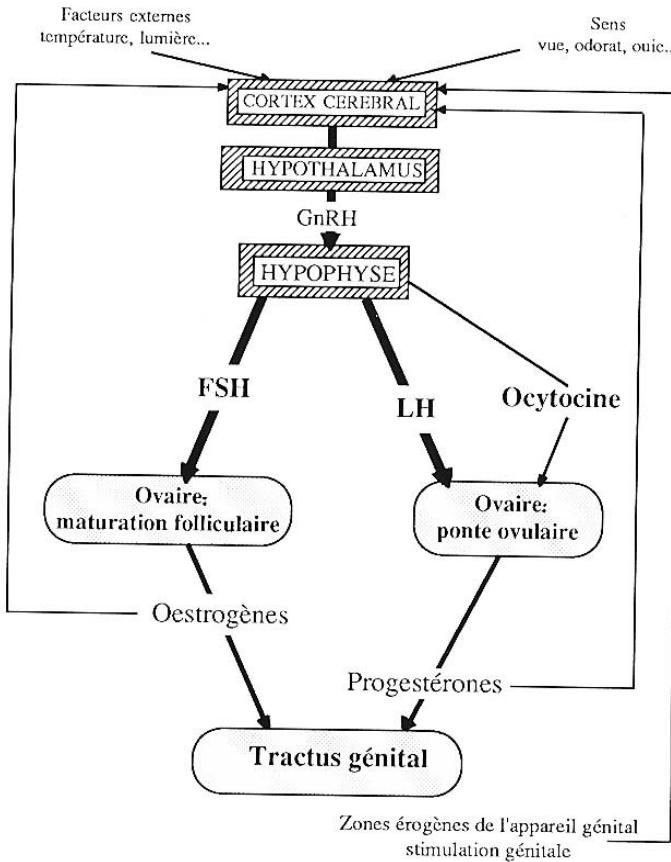
Tableau 2 : Effet du niveau alimentaire sur la fertilité de lapines au repos (Boussit, 1989)

Niveau alimentaire	Taux de gestation
280 g/j	74%
140 g/j	67%
60 g/j	45%

3) Endocrinologie

D'un point de vue hormonal, l'accouplement induit un réflexe neuroendocrinien à l'origine de la libération de gonadolibérine (GnRH) par l'hypothalamus. La sécrétion pulsatile de GnRH dans le système sanguin stimule le lobe antérieur de l'hypophyse, libérant à son tour un pic de LH et de FSH (figure 4).

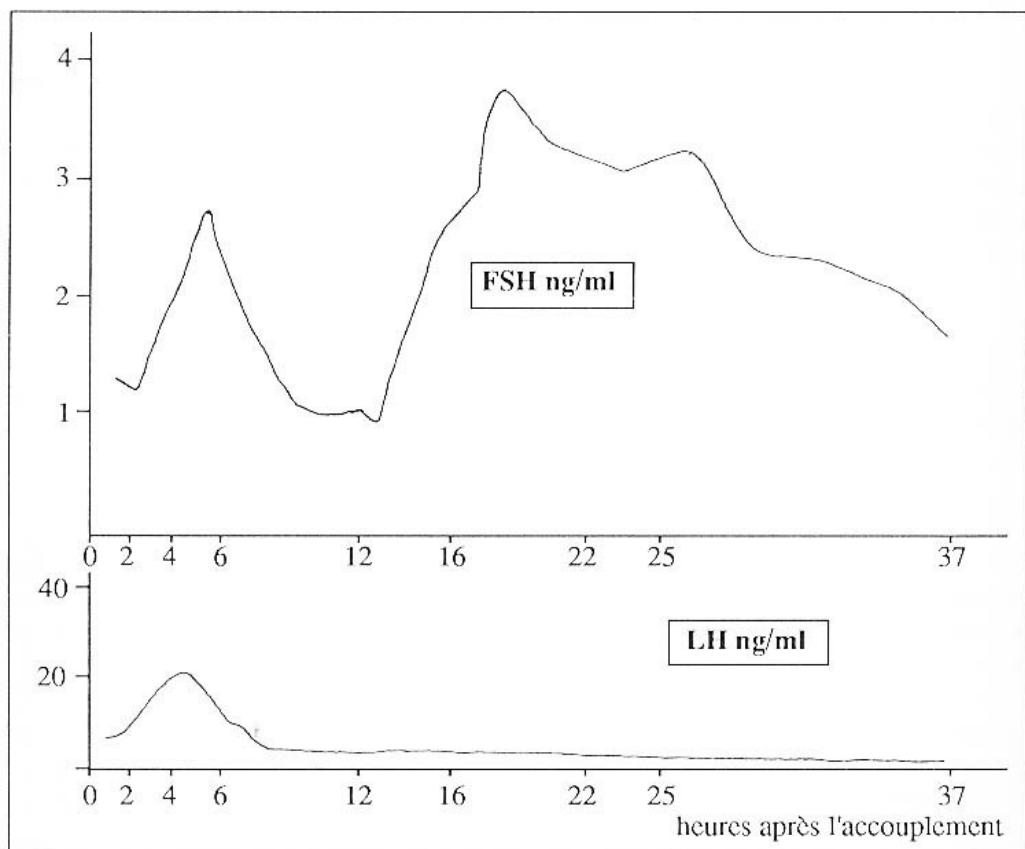
Figure 4 : Régulation hormonale du réflexe ovulatoire chez la lapine (Boussit, 1989)



- La sécrétion de FSH provoque la maturation folliculaire finale. De plus, la FSH pourrait renforcer l'action de la LH. Une nouvelle sécrétion de FSH, 16 à 22 heures après le coït, permet de stimuler la formation de nouveaux follicules susceptibles d'ovuler par la suite (figure 5).
- La LH permet de déclencher la ponte ovulaire. Son taux circulant augmente dans les 10 minutes suivant la stimulation, atteint son maximum 1 heure 30 à 2 heures plus tard, puis retrouve son niveau basal 5 à 6 heures après le coït. L'ovulation est induite 10 à 12 heures après accouplement (Parez, 1994).

Au moment de l'ovulation, la rupture des follicules ovariens entraîne la libération d'ovocytes qui seront aspirés par le pavillon de l'oviducte.

Figure 5 : Evolution des sécrétions de FSH et LH suite à l'accouplement (Parez, 1994)



4) Pseudogestation

Si les ovules libérés ne sont pas fécondés, il se produit une pseudogestation qui dure 15 à 18 jours. Durant cette période, la lapine n'est pas fécondable. Au début, l'évolution des corps jaunes et de l'utérus est la même que pour une lapine gestante. Puis, progressivement, leur développement ne se fait plus aussi rapidement et le taux de progestérone sécrété diminue. Vers le 12^{ème} jour après l'ovulation, les corps jaunes régressent puis disparaissent sous l'action de la prostaglandine PGF_{2α}.

La fin de la pseudogestation accompagnée d'une chute du taux de progestérone marque le début d'un comportement maternel et de la construction du nid.

Les ovulations sans fécondation sont rares à la suite d'une saillie naturelle, mais, elles touchent 20 à 30% des lapines inséminées artificiellement chez lesquelles aucun des ovocytes n'est fécondé (Lebas et al., 1996).

C. FECONDATION, DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE ET FÉTAL

1) Fécondation et développement embryonnaire

Le temps de gestation de la lapine varie de 30 à 33 jours avec une moyenne de 31 jours.

La fécondation a lieu dans la partie distale de l'ampoule, près de l'isthme, 1 heure 30 après l'ovulation. Puis, l'embryon qui commence à se diviser pendant la traversée de l'oviducte, arrive dans l'utérus 48 à 50 heures après : il est alors un amas cellulaire indifférencié appelé morula (figure 6 et 7).

Puis, les cellules commencent à secréter un liquide qui s'accumule au centre et constitue une cavité, le blastocôle. L'implantation dans l'endomètre s'effectue 6,5 jours après le coït (Lebas, 2002).

Figure 6 : Du coït à l'implantation du blastocyte :représentation temporelle
D'après les communications personnelles de Chesné P. (Thibault, 1967)

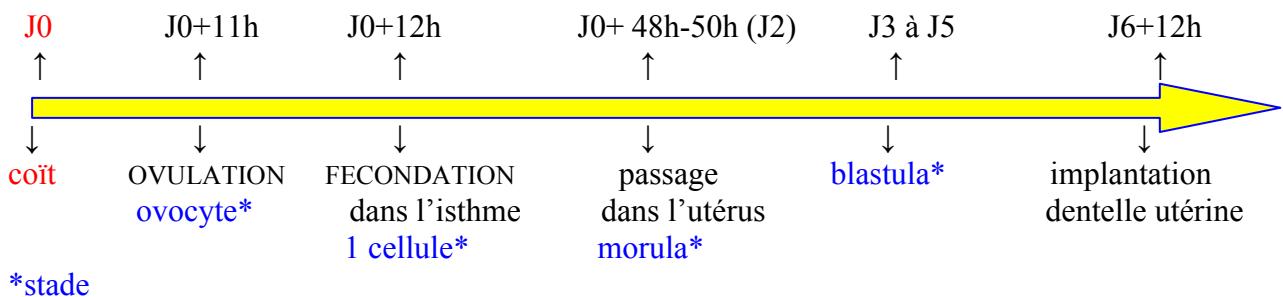
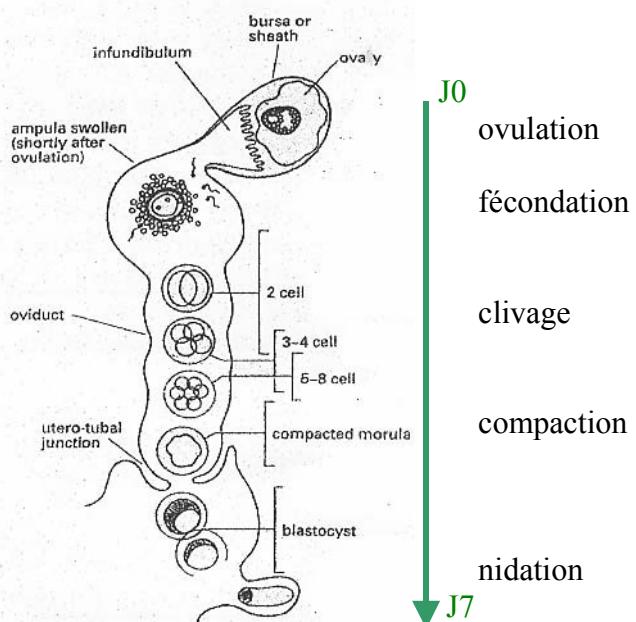
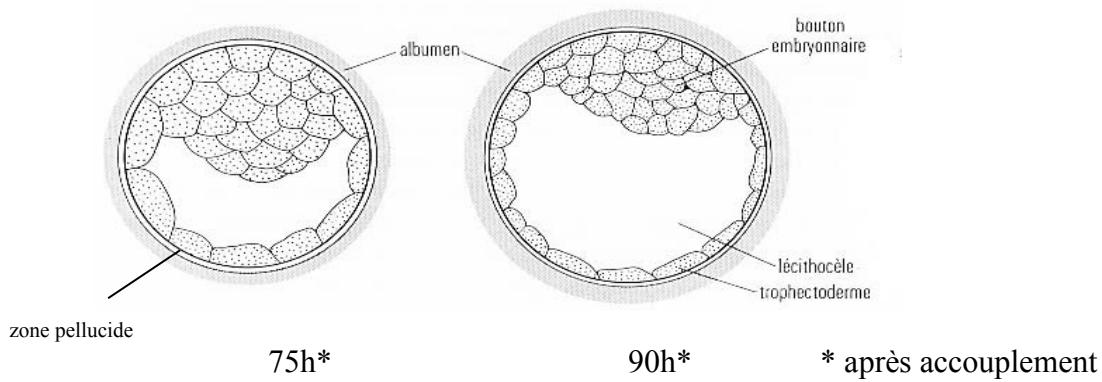


Figure 7 : Migration des embryons dans les cornes puis nidation dans l'endomètre chez la lapine (Lefrançois et Tiret, 2000)



Ces blastocytes sont formés d'une cavité, lécithocèle ou sac vitellin, et d'un disque embryonnaire situé à un pôle. L'ensemble est entouré d'une couche de cellules formant le trophoblaste ou trophectoderme et le tout est enveloppé par une zone pellucide acellulaire. L'ensemble est parfois recouvert d'une sorte de sécrétion albumineuse produite par le tractus femelle. La répartition de ces blastocytes est à peu près équidistante dans chaque corne (figure 8).

Figure 8 : Blastocyte de lapin (Houillon, 1967)



2) Développement fœtal

a. Morphologie

Le développement se poursuit par un ensemble de processus morphogénétiques mettant en place les feuillets fondamentaux. Le feuillet externe ou ectoblaste recouvre un feuillet profond ou endoblaste. Un feuillet moyen ou mésoblaste s'isole entre les deux feuillets précédents.

Des replis amniotiques apparaissent au dessus du disque embryonnaire et fusionnent ensemble pour former la cavité amniotique (figure 9).

L'embryon, que l'on peut schématiser au stade de la ligne primitive avancée, évolue à la base de cette cavité amniotique. La partie antérieure de cette ligne, épaisse et compacte, correspond au nœud de Hensen en avant duquel se différencie la plaque neurale.

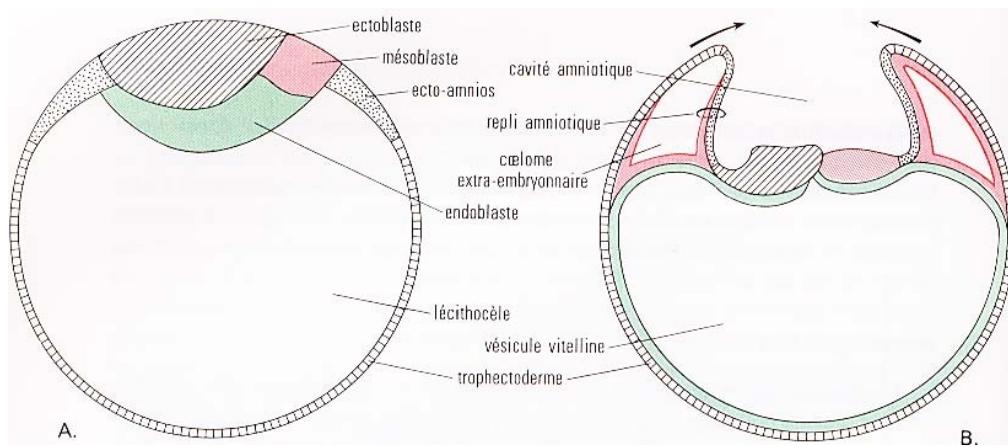
En arrière de cette ligne, apparaît l'allantoïde, qui prendra un développement de plus en plus important, au détriment du sac vitellin. L'accolement du chorion et de l'allantoïde est à l'origine du placenta fœtal.

Figure 9 : La gastrulation (Houillon, 1967)

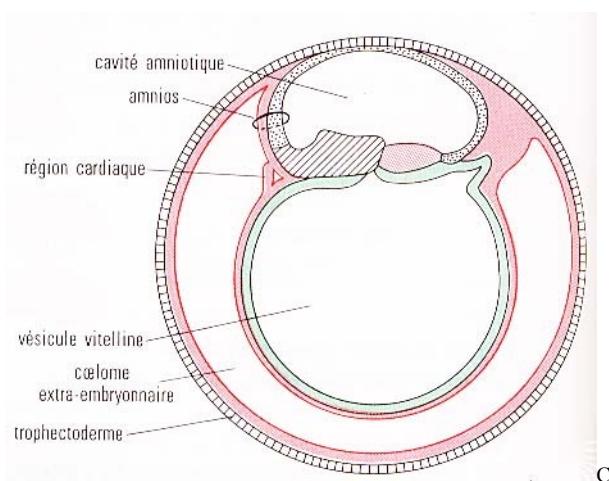
A. Délimitation des trois feuillets

B. Apparition des replis amniotiques et

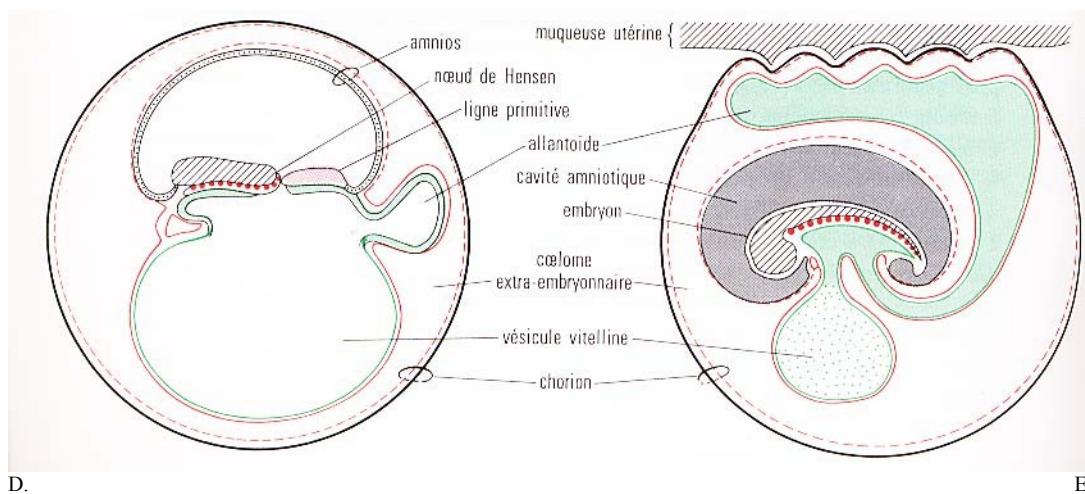
formation de vésicule vitelline



C. Vésicule vitelline à rôle trophique et respiratoire dans un premier temps

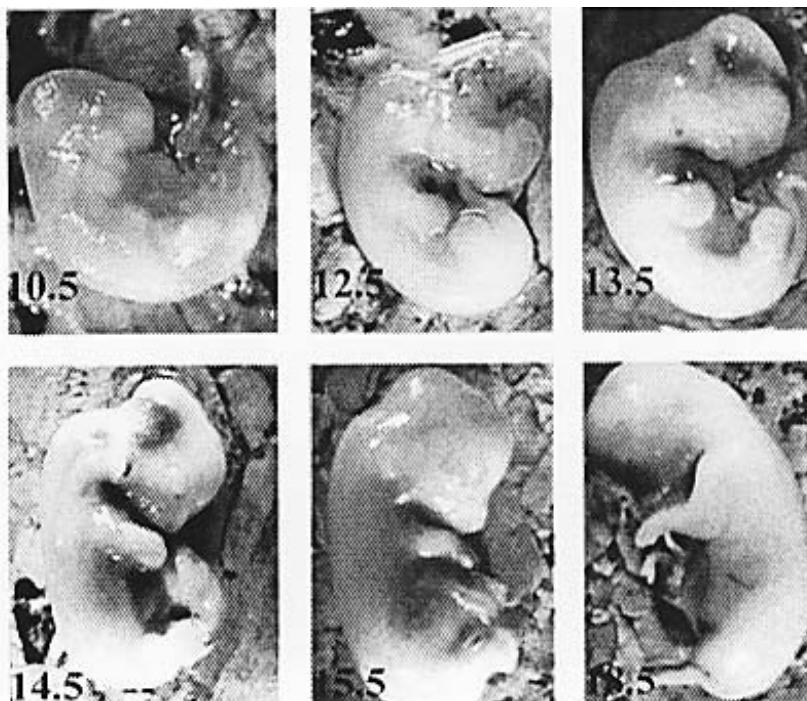


D. L'embryon évolue à la base de la cavité amniotique E. Développement de l'allantoïde et amniotique (ligne primitive et accollement avec le chorion, à l'origine du nœud de Hensen = plaque neurale) placenta fœtal (relais de la vésicule vitelline)



L'embryon commence à s'allonger dès le 8^{ème} jour de gestation ; puis au 11^{ème} jour, la tête devient dominante en taille et les membres s'allongent (figures 10 et 11, tableau 3).

Figue 10 : Evolution de la forme du corps des fœtus de lapin en fonction du temps de gestation*, après abattage de la mère (Beaudouin et al., 2003)



De J10,5 à J13,5 :
l'incurvation dorsale
augmente

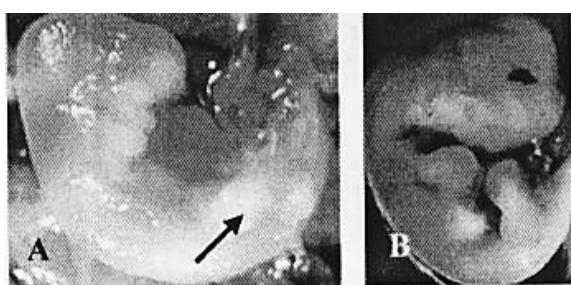
De J15,5 à J18,5 :
allongement du corps

A J18,5 : le cou est
visible

* J0 = 12 heures après le coït

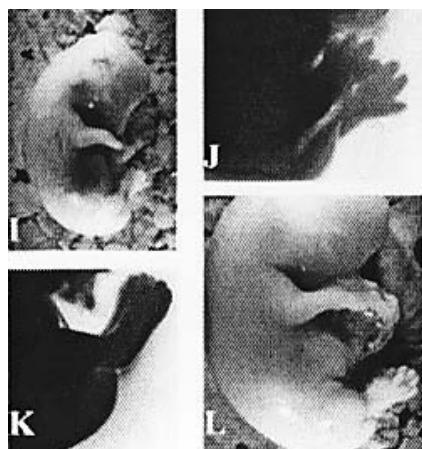
A partir du 19^{ème} jour (fin de l'organogenèse), les membres sont bien formés et le museau s'allonge : on passe alors de l'embryon au fœtus. Le fœtus commence à ressembler à un lapereau entre le 19 et 22^{ème} jour (figure 11).

Figure 11 : Les grandes étapes du développement des membres de fœtus de lapin après abattage de la mère (Beaudouin et al., 2003)



A : Bourgeon des
membres pelviens à J10,5

B : Bourgeon des
membres à J12,5



I : Membres à J16,5

J : Détails des doigts des
membres thoraciques

K : Membres pelviens à J17,5

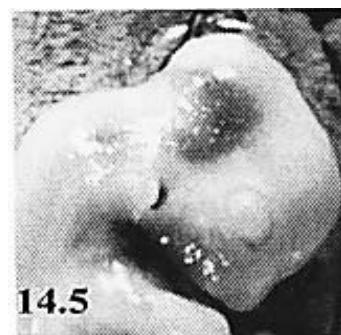
L : Embryon à J17,5

Figure 12 : Développement céphalique des fœtus de lapin après abattage de la mère (Beaudouin et al., 2003)



J13,5 : la face est modelée

J14,5 : les oreilles et les yeux se devinent



J17,5: le museau s'allonge et le cou est bien visible

J18,5 : les paupières recouvrent les yeux



Tableau 3: Développement du fœtus de lapin en fonction du stade de gestation*
(Beaudoin et al., 2003)

Stade de gestation (jours)	Observations			
	Croissance du fœtus	Forme du corps	Développement des membres	Développement céphalique
J8,5	-Epaississement du fœtus -Fermeture du sillon neural rostral			
J9,5	-Apparition masse cardiaque sous pôle céphalique	-Incurvation dorsale	-Bourgeons des membres rostraux	-Vésicules optiques visibles
J10,5		-Augmentation de l'incurvation dorsale : forme cubique	-Bourgeons membres caudaux	
J12,5			- Apparition mains	- Face commence à se modeler - Apparition oreilles
J13,5	-Foie et intestin visibles	-Redressement de l'embryon	- Apparition pieds	
J14,5			-Membres rostraux et caudaux semblent parallèles	
J15,5			- Apparition coude -Allongement des doigts	
J16,5	-Bourgeon cœcal visible en dehors de l'abdomen			
J17,5	- Apparition cou		-Apparition genou	
J18,5	-Intestin enfermé dans cavité abdominale			-Paupières couvrent les yeux
J19,5	-Organogenèse achevée	-Apparence fœtale complète	-Les trois segments des membres bien distinguables	

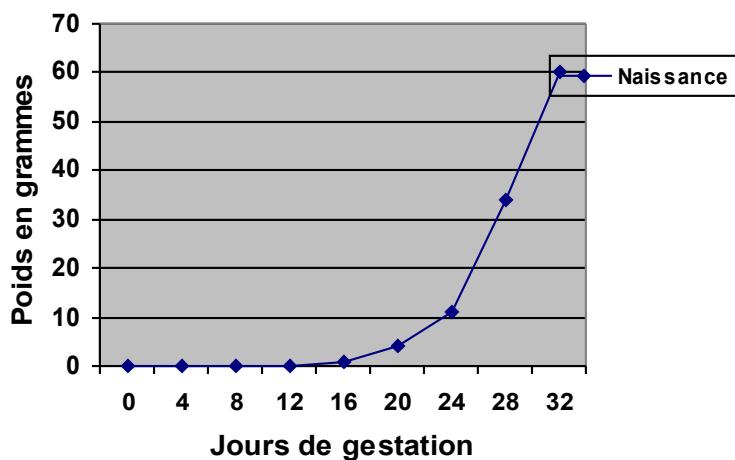
* J0 : 12 heures après le coït

β. Poids

Au cours de la gestation, le poids des lapereaux n'évolue guère jusqu'au 16^{ième} jour. Puis, le poids augmente très rapidement. Entre le 24^{ième} jour et le 31^{ième} jour, le lapereau multiplie son poids par 6, en passant d'environ 10 grammes à 60 grammes le jour de sa naissance.

La figure 13 illustre l'évolution du poids des lapereaux au cours de la gestation, mais, aucune information n'est apportée sur le nombre et la précision des mesures réalisées à chaque étape de la gestation.

Figure 13: Evolution du poids du jeune lapereau au cours de la gestation après abattage des lapines gestantes (Lebas, 2002)



γ. Endocrinologie

D'un point de vue endocrinien, le taux de progestérone ne cesse d'augmenter du 3^{ième} au 15^{ième} jour de gestation, passant de 5 ng/ml à 19 ng/ml, pour ensuite rester stationnaire jusqu'à la mise bas. Ce n'est que quelques heures avant la naissance des lapereaux que ce taux chute très rapidement.

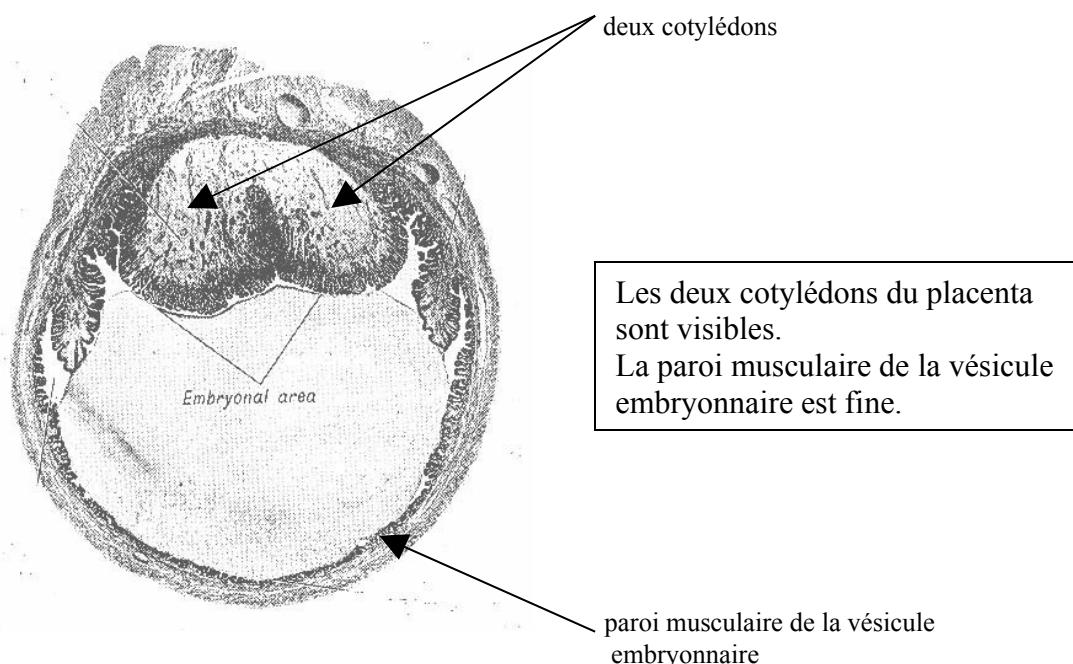
La majeure partie des mortalités embryonnaires se produit entre 0 et 15 jours de gestation. Cette mortalité dépend de plusieurs facteurs :

- la viabilité intrinsèque de l'embryon,
- sa position dans les cornes utérines : les lapereaux côté ovarien sont plus lourds et moins fragiles en raison d'une meilleure irrigation sanguine de cette partie du tractus génital (Lebas, 2002),
- de facteurs extérieurs ; la mortalité embryonnaire augmente lorsque la température dépasse 30-33°C (Lebas et al., 1996),
- l'état physiologique de la lapine comme l'état de stress ou la lactation. Chez une lapine à la fois allaitante et gestante post-partum, c'est-à-dire saillie dans les 24 heures suivant la mise bas, la mortalité embryonnaire tardive est accrue par rapport à celle observée chez une lapine uniquement gestante et élevée dans les mêmes conditions (Lebas et al., 1996).

3) Développement placentaire

Parallèlement à la croissance foetale, un placenta discoïde se développe à chaque point de contact entre un fœtus et la paroi utérine (Saber, 1993). Il est formé de deux cotylédons séparés par un sillon intercotylédonnaire (Parkes, 1950). Il s'agit d'un organe transitoire mettant en relation de contiguïté le sang maternel et le sang fœtal afin de faciliter les échanges nutritionnels et gazeux entre la mère et le fœtus. Ce placenta est de type hémochorial car une seule couche de cellules sépare le sang fœtal du sang maternel (figure 14).

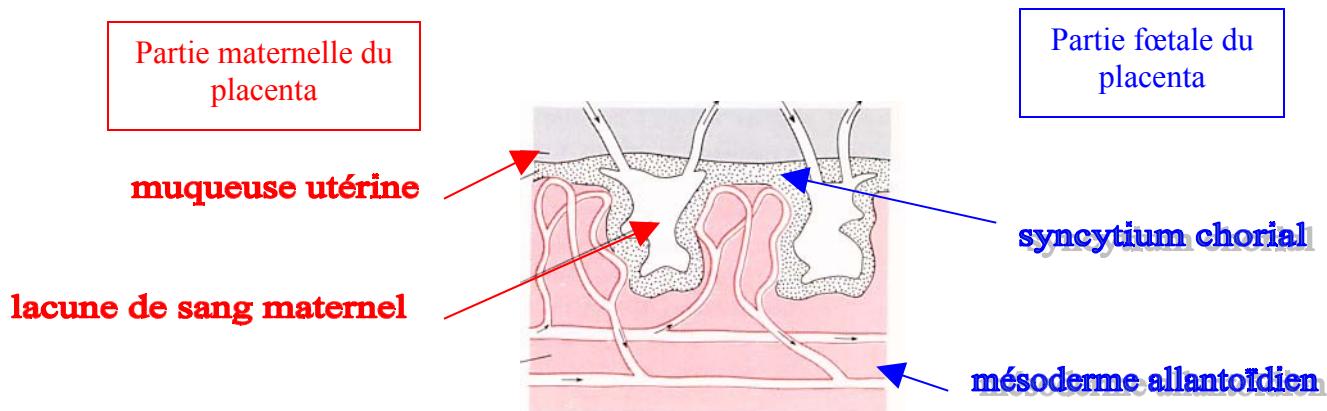
Figure 14 : Coupe transversale d'un sac embryonnaire de lapin au 8^{ème} jour de gestation (grossissement x 7,5) (Parkes, 1950)



Le placenta provient essentiellement pour sa partie fœtale du blastocyte. Mais, la muqueuse utérine contribue également à sa formation et constitue le placenta maternel. L'ensemble placenta fœtal issu du blastocyte et placenta maternel provenant de la muqueuse utérine, représente le placenta proprement dit.

Le syncytium chorial, issu de la partie la plus externe du trophoblaste, prend une grande extension et détruit non seulement l'épithélium utérin, mais également l'endothélium des capillaires utérins. Les vaisseaux sanguins maternels dilatés forment des lacunes dans lesquelles baignent les villosités choriales (figure 15).

Figure 15 : Placenta de la lapine (Houillon, 1967)



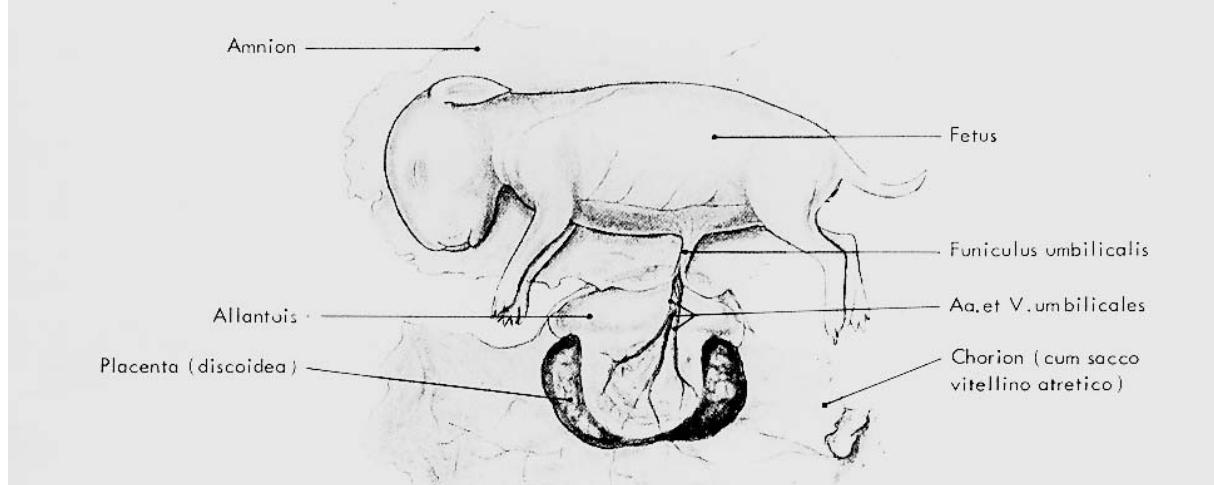
Hémochorial et discoïde

à l'arturition, une partie de la muqueuse utérine (la déciduale) est

éliminée avec la partie choriale du placenta entraînant une hémorragie : le placenta

est dit décidué (figure 16).

Figure 16 : Fœtus, membranes fœtales et placenta à 26 jours de gestation
(Barone, 1973)



La partie maternelle du placenta se développe en premier. Elle est opérationnelle à partir du 10^{ème} jour et atteint son poids maximum au 16^{ème} jour de gestation. La partie fœtale du placenta a une croissance importante qu'à partir du 12^{ème} jour. Avant cela, le fœtus doit donc se nourrir des sécrétions des tissus qui l'entourent.

Le placenta fœtal dépasse le poids du placenta maternel autour du 20^{ème} jour de gestation (figure 17). En fait, à partir du 24^{ème} jour de gestation, le placenta maternel disparaît progressivement (tableau 4).

Figure 17: Evolution au cours de la gestation du poids du placenta maternel et du placenta fœtal (Lebas et al., 1996)

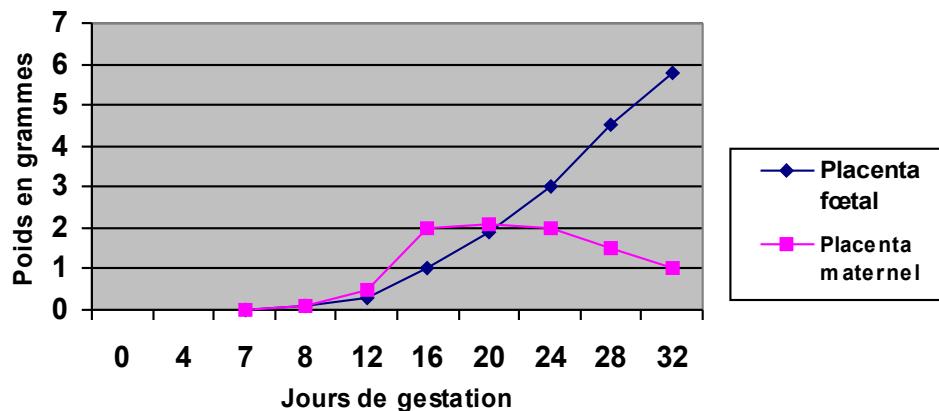


Tableau 4 : Tissu séparant le sang fœtal du sang maternel du placenta de lapin en fonction de l'âge (Parkes, 1950)

Age du fœtus (jours post-coït)	8	9	9,5	10	12	17	22-terme
Tissu maternel							
Endothélium	+	+	+	-	-	-	-
Tissu connectif	+	+	-	-	-	-	-
Epithélium	+	-	-	-	-	-	-
Tissu foetal							
Cellule trophoblastique	+	+	+	+	-	-	-
Syncytium trophoblastique	-	-	+	+	+	-	-
Mésenchyme	+	+	+	+	+	+	-
Endothélium	+	+	+	+	+	+	+

D. LA MISE BAS

Quelques heures avant la mise bas, la femelle prépare un nid à l'aide de litière de paille, de foin ou de copeaux, ainsi que de poils qu'elle s'arrache du ventre. Il semblerait que ce comportement permettrait également de dégager les mamelles pour faciliter leur accès aux jeunes (Périquet, 1998).

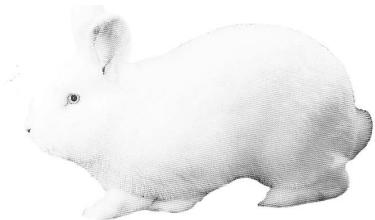
Après une gestation durant en moyenne 31 jours, les lapereaux naissent en un quart d'heure voire une demi heure suivant l'effectif. L'utérus involue alors très rapidement après la mise bas et perd plus de la moitié de son poids en moins de 48 heures (Lebas et al., 1996).

La taille moyenne des portées varie de 7 à 10 lapereaux, mais il n'est pas rare de voir des portées de 13 ou 14.

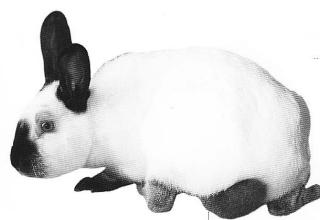
La race et la capacité utérine des lapines sont deux facteurs importants à prendre en compte pour les performances de proliférité (figure 18). Le Néo-Zélandais est, avec le Californien, une des races les plus prolifiques (Périquet, 1998).

Figure 18 : Deux races de lapins de petit format (Périquet, 1998)

Le Néo-Zélandais



Le Californien



Les lapereaux provenant d'une femelle primipare sont souvent plus petits que ceux provenant d'une mère multipare. Le stress chronique intervenant au cours de la gestation est aussi un facteur influençant la taille des petits à la naissance (Périquet, 1998)

Les petits naissent sans poils, sourds et aveugles (figure 19). Ils ouvrent les yeux vers le 9^{ème} ou 10^{ème} jour et commencent à quitter le nid vers le 13^{ème} jour.

**Figure 19 : Lapereaux d'un jour, nus et aveugles
(Périquet, 1998)**



E. TRANSFERT EMBRYONNAIRE

Le transfert embryonnaire permet d'accélérer la diffusion du progrès génétique et essaie de résoudre les problèmes d'infertilité (chez les bovins par exemple), mais il permet aussi de maîtriser le nombre et la nature des embryons transférés (chez le lapin par exemple).

Pour cela, il faut synchroniser le cycle de reproduction d'une lapine donneuse avec une lapine receveuse.

Le transfert d'embryons chez la lapine receveuse nécessite une intervention chirurgicale. D'après les travaux de Binkerd et Anderson (1979), le transfert dans l'oviducte est nettement plus favorable que le transfert dans l'utérus.

Les embryons peuvent être transférés indifféremment au stade 2 cellules (J1= 24h post-coïtum), 16 cellules (J2) ou morula (J3) sans que leurs taux de survie en soient modifiés.

Le meilleur taux de réussite est obtenu lorsque la receveuse est parfaitement synchronisée avec la donneuse (63% de naissance). Lorsque la receveuse ovule 24 heures après la donneuse, ce taux diminue (37% de naissance) (tableau 5).

Tableau 5 : Viabilité des embryons de lapin (morula) après transfert tubaire

synchrone ou asynchrone (Heyman, 1988)

Synchronie	Taux de survie (naissance)	
	0h	-24h*
Embryons frais	63%	37%
Embryons cultivés**	51%	15%
Embryons congelés	55%	33%
Embryons cultivés + congelés	14%	38%

* Receveuse en retard

** Embryons prélevés à 24h post-coït (stade 2 cellules) puis cultivés in vitro pendant 48h jusqu'au stade morula avant transfert tubaire.

II. LES ECHOGRAPHIES DE GESTATION

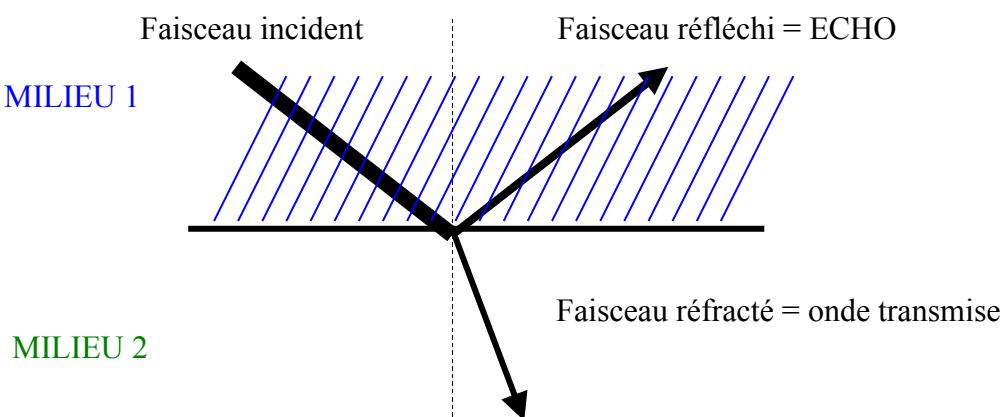
L'échographie a été introduite pour la première fois en reproduction animale pour le diagnostic de gestation de la jument (Palmer et Driancourt, 1980) et de la chatte (Mailhac et al., 1980). Cet examen a rapidement été adopté par les cliniciens comme technique de routine pour visualiser les structures anatomiques physiologiques ou pathologiques du tractus génital des mammifères domestiques (Kähn, 1992).

A. PRINCIPES GENERAUX

1) Principe technique

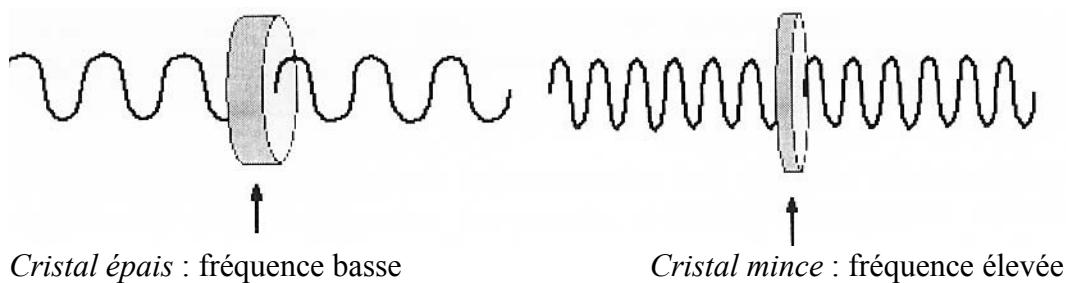
L'échographie utilise une sonde qui envoie un faisceau d'ondes ultrasonores. Ce faisceau incident de fréquence adaptée (le plus communément de 2 à 15 MHz) est plus ou moins réfléchi selon les structures organiques rencontrées avant d'être renvoyé vers la sonde (figure 20).

Figure 20 : Formation de l'écho (Maï et al., 1994)



Les sondes échographiques utilisées contiennent des cristaux piézoélectriques qui ont la capacité de se charger lorsqu'ils sont comprimés et inversement. L'excitation du cristal piézoélectrique est réalisée par une impulsion électrique. Il entre alors en résonance et émet des ultrasons dont la fréquence dépend de l'épaisseur du cristal (figure 21). La fréquence est d'autant plus élevée que le cristal est mince (Barthez, 2004).

Figure 21 : Représentation de la fréquence des ultrasons en fonction de l'épaisseur du cristal (Barthez, 2004)



Ce même cristal piézoélectrique, qui est utilisé pour émettre des ultrasons à partir d'une impulsion électrique, sert aussi à transformer en courant électrique les ultrasons qui reviennent vers la sonde après avoir été réfléchis sur l'organe (figure 22).

Le temps que mettent les ultrasons à la sonde est converti par des moyens informatiques en distance par rapport à la sonde. Les informations sont traitées par un logiciel complexe qui permet de déterminer la position et l'intensité de l'écho et de présenter l'image pour être interprétée par l'opérateur.

Figure 22 : Application d'un courant électrique alternatif sur un ou plusieurs cristaux piézoélectriques (Miles, 1989)



La sonde n'émet pas des ultrasons en continu, mais en salve. La durée de la salve, qui dépend de la fréquence des ultrasons donc du cristal, est très importante car elle détermine en grande partie la résolution de l'image échographique. Plus elle est courte, plus la résolution de l'image est élevée. Inversement, plus la fréquence augmente, plus la profondeur d'exploration diminue.

La fréquence des ultrasons a donc une influence déterminante sur les possibilités d'exploration (tableau 6).

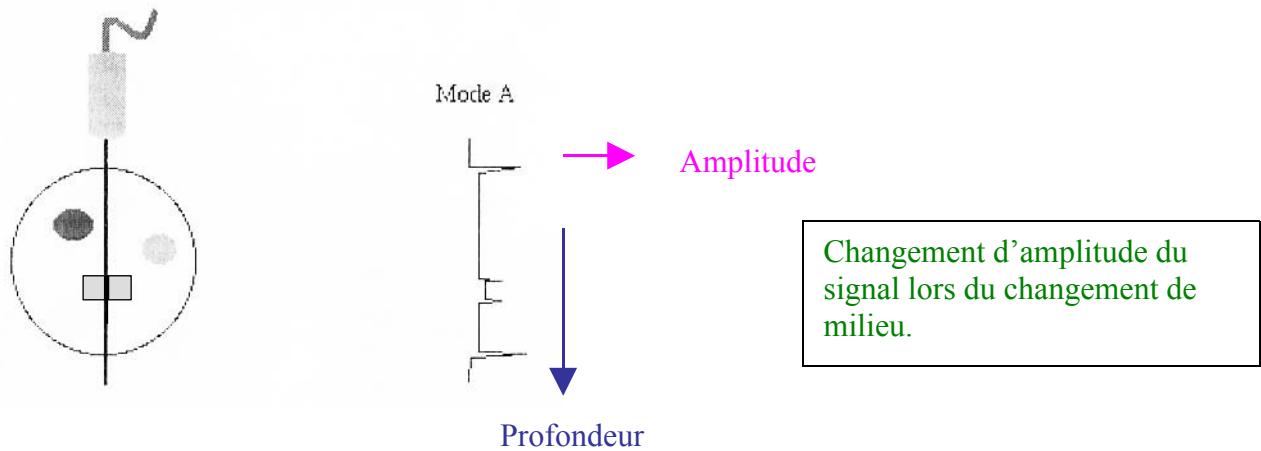
Tableau 6 : Profondeur d'exploration maximale en fonction de la fréquence des ultrasons (Barthez, 2004)

Fréquence des ultrasons	Profondeur d'exploration maximale
2,5-3,5 MHz	> 15 cm
5 MHz	10 cm
7,5 MHz	5-6 cm
10-12 MHz	2-3 cm

2) Représentation de l'image ultrasonore : les différents modes

* *Le mode A (amplitude)* est le mode de représentation le plus primitif (figure 23). Il émet un seul faisceau ultrasonore de direction constante et affiche l'amplitude du signal recueilli par la sonde en fonction de la profondeur. Il est essentiellement utilisé aujourd'hui en ophtalmologie.

Figure 23 : Mode échographique A (Barthez, 2004)

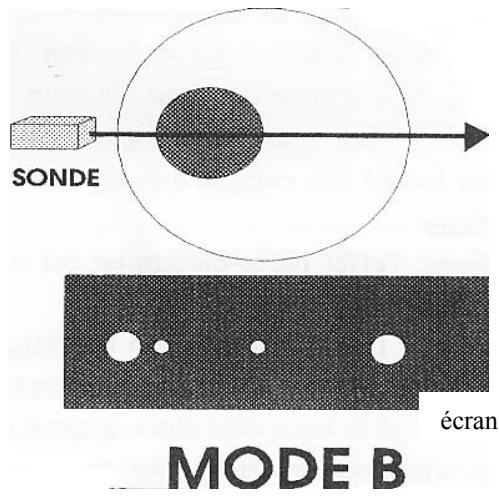


* *Le mode B (brillance)* est le mode le plus couramment utilisé (figure 24). Il permet une échographie en deux dimensions en visualisant l'intensité des échos retour, non plus par une amplitude, mais par une brillance de points sur l'écran. Plus le point est brillant, plus la réflexion des ultrasons a été importante et donc, plus l'écho est intense (Chevalier, 1988).

Ainsi, les liquides simples, sans particule en suspension, se laissent traverser par les ultrasons et apparaissent donc noirs sur l'écran. Les structures solides, l'os par exemple, captent et renvoient beaucoup d'échos. Ils n'en laissent passer que très peu. Ils forment ainsi une image blanche avec une ombre derrière.

Les tissus mous sont plus ou moins échogènes : le placenta est plus blanc que l'utérus, qui est plus blanc que les ovaires.

Figure 24 : Mode échographique B (Maï et al., 1994)

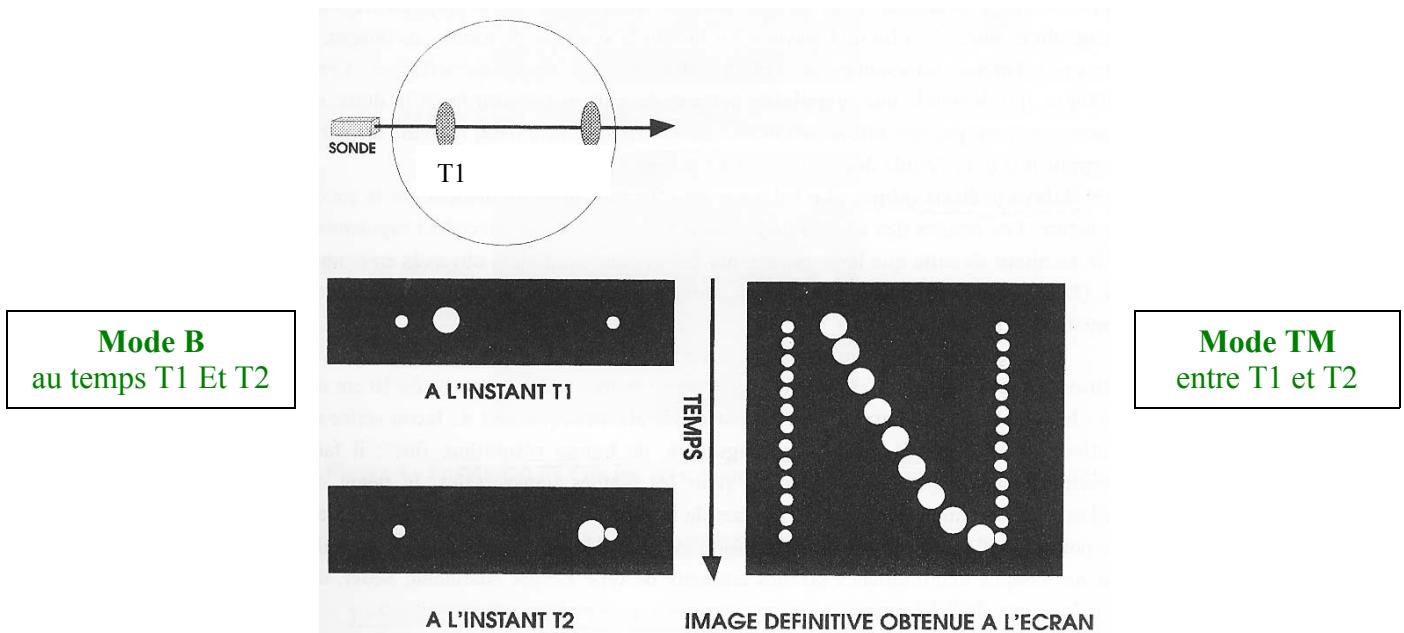


Plus la réflexion des ultrasons est importante, plus les points sont brillants.

MODE B

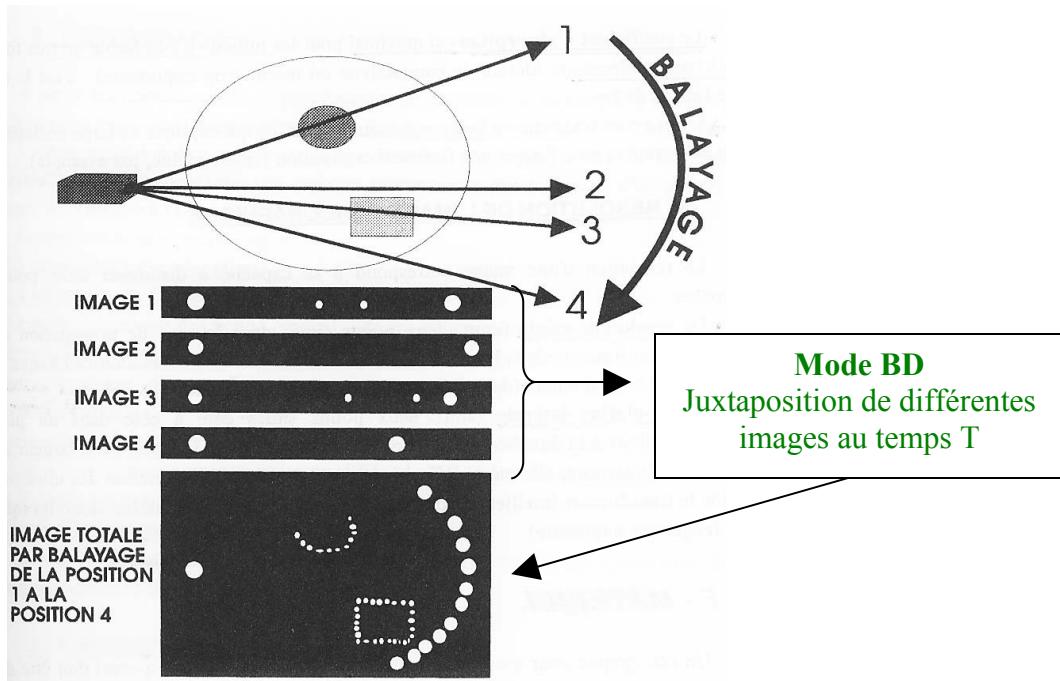
* *Le mode TM (temps-mouvement) visualise une seule dimension par des points plus ou moins brillants sur un écran mobile en fonction du temps (figure 25). Ce mode permet d'obtenir une résolution temporelle supérieure au mode B et de pouvoir observer des événements très rapides. Il est utilisé en échocardiographie pour observer les mouvements des parois et des valvules cardiaques.*

Figure 25: Image obtenue en mode TM : l'image définitive résulte du défilement d'une succession d'images en mode B en fonction du temps (Maï et al., 1994)



* *Le mode BD (bidimensionnel) permet la reconstruction en deux dimensions des structures anatomiques étudiées (figure 26). L'image est formée par la juxtaposition d'une multitude d'images du mode B, grâce à un balayage du plan de coupe désirée par les ondes ultrasonores.*

Figure 26 : Formation de l'image en échographie bidimensionnelle (Maï et al., 1994)



* *Le Doppler* (observé par le physicien autrichien Christian Johann Doppler en 1842) apporte un complément très efficace à l'imagerie en évaluant les flux sanguins. En attribuant une couleur au sens du flux, il permet de visualiser et/ou d'entendre le sang circulant dans les vaisseaux.

Il existe différents types de Doppler :

- ° le Doppler continu, constitué de deux cristaux (l'un qui émet, l'autre qui reçoit) qui traduit la vitesse du flux sanguin en un son,
- ° le Doppler pulsé, sonde à cristal unique, qui traduit la vitesse en un graphique,
- ° le Doppler couleur qui est associé à l'échographie pour donner une image du vaisseau coloré en bleu ou en rouge en fonction du sens de circulation sanguine.

Lorsqu'un faisceau ultra-sonore émis par une source traverse des tissus biologiques, il rencontre un certain nombre d'interfaces fixes ou cibles.

- La fréquence réfléchie (fr) par ces *cibles fixes* est identique à la fréquence émise (fe =fr).

- Si la *cible se rapproche* de la source, la différence de fréquence est positive ($\Delta f > 0$) ; si la *cible s'en éloigne*, la différence de fréquence est négative ($\Delta f < 0$).

Ainsi, le changement de fréquence des ultrasons réfléchis par des globules sanguins en mouvement permet d'évaluer leur vitesse grâce à une formule mathématique :

$$V = (\Delta f \times c) / (2fe \times \cos \theta)$$

V = vitesse du flux sanguin,

Δf = différence de fréquence,

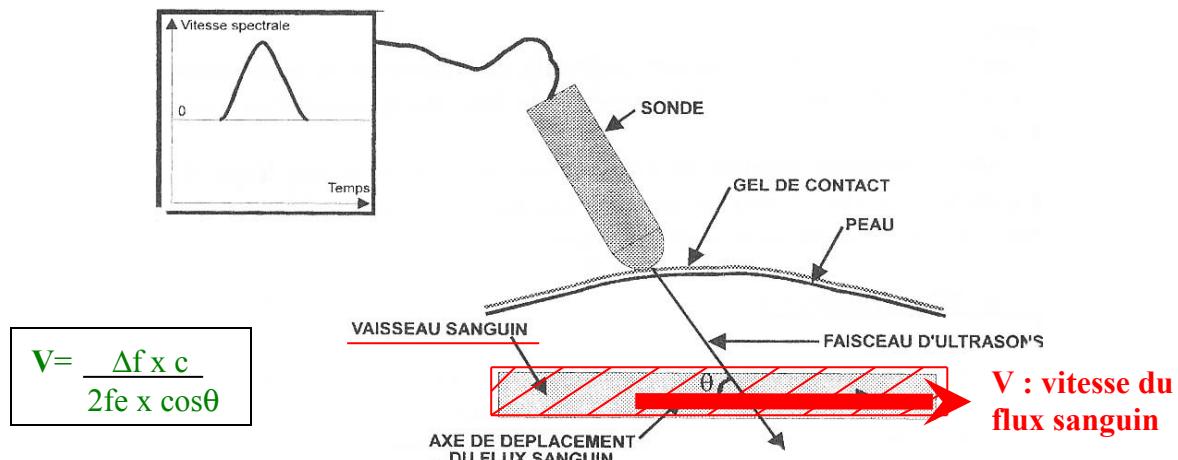
fe = fréquence émise,

c = constante,

θ = angle entre le faisceau ultrasonore émis et l'axe de déplacement du flux sanguin

Pour être le plus précis possible, il faudrait que l'angle θ se rapproche de 0, de sorte que le faisceau d'ultrasons soit aligné le plus parfaitement possible avec l'axe de déplacement du flux sanguin. La sonde ne doit jamais être perpendiculaire aux flux (car $\cos 90^\circ = 0$). En pratique, la sonde fait un angle de 60° avec le flux sanguin (figure 27).

Figure 27 : Effet Doppler (Maï et al., 1994)



Par convention, les flux dirigés vers la sonde sont représentés au dessus de la ligne de base, les flux s'en éloignant, en dessous. L'amplitude du tracé est proportionnelle au nombre de cellules réfléchissant les ultrasons.

3) Réglage de l'appareil et choix de la sonde

- En augmentant la **puissance d'émission**, on augmente la pénétration des ultrasons et ainsi la quantité d'échos émis. L'image sera donc plus blanche.
- Le réglage du **gain général** agit sur la récupération des échos de l'ensemble de l'image. En augmentant ce gain, l'image est aussi plus blanche.
- Le **gain étage** n'agit que sur la récupération des échos pour une tranche donnée de l'image déterminée à l'aide de curseurs. La correction du gain étage permet donc de faire apparaître avec le même aspect des tissus identiques situés à des profondeurs différentes.

- Plus la **fréquence d'émission** est élevée, plus on améliore la résolution de l'image mais au détriment de la profondeur d'exploration.

Au cours d'un examen, il faut donc trouver un compromis entre qualité de l'image et profondeur d'exploration. Si une structure est trop profonde pour être examinée correctement, il faut alors utiliser une sonde de fréquence plus basse : on perd en résolution mais on gagne en profondeur d'exploration (Begon, 2002).

Le **choix de la sonde** est donc très important pour obtenir une bonne image échographique.

Il existe différents types de sondes :

- la *sonde linéaire* ou *barrette* ; elle est constituée de nombreux cristaux alignés. La surface de contact est importante et l'image formée sur l'écran est rectangulaire.
- la *sonde sectorielle*, formée d'un seul cristal animé d'un mouvement oscillant ou de trois cristaux animés d'un mouvement rotatif. La surface de contact est faible et l'image formée est triangulaire (perte d'information sur les côtés). Elle a un intérêt pour les échographies de thorax où les fenêtres acoustiques sont limitées en taille (passage entre les côtes).

Il existe aussi plusieurs formes de sondes :

- la *sonde convexe*, améliore la surface de contact.

- les sondes spécifiques (transrectale, endovaginale...)

4) Avantages et limites

° L'échographie permet d'explorer toutes sortes d'organes qu'ils soient superficiels (muscle, articulations, fœtus des petits mammifères) ou profonds (rein, vessie, fœtus des ruminants, équidés...). Elle permet un diagnostic rapide qui nécessitait auparavant des méthodes d'investigation plus lourdes et moins précises (Chevalier, 1988).

De plus, elle offre de multiples avantages : simplicité et rapidité d'exécution, innocuité totale du fait de son caractère non invasif (pas d'injection, pas de rayonnement ionisant), peu coûteux, et la possibilité de reproduire l'examen aussi souvent que c'est nécessaire sans aucun risque.

° Il existe néanmoins quelques inconvénients, ou plutôt limites, à cet examen.

- La réfraction quasi-totale des ultrasons par l'os ou l'air empêche la visualisation des tissus mous cachés derrière. C'est pourquoi il est nécessaire de bien tondre les animaux et d'appliquer un gel sur l'épiderme au moment de l'échographie pour éviter les bulles d'air.

- Le faible pouvoir de pénétration des ondes ultrasonores empêche l'emploi de l'échographie pour les organes trop volumineux ou trop profonds. Il faut donc utiliser des sondes de fréquence adaptée à chaque cas.

- La contention des animaux n'est pas toujours facile et l'on peut parfois être amené à interrompre l'examen quand celui-ci devient dangereux tant pour le clinicien que pour l'animal et pour le matériel (risque de déchirure du rectum lors d'échographie transrectale par exemple).

- Même si l'examen n'est pas onéreux, les appareils échographiques utilisés en médecine vétérinaire sont souvent très coûteux (à partir de 15000 euros environ).

- Les élevages n'offrent pas toujours de local adéquat permettant de réaliser l'examen dans de bonnes conditions (pénombre pour faciliter la visualisation de l'image noire et blanche sur l'écran, proximité d'une prise de courant, cornadis ou travail pour les gros animaux...).

- Un opérateur spécialisé doit avoir les compétences adéquates pour assurer la manipulation, réaliser les échographies et lire les images (Chevalier, 1988).

B. ECHOGRAPHIES AU COURS DE LA GESTATION DANS DIFFERENTES ESPECES

L'échographie a un intérêt majeur en reproduction pour l'examen des ovaires (follicules, corps jaunes, kystes) et pour l'examen de l'utérus pendant et hors de la gestation (métrite, diagnostic de gestation, diagnostic de résorption embryonnaire...).

1) Techniques échographiques

Suivant la taille des animaux et la profondeur de l'appareil reproducteur, l'échographie de gestation peut être réalisée par voie externe ou par voie intrarectale.

♦ Echographie par voie externe

Chez les carnivores domestiques, les petits ruminants et la truie, l'échographie est réalisée par voie externe (transabdominale).

- Contention

Selon les difficultés de contention des animaux, la femelle peut être examinée couchée sur le dos pour le chien ou le chat, indifféremment debout ou couchée pour les petits ruminants, ou debout comme c'est le cas pour la truie.

- Préparation des animaux
Suivant l'abondance de poils à l'endroit où la sonde est appliquée, l'animal est tondu (carnivores) ou pas (truite).

- Choix et positionnement de la sonde
Par voie externe, l'importante épaisseur des tissus à traverser (paroi abdominale, graisse, vessie, tissu mammaire...) oblige à utiliser des sondes de fréquence variable, par exemple entre 2,25 MHz à 3,5 MHz chez la truite et 7,5 MHz chez la chatte. La sonde, enduite de gel sur la face apposée aux cristaux, peut être positionnée entre les membres postérieurs à droite ou à gauche du chapelet mammaire ou entre les deux chaînes mammaires.

♦ Echographie par voie intrarectale

Pour les grands animaux tels que la jument ou la vache, l'échographie de gestation est réalisée par voie intrarectale car la profondeur des organes reproducteurs ne permet pas de les visualiser de l'extérieur.

- Contention des animaux
Les échographies sont réalisées sur animaux debout. Les juments sont installées dans un travail et les bovins aux cornadis ou dans une cage de contention.

- Préparation des animaux
La vidange du rectum est réalisée pour pouvoir pénétrer à l'intérieur et appliquer la sonde directement au contact de la paroi du rectum.

- Choix de la sonde
Une sonde « recto-dynamique » et étanche, enveloppée dans une gaine sanitaire plastique recouverte de gel, est introduite dans le rectum. La proximité avec les structures à visualiser permet d'utiliser une sonde de fréquence plus élevée : 3 MHz à 7,5 MHz.

Des échographies par voie rectale ont été tentées chez la brebis et la chèvre à l'aide de sonde transrectale humaine. Malgré des résultats encourageants, les risques liés à la perforation du rectum ou les difficultés de vidange rectale empêchent le développement de cette méthode.

2) Intérêts de l'échographie de gestation

- o L'échographie est une technique fiable pour établir un diagnostic de gestation précoce (tableau 7).
- Elle trouve son intérêt pour interrompre le plus tôt possible une gestation non désirée, comme cela arrive souvent chez les chiennes.
- La détection des femelles vides permet de les remettre le plus tôt possible à la reproduction. L'intérêt est primordial pour les espèces où le diagnostic peut être réalisé avant le cycle de retour comme c'est le cas pour la jument.
- Pour les ruminants dont le diagnostic ne peut pas être réalisé avant les chaleurs de retour, l'échographie permet de réformer les femelles vides ou d'effectuer des mises en lots (Mercier Parisot, 1991).

Tableau 7 : Précocité et fiabilité des diagnostics de gestation pour différentes espèces (Chevalier, 1988)

Espèces	Chien	Chat	Chèvre	Truie	Jument	Vache
Diagnostic précoce réalisable par échographie (jours de gestation)	>J14-J20	>J18-J21	>J28	>J18-J21	>J12	>J28
Fiabilité	>92%	----	96%	92%	94%	95%

- L'estimation précise de l'âge du fœtus permet de prévoir la date de parturition et de mettre en place un système de surveillance.

England et al. (1990) montrent que l'on peut déterminer, chez la chienne, le nombre de jours avant la parturition à l'aide d'une table de régression prenant en compte les mesures du diamètre bipariétal et le diamètre du corps (annexe n°3).

Certaines mesures ou valeurs peuvent renseigner aussi sur le fœtus (sa viabilité, son développement, ses malformations...)

- De plus, il est parfois important de pouvoir détecter le nombre de fœtus.

Chez la jument, les gestations gémellaires sont indésirables puisqu'elles aboutissent à 58% d'avortements et 11% de perte des nouveaux-nés à la naissance.

Chez les brebis, la connaissance du nombre de fœtus permet de réaliser un allottement des femelles selon le nombre d'agneaux à naître pour pouvoir adapter l'alimentation.

3) Observations et mesures réalisées chez les carnivores domestiques

La littérature étant limitée chez les rongeurs et en particulier chez le lapin, nous avons choisi de décrire les paramètres observés par échographie chez les espèces de taille similaire ou pouvant s'en rapprocher (chiens de petit format, chats...).

Comme pour la plupart des espèces, l'échographie de l'appareil génital est utilisée essentiellement pour établir un diagnostic précoce de gestation.

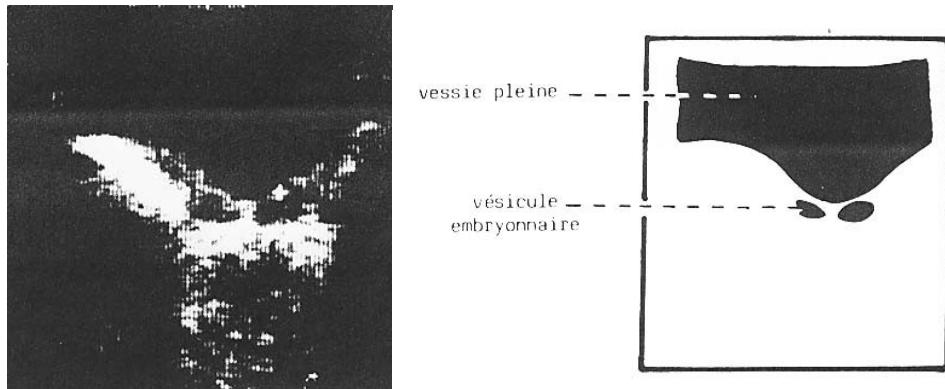
Chez le chien, les vésicules embryonnaires peuvent être identifiées dès le 17^{ème} jour suivant l'ovulation, sous forme de plages anéchogènes bien circonscrites. L'endomètre maternel qui les entoure forme une enveloppe de 2 à 3 mm dont l'échogénicité est homogène et modérée. Une image de renforcement postérieur est visible. L'identification de ces ampoules, incertaine à 17 jours, devient évidente au 20^{ème} jour (Choquart et al., 1995).

En clientèle, c'est souvent dans le courant de la 3^{ème} semaine de gestation que les diagnostics sont effectués pour confirmer ou infirmer avec certitude la gestation.

Tainturier (1988) évoque la technique de la vessie pleine, qui permet d'établir un diagnostic dès le 14^{ème} jour : des chiennes reçoivent 20 minutes avant l'échographie un diurétique, du furosémide

(Dimazon N.D), à raison de 4mg/kg par voie intramusculaire. Les vésicules embryonnaires, qui ne mesurent que 6 mm de diamètre, sont visibles grâce à la vessie utilisée comme fenêtre acoustique (figure 28).

Figure 28 : Echographie au 14^{ème} jour de gestation chez une chienne Beagle(Tainturier,1988)



Les mesures réalisées sont souvent limitées à la taille de la vésicule ou du fœtus. Chez le chien, le moment où les battements cardiaques sont visibles pour la première fois est variable suivant les auteurs. Selon Choquart et al. (1995), les battements sont observés autour de 22 à 24 jours de gestation, bien avant que l'on puisse délimiter la cavité cardiaque. Selon England (1990), il faut attendre 35 jours avant la parturition, soit environ 23 à 28 jours de gestation pour détecter la viabilité du fœtus (tableau 8).

Tableau 8 : Observations et mesures de fœtus de chien en fonction du jour de gestation (Tainturier, 1988 et Choquart et al., 1995)

Jour de gestation	Observations	Mesures	Auteurs
J14	1 ^{ière} observation des vésicules embryonnaires : technique de la vessie pleine	6mm	Tainturier (1988)
J17	1 ^{ière} observation des vésicules embryonnaires	9mm	Choquart et al. (1995)
J22	1 ^{ière} échographie de l'embryon	3mm	Choquart et al. (1995)
J22-24	Cœur fonctionnel		Choquart et al. (1995)
J24	Le fœtus s'allonge	Ampoule : 21x25mm	Choquart et al. (1995)
J28	Le cou se dessine : individualisation tête-corps		Tainturier (1988)
J29	1 ^{ier} centre d'ossification actif sur os face et crâne		Choquart et al. (1995)
J30	Membres antérieurs formés	Fœtus :30m m long	Tainturier (1988)
J31	Individualisation tête-corps		Choquart et al. (1995)
J35	Membres postérieurs formés		Choquart et al. (1995)
J35-37	Orbites visibles		Choquart et al. (1995)
J36		Fœtus :64m m long	Tainturier (1988)
J40	Ossification progressive : vertèbres et côtes s'individualisent La taille des fœtus dépasse souvent l'écran		Tainturier (1988)

England et al. (1990) effectuent différentes mesures. En début de gestation, le diamètre de la vésicule embryonnaire, la longueur occipito-sacrale du fœtus, ainsi que l'épaisseur combinée de la paroi utérine et des membranes fœtales sont étudiés. En fin de gestation, ils mesurent le diamètre bipariétal de la tête, le diamètre du corps du fœtus en coupe transversale et le diamètre de l'estomac. Le diamètre bipariétal et le diamètre du corps du fœtus permettent à l'aide d'une table de régression de prévoir le jour de la mise-bas de la chienne (annexe n°3).

C. ECHOGRAPHIE DE GESTATION CHEZ LA LAPINE

1) Intérêt

► Le lapin représente un modèle expérimental dans l'étude de la reproduction humaine. L'évolution des sciences amène de plus en plus fréquemment à travailler *in vivo* avec les animaux de laboratoire, c'est pourquoi la technique échographique semble intéresser les chercheurs. Elle permet de comprendre les grandes étapes du développement embryonnaire, de comparer les

malformations congénitales des fœtus animaux à celles observées dans l'espèce humaine ou encore d'analyser à quel stade de gestation agissent certains produits embryotoxiques. Grâce à l'échographie, le développement des fœtus est observé tout au long de la gestation, de sorte que les anomalies morphologiques échographiquement visibles puissent être mesurées ou comparées.

► Dans certains foyers où le lapin est considéré comme un animal de compagnie, les propriétaires semblent apprécier l'utilisation de ce moyen performant pour confirmer ou infirmer une présomption de gravidité.

2) Moyens de diagnostic d'une gestation chez la lapine autres que l'échographie

❖ *Palpation abdominale*

La gestation chez la lapine est principalement diagnostiquée par palpation abdominale. Cette méthode, qui peut être réalisée dès 12 jours post-coït par une personne expérimentée, n'est pas toujours très fiable. Il est parfois difficile de différencier les fœtus des féces contenus dans le tube digestif car à ce stade les vésicules embryonnaires ont pratiquement la même taille que les boules de féces (Ypsilantis et Saratsis, 1999). De plus, lors de la palpation, il est nécessaire d'être délicat afin d'éviter des dommages, surtout sur le placenta en développement.

❖ *La radiographie*

La radiographie n'est pas une technique satisfaisante en reproduction car elle n'est utilisable que tardivement durant la gestation, vers le 17^{ème} jour. Le squelette du fœtus doit être obligatoirement minéralisé pour être visible radiographiquement (Rinck et al., 1993).

❖ *Le test ELISA*

Le test ELISA (Ovuchek ELISA kit/ Cambridge Life Sciences), réalisé 17 ou 18 jours post-coït, a aussi été utilisé pour mesurer la concentration en progestérone dans le sérum de lapine dans le but de différencier une femelle gestante d'une femelle pseudogestante (Ypsilantis et Saratsis, 1999). Aucune information complémentaire n'est apportée sur les résultats de cette méthode.

3) L'échographie comme moyen précoce et fiable de diagnostic de gestation chez la lapine

Selon les études menées, plusieurs races de lapines sont utilisées : des lapins blancs de Nouvelle Zélande (Ypsilantis et Saratsis, 1999), des lapins de race Chinchilla (Rinck et al., 1993), des lièvres (Griffin et al., 2003) ou des lapins dont la race n'est pas mentionnée (Tainturier, 1988 et Cubberley et al., 1982). Les femelles sont soit mises à la saillie naturelle (Griffin et al., 2003), soit inséminées en semence fraîche (Ypsilantis et Saratsis, 1999).

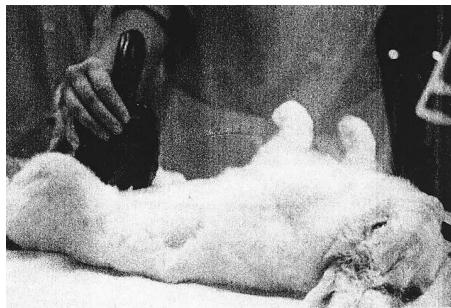
■ **Contention**

L'échographie est réalisée par la face ventrale de l'abdomen. Il faut donc immobiliser la lapine en position ventro-dorsale. Pour ce faire, deux méthodes sont décrites : celles avec anesthésie de l'animal et celles sans anesthésie.

➤ - La méthode utilisée par Griffin et al. (2003) consiste à placer la femelle dans une boîte d'anesthésie avec un flux d'isoflurane à 3-4%. Lorsque la lapine est anesthésiée, le flux gazeux est alors diminué et maintenu à 1-2%. L'isoflurane a l'avantage d'avoir un effet rapidement réversible de sorte que l'animal reprend conscience dans les 5 minutes qui suivent l'arrêt de l'administration.

- Cubberley et al. (1982) préconisent aussi l'anesthésie du lapin en utilisant une administration intramusculaire de 40 mg/kg de poids vif de kétamine. L'animal est alors endormi durant 20 à 30 minutes sans subir de dépression respiratoire (figure 29).

Figure 29 : Echographie réalisée sur lapin anesthésié, aucune aide n'est nécessaire (Cubberley et al., 1982)



- Il est aussi décrit que l'animal peut être positionné sur le dos sans être anesthésié mais en étant maintenu par deux aides, l'un tenant les membres antérieurs tirés vers l'avant, l'autre tenant les postérieurs vers l'arrière (Rinck et al., 1993 et Tainturier, 1988).

■ Préparation et matériel

La lapine immobilisée est ensuite tondue du pubis à l'ombilic sur une largeur de 8 à 10 cm. Un gel aqueux est utilisé pour servir de contact entre la sonde et la paroi abdominale. La tonte et le gel évitent la présence de bulles d'air qui empêcherait la formation de l'image échographique. Les sondes utilisées sont des sondes linéaires ou sectorielles qui varient de 5 à 9 MHz de fréquence selon les auteurs (tableau 9). La sonde est orientée dans le plan sagittal de la partie la plus caudale vers la partie la plus crâniale, ce qui permet d'obtenir une coupe longitudinale du vagin, puis des cornes.

Tableau 9 : Mode de contention et type de sonde utilisée pour les échographies de lapins selon les auteurs.

Mode de contention	Type de sonde	Fréquence de sonde	Durée de l'examen	Références
Anesthésie gazeuse et/ou fixe	Sonde convexe	6,5 MHz	30 à 50 min	Griffin et al. (2003)
Contention manuelle	Sonde sectorielle	5 MHz	5 à 10 min	Ypsilantis et Saratsis (1999)
Contention manuelle	Sonde sectorielle	5 MHz	Non précisée	Rinck et al. (1993)
Contention manuelle	Sonde multicristaux de 6,5 cm de long Résolution axiale : 3 mm	3,5 à 9 MHz	Non précisée	Tainturier (1988)
Anesthésie fixe	Sonde linéaire	5 MHz	20 à 30 min	Cubberley et al. (1982)

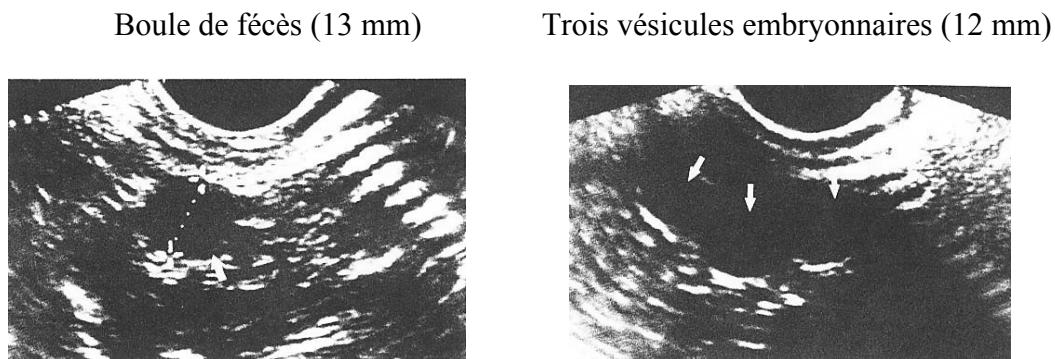
■ Observations et mesures échographiques

La plupart des études d'échographie de lapine gestante ont été menées dans le but de confirmer ou d'infirmer la gestation. Parfois, l'intérêt se porte aussi sur le nombre de fœtus. Mais, le développement fœtal, les anomalies visibles ou les mesures des différentes parties des fœtus sont peu explorés.

Lorsque la lapine n'est pas gestante, il est parfois difficile de différencier l'intestin grêle de l'utérus non gravide qui ne mesure que 5 mm de diamètre, même si les structures échographiques sont théoriquement différentes.

De même, au 9^{ème} et 10^{ème} jour post coït, les vésicules embryonnaires sont facilement confondues avec les boules de féces (figure 30). Seul, l'emplacement de la sonde, sa position par rapport aux ovaires et à l'utérus et l'aspect des parois (endomètre utérin et paroi du colon) permettent d'essayer de les différencier.

Figure 30 : Echographies à 9 jours post-coït d'une boule de féces et de trois vésicules embryonnaires (Ypsilantis et Saratsis, 1999)



Le tableau 10 donne les paramètres observés et mesurés dans la littérature chez la lapine.

Tableau 10 : Observations et mesures effectuées au cours de la gestation chez la lapine selon les auteurs

Jours de gestation*	Observations	Mesures	Référence
---------------------	--------------	---------	-----------

J7	Aucune image de l'utérus gravide décrites avec certitude. Seulement zone hyperéchogène	D : 4,5 à 5,9 mm	Ypsilantis et Saratsis (1999)
	---	D : 6 à 7 mm	Tainturier et al. (1986)
J8	Structures rondes anéchogènes Détermination du nombre de fœtus possible	D : 8 mm	Ypsilantis et Saratsis (1999)
	Jour de la nidation	D : 8 à 10 mm	Tainturier et al. (1986)
J9	---	D : 12 mm	Ypsilantis et Saratsis (1999)
	Images échographiques plus nettes : plus de doute pour le diagnostic de gestation	D : 14 à 16 mm	Tainturier et al. (1986)
	---	D : 8 mm	Griffin et al. (2003)
J10	Pôle embryonnaire visible	D : 17 mm	Ypsilantis et Saratsis (1999)
	Vésicules embryonnaires et fœtus visibles	D : 13 à 16 mm	Tainturier et al. (1986)
	---	D : 9 mm	Rinck et al. (1993)
J11	---	D : 11 mm	Rinck et al. (1993)
J12	---	D : 13 mm	Rinck et al. (1993)
J13	Vésicules embryonnaires visibles	D : 11 mm	Rinck et al. (1993)
J17	La colonne vertébrale et certaines parties des membres sont identifiaables	---	Rinck et al. (1993)
J19	Les différentes parties du corps sont distinguables	F : 27 mm	Tainturier et al. (1986)
J24	---	F : 42 mm	Tainturier et al. (1986)
J27	Diamètre bipariétal et colonne vertébrale identifiables	---	Cubberley et al. (1982)
J28	Squelette du fœtus nettement visible	CQ : 6 cm	Rinck et al. (1993)
J29	Battements du cœur nettement visibles	C : 13 mm	Tainturier et al. (1986)

* J0 : jour du coït

D : diamètre des vésicules embryonnaires

F : longueur du fœtus

CQ : longueur cou-queue

C : longueur cœur

Actuellement, peu de données sont disponibles sur l'échographie de gestation de la lapine. Ces données seraient pourtant nécessaires pour comparer le développement de fœtus normaux aux fœtus issus du clonage.

L'étude expérimentale va donc permettre d'établir un atlas de mesures de référence.

**DEUXIEME PARTIE :
ETUDE EXPERIMENTALE**

Dans le cadre des études sur le clonage effectuées au sein de l'UMR Biologie du Développement et Reproduction, des lapins clonés issus de cellules du cumulus ont été produits récemment (Chesné et al., 2002) avec des portées de taille réduite (inférieures à 6 lapereaux). Cependant, le clonage à partir de cellules de peau n'a pas encore permis d'obtenir des lapereaux vivants. Les lapines ne parviennent pas à mener les gestations à terme. Des études post-mortem sur les lapines après résorption fœtale ont montré que le nombre de sites d'implantation après transfert d'embryons issus de clonage de cellules cutan es étaient très limités (<6 sites).

L'échographie fœtale durant la gestation constitue le moyen idéal pour suivre le développement fœtal des fœtus clonés et déterminer à quel moment de la gestation les pertes fœtales ont lieu. Cependant, la pauvreté de la base de données échographiques utilisables pour évaluer la croissance fœtale *in utero* chez le lapin est un obstacle à l'étude de ces perturbations.

Le but de cette étude était donc de :

De déterminer quelles mesures pouvaient être effectu es sur le fœtus et le placenta par échographie transabdominale chez la lapine et à quels stades de la gestation

D'établir des abaques de croissance fœtale et placentaire chez la lapine selon le nombre d'embryons présents dans l'utérus à des fins de comparaison avec les fœtus issus de biotechnologies de la reproduction

I. ANIMAUX, MATERIEL ET METHODES

A. ANIMAUX

1) Race et logement

Trente lapines, primipares, de race Néo-Zélandaise (figure 32), âg es de 8   16 mois, ont  t t s utilis es durant une période allant de février à juin 2004.

Figure 32 : Lapine de race Néo-Zélandaise



Toutes les lapines sont install es dans une même lapinerie et log es dans des cages grillag es en disposition californienne : deux rang es de cages, agenc es sur deux hauteurs différentes, l'une d cal e par rapport à l'autre, afin que les déjections tombent sur un tapis situé au dessous d'elles (figures 33 et 34).

Elles sont nourries avec la même quantité et la même qualité d'aliment (granulés). L'eau est distribuée à volonté.

La lapinerie est éclairée 16 heures sur 24, 7 jours sur 7. La température varie suivant le temps extérieur, même si une chaudière fonctionne en hiver et un système de ventilation est actionné en été : elle est comprise entre 13°C (en février) et 28°C (en juin).

**Figure 31 : Lapinerie,
disposition californienne des cages**



Figure 32 : Cages grillagées



2) Mise à la reproduction

Après plusieurs expériences préliminaires réalisées de novembre 2003 à janvier 2004, nous avons pu établir le protocole suivant.

Des groupes de lapines sont formés en fonction du nombre d'embryons transférés :

- ° **groupe 1 (G1)** : un embryon transféré dans chaque corne, soit deux embryons implantés par lapine.
- ° **groupe 2 (G2)** : deux embryons transférés dans chaque corne, soit quatre embryons implantés par lapine.
- ° **groupe 3 (G3)** : trois embryons transférés dans chaque corne, soit six embryons implantés par lapine.

Chaque mois, six lapines receveuses sont opérées : trois lapines le premier jour (1^{ère} série) et trois autres le lendemain (2^{ème} série) (tableau 11).

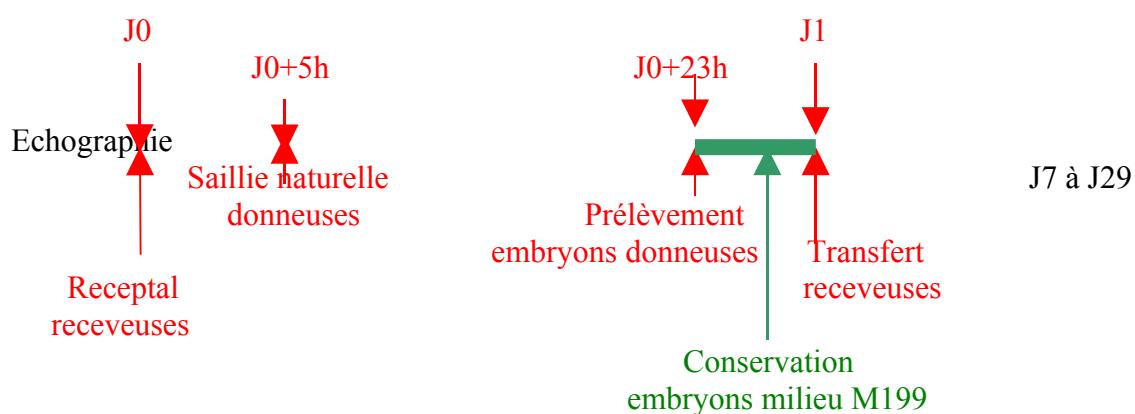
**Tableau 11 : Nombre d'embryons transférés par série de lapine
en fonction des mois**

Mois	1 ^{ière} série (3 lapines par groupe)	2 ^{ème} série (3 lapines par groupe)	Tot al
Février	Groupe 3	Group e 3	6
Mars	Groupe 2	Group e 2	6
Avril	Groupe 2	Group e 2	6
Mai	Groupe 1	Group e 2	6
Juin	Groupe	Group	6

	1	e 2	
Total			30

Les lapines receveuses sont synchronisées 24 heures avant le transfert, à l'aide de 0,8µg de buséréline (Réceptal ND, Intervet, Beaucouzé, France) injectée par voie intra-veineuse afin d'induire l'ovulation quelque soit le stade du cycle. Les embryons sont recueillis à l'abattage entre 17 et 19 heures après la saillie naturelle chez la donneuse non superovulée puis conservés dans un milieu M199 (VWR International, Fontenay sous Bois, France) tamponné à l'Hepes. Le transfert a lieu moins d'une heure après collecte sous anesthésie générale chez la receveuse synchronisée (figure 33).

Figure 33 : Synchronisation donneuses-receveuses pour les transferts d'embryons



3) Technique de transfert embryonnaire

La transplantation embryonnaire nécessite une intervention chirurgicale. La receveuse est anesthésiée par voie gazeuse (halothane), puis tonsurée du haut de l'ombilic au pubis. Une incision de la peau, du tissu sous-cutané et du plan musculaire est réalisée au niveau de la ligne blanche (figure 36).

Figure 36 : Incision des différents plans au niveau de la ligne blanche

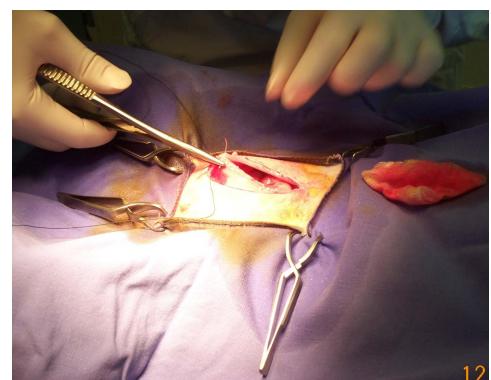


Un ovaire est extériorisé puis les embryons de nombre connu sont injectés non pas dans l'utérus mais dans la bout de la corne utérine, au niveau de la jonction tubaire (figure 37 et 38). Il en est de même pour l'autre ovaire. Les plans musculaire, sous-cutané puis cutané sont suturés à l'aide d'un surjet et de fils résorbables.

Figure 37 : Injection des embryons



Figure 38 : Suture des plans musculaire, sous-cutané et cutané



B. MATERIEL

1) L'échographe

L'appareil utilisé est un échographe portatif *Vetson color* (Kontron Médical, Plaisir, France). Cet échographe est équipé d'un écran 10'' couleur de haute qualité qui permet d'afficher les images et les données (figure 39).

Figure 39 : Echographe portatif utilisé pour réaliser les échographies



L'échographe est équipé d'une sonde linéaire de 7.5 MHz avec une plage de fréquence s'étendant de 4 à 12 MHz et une résolution axiale de 0,3 mm (figure 40).

Figure 40 : Sonde échographique linéaire de 7,5 MHz



Cet échographe est équipé d'un Doppler couleur qui permet de suivre le sens des flux sanguins ainsi que d'évaluer leur vitesse. Grâce à une carte mémoire à insérer dans l'ordinateur, il est possible d'enregistrer des images échographiques.

2) La boite de contention

La boite de contention permet à une personne seule d'immobiliser le lapin et de l'échographier sans que celui-ci ne soit anesthésié. Cette boite est constituée d'un support, tapissé intérieurement d'un matelas pour le confort de la lapine, et de deux plaques utilisées pour bloquer l'animal au niveau du cou et des membres pelviens (figure 41).

Figure 41 : Boite de contention



C. METHODES

1) Préparation du lapin

Une fois le matériel installé (table, échographe, tondeuse...), le lapin est positionné dans la boîte de contention (figure 40). Cette manipulation est réalisée dans le calme afin de ne pas stresser l'animal, qui s'habitue très vite à cette manœuvre.

Figure 40 : Les différentes étapes pour la contention de la lapine

1 : Tenir le lapin par la tête et les membres postérieurs



2 : Le positionner sur le dos



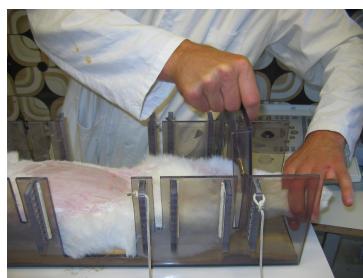
3 : Immobiliser la tête par la première plaque



4 : Bloquer l'ensemble en refermant le couvercle



5 : Immobiliser les membres à l'aide de la seconde plaque



6 : La lapine ne peut plus bouger



Puis l'animal est tondu du bas du sternum au pubis, sur une largeur d'environ 10 cm. Après avoir déposé du gel sur l'abdomen, les échographies peuvent être réalisées. Elles sont effectuées toujours dans la même salle, au même endroit, à mi-obscurité. A partir de l'instant où le lapin est installé dans la boîte, il peut rester calme durant 45 à 90 minutes. En effet, allongé sur le dos et si nécessaire les yeux cachés par un tissu, le lapin dort et ne semble ressentir aucun stress.

2) Expérimentations préliminaires

Avant de commencer cette étude, des essais préliminaires ont eu lieu de novembre 2003 à janvier 2004.

- Saillie naturelle ou transfert d'embryons ?

Les premières échographies ont été réalisées sur des lapines saillies naturellement.

Deux problèmes se sont posés :

1. La difficulté de dénombrer les fœtus et de les suivre individuellement

En effet, il est difficile chez une lapine portant un dizaine de fœtus de les dénombrer. Un simple mouvement de la lapine modifie l'emplacement des fœtus dans l'abdomen, aucun repère anatomique ne peut donc être utilisé.

Avec un nombre limité d'embryons, les échographies sont effectuées plus rapidement, la lapine risque moins de s'agiter dans la boîte à contention, et les fœtus paraissent moins serrés les uns aux autres, le dénombrement est donc plus facile et plus fiable.

2. Le nombre de fœtus portés par la lapine durant la gestation n'influence t-il pas leur développement ?

Le choix s'est donc porté initialement sur le transfert de 6 embryons par lapine (3 dans chaque corne). Puis, afin que les mesures effectuées soient représentatives de toutes sortes de gestations, en particulier lors des clonages où généralement seuls un ou deux embryons se développent, des transferts de 4 et 2 embryons ont été réalisés.

Il faut savoir que le taux de réussite des transferts est très variable : 2 embryons (correspondant au groupe G1) à 6 embryons (correspondant au groupe G3) initialement transférés peut dire qu'il peut y avoir le développement de 0 à 6 embryons, soit N0 à N6.

- Choix du rythme des échographies

Chaque échographie dure de 45 à 90 minutes, nous avons décidé de prévoir trois lapines à échographier par jour, et de les étudier environ un jour sur deux. Ainsi, chaque mois, deux séries de trois lapines ont été donc échographiées alternativement, soit en tout 30 lapines (six lapines par mois pour une durée de 5 mois).

- Choix des dates d'échographies

Les essais préliminaires ont montré qu'il nous était impossible, avec le matériel utilisé, de repérer les vésicules embryonnaires au dessous de 7 jours de gestation. Ce stade a donc été choisi pour la première échographie selon l'emploi du temps mensuel décrit dans la figure 41.

Figure 41 : Planning mensuel pour les échographies de lapines

	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
semaine			Transfert série 1 (J0)	Transfert série 2 (J0)			
1		J7	J7	J9	J9		
2	J13	J13	J15	J15	J17		
3	J19	J21	J21	J23	J23		
4	J27	J27	J29	J29	Naissance	Naissance	

- Choix de la technique échographique

En première intention, les échographies ont été pratiquées en partant du col et en remontant vers les cornes. Cependant, il apparaît plus facile de commencer par un côté et de finir par l'autre en orientant la sonde linéaire dans le plan sagittal, ce qui devrait permettre d'éviter de mesurer deux fois le même fœtus. Cette technique a donc été utilisée tout au long de l'étude.

Lorsque la lapine est installée dans la boîte à contention et tondu au niveau de l'abdomen, les échographies peuvent commencer.

À la première échographie, une approche globale est tout d'abord réalisée pour prendre connaissance du nombre exact d'embryons présents après transfert, sachant que le nombre transplanté est connu.

Lorsque la disposition des embryons est repérée, les différentes structures sont mesurées.

Certaines mesures ont pu être prises pratiquement pour chaque fœtus tout au long de la gestation, mais d'autres structures, qui n'étaient pas visibles pour chaque embryon lors de toutes les échographies, ont été prises en compte de façon plus ponctuelle (figure 42 et tableau 12).

Figure 42 : Mesures réalisées systématiquement sur chaque fœtus en fonction du temps

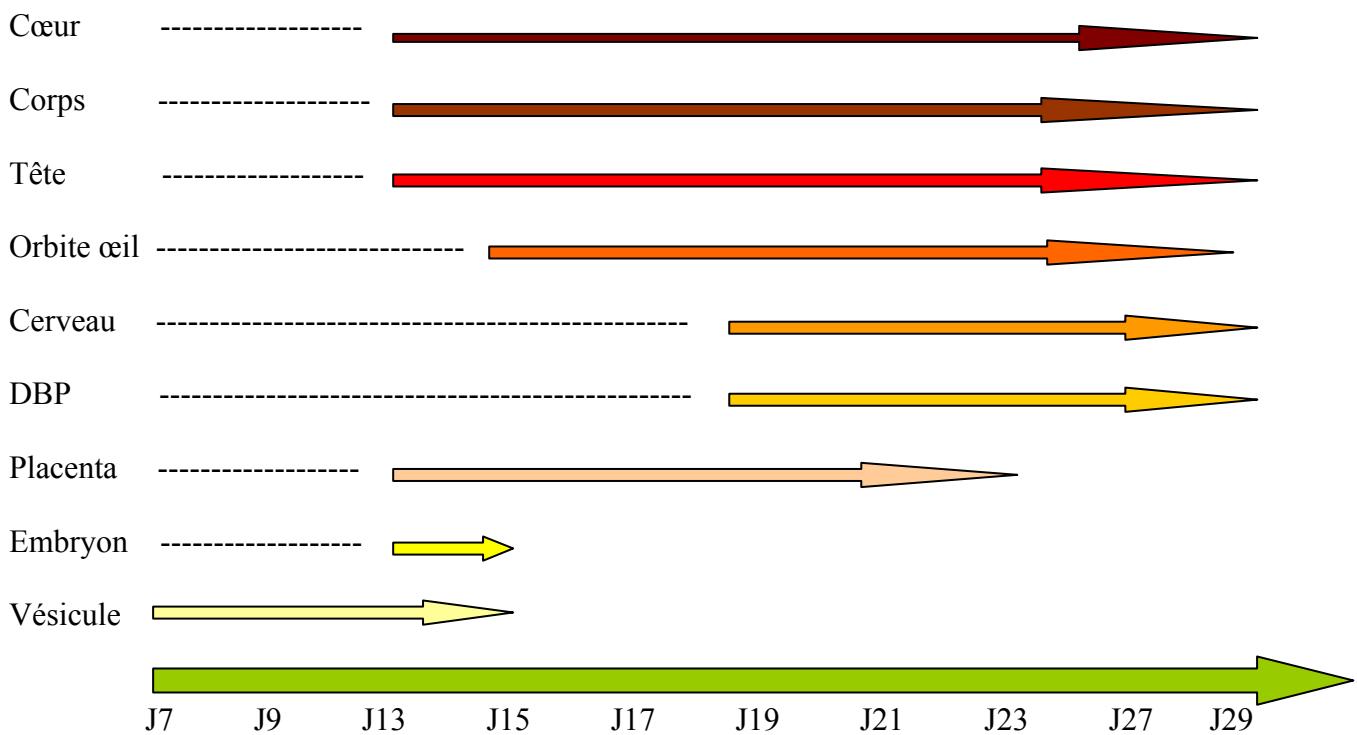


Tableau 12 : Autres mesures ponctuellement réalisées en fonction du jour de gestation

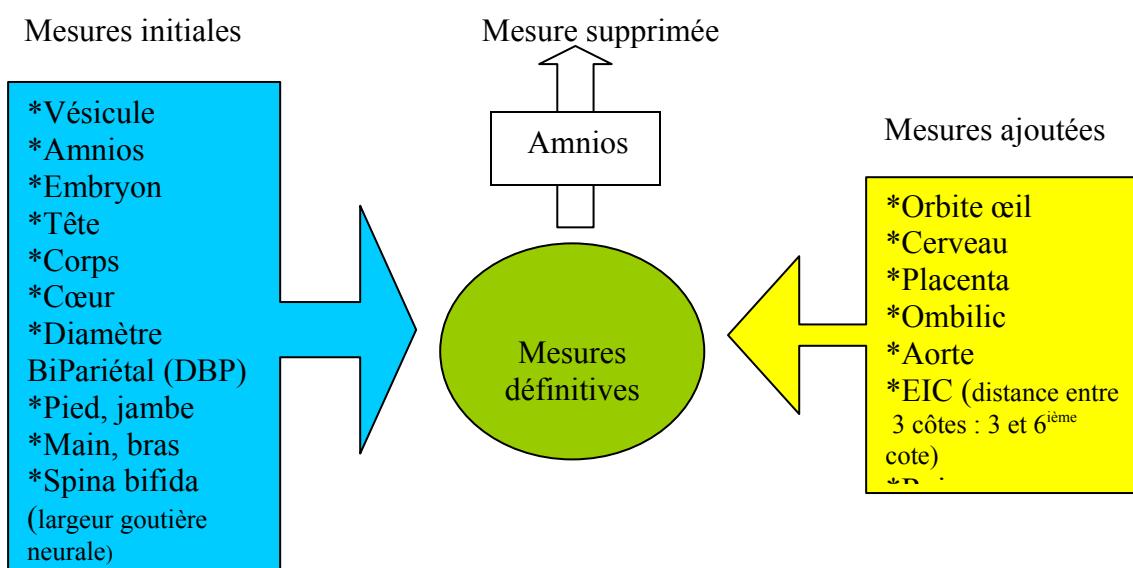
Mesures effectuées	II. Jours de gestation									
	J7	J9	J13	J15	J17	J19	J21	J23	J27	J29
Ombilic			*	*	*	*				
Largeur de la gouttière neurale			*	*	*	*				
Aorte						*	*	*	*	*
EIC (espace entre 3 côtes)						*	*	*	*	*
Pied				*		*	*	*	*	
Jambe					*		*	*		
Main						*	*			
Bras						*	*			
Rein							*	*	*	*

- Choix des structures, organes ou parties d'organes à mesurer sur chaque fœtus

Les travaux préliminaires ont permis de déterminer un certain nombre de mesures qu'il était souhaitable de faire durant la gestation (mesures initiales). Cependant, au cours de la première série expérimentale, d'autres mesures ont ajoutées au fur et à mesure des découvertes échographiques, et d'autres n'ont finalement pas été prises en compte, faute de précision des images.

Par exemple, il était impossible de mesurer de façon répétable sur un animal les limites de la cavité amniotique : suivant l'angle d'aperçu, les valeurs obtenues variaient de façon très importante et aucun repère anatomique n'a pu être déterminé (figure 43). Cette mesure a donc été abandonnée.

Figure 43 : Schéma représentant l'évolution entre les mesures initiales et les mesures définitives entre le début et la fin des essais

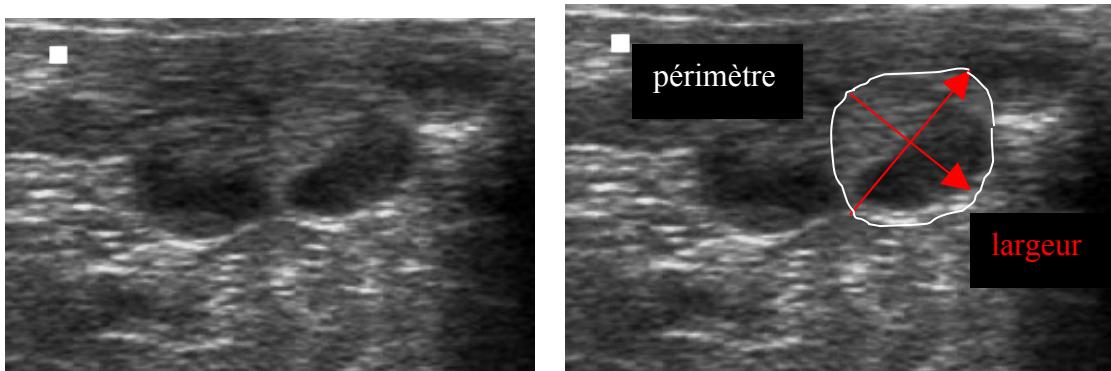


Pour la plupart des structures, les mesures ont été réalisées sur la longueur (L), la largeur (l), le périmètre (P) et la surface (S). La surface est calculée automatiquement par le système informatique de l'échographe dès l'instant où l'on calcule le périmètre.

- Vésicule embryonnaire : la longueur correspond à la distance séparant les 2 points les plus éloignées sur l'image échographique. La largeur est mesuré selon l'axe perpendiculaire à la longueur au niveau de 2 autres points les plus éloignés. Le périmètre correspond au cercle délimitant la vésicule et passant par ces 4 points (figure 44).

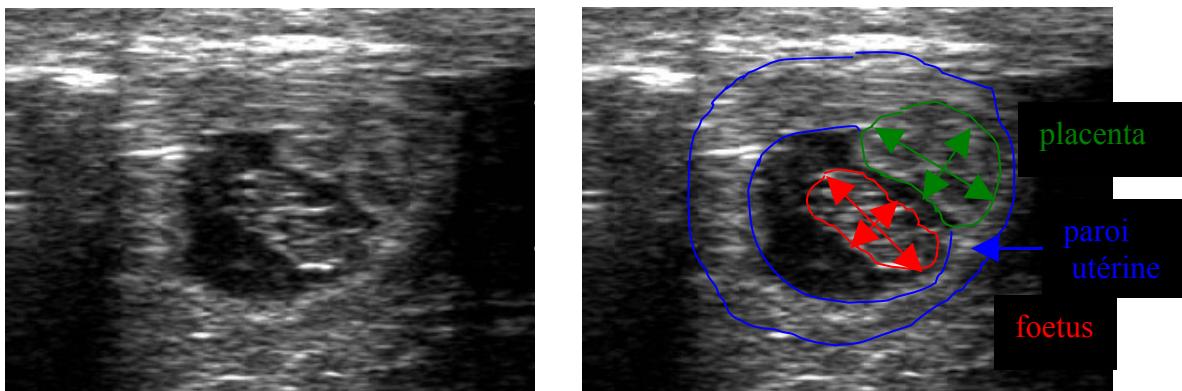
Figure 44 : Images échographiques définissant la longueur, la largeur et le périmètre d'une vésicule embryonnaire au 8^{ème} jour de gestation

longueur



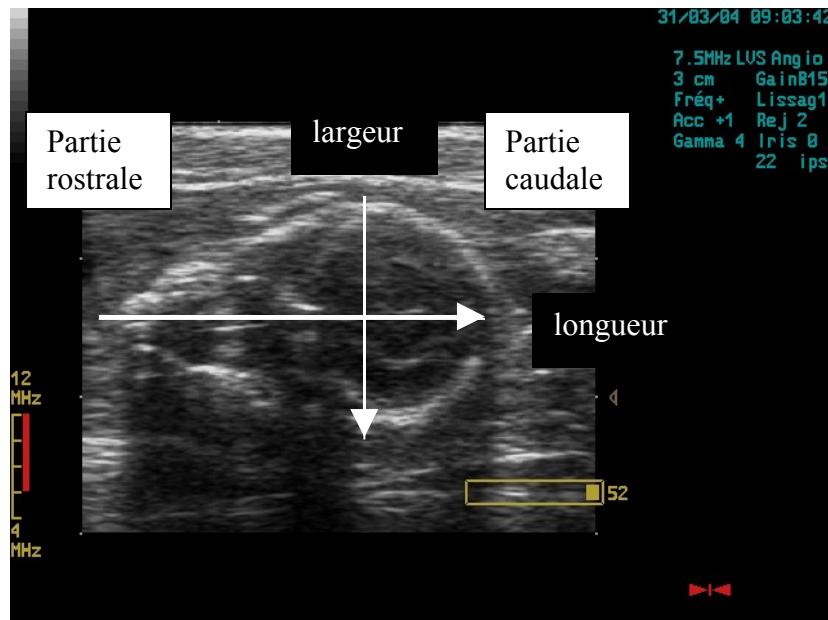
- Embryon : la longueur de l'embryon correspond à la distance cranio-caudal la plus grande. La largeur est mesurée à partir de l'axe perpendiculaire à la longueur et délimité par les 2 points les plus éloignés. Le périmètre correspond au contour de l'embryon passant par ces 4 points. La surface découle automatiquement du périmètre. L'embryon entier n'est mesuré qu'au 13^{ème} jour de gestation et plus rarement au 15^{ème} jour car la longueur est trop importante pour être échographiée au stade suivant et l'embryon trop recourbé pour obtenir des mesures précises (figure 45).
- Placenta : la longueur est définie par la distance séparant les 2 points les plus éloignés et la largeur correspond à la distance séparant les 2 points les plus proches, les deux axes de mesures étant perpendiculaires entre eux. Le périmètre suit les contours du placenta en passant par ces 4 points (figure 45).

Figure 45 : Images échographiques définissant les repères pour mesurer la longueur, la largeur et le périmètre du fœtus et du placenta au 13^{ème} jour de gestation



- Tête : les mesures de la tête ont été réalisées à l'aide d'une vue dorsale. La longueur de la tête correspond à la distance séparant les 2 points rostro-caudaux les plus éloignés de cette vue. La largeur est mesurée par rapport aux 2 points les plus éloignés selon l'axe perpendiculaire à la longueur (figure 46). Le périmètre suit les contours de la tête en passant par ces 4 points.

Figure 46 : Image échographique définissant la longueur et de la largeur de la tête d'un fœtus de lapin à J29

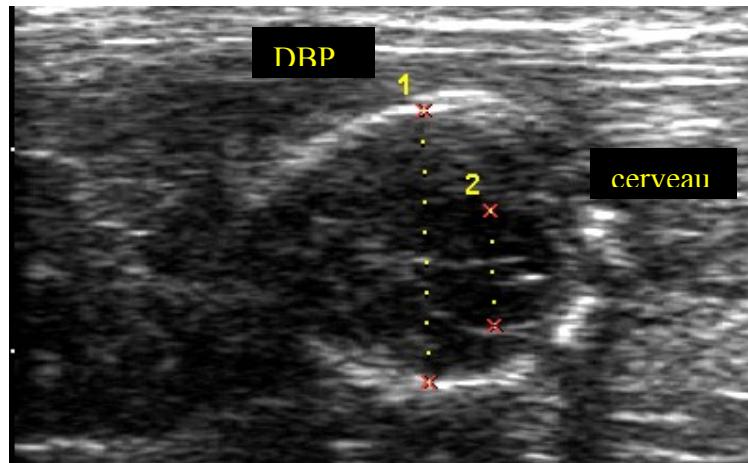


- Corps : le corps est mesuré à partir d'une vue de profil. La longueur correspond à la distance entre la limite tête-corps (rétrécissement correspondant au cou) et la partie la plus caudale du fœtus échographiquement visible. La largeur correspond à la distance mesurée selon l'axe perpendiculaire à la longueur et délimité par les deux points les plus éloignés. Le périmètre passe par ces 4 points.
- Orbite de l'œil, crâne (diamètre bipariétal, DBP) et cerveau : ils sont mesurés à partir d'une vue dorsale. La mesure de l'orbite correspond au diamètre le plus grand échographiquement visible. Le crâne est mesuré dans sa largeur à partir des repères osseux hyperéchogènes les plus éloignés que l'on retrouve sur chaque image échographique. De même, le cerveau est mesuré grâce au changement d'échogénicité, la limite hémisphères droit et gauche est même discernable (figures 47 et 48).

Figure 47 : Image échographique illustrant la mesure du diamètre de l'orbite de l'œil d'un fœtus à J29

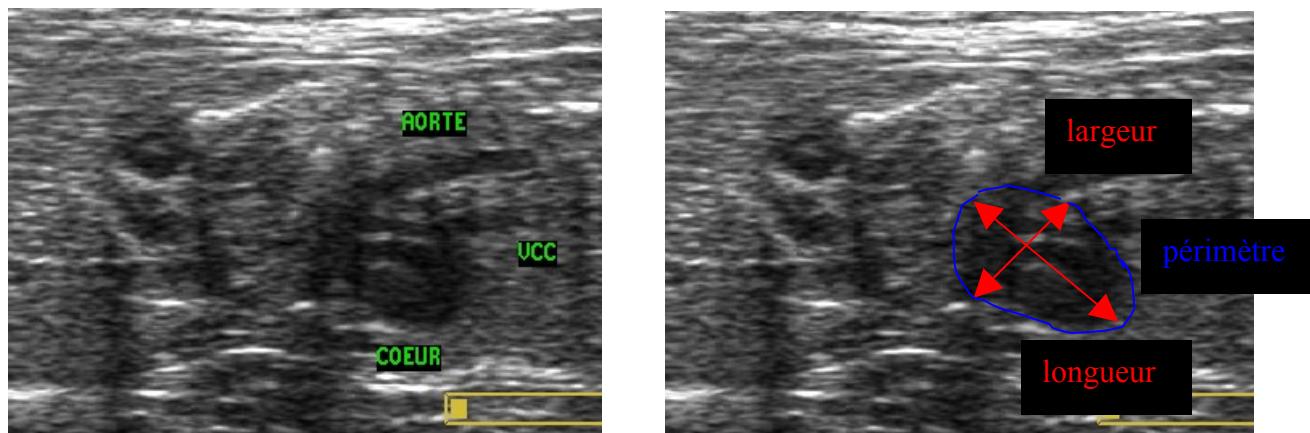


Figure 48 : Image échographique illustrant la mesure du crâne et du cerveau d'un fœtus à J29



- Cœur : le cœur est mesuré sur une vue de profil. La longueur correspond à la distance séparant les 2 points les plus éloignés de la base à l'apex du cœur. La largeur est définie par les 2 points les plus éloignés selon l'axe perpendiculaire à la longueur. Le périmètre suit le contour du cœur en passant par ces 4 points (figure 49). Le rythme cardiaque est mesuré sur 5 secondes au niveau des valves auriculo-ventriculaires.

Figure 49 : Images échographiques illustrant les mesures repères de la longueur, la largeur et le périmètre du cœur d'un fœtus au 29^{ème} jour de gestation
 (vcc : veine cave caudale)



3) Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été réalisée par analyse de variance et covariance par la procédure mixte pour mesures répétées du logiciel de statistiques SAS (SAS Institute, Cary, USA) avec la programmation ci-dessous (par exemple pour la longueur de la tête).

```

PROC MIXED DATA = E.DATA_ECHO_COVTEST
  CLASS ANIMAL STADEREP
  MODEL Longueur tête = GROUPE STADEC0V STADCO2 NFOETNE*STADEC0V/
    REPEATED STADEREP/ SUBJECT = ANIMAL TYPE = CS; SOLUTION;
Run;
  
```

Dans ce modèle, le nombre de fœtus transférés (GROUPE), le stade de gestation (STADEC0V) et l'interaction entre le stade de gestation et le nombre de fœtus nés (NFOETNE) ont été étudiés. La

variable STADCO2 (stade de gestation au carré) permet de déterminer si l'effet est accentué avec le temps.

L'effet maternel est pris en compte avec la répétition des mesures (REPEATED STADEREP/ SUBJECT = ANIMAL).

Le même modèle a été utilisé pour comparer les animaux en fonction du nombre de fœtus nés à terme au lieu de nombre de fœtus transférés.

II.RESULTATS

L'ensemble des mesures recueillies est consultable en annexe. Dans cette partie, seuls les données moyennes seront présentées selon les groupes, le nombre de fœtus nés et le stade de gestation.

A.RESULTATS DES TRANSFERTS D'EMBRYONS

Les résultats obtenus des transferts embryonnaires réalisés pour notre expérience sont répertoriés dans le tableau 13.

**Tableau 13 : Pourcentage de réussite après transfert
(nombre de naissances dans une portée par rapport au nombre d'embryons transférés)**

Nb embryons transférés par lapine	Nombre de lapereaux nés par portée							% total naissances /nb embryons transférés
	6	5	4	3	2	1	0	
6 (6)*	33% (2)**	33% (2)	0% (0)	33% (2)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	78% (28/36)
4 (18)	—	—	33% (6)	11% (2)	28% (5)	6% (1)	22% (4)	57% (41/72)
2 (6)	—	—	—	—	50% (3)	33% (2)	17% (1)	67% (8/12)

*() Pourcentage et nombre de lapines ayant reçu 2, 4 ou 6 embryons

**() Pourcentage et nombre de lapines ayant donné naissance à 0, 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 lapereaux

Lors du transfert de 6 embryons, six lapines ont reçu 6 embryons chacune. Sur les 36 embryons transférés, 28 ont donné naissance à des lapereaux, soit 78% de réussite. Lors du transfert de 4 embryons par lapine, 57% de ces embryons transférés ont donné naissance à des lapereaux. De même, lors du transfert de 2 embryons par lapine, 67% des embryons ont donné naissance à des lapereaux.

Sur les différents résultats obtenus par le transfert de 2, 4 ou 6 embryons, seuls les pourcentages (respectivement 57% et 78%) correspondant au transfert de 4 et 6 embryons sont significatifs. En effet, le faible nombre d'embryons transférés (12 embryons au total) lors du transfert de 2 embryons par lapine ne permet pas d'interpréter de façon significatif le résultat de 67% de réussite.

Il faut noter que pendant l'étude, une seule résorption embryonnaire a eu lieu. Lors du transfert de 4 embryons chez une lapine, le seul embryon visible n'a pu être échographié que jusqu'au 17^{ème}

jour de gestation. Grâce à cette seule résorption embryonnaire durant l'étude, le nombre d'embryons échographiés (embryons présents lors de l'échographie) a pu être confondu avec le nombre de foetus nés.

B.COMPARAISON AVEC ABATTAGE

Afin de rétablir l'exactitude des mesures échographiques, une lapine a été abattue juste après avoir été échographiée. Les mesures réelles des foetus ont été comparées aux mesures des foetus obtenues lors d'échographie.

La comparaison a été réalisée en début d'étude (mois de février 2004) afin de pouvoir corriger et perfectionner la technique échographique. Pour cela, une lapine ayant reçu 6 embryons a été échographiée au 23^{ème} jour de gestation puis abattue pour mesurer avec un pied à coulisse les foetus et les organes.

Les résultats sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Comparaison entre les dimensions de foetus mesurées après abattage (en noir) et celles mesurées par échographie (en rouge).

Place foetus en partant du col		Ampoule		Placenta			Tête		Corps	
		Longueur (cm)	Largeur (cm)	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Poids (g)	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Longueur (cm)	Largeur (cm)
Corne gauche	1	3,7	3,2	2,6 2,52	2,3 1,34	2,8	1,9 1,6	1,5 1,2	3,6 2,7	1,8 1,46
	2	4	3,2	3,4 2,89	2,4 1,5	2,69	2,2 1,82	1,8 13,5	3,8 2,64	18 1,21
	3	3,7	3,2	3,1 3,06	2,7 1,69	3,55	1,8 1,53	1,7 1,22	3,8 3,31	1,7 1,2
Corne droite	1	3,5	3	3 2,96	2,4 1,8	2,79	1,8 1,75	1,3 1,05	4 2,81	1,7 1,33
	2	3,4	2,6	3 2,65	2,4 1,54	2,75	1,6 1,93	1,4 1,19	3,4 2,34	
	3	3,7	2,7	2,9 2,12	2,3 1,22	2,98	1,6 1,72	1,8 1,25	4,7 2,97	1,7 1,28

Que ce soit pour le placenta, la tête ou le corps, les mesures échographiques sont significativement inférieures à celles mesurées sur foetus après abattage.

Ce travail a permis, avant de commencer les expériences échographiques, de déterminer avec le maximum de précision d'une part les points repères pour les mesures, d'autre part, les axes des différentes structures ou organes à échographier.

C.RESULTATS POUR LES DIFFERENTES MESURES

Le tableau 15 résume les résultats des analyses statistiques. Chaque mesure est étudiée de sorte à savoir si différents facteurs influencent la taille. L'effet animal correspond à l'influence de la mère sur la taille du fœtus. La différence entre groupes (Gy où y est le nombre d'embryons transférés par corne utérine) correspond à l'influence du nombre de fœtus transplantés initialement : G1, G2 ou G3. L'effet nombre de fœtus (Nx où x est le nombre de fœtus présents ou nombre de lapereaux nés). L'effet temps est étudié pour analyser l'évolution de la croissance des fœtus avec le stade de gestation. L'effet de l'accentuation avec le temps permet de déterminer si la croissance des fœtus à tendance à s'accroître ou à s'atténuer avec le temps.

Tableau 15 : Résultats statistiques

Mesures		Modèle expliqué	Effet animal (mère)	Différence entre groupes (Gy)	Effet nb fœtus nés (Nx)	Effet temps	Accentuation avec le temps	Effet nb accentué avec temps
Vésicule	L	**	*	**	NS	**	*	*
	1						*	NS
	P							
	S		**					
Placenta	L	NS	NS	NS	*	**	*	NS
	1	**			NS		NS	
	P		*				*	
	S		NS			NS	NS	
Embryon entier	L	**	*	**	**	**	**	**
	1	NS	NS	**	*			*
	P	*			NS			NS
	S	NS						
Tête	L	**	**	**	NS	**	*	**
	1	NS	NS					NS
	P	NS	*	**	NS	**	*	NS
	S		NS			NS	*	
DBP		*			*	**	NS	*
Cerveau		NS		NS	NS	NS		NS

Corps	L	**	*	**	NS	**	NS	NS
	1						**	
	P						*	
	S		NS				**	
Coeur	L	**	**	**	NS	**	**	**
	1		*	**	NS		*	
	P			NS	**		**	
	S		NS	**	NS		*	
	Rythme							
	Aorte		*	NS	*	NS	NS	**
Orbite		**	**	*	NS	*	**	NS
Ombilic	NS		NS	NS	NS	NS	NS	NS
Spina	**		*	NS	NS	NS	NS	NS

L : longueur

1 : largeur

P : périmètre

S : surface

DBP : diamètre bipariétal

** p < 0.01 : significatif

* 0.01 < p < 0.05 : faiblement significatif

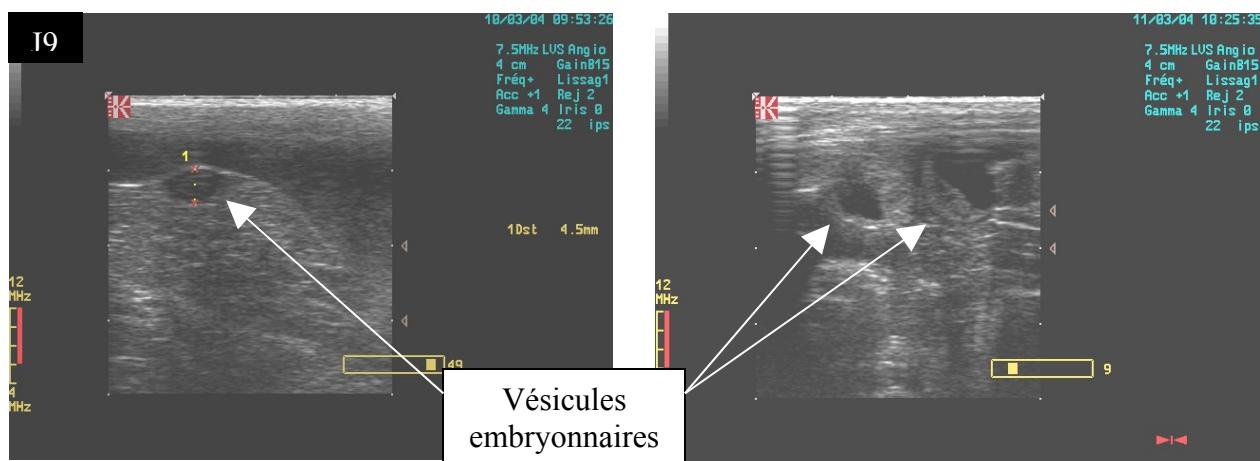
NS p > 0.05 : non significatif

- La vésicule

Après de nombreux essais à 6, 7 ou 8 jours de gestation, nous avons constaté qu'il n'était pas possible de faire un diagnostic de la gestation avant 7 jours.

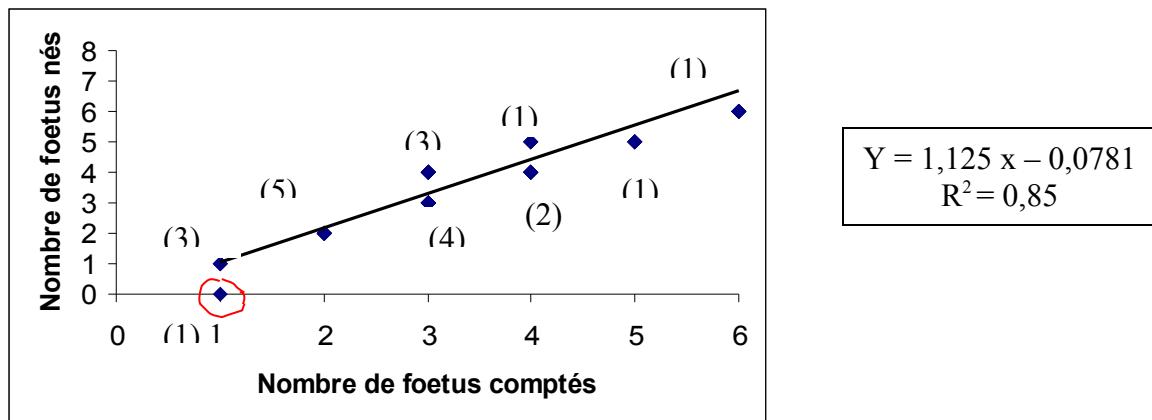
A J7, lorsque l'embryon est implanté, des zones anéchogènes sont visibles mais difficilement différenciables des féces de la lapine : le diagnostic de gestation ainsi que le dénombrement des fœtus est possible mais n'est pas encore fiable. Il faut attendre le 9^{ème} jour de gestation pour pouvoir confirmer ou infirmer la gestation (figures 50).

Figure 50 : Vésicule embryonnaire au 7^{ème} jour et 9^{ème} jour de gestation



La figure 51 met en évidence la différence au 9^{ème} jour de gestation entre le nombre de fœtus échographiés et le nombre de fœtus nés. Le dénombrement des fœtus est fiable ($R^2 = 0,85$). Le point (entouré en rouge) correspondant à un fœtus échographié mais aucun fœtus né met en évidence la résorption embryonnaire de ce fœtus.

Figure 51 : Régression linéaire entre le nombre de fœtus comptés par échographie à 9 jours de gestation et le nombre de fœtus nés à terme ($y = 1,125x - 0,0781$, $R^2 = 0,85$)
 (entre parenthèse : nombre de lapines échographiées par point,
 en rouge : résorption embryonnaire du fœtus)



* Entre J7 et J19, l'animal, lui-même, exerce une influence sur la longueur, la largeur, le périmètre et la surface de la vésicule mesurée ($p<0,01$).

* La largeur de la vésicule augmente de façon linéaire ($y = 4,6329 x +1,0411$) avec le stade de gestation ($p<0,01$) de $4,29 \pm 1,05$ mm au 7^{ème} jour de gestation à $23,60 \pm 3,30$ mm au 19^{ème} jour de gestation (figure 52). Il en est de même pour la longueur qui croît de façon linéaire ($y = 7,168 - 1,99$) avec le stade de gestation de $5,31 \pm 1,16$ mm à $35,43 \pm 2,37$ mm et le périmètre ($y = 7,168 x - 1,99$) qui s'étend de $1,45 \pm 0,31$ cm² à $9,33 \pm 0,56$ cm (figures 53 et 54).

* A l'inverse, la nombre de fœtus nés n'influence ni la largeur, la longueur, le périmètre ou la surface ($p>0,05$).

* Le groupe (Gy où y est le nombre d'embryons transférés par corne utérine) influence la longueur, la largeur, le périmètre et la surface de la vésicule. D'après la figure 55, la différence est significative uniquement au 13^{ème} jour de gestation. Les vésicules embryonnaires du groupe G1 sont de longueur significativement plus grandes que celles de G2, elles-mêmes plus grandes que G3.

Figure 52 : Largeur moyenne (mm) des vésicules en fonction du nombre de fœtus nés (Nx où x est le nombre de fœtus) et du stade de gestation (jours)



Figure 53 : Longueur moyenne (mm) des vésicules en fonction du nombre de fœtus nés (Nx où x est le nombre de fœtus) et du stade de gestation (jours)



Figure 54 : Périmètre moyen (cm) des vésicules en fonction du nombre de fœtus nés (Nx) et du stade de gestation (jours)

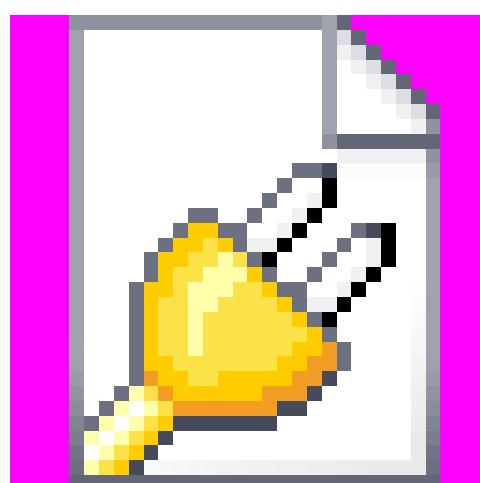
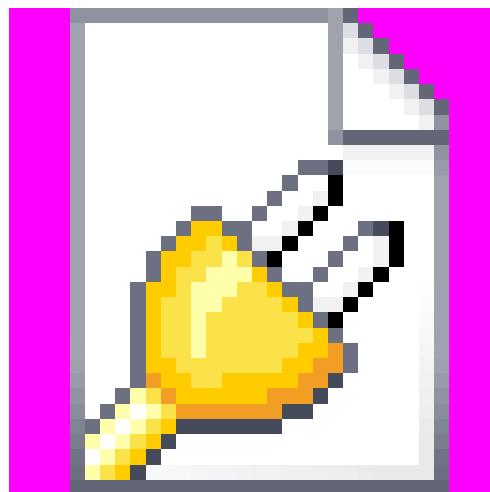


Figure 55 : Influence du groupe (Gy) sur la longueur de la vésicule (mm) en fonction du stade de gestation (jours)



- Le placenta

* Seul le stade de gestation influence la longueur, la largeur, le périmètre et la surface du placenta ($p<0.01$). La longueur placentaire moyenne va de $8,87 \pm 1,79$ mm à 9 jours jusqu'à $25,39 \pm 3,70$ mm à 23 jours de gestation. La largeur moyenne s'étend de façon linéaire ($y = 1,9234 x + 4,307$) de $4,82 \pm 0,95$ mm au 9^{ème} jour de gestation à $17,87 \pm 3,63$ mm au 23^{ème} jour de gestation (figure 56). Le périmètre placentaire moyen s'étend de $2,34 \pm 0,43$ cm à J9 jusqu'à $7,83 \pm 0,82$ cm à J23 en passant par $5,88 \pm 0,79$ cm à J17. La surface moyenne du placenta est de $0,36 \pm 0,12$ cm² à J9 et de $4,14 \pm 0,76$ cm² à J23.

* Aucun autre paramètre n'influence les dimensions du placenta. La figure 57 montre l'exemple du périmètre placentaire où le nombre de fœtus nés n'est pas significatif.

Figure 56 : Evolution de la largeur du placenta (mm) en fonction du nombre de fœtus nés (Nx) et du stade de gestation (jours)

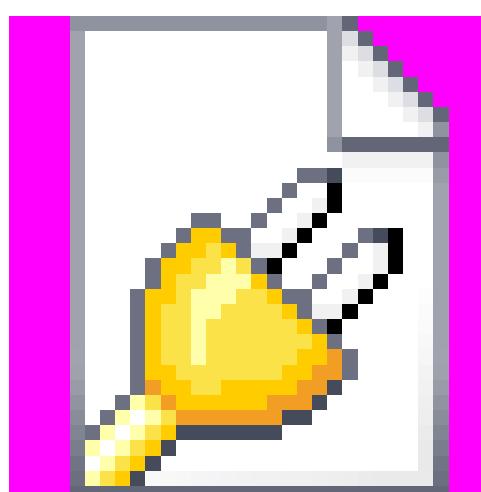
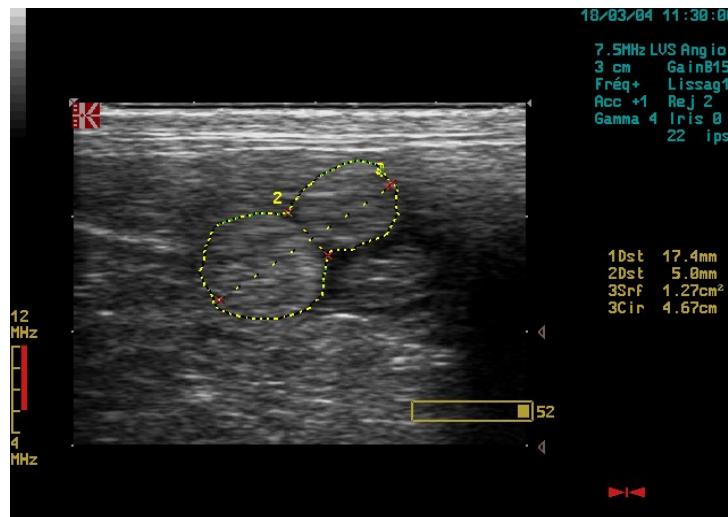


Figure 57 : Périmètre placentaire (cm) en fonction du nombre de fœtus présents (Nx) et du stade de gestation (jours) (barres d'erreur SEM)



Figure 58 : Mesure de la longueur (mm), largeur (mm), périmètre (cm) et surface (cm²) III. du placenta à J15 chez une lapine portant 6 fœtus



- L'embryon entier

- * La dimension des fœtus (longueur, largeur, périmètre, surface) n'est pas influencée par la mère ($p>0.01$).
- * L'effet temps n'est pas pris en compte car la plupart des mesures n'ont pu être réalisées qu'au 13^{ème} jour de gestation et plus rarement au 15^{ème} jour. L'incurvation de l'embryon ne permet pas toujours au 15^{ème} jour de gestation d'obtenir des mesures fiables. De plus, la longueur des fœtus au-delà du 15^{ème} jour est trop importante pour observer l'embryon en entier sur l'écran échographique.
- * L'effet nombre de fœtus nés est significatif au 13^{ème} jour de gestation pour la longueur et la largeur de l'embryon ($p<0.01$). La figure 59 met en évidence que 2 embryos portés par une lapine sont proportionnellement plus grands qu'un embryo seul ($N2>N1$). Il en est de même pour $N4>N3$ et $N6>N5$.
- * Une différence de taille est notée entre les groupes 1, 2 et 3 ($p<0.01$). Les embryos du groupe 1 ont une longueur, un périmètre et une surface significativement plus grands que ceux du groupe 2, eux-mêmes plus grands que ceux du groupe 3 (figure 60).

Figure 59 : Longueur et largeur moyenne (mm) de l'embryon entier en fonction du nombre de fœtus nés (Nx) au 13^{ème} jour de gestation

(en rouge : nombre de mesures réalisés pour chaque Nx)

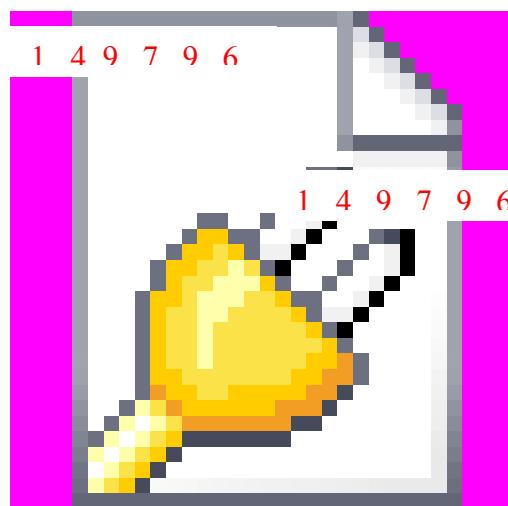


Figure 60 : Longueur (mm), périmètre (mm) et surface moyenne (cm²) de l'embryon entier au 13^{ième} jour de gestation en fonction du groupe (Gy) (barres d'erreur SEM)



- La tête

- * Seule la longueur de la tête est significativement influencé par l'effet de la mère ($p<0,01$).
- * Les dimensions de la tête (L, l, P, S) croient de façon linéaire de J13 à J29. La longueur moyenne de celle-ci passe de $4,39 \pm 0,93$ mm à 13 jours de gestation à $29,6 \pm 1,72$ mm à J29. La largeur s'étend de $3,36 \pm 0,51$ mm au 13^{ième} jour à $18,73 \pm 1,71$ mm au 29^{ième} jour de gestation et le périmètre de $1,06 \pm 0,21$ cm au 13^{ième} jour à $7,60 \pm 0,56$ cm au 29^{ième} jour de gestation (figures 61 et 62).
- * L'effet nombre de fœtus (Nx où x représente le nombre de fœtus nés) n'influence ni la longueur, la largeur, le périmètre ou la surface de la tête ($p>0,05$).
- * Inversement, le groupe Gy (où y est le nombre d'embryons transférés par corne utérine) influence de façon significative les dimensions de la tête (L, l, P, S) ($p<0,01$). Par exemple, la longueur de la tête de l'embryon après transfert de 2 embryons est supérieure à celle après transfert de quatre ou six embryons (figure 63).

Figure 61 : Longueur moyenne de la tête (mm) en fonction du nombre de fœtus (Nx) et du stade de gestation (jours)



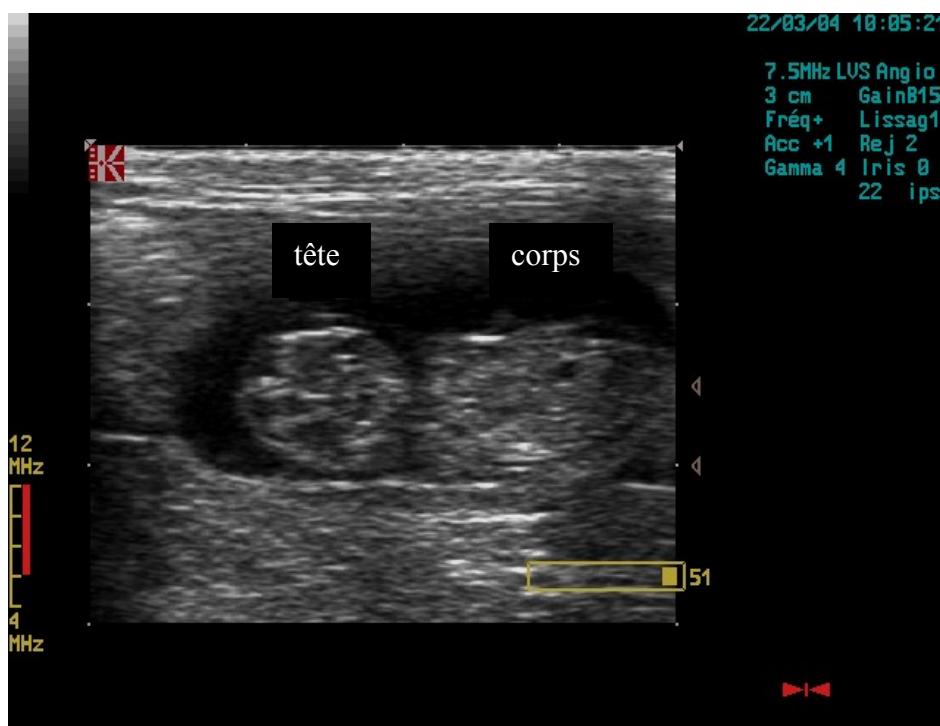
Figure 62 : Périmètre moyen de la tête (mm) en fonction du nombre de fœtus (N_x) et du stade de gestation (jours)

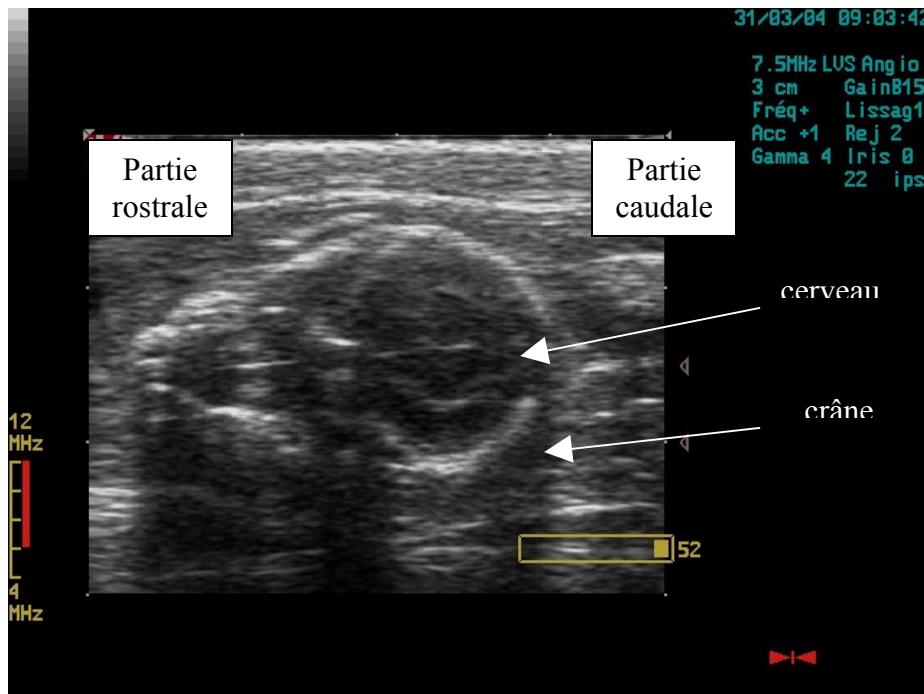


Figure 63 : Effet du groupe (Gy où y est le nombre de d'embryons transférés par corne utérine) sur la longueur moyenne de la tête (mm) entre J13 et J29 (barres d'erreur SEM)



Figure 64 : Image échographique de tête de fœtus à différents stades de gestation (A, B)





- Le corps

La longueur, le périmètre et la surface du corps ont été mesuré entre J13 et J27 et la largeur entre J13 et J29.

- * L'effet maternel influence faiblement la taille (L, l, P, S) du corps des fœtus ($0.01 < p < 0.05$).
- * Inversement, le temps intervient sur la croissance de celui-ci ($p < 0.01$). La longueur du corps croît de façon linéaire ($y = 5,674x - 1,5362$) de $6,98 \pm 0,68$ mm à 13 jours de gestation à $40,72 \pm 2,83$ mm à 27 jours de gestation (figure 65). La largeur passe de $3,96 \pm 0,65$ mm au 13^{ème} jour à $22,88 \pm 1,55$ mm au 29^{ème} jour de gestation.
- * L'effet nombre de fœtus nés (Nx) n'influence pas les dimensions du corps ($p > 0.05$).
- * A l'inverse, la taille du corps (L, l, P, S) est influencée par le nombre d'embryons transférés (Gy). La dimension du corps de l'embryon après transfert de 2 embryons est supérieure à celle après transfert de 4 ou 6 embryons (G1>G2>G3) (figures 66 et 67).

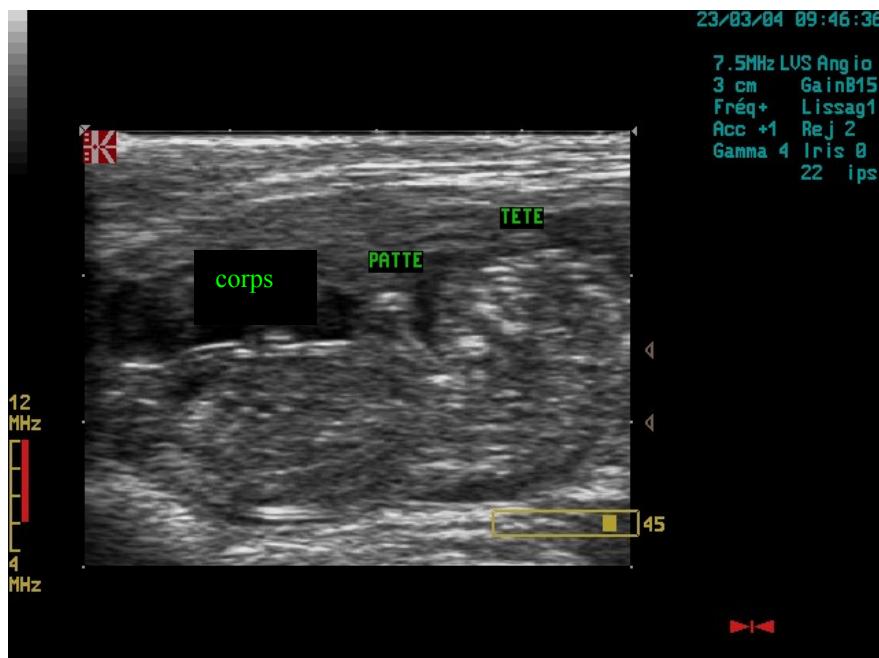
Figure 65 : Longueur moyenne du corps (mm) en fonction du nombre de fœtus nés (Nx) et du stade de gestation (jours)



Figure 66 : Longueur moyenne du corps (mm) en fonction du groupe (Gy) et du stade de gestation (jours)



Figure 67: Images échographiques d'un fœtus à J21



- Le cœur

Les mesures ont été réalisées de J13 à J29.

* L'effet animal apporté par la mère influence grandement la taille du cœur, en particulier la longueur de celui-ci ($p<0.01$).

* Le temps intervient de façon significative dans la croissance du cœur en longueur, largeur, périmètre et surface ($p<0,01$). La longueur passe de $1,72 \pm 0,30$ mm à J13 à $10,65 \pm 1,95$ mm à J29 et la largeur de $1,36 \pm 0,23$ mm au 13^{ème} jour à $9,09 \pm 1,37$ mm au 29^{ème} jour de gestation.

- * La longueur du cœur est influencée par le nombre de fœtus nés (Nx) et le nombre d'embryons transférés (Gy). En effet, les figures 68 et 69 montrent que $N1 > N6$ et $G1 > G3$.
- * La largeur et la surface du cœur ne sont influencées que par le nombre de fœtus transférés (Gy).
- * Le périmètre est influencé par le nombre de fœtus nés (Nx) ($p < 0,01$).

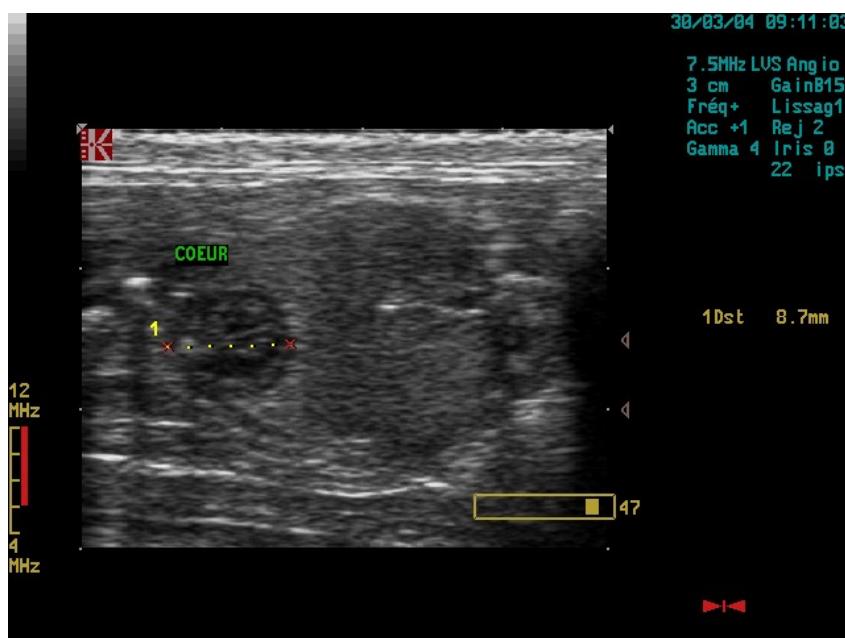
Figure 68 : Longueur moyenne du cœur (mm) en fonction du nombre de fœtus nés (Nx) et du stade de gestation (jours).



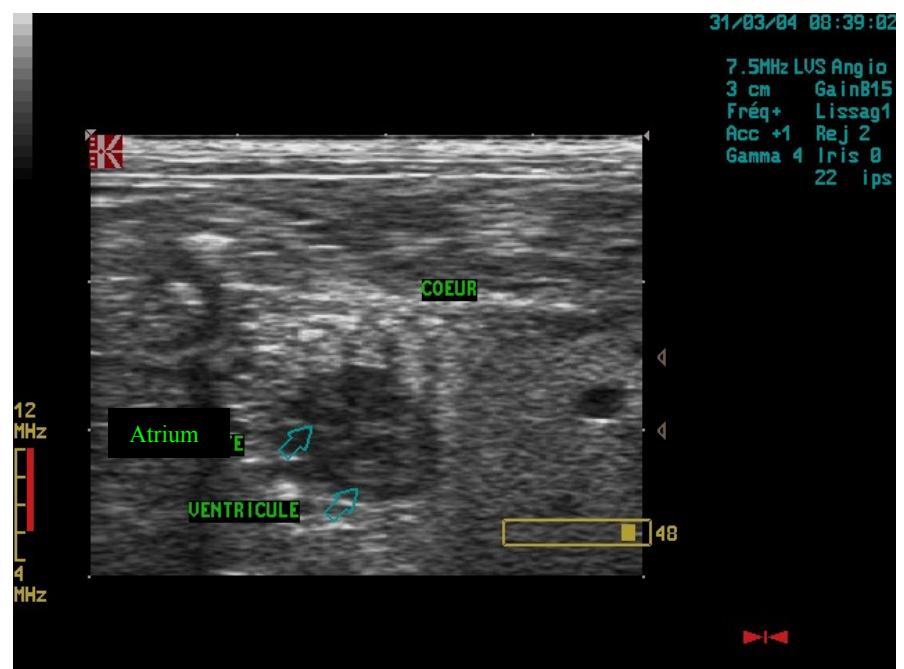
Figure 69 : Longueur moyenne du cœur en fonction du nombre d'embryons transférés (Gy) et du stade de gestation (jours)

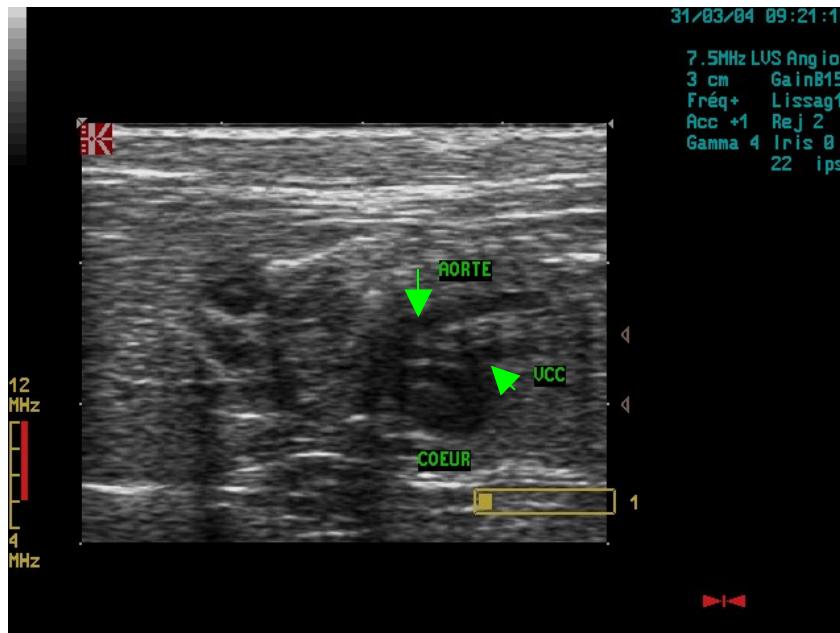


Figure 70 : Images échographiques du cœur à différents stades (A, B, C)



(B) Cœur à J29 :
cavités visibles
(atrium, ventricule)





(C) Cœur à J29 :
aorte et veine cave caudale

- Fréquence cardiaque

- * Elle varie de 168 à 288 battement par minute suivant le stade de gestation (jours) et le nombre de fœtus (Nx).
- * La fréquence cardiaque du fœtus augmente avec le temps ($p<0,01$) (figure 71).
- * Le nombre d'embryons transférés (Gy) influence de façon significatif la fréquence cardiaque ($p<0,01$). En effet, le fœtus issus du transfert de 2 embryons a une fréquence cardiaque supérieure à celui issus du transfert de 4 ou 6 embryons : G1>G2>G3 (figure 72).
- * De même, le nombre de fœtus nés influence la fréquence cardiaque de sorte que N1>N2>N3>N4>N5>N6 (figure 73).

**Figure 71 : Influence du temps (jours)
sur la fréquence cardiaque (battements par minute)**



Figure 72 : Influence du groupe (Gy)

sur la fréquence cardiaque (battements par minute)



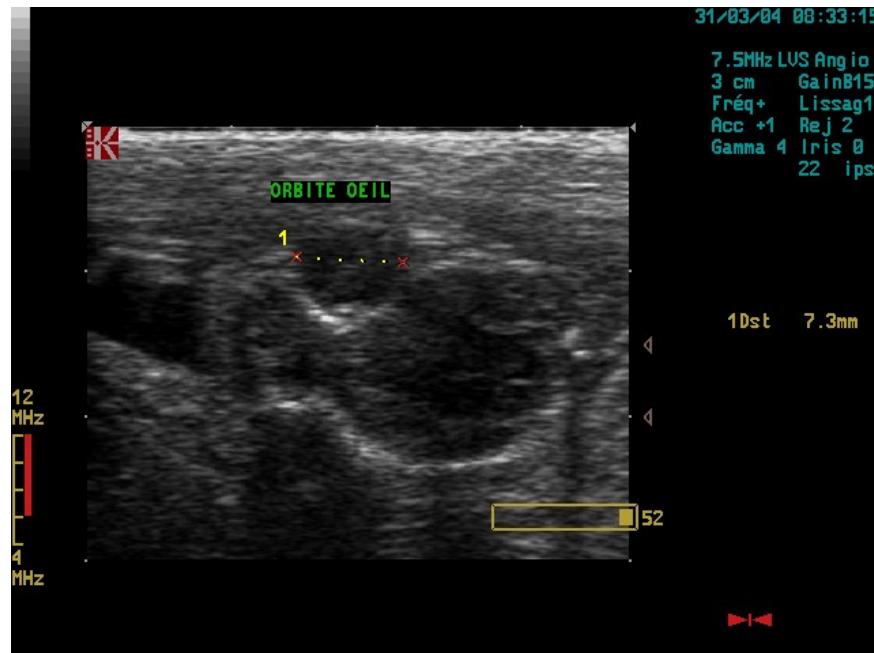
Figure 73 : Influence de nombre de fœtus nés (Nx) et du stade de gestation (jours) sur la fréquence cardiaque (battements par minute)



- L'orbite de l'œil

Le diamètre de l'orbite de l'œil, mesuré entre J15 et J29, dépend à la fois de l'effet maternel et du temps. Plus la stade de gestation croît, plus le diamètre de l'orbite augmente. Mais, il n'existe aucune différence entre les groupes (Gy) ou le nombre de fœtus nés (Nx) (figure 74).

Figure 74 : Orbite de l'œil à J29

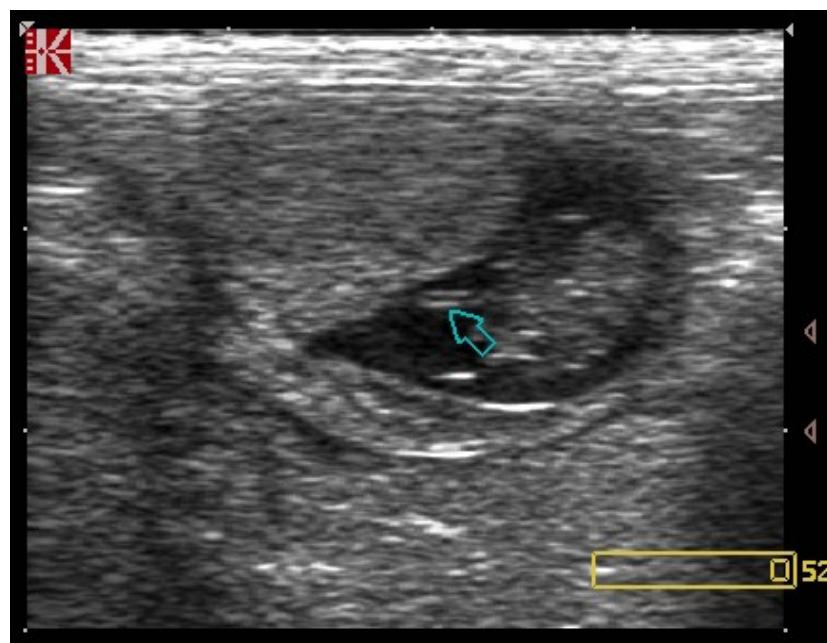


- Autres mesures réalisées ponctuellement

Certains organes ou parties d'organe n'ont pu être visualisés que lors de certaines échographies. Le peu de mesures obtenues ne permet pas de réaliser d'étude statistique, mais les résultats sont donnés ici à titre d'information.

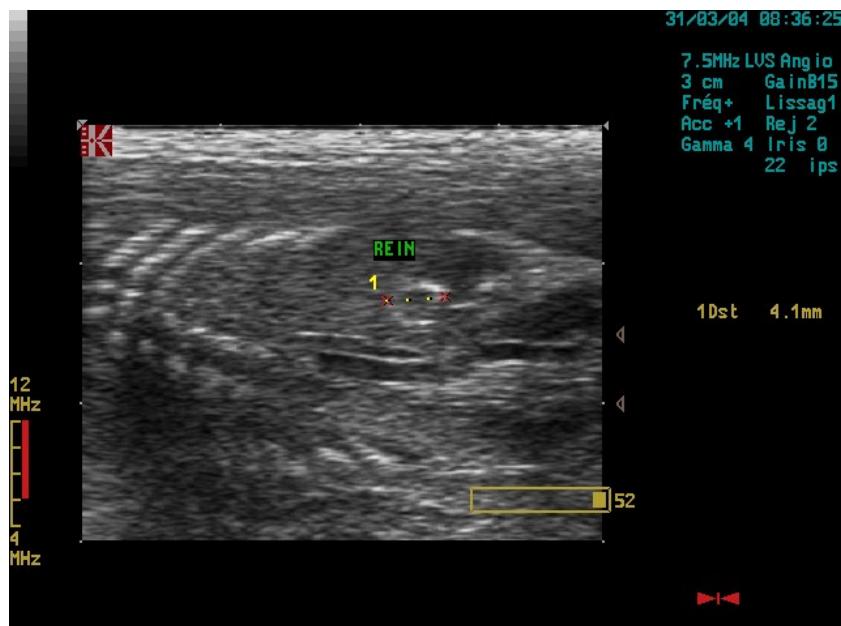
* L'ombilic est mesuré ponctuellement de J13 à J19. Il passe de $0,36 \pm 0,14$ mm au 13^{ème} jour à $1,32 \pm 0,42$ mm au 19^{ème} jour de gestation (figure 75).

Figure 75 : Ombilic d'un embryon au 15^{ème} jour de gestation



* Les reins, par exemple, n'ont pu être visualisés que très rarement. Mais, les quelques mesures prises donnent une idée approximative de la taille moyenne d'un rein en fonction du stade de gestation (figure 76).

Figure 76 : Image échographique d'un rein de fœtus à J29



* Les membres (pied, jambe, main, bras) ont été mesurés de J19 à J29. Exceptionnellement, une mesure a été réalisée pour un pied d'embryon aperçu à 15 jours de gestation.

* L'aorte et l'espace entre la 3^{ème} et 6^{ème} côte (EIC) ont été mesurés ponctuellement entre J19 et J29.

DISCUSSION

A. RESULTATS DES TRANSFERTS

Selon les données de Heyman (1988), on peut s'attendre à un pourcentage d'environ 63% de réussite du transfert d'embryons frais de lapins (pourcentage d'embryons transférés ayant donné naissance à des lapereaux).

Dans notre étude, les résultats obtenus pour le transfert de 2, 4 et 6 embryons (respectivement 67%, 57% et 78%) sont significativement différents de ceux obtenus par Heyman.

Cependant, Heyman ne précise pas le nombre d'embryons transplantés dans chaque lapine, ni le nombre de lapines utilisées pour obtenir ces résultats. D'après nos résultats, si l'on ne tient pas compte de chaque pourcentage indépendamment les uns des autres, mais si l'on formule un pourcentage global de réussite (regroupant le nombre total de lapereaux nés par rapport au nombre total d'embryons transférés), ce taux s'élève alors à 64%. Le pourcentage de réussite des transferts lors de notre étude (64%) correspond donc à celui annoncé par Heyman (63%).

B. RESULTATS DES ECHOGRAPHIES

1) Matériel utilisé et observations échographiques

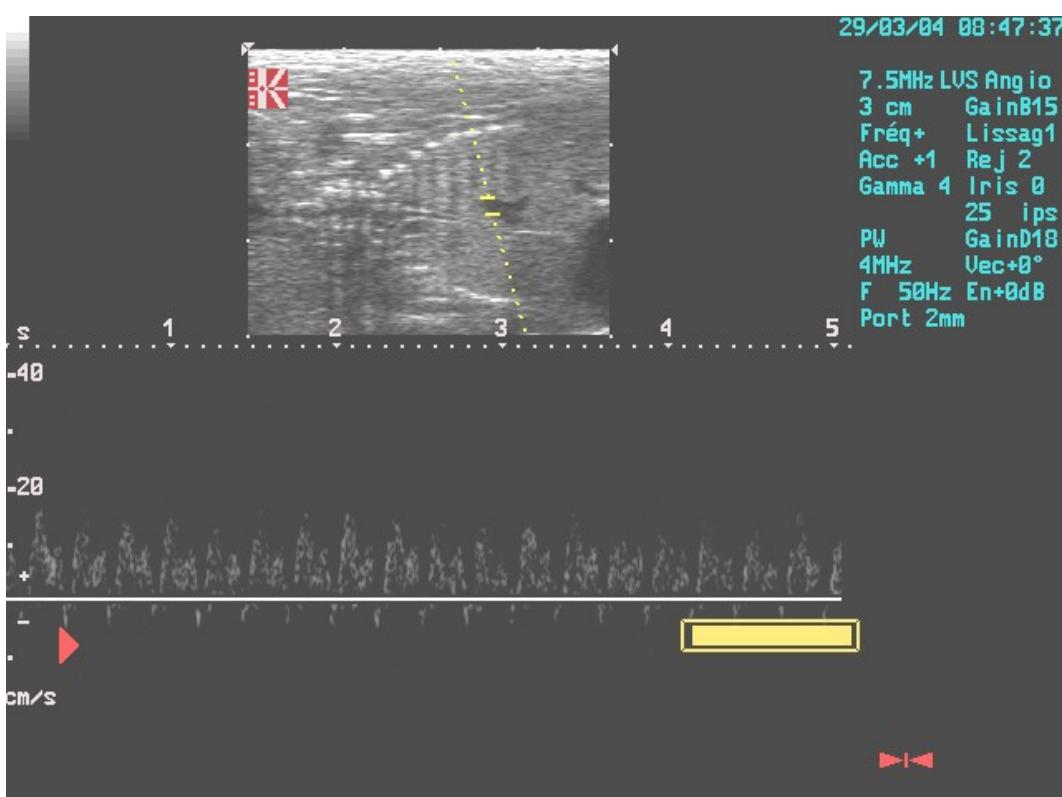
1. La fiabilité du matériel et de la technique utilisée

° L'appareil échographique portatif neuf mis à notre disposition a permis de réaliser des échographies de bonne qualité. La sonde linéaire de fréquence 7,5MHz dont la plage s'étend entre 4 et 12 MHz correspond effectivement à la gamme de fréquence utilisée dans la littérature (6,5MHz pour Griffin et al. (2003) ou encore 5 Mhz pour Rinck (1996)). Des détails anatomiques de l'ordre du millimètre (résolution axiale de 0,3 mm) ont pu être observés et mesurés correctement.

La fonction Doppler de cet échographe n'a malheureusement pas pu être utilisée de façon optimale car les vaisseaux des fœtus étaient de trop petite taille. Le Doppler n'a donc été appliqué que pour déterminer la fréquence cardiaque des fœtus à partir de 13 jours de gestation.

Avec la mesure du diamètre aortique (qui a pu être effectuée sur quelques animaux à partir de J19 à la fin de l'étude), l'indice de résistance ou le débit sanguin auraient peut-être pu être calculés en fin de gestation (figure 77). Cette étude n'a pas été effectuée du fait de la difficulté à obtenir un spectre exploitable sur les fœtus, en particulier parce que cette machine ne possède pas la fonction "triplex" qui aurait permis d'ajuster la fenêtre échographique sur le sujet en mouvement tout en gardant la fonction Doppler).

Figure 77 : Echo-Doppler de l'aorte à J29



° Certains auteurs décrivent devoir anesthésier les lapines pour les échographies (Cubberley et al. (1982)). Grâce à la boîte de contention de conception unique, les échographies ont pu être réalisées sans anesthésie et sans le recours d'une aide extérieure pour la contention.

Le stress des lapines semble minime car la manœuvre de mise en place dans la boîte ne dure que quelques secondes. De plus, une fois en position dorsale et les yeux cachés, les lapines s'endorment pour le restant de l'examen (figure 78). Aucun avortement n'a été constaté suite à ces échographies durant la période d'étude et depuis la fin de cette étude (échographies pratiquées régulièrement à l'INRA).

Figure 78 : Lapine dormant dans la boîte de contention



2. Comparaison des observations échographiques avec les données publiées dans la littérature

Le faible nombre de références bibliographiques sur le développement embryonnaire et fœtal du lapin rend difficile les comparaisons avec notre étude. En effet, seule une vingtaine de documents a été trouvée. Le nombre encore plus limité de publications sur l'échographie de gestation de la lapine (seulement 4 documents) met en évidence l'originalité de cette étude et permet d'apporter des informations complémentaires à celles déjà existantes.

Le peu de documents existants peut être expliqué par la difficulté de contention de la lapine et par la petite taille des structures à mesurer.

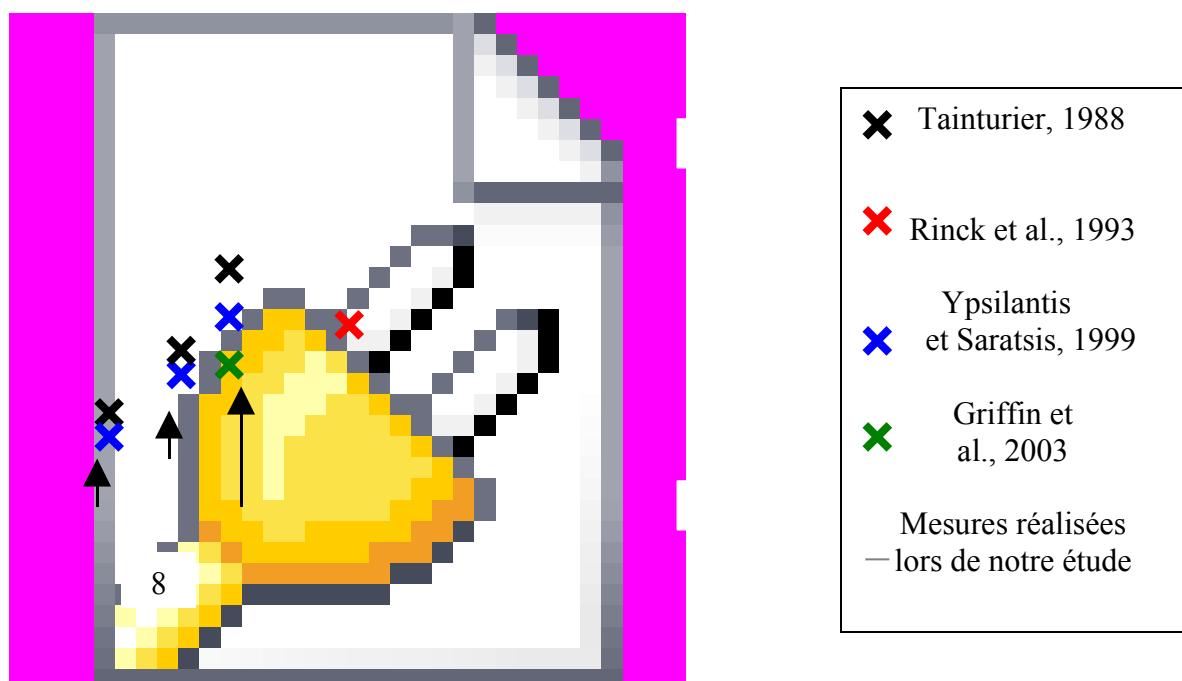
α. Première moitié de la gestation, diagnostic de gestation

Dans la littérature, la difficulté pour différencier fœtus et féces a lieu au 9^{ème} voire 10^{ème} jour de gestation (Ypsilantis et Saratsis, 1999).

- Au 9^{ème} jour de gestation, les vésicules embryonnaires sont bien visibles et mesurent en moyenne entre 9,59 et 1,82 mm selon le nombre de fœtus présents (figure 79). Suivant les auteurs, ces mesures varient de 8 mm (Griffin et al., 2003) à 16 mm de diamètre (Tainturier, 1988) en passant par 12mm (Ypsilantis et Saratsis, 1999).

- Au 10^{ème} jour de gestation, des divergences de taille commencent à apparaître entre les auteurs: 9mm (Rinck, 1993) à 17mm (Ypsilantis et Saratsis, 1999). La figure 79 compare les tailles des vésicules embryonnaires rapportées dans la littérature.
- Au delà du 13^{ème} jour de gestation, aucune donnée n'est disponible dans la littérature.

Figure 79 : Comparaison des tailles des vésicules embryonnaires rapportées dans la littérature et dans notre étude



Les mesures se rapprochant le plus de celles que nous avons effectuées sont celles réalisées par Ypsilantis et Saratsis (1999). Dans cette étude, les auteurs utilisent des lapines de race Néo-Zélandaise et la contention de la lapine était également manuelle mais la sonde utilisée était sectorielle avec une fréquence de 5 MHz.

Les différences de taille avec notre étude peuvent être expliquées par deux hypothèses :

- la sonde utilisée par Ypsilantis et Saratsis de 7,5 MHz permet une profondeur d'exploration moins élevée que celle utilisée dans notre étude (5 MHz), mais la résolution de l'image est supérieure.
- la sonde sectorielle entraîne une perte d'information sur les côtés de l'image échographique.

Tainturier (1988) utilise le même type de sonde (linéaire) que pour notre étude et une gamme de fréquence équivalente, mais une résolution axiale moins bonne (3 mm contre 0,3 mm avec notre échographe). De plus, l'étude est réalisée avec des lièvres. Cet auteur obtient des mesures légèrement supérieures. Ces résultats mettent en évidence l'importance de l'animal utilisé ainsi que la qualité de l'appareil échographique .

Même si la qualité du matériel est primordiale, cette comparaison suggère l'influence de la race, de l'expérimentateur et de la manière dont les mesures sont effectuées. Dans ces articles, on ne trouve aucune explication sur les repères anatomiques utilisés pour prendre les mesures, ni aucune photo échographique. Contrairement aux différents auteurs, nous avons systématiquement mesuré la longueur et la largeur de chaque vésicule embryonnaire. De plus, des photos réalisées à partir de l'échographe nous ont permis de mettre au point et de vérifier les mesures obtenues.

Aucune information n'est donnée par les différents auteurs sur le logement des lapines, leur alimentation ou leur provenance. Les lapines utilisées pour notre étude sont toutes nées à l'INRA, logées dans le même bâtiment et nourries avec la même alimentation (granulés). Une étude est actuellement en cours à l'INRA de Jouy-en-Josas pour analyser l'influence de l'alimentation de la mère sur le développement fœtal et placentaire du lapin.

Enfin, aucun auteur ne précise le nombre de lapines échographiées, ni le taux de résorption embryonnaire. Durant notre étude, aucune résorption embryonnaire n'a pu être notée de J7 à J13. Mais, il est impossible de savoir si des résorptions n'ont pas eu lieu avant J7, stade avant lequel aucune échographie ne peut être réalisée.

β. Du 13^{ième} au 29^{ième} jour

Peu de données bibliographiques existent au-delà du 13^{ième} jour de gestation. D'après Rinck (1993), ce n'est qu'au 17^{ième} jour que la colonne vertébrale et les membres sont identifiables. Aucune information n'est fournie sur la taille de ces structures.

Tainturier (1988) indique qu'au 19^{ième} jour de gestation, la longueur du fœtus est de 27 mm et à J24, celle-ci est de 42 mm. De plus, le cœur est visible au 29^{ième} jour et mesure 13 mm de long, mais la fréquence cardiaque n'est pas indiquée.

Notre étude montre que l'embryon entier est visible à partir de 13 jours de gestation et mesure en moyenne 7,3 et 8,9 mm de longueur. A 15 jours, la tête, le corps et le cœur sont visibles et mesurables. Les membres sont également discernables mais il faut attendre le 19^{ième} jour pour pouvoir les mesurer. C'est au 19^{ième} jour de gestation que s'achève l'organogenèse : on ne parle plus alors d'embryon mais de fœtus. Au 29^{ième} jour de gestation, la longueur du cœur est en moyenne de $10,65 \pm 1,95$ mm. Comme précédemment, les mesures annoncées par Tainturier (1988) (longueur du cœur : 13 mm) sont légèrement supérieures à celles de notre étude.

Durant cette période, une seule résorption embryonnaire a lieu entre J17 et J19 chez une lapine ayant reçue initialement 4 embryons. La taille de l'embryon avant la résorption était significativement la même que pour les autres embryons et aucune anomalie échographiquement visible n'a pu être mise en évidence. Cette résorption embryonnaire a donc eu lieu à la fin de l'embryogenèse, moment où l'on reconnaît qu'il s'agit véritablement d'un lapereau. Aucune information bibliographique n'est fourni sur la résorption embryonnaire chez le lapin.

Cette seule résorption embryonnaire a permis de confondre durant l'étude le nombre de fœtus présents lors de l'échographie avec le nombre de fœtus nés (Nx).

2) Comparaison des mesures échographiques avec celles réalisées après abattage

Les mesures réalisées par échographie sont globalement inférieures aux mesures réalisées après abattage. Cette différence peut être expliquée par deux hypothèses :

- L'échographe mesure au 1/10^{ième} de millimètre près. Les mesures réalisées sont donc beaucoup plus précises que celles réalisées après abattage à l'aide d'un pied à coulisse, précis au millimètre près.
- Lors des échographies, la compression qu'exerce les tissus et les liquides environnants sur la vésicule et l'embryon dans l'abdomen de la lapine disparaît lorsque les mesures sont réalisées après abattage.

3) Différences entre groupes selon le nombre d'embryons transférés et le nombre fœtus nés

1. Influence des facteurs extérieurs

Pour pouvoir réaliser une comparaison entre ces différents groupes, il faut évaluer les facteurs extérieurs pouvant influencer les résultats.

Les lapines utilisées pour notre étude sont de même race (Néo-Zélandaise) et toutes nullipares. Elles sont toutes nées à l'élevage de l'INRA et élevées dans le même bâtiment, avec la même luminosité (16 heures sur 24), dans des cages identiques. L'eau est servie à volonté et l'alimentation, distribuée sous forme des granulés complets, est identique pour toutes les lapines. Le seul facteur pouvant être modifié en fonction du climat est la température interne du bâtiment. Même si les fortes variations sont limitées, un décalage de quelques degrés est inévitable entre l'hiver et l'été.

Les facteurs extérieurs sont donc négligeables.

2. Comparaison entre groupes

L'étude de comparaison peut être menée sur deux points : d'une part, la différence entre groupes selon le nombre de fœtus transplantés (G1, G2, G3) et d'autre part, selon le nombre fœtus nés (N1...N6).

- *Aux stades précoce de gestation, il n'existe que peu de différences entre groupes*

L'étude graphique et statistique des mesures montre que les différences entre groupes sont faibles voire nulles avant 15 jours de gestation.

Prenons l'exemple de la longueur moyenne de la vésicule pour laquelle les mesures ont été effectuées du 7^{ème} jour au 15^{ème} jour de gestation. Quelque soit le nombre de fœtus nés (Nx), aucune différence significative entre les embryons n'est remarquable. De même, quelque soit le nombre d'embryons transférés initialement (Gy), la longueur des vésicules embryonnaires est proche, à l'exception du 13^{ème} jour de gestation. En effet, une différence significative entre les groupes G1, G2 et G3 est notée à J13. Les embryons issus du transfert de 2 embryons (G1) sont de taille supérieure aux embryons issus du transfert de 4 embryons (G2), eux-mêmes de taille supérieure aux embryons issus du transfert de 6 embryons (G3). Ceci est vérifiable aussi bien pour la longueur, la largeur, la surface et le périmètre de la vésicule.

L'étude statistique des dimensions de l'embryon entier au 13^{ème} jour de gestation montre des résultats similaires : aucune différence entre embryons selon le nombre de fœtus nés (Nx) mais une différence significative entre les groupes (Gy).

Enfin, l'étude des dimensions du placenta ne montre aucune différence entre les embryons quelque soit le nombre de fœtus nés (Nx) ou le nombre d'embryons transférés (Gy).

En début de gestation, les différences entre les mesures échographiques des embryons sont minimes. Ceci peut être expliqué par différentes hypothèses :

- les embryons ont suffisamment de place pour se développer correctement dans l'abdomen de la lapine sans qu'aucune compétition entre eux n'intervienne
- les besoins nutritionnels minimes à ces stades de gestation permettent un développement placentaire similaire et une croissance équivalente des embryons
- les dimensions très petites des structures à mesurer ne permettent pas encore de mettre en évidence des différences peut-être déjà existantes

- *Les différences entre groupes s'accentuent en fin de gestation*

Prenons l'exemple des dimensions de la tête (longueur, largeur, périmètre et surface). L'étude statistique, qui montre une différence significative entre les groupes (Gy) selon le nombre d'embryons transférés, est confirmée par l'étude graphique de l'évolution de la taille de la tête. Les fœtus issus du transfert de 2 embryons sont significativement plus grands que les fœtus issus du transfert de 4 embryons, eux-mêmes plus grands que les fœtus issus du transfert de 6 embryons :

G1>G2>G3. Cette différence s'accentue de façon significative avec le stade de gestation. Au 15^{ème} jour, la différence entre les groupes (Gy) est faible, alors qu'au 29^{ème} jour de gestation, elle est statistiquement et graphiquement beaucoup plus marquée.

Cette évolution se remarque pour d'autres mesures telles que le corps et le cœur du fœtus. A J15, la taille du cœur d'un fœtus issus du transfert de 2 embryons est statistiquement équivalente à celle d'un fœtus issus du transfert de 4 ou 6 embryons. C'est à partir du 21^{ème} jour de gestation que la différence est statistiquement significative.

Les résultats obtenus ne sont pas surprenants. Chez la plupart des espèces, plus le nombre de fœtus est élevé, plus leur taille et leur poids à la naissance vont être faible. Lorsqu'une chienne donne naissance à un seul chiot, celui-ci est souvent bien plus gros qu'un chiot issus d'une grande portée. De même, une gestation gémellaire chez une vache (Mercier et al., 1991), voire triple chez une brebis (Chevalier, 1988) donne naissance à des nouveaux-nés plus petits que la normale et souvent des conséquences post-natales irréversibles (diminution de la fertilité, densité musculaire plus faible...).

Différentes hypothèses peuvent tenter d'expliquer ces différences entre groupes en fin de gestation :

- le faible encombrement utérin peut être à l'origine d'une augmentation de la taille fœtale. Lorsque les nombre de fœtus est élevé, leur développement est limité par la capacité utérine de la lapine.
- une compétition entre les fœtus peut s'établir pour les besoins nutritionnels. Une hypotrophie fœtale pourrait modifier de façon durable les différents stades du développement (hypothèse de Barker).

Pére (2003) montre l'importance des apports nutritionnels au fœtus de lapin durant le dernier quart de gestation. Les échanges materno-fœtaux sont conditionnés par le flux sanguin de l'artère utérine et ombilicale, mais aussi par la concentration en substrat du sang maternel et fœtal, ainsi que par le développement et la perméabilité placentaire.

De même, l'importance de l'alimentation des femelles gestantes est mise en évidence par Chevalier (1988) qui établit un diagnostic précoce de gestation chez les brebis pour pouvoir adapter l'alimentation.

- l'emplacement des fœtus dans les cornes utérines pourrait influencer leur développement. Lebas (2002) met en évidence l'écart de poids (15 à 20%) existant entre les fœtus suivant leur position dans les cornes utérines. Le premier fœtus côté ovarien est toujours plus gros que les suivants car l'irrigation sanguine est meilleure. L'amplitude des variations s'accroît avec le nombre de fœtus.

Parallèlement à la croissance fœtale, la fréquence cardiaque est aussi différente en fonction du groupe. Le rythme cardiaque est de plus en plus élevé dans le temps quelque soit le nombre de fœtus. Mais, ce rythme est plus faible lorsqu'il y a un grand nombre de fœtus quelque soit le stade de gestation.

Cette différence de rythme cardiaque suivant le nombre de fœtus suggère l'importance de l'irrigation sanguine par l'artère utérine et ombilicale (Lebas, 2002). La diminution des battements cardiaques lors de la présence d'un grand nombre de fœtus peut être une adaptation à la diminution du flux sanguin apporté à chaque fœtus.

De plus, la malnutrition fœtale accentuée lors d'un nombre important de fœtus est peut-être à l'origine d'une diminution du rythme cardiaque afin d'assurer les apports nutritionnels minimums acceptables pour la survie des différents fœtus.

Une étude plus approfondie grâce à un suivi Doppler ainsi que l'étude de l'influence de l'alimentation maternelle sur le développement (travail en cours à l'INRA) permettraient peut-être d'apporter des informations complémentaires sur le développement placentaire et fœtal du lapin.

CONCLUSION

Les mesures échographiques réalisées durant 6 mois sur 30 lapines en gestation ont permis d'établir un atlas de données de référence.

Les résultats ont été bien standardisés grâce à la répétition des échographies dans les mêmes conditions (même échographe, même heure, même lieu), à l'utilisation d'animaux similaires (âge, alimentation, logement, primipares) et au transfert d'un nombre connu d'embryons. Le choix du transfert d'un nombre limité d'embryons a été réalisé pour apporter un complément d'information aux travaux effectués par l'UMR de l'INRA (exemple du clonage dont le travail porte toujours sur un nombre restreint d'embryons). Néanmoins, il serait intéressant de comparer le développement fœtal lors de saillie naturelle.

Cette étude trouve son originalité dans l'utilisation de l'échographe comme diagnostic de gestation sur des lapines, espèce chez laquelle les références bibliographiques sont encore peu nombreuses. Les résultats obtenus vont ainsi pouvoir compléter les informations déjà existantes. L'utilisation du Doppler n'a malheureusement pas pu être exploitée comme nous aurions pu l'espérer. Un suivi Doppler pourrait donc venir compléter ce travail et apporter de nouvelles informations sur le développement placentaire et fœtal du lapin.

Le suivi du développement fœtal trouve son importance dans le cadre du clonage où la comparaison entre les fœtus normaux et les fœtus clonés est indispensable pour mettre en évidence les anomalies de développement. Il en est de même pour les expériences de modification de l'alimentation maternelle (travaux de Pascale Chavatte-Palmer) qui consistent à montrer l'importance des apports maternels sur le développement in utero.

Cette étude peut aussi permettre d'apporter des informations aux vétérinaires praticiens pour lesquels le domaine des Nouveaux Animaux de Compagnies (N.A.C) est en plein expansion.

BIBLIOGRAPHIE

ARGENTE M.J, SANTACREU A, CLIMENT A, BOLET G, BLASCO A. (1997) Divergent selection for uterine capacity in rabbits. *J. Anim. Sci.*, **75**, 2350-2354.

BARONE R. (1973) *Atlas d'anatomie du lapin*. 2nd ed. Masson, 91-95.

BARTHEZ P. (2004) *L'image ultrasonore. Bases techniques et matériel*. [en-ligne], Lyon (France), Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Unité d'Imagerie [<http://www.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/11.Echo1/E1-notes.html>] (consulté le 17 août 2004).

BEAUDOIN S, BARBET P, BARGY F. (2003) Developmental stages in the rabbit embryo: guidelines to choose an appropriate experimental model. *Fetal Diagn Ther.*, **18**, 422-427.

BEGON D. (2002) *Technique échographique*. [en-ligne] Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité d'imagerie [http://www.vet-alfort.fr/Radiologie/TechniqueEcho/Pages/31_Puissance.html] (consulté le 17 août 2004).

BINKERD P.E, ANDERSON G.B. (1979) Transfert of cultured rabbit embryos. *Gamete Res.*, **2**, 65-73.

BOLET G, BRUN J.M, LECHEVESTRIER S, LOPEZ M, BOUCHER S. (2004) Evaluation of the reproductive performance of eight rabbit breeds on experimental farms. *Anim. Res.* **53**, 59-65.

BONE J.F. (1982) Anatomy of the female reproductive system. *Animal Anatomy and Physiology*. 4th ed, 377-382.

BOUSSIT D. (1989) *Reproduction et insémination artificielle en cuniculture*. CEZ Rambouillet, 234p.

CHEVALIER F (1988) Echographie de l'appareil génital des femelles domestiques. *Rec. Méd. Vet.*, **164**(2), 81-100.

CHOQUART V, TAINTURIER D, HAROUTUNIAN (1995) Echographie de l'appareil génital femelle. In : LE BOBINNEC G, PENNINCK D, JAKOVLJEVIG S, DE MADRON E, editors. *Echographie du chien et du chat*. Paris : Vigot, 70-87.

CUBBERLEY A, LEE G, LAUGHLIN L, WEINTRAUB B, CAUDLE R, NIELSON D. (1982) Importance of ultrasound determination of pregnancy in the rabbit. *Am. J. Vet. Res.*, **43**(10), 1802-1803.

ENGLAND G.C.W, EDWARD ALLEN W, PORTER D.J. (1990) Studies on canine pregnancy using B-mode ultrasound: Development of the conceptus and determination of gestational age. *Journal of Small Animal Practic*, **31**, 324-329.

FLOOD P.F. (1991) The Development of conceptus and its relationship to the uterus. In: *Reproduction in Domestic Animals*. 4th ed., Academic Press, Inc. , 315-348.

GRIFFIN P.C, BIENEN L, GILLIN C.M, MILLS S.L. (2003) Estimating pregnancy rates and litter size in snowshoe hares using ultrasound. *Wildlife Society Bulletin*, **31**(4), 1066-1072.

HEYMAN Y. (1988) Moment de la transplantation et succès de la gestation chez les mammifères. *Reprod. Nutr. Develop.*, **28**(6B), 1773-1780.

HOUILLON C. (1967) *Embryologie*. Collection Méthodes. Paris : Hermann, 183p..

KÄHN W. (1992) Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction. *Animal Reproduction Science*, **28**, 1-10.

LEBAS F. (2002) Le jeune : de la conception au sevrage. *Cuniculture*, n°165, **29**(3), 102-110.

LEBAS F, COUDERT P, DE ROCHAMBEAU H, THEBAULT R.G. (1996) Reproduction. In : *Le lapin : élevage et pathologie*. 51-67.

LEFRANCOIS T, TIRET L. (2000). *Physiologie de l'appareil reproducteur*. Polycopié. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique de Physiologie et de Thérapeutique. 88p..

MAÏ W, BEGON D, CHETBOUL V. (1994) *L'échographie en médecine vétérinaire canine & féline. Bases physiques et applications*. Polycopié. Ecole Nationale vétérinaire d'Alfort, Unité Pédagogique d'Imagerie. 97p.

MAILHAC J.M, CHAFFAUX S, LEGRAND J.J, CARLIER B, HEITZ F. (1980) Diagnostic de la gestation chez la chatte : utilisation de l'échographie. *Rec. Méd. Vét. Alfort*, **156**, 899-907.

MERCIER PARISOT P, MARTINOT S, TNIRIAT F, FRANCK M. (1991) Echographie et gestion de la reproduction chez les bovins. *Point Vétérinaire*, **23**(135), 33-39.

MILES C.G (1989) Basic principles and clinical applications of diagnostic ultrasonography. In: *The compendium on continuing education for the practicing veterinarian*, vol.11, n°5, 609-621.

PALMER E, DRIANCOURT M.A. (1980) Use of ultrasonic echography in equine gynecology. *Theriogenology*, **13**, 203-216.

PAREZ V. (1994) Reproduction chez la lapine. *Bull G.T.V.*, n°4, 43-46.

PARKES A.S. (1950) *Marshall's physiology of reproduction*. Vol.2. London: Longmans, green and co, 880p.

PERE M.C. (2003) Matero-foetal exchanges and utilisation of nutrients by the foetus: comparison between species. *Reprod. Nutr. Dev.*, **43**, 1-15.

PERIQUET J.C. (1998) *Le lapin : les cahiers de l'élevage*. Editions Rustica, 127p.

QUESTEL G. (1984) Contribution à l'étude de la fertilité chez le lapin domestique. *Mémoire de fin d'étude, INA Paris-Grignon, France*.

RINCK I, SEHIC M, BUTKOVIC V, STANIN D, KADUNC I. (1993) Ultrasonographic diagnosis of pregnancy in the rabbit. *Veterinarski archiv*, **63**(2), 61-65.

SABER A.S.M (1993) Anatomical and histological studies on the placenta of rabbit. *Assuit Vet. Med. J.*, **28**(56), 314.

TAINTURIER D. (1988) Diagnostic de gestation chez la chienne par échotomographie. *Rec. Méd. Vét.*, **164**(2), 145-149.

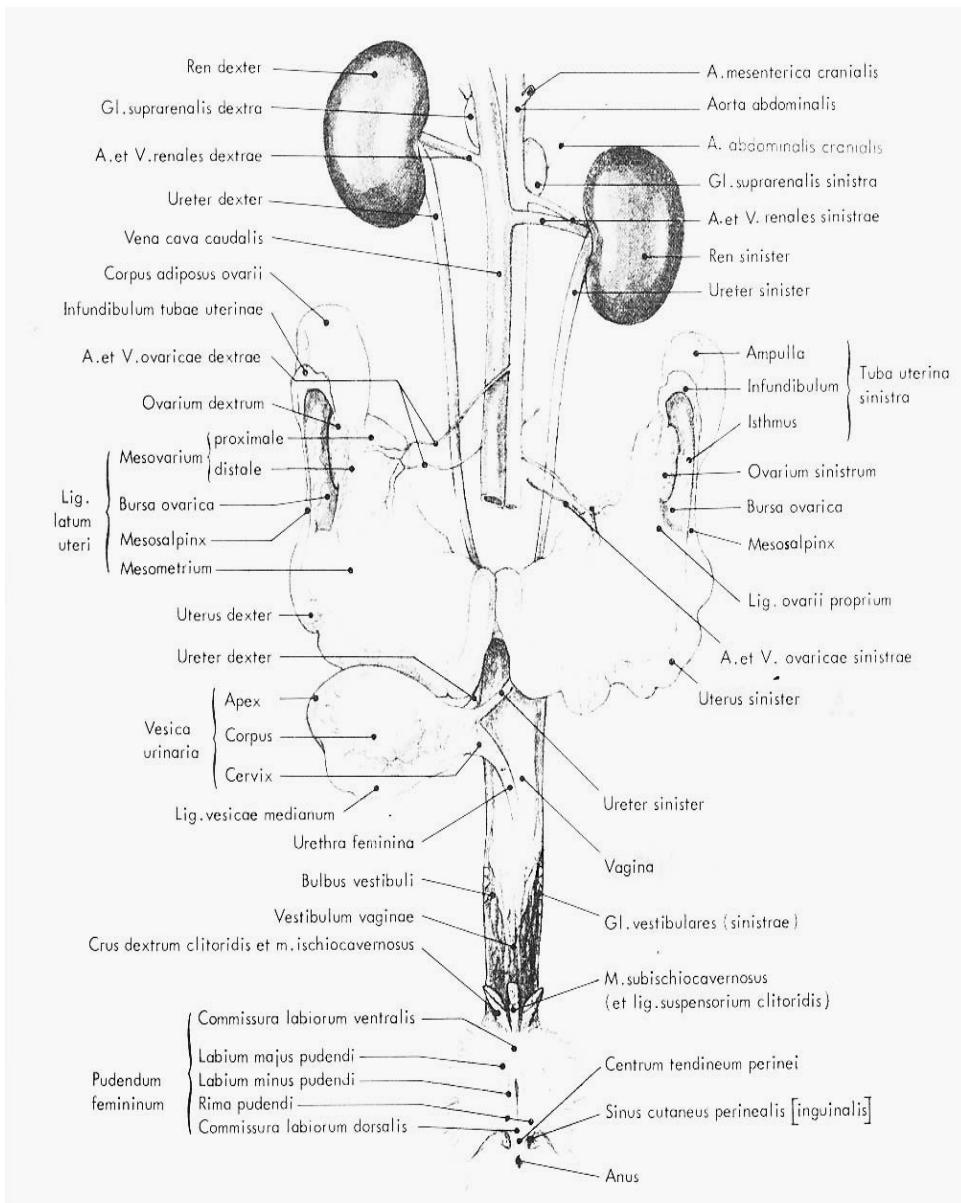
TAINTRIER D, FIENI F, ESCOUFLAIRE P. (1986) Diagnostic de la gestation chez la lapine par échotomographie. *Revue Med. Vet.*, **137**(3), 163-167.

THIBAULT C. (1967) Analyse comparée de la fécondation et de ses anomalies chez la brebis, la vache et la lapine. *Ann. Biol. Anim. Biophys.*, **7**(1), 5-23.

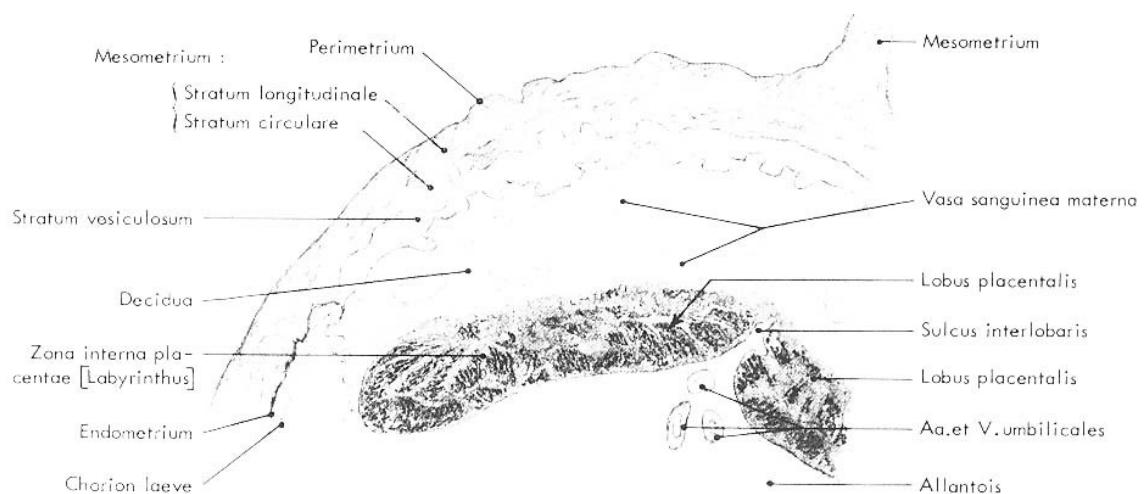
YPSILANTIS P, SARATSIS P. (1999) Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science*, **7**(2), 95-99.

ANNEXES

Annexe n°1 : Organes urinaires et génitaux de la lapine en vue ventrale (Barone, 1973)



Annexe n°2 : Coupe transversale du placenta en place au 26^{ème} jour (Barone, 1973)



Annexe n°3 : Table de régression combinant le diamètre bipariétal et le diamètre du corps du fœtus pour déterminer le nombre de jours avant la parturition de la chienne (England et al., 1990).

		Fetal biparietal head diameter (cm)																					
		1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	2.6	2.7	2.8	2.9	3.0	3.1	3.2	3.3
Fetal trunk diameter (cm)		0.6	26	25	24	24	23	23	22	21	21	20	20	19	18	18							
		0.8	25	24	24	23	23	22	21	21	20	20	19	18	18	17	17						
1.0	1.0	24	24	23	23	22	21	21	20	20	19	19	18	17	17	16	16						
	1.2	24	23	23	22	22	21	20	20	19	19	18	17	17	16	16	15	15	14				
1.4	1.4	23	23	22	22	21	20	20	19	19	18	17	17	16	16	15	14	14	13				
	1.6	23	22	22	21	20	20	19	19	18	17	17	16	16	15	15	14	13	13	12			
1.8	1.8	22	22	21	20	20	19	19	18	17	17	16	16	15	15	14	13	13	12	12	11		
	2.0	22	21	20	20	19	19	18	18	17	16	16	15	15	14	13	13	13	12	12	11	10	10
2.2	2.2	21	21	20	19	19	18	18	17	16	16	15	15	14	13	13	12	12	12	11	10	9	9
	2.4	21	20	19	19	18	18	17	16	16	15	15	14	13	13	12	12	12	11	11	10	9	8
2.6	2.6	20	19	19	18	18	17	16	16	15	15	14	14	13	12	12	12	11	10	9	9	8	8
	2.8	19	19	18	18	17	16	16	15	15	14	14	13	12	12	12	11	11	10	9	9	8	8
3.0	3.0	19	18	18	17	17	16	15	15	14	14	13	12	12	11	11	10	9	9	8	8	7	7
	3.2	18	18	17	17	16	15	15	14	14	13	12	12	11	11	10	9	9	8	8	7	7	6
3.4	3.4	18	17	17	16	15	15	14	14	13	12	12	11	11	10	10	9	8	8	7	7	6	5
	3.6	17	17	16	15	15	14	14	13	13	12	11	11	10	10	9	8	8	7	7	6	5	5
3.8	3.8	17	16	16	15	14	14	13	13	12	11	11	10	10	9	8	8	7	7	6	5	5	4
	4.0	16	16	15	14	14	13	13	12	11	11	10	10	9	8	8	7	7	6	6	5	4	4
4.2	4.2	16	15	14	14	13	13	12	11	11	10	10	9	8	8	7	7	6	6	5	4	4	3
	4.4	15	14	14	13	13	12	11	11	10	10	9	9	9	8	7	7	6	6	5	4	4	3
4.6	4.6	14	14	13	13	12	12	11	10	10	9	9	8	7	7	6	6	5	4	4	3	3	2
	4.8	14	13	13	12	12	11	10	10	9	9	8	7	7	6	6	5	4	4	3	3	2	2
5.0	5.0	13	12	12	11	10	10	9	9	8	7	7	6	6	5	5	4	3	3	2	2	1	0
	5.2	12	11	10	10	9	9	8	8	8	7	6	6	5	5	4	3	3	2	2	1	0	0
5.4	5.4	10	10	9	9	8	8	7	7	6	6	6	5	5	4	3	3	2	2	1	0	0	0
	5.6	9	9	8	8	7	6	6	5	5	5	4	3	3	2	2	2	1	1	0			
5.8	5.8	8	8	7	6	6	5	5	4	3	3	2	2	2	1	1	0						
	6.0	7	6	6	5	5	4	4	4	3	2	2	2	1	1	1	0						
6.2	6.2	6	5	5	4	4	3	2	2	2	1	1	1	0									
	6.4	5	4	4	3	2	2	1	1	0													

MACHET E.

CARACTERISATION DE LA CROISSANCE FŒTALE IN UTERO
PAR ECHOGRAPHIE CHEZ LA LAPINE

2006

