

28702

EVOLUTION DE LA CROISSANCE EMBRYONNAIRE CHEZ LA TRUIE PAR ECHOGRAPHIE D'ULTRASONS

Martine LEPERCQ (1), Françoise MARTINAT-BOTTE (2)
Y. FORGERIT (3), M. TERQUI (1)

1. I.N.R.A. - Physiologie de la Reproduction - 37380 NOUZILLY

2. I.T.P. - M.N.E. 149, rue de Bercy, 75579 PARIS Cedex 12

3. I.N.R.A.-S.E.I.A. - 86480 ROUILLE

INTRODUCTION

L'échographie d'ultrasons est actuellement en cours de développement chez un grand nombre d'espèces animales (CHEVALIER et PALMER, 1982; CHAFFAUX *et al.*, 1986; BOTERO *et al.*, 1986; TAINURIER *et al.*, 1986). Cette technique, dérivée de la médecine humaine, permet l'exploration de très nombreux organes, notamment celle de l'utérus (présence d'embryons ou non).

Chez la truie, l'échographie d'ultrasons apparaît comme une méthode fiable pour détecter précocément les conceptus (vésicules embryonnaires et embryons, MARTINAT-BOTTE *et al.*, 1985). Sa mise en oeuvre dans la pratique de l'élevage nécessitait de connaître plus précisément la croissance des vésicules embryonnaires et des embryons dans le premier tiers de la gestation.

MATERIEL ET METHODES

L'expérience a porté sur 321 truies entretenues dans quatre élevages.

L'appareil utilisé est un échographe de mode B en temps réel, muni d'une sonde à multicristaux d'une fréquence variable de 2 à 9 MHz (Toshiba SAL 32B).

1° MODE D'EXPLORATION

La technique d'exploration est celle décrite précédemment (BOTERO *et al.*, 1984). Cependant, pour chaque truie, un examen systématique à gauche et à droite est effectué par le même opérateur. La sonde est placée entre les deux cuisses et elle est déplacée doucement vers l'avant de l'animal. La visualisation de l'utérus commence lorsque les dernières images de la vessie apparaissent sur l'écran. L'exploration est terminée lorsque les anses intestinales apparaissent (cas à 21 j. post-insémination) ou lorsque la sonde touche les poils du ventre de la truie (cas à 28 j. de gestation et plus).

2° SCHÉMA EXPÉRIMENTAL

A partir de 21 jours post-insémination, les truies ont subi 6 examens échographiques à 7 jours d'intervalle, soit:

Examen 1: 21 ± 2 j.

Examen 2: 28 ± 2 j.

Examen 3: 35 ± 2 j.

Examen 4: 42 ± 2 j.

Examen 5: 49 ± 2 j.

Examen 6: 56 ± 2 j.

Pour les trois premiers examens (1, 2, 3), les images de toutes les explorations sont enregistrées grâce à un magnétoscope. Les examens 4, 5 et 6 sont réalisés pour confirmer l'état physiologique réel (gestation ou non) et connaître, dans le cas de gestation, les images des principaux événements embryonnaires.

Une truie est considérée comme gravide lorsqu'il apparaît sur l'écran, soit des taches noires de diamètre variable correspondant aux vésicules embryonnaires, soit des coupes de tissus correspondant aux foetus. Chez la truie vide, l'utérus apparaît comme un tissu très échogène, d'aspect hétérogène.

Les truies sont déclarées réellement gravides par l'enregistrement de la date de mise bas et du nombre de porcelets nés ou de la date d'avortement observé. Les truies sont notées vides par l'enregistrement de la date du retour en chaleur ou de la date de réforme des truies chez lesquelles aucun retour en oestrus n'a été détecté.

Pour chaque truie, la parité, le type génétique sont notés. Trois types génétiques sont représentés dans l'échantillon: Large White (LW), Large White x Landrace (LW x LD) et croisées.

3° ANALYSE DES IMAGES ÉCHOGRAPHIQUES ET DES DONNÉES

Toutes les images sont visionnées à vitesse lente par passage sur l'écran d'un moniteur, afin de repérer les truies vides et de déterminer, chez les gravides lesquelles des images des vésicules embryonnaires et des embryons doivent être dessinées. Ainsi, à chaque exploration, les vésicules embryonnaires et embryons sont décalquées, par une même personne, après arrêt de l'image. Sur les dessins en résultant, le diamètre vertical des vésicules ($n=6622$), la "longueur" ou le "diamètre" des embryons (ceci en fonction du plan de coupe, $n=838$) sont mesurés. Leur répartition est donnée dans le Tableau 1. Le calcul des surfaces des vésicules ($n=6622$) est réalisé grâce à un planimètre automatique. L'appareil utilisé permet de calculer les surfaces opaques ne laissant pas passer la lumière; aussi a-t-il nécessité, d'une part, de colorier l'ensemble des vésicules et, d'autre part, d'étalonner l'appareil avant de réaliser les mesures.

Une analyse de variance multivariable est appliquée aux variables: diamètre vertical et surfaces des vésicules embryonnaires testées par rapport aux facteurs, type génétique, stade de gestation, parité, nombre de vésicules et résultat final (BACHACOU *et al.*, 1981). Une analyse de variance similaire est appliquée aux variables "diamètre" ou "longueur" des embryons.

RÉSULTATS

Parmi les 321 truies examinées à 21 ± 2 jours, 233 étaient gravides. C'est sur cet échantillon que la croissance des "conceptus" (vésicules embryonnaires, embryons) est établie. 222 femelles (soit, 69,1 %) ont mis bas de 11,4 porcelets en moyenne. L'arrêt de la gestation peut être évalué à 4,8 %: soit par résorption totale des embryons, 3 % entre 19 et 37 jours de gestation, soit par avortement, 1,8 % entre 47 et 58 jours.

TABLEAU 1
NOMBRE DE VESICULES EMBRYONNAIRES ET D'EMBRYONS COUPES TRANSVERSALEMENT
(« diamètre ») ET LONGITUDINALEMENT (« longueur ») A CHAQUE STADE DE GESTATION

Stade de gestation (jours post- insemination)	Nbre de truies gravides	Nbre de Vésicules embryonnaires	Nbre d'embryons		
			Diamètre	Longueur	Total
19	17	171	—	—	—
20	26	230	—	—	—
21	64	579	2	—	2
22	70	603	7	8	15
23	56	455	6	8	14
26	18	137	13	10	23
27	26	230	27	12	39
28	62	605	65	33	98
29	60	602	68	35	103
30	62	628	74	36	110
33	16	170	19	4	23
34	27	278	40	15	55
35	63	652	92	24	116
36	61	690	83	33	116
37	59	592	89	35	124
Total général		6622	585	253	838

J₀ : 1^{er} jour de l'insémination.

1° VISUALISATION DU TRACTUS GENITAL ET DE SON CONTENU

Chez les truies gravides, les images échographiques de l'utérus évoluent en fonction du stade de gestation. Les principales étapes sont résumées dans le Tableau 2. Dès 18 jours de gestation, les

TABLEAU 2
EVOLUTION DES IMAGES ECHOGRAPHIQUES DE L'UTERUS AU COURS DE LA GESTATION

Stade de gestation (en jours post-insémination)	Images des	
	vésicules embryonnaires	embryons et foetus
19-22	- Taches noires ± sphériques - Augmentation de taille	- Non visible
23-28	- Croissance rapide	- Embryons : taches très écho- gènes, situées contre ou près de la paroi des vésicules
29-34	- Tailles variables - Croissance paraissant stoppée	- Croissance rapide - Morphologie non identifiable (pulsations cardiaques vues à 30 j.)
35-39		- Tête, tronc distincts - Points « d'ossification » observés au niveau de la tête et de la colonne vertébrale
40 et plus		- Foetus ossifiés : crâne et cage thoracique visibles - Mouvements des foetus repé- rables

vésicules embryonnaires apparaissent comme des taches noires plus ou moins sphériques se détachant du tissu échogène. Les embryons sont visibles à partir de 21 jours; ce sont des taches denses à l'intérieur des vésicules, mais ce n'est qu'à 40 jours et plus que les différentes parties des foetus peuvent être repérées.

Chez les truies vides, à l'approche de l'oestrus, les images de l'utérus sont très échogènes, les coupes de l'utérus sont visibles et la lumière utérine est souvent visualisée. Au cours de la phase lutéale ou en début de phase folliculaire, les images restent échogènes, plus ou moins contrastées, mais les coupes de l'utérus ne sont pas identifiables. Les ovaires sont situés très souvent près de la vessie; ils apparaissent sous forme de taches noires, accolées les unes aux autres, plus ou moins grandes.

Les ovaires ne sont pas toujours visualisés chez les truies vides (dans environ 60% des cas). Toutefois, lorsque les follicules ont évolué vers des follicules kystiques, ils sont facilement repérés (MADEC *et al.*, 1987).

2° CROISSANCE DES VÉSICULES EMBRYONNAIRES

Les deux variables analysées -diamètre vertical, surface des vésicules- sont très corrélées entre elles ($P < 0.001$). Nous ne présenterons que les résultats ayant trait au diamètre vertical, cette mesure pouvant être effectuée directement avec l'échographe utilisé après fixation préalable de l'image. Une croissance rapide du diamètre vertical des vésicules embryonnaires est observée entre 19 et 26 jours. Durant cette période, le diamètre est multiplié par 4.5. Les valeurs maximums sont atteintes entre 27 et 30 jours (38 et 40 mm respectivement); les vésicules semblent décroître ensuite apparemment (Fig. 1).

L'évolution de la forme des vésicules au cours de la gestation est évaluée par le biais de la valeur du rapport - coefficient de sphéricité:

$$\frac{\pi (\text{diamètre vertical})^2}{4} \times \frac{1}{\text{surface mesurée au planimètre}}$$

et répartie arbitrairement en trois classes:

- Classe 1: vésicules "aplaties", valeurs inférieures à 0,8
- Classe 2: vésicules "sphériques", valeurs comprises entre 0,8 et 1,2
- Classe 3: vésicules "allongées dans le sens vertical" pour les valeurs supérieures à 1,2

C'est entre 19 et 23 jours que la proportion de vésicules "sphériques" est la plus élevée. Le maximum de vésicules "aplaties" est notée entre 26 et 30 jours (Fig. 2).

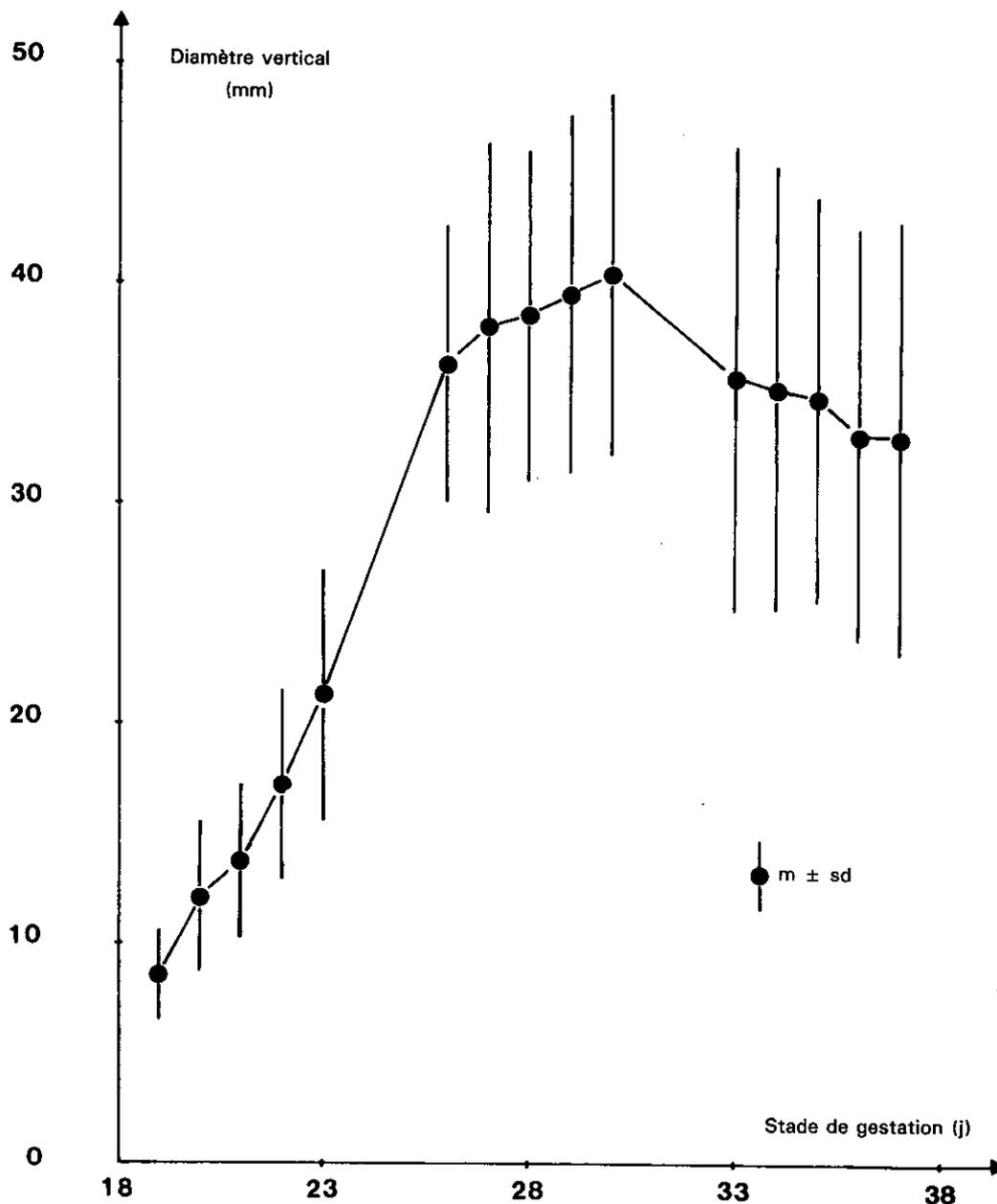
Le type génétique de la truie, sa parité interfèrent peu sur la croissance des vésicules embryonnaires.

3° CROISSANCE DES EMBRYONS

Au cours de cette étude, 838 embryons sont mesurés. Quel que soit le stade de gestation, il est visualisé trois fois moins d'embryons que de vésicules embryonnaires. Les embryons sont plus souvent vus en coupe transversale ("diamètre", $n = 585$) que longitudinale ("longueur", $n = 253$).

Le calcul des droites de régression permet de connaître la croissance des embryons: elle est linéaire entre 21 et 31 jours de gestation et ce, quel que soit le plan de coupe (transversal ou longitudinal) (Fig. 3).

FIGURE 1
EVOLUTION DU DIAMETRE VERTICAL MOYEN DES VESICULES EMBRYONNAIRES
EN FONCTION DU STADE DE GESTATION.



Par ailleurs, les coefficients de variation sont plus faibles que ceux calculés lors des mesures des vésicules embryonnaires et ce, pour un même stade de gestation (Tabl. 3). Nous avons comparé nos mesures échographiques de "longueur" des embryons à celles cranio-caudales réalisées après abattage. A 30 jours de gestation, la "longueur" des embryons est, en moyenne, inférieure de 4 mm à celles mesurées après abattage (Tabl. 4).

Le type génétique de la truie, sa parité, n'interfèrent pas sur la croissance des embryons.

FIGURE 2

EVOLUTION DE LA FORME DES VESICULES EMBRYONNAIRES EN FONCTION DU STADE DE GESTATION

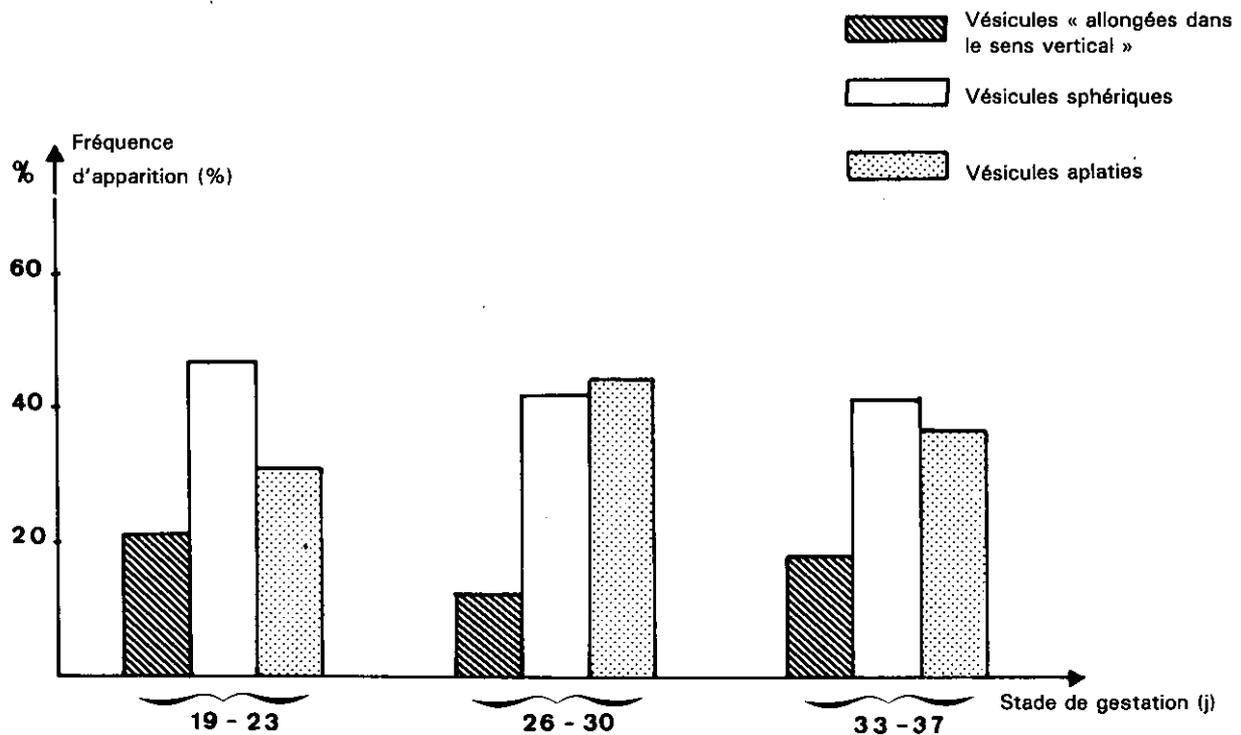


TABLEAU 3

VALEUR DU COEFFICIENT DE VARIATION (%) EN FONCTION DU STADE DE GESTATION
 POUR LES MESURES EFFECTUEES SUR LES VESICULES
 (diamètre vertical) ET LES EMBRYONS (« diamètre », « longueur »)

Stade de gestation (jour post-insémination)	Vésicules embryonnaires	Embryons	
		« Diamètre »	« Longueur »
19	24	—	—
20	28	—	—
21	25	20	—
22	25	22	24
23	27	20	24
26	17	12	14
27	22	18	14
28	19	16	18
29	20	19	15
30	20	17	17
33	29	14	10
34	28	11	22
35	26	12	19
36	28	12	20
37	30	13	27

J₀ : 1^{er} jour de l'insémination.

« diamètre » : embryons coupés transversalement

« longueur » : embryons coupés longitudinalement

FIGURE 3
CROISSANCE DES EMBRYONS COUPÉS TRANSVERSALEMENT — « DIAMÈTRE » — OU
LONGITUDINALEMENT — « LONGUEUR » — EN FONCTION DU STADE DE GESTATION

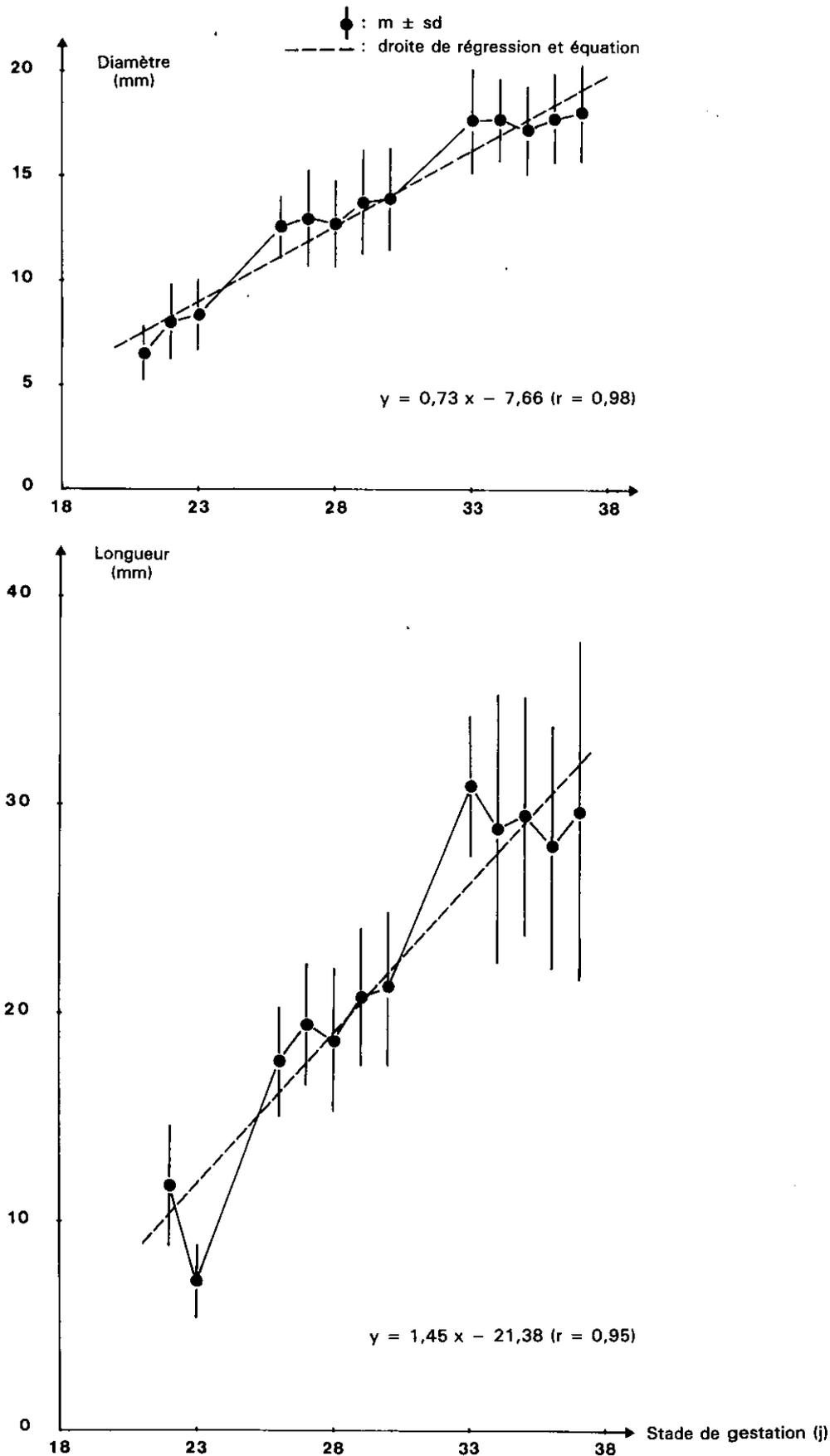


TABLEAU 4

COMPARAISON DES MESURES DE « LONGUEUR » D'EMBRYONS OBTENUES PAR ECHOGRAFIE D'ULTRASONS A CELLES CRANIO-CAUDALES REALISEES APRES ABATTAGE (valeurs moyennes)

Stade de gestation (en jours)	Mesures par échographie « Longueur » (mm)	Mesures crânio-caudales après abattage (mm)	
		I	II
22	11,7	—	11
26	17,7	—	19
30	21,2	25	25
35	29,6	35	—

I : KNIGHT *et al.*, 1977

II : ANDERSON, 1975

4° PREVISION DE LA TAILLE DE LA PORTEE

La prévision de la taille de la portée (porcelets nés totaux/truie) à partir du nombre de vésicules dénombrées entre 19 et 35 jours n'est pas possible, les valeurs des coefficients de corrélations de rang de Spearman étant très faibles (comprises entre 0,16 et 0,27).

5° SOURCES D'ERREURS AU MOMENT DU DIAGNOSTIC

Ce travail permet d'évaluer les différentes erreurs commises lors d'un examen. Elles interviennent au moment du calcul de l'exactitude du diagnostic et ont deux origines (cas d'explorations réalisées par un opérateur entraîné à la lecture des images échographiques):

- Une première source d'erreurs est liée à l'opérateur. Elles sont estimées en comparant le résultat du diagnostic noté au moment de l'échographie aux images enregistrées et relues ultérieurement sur un moniteur. Ainsi, au cours de cette expérience, nous avons commis 5 erreurs d'inattention à 21 ± 2 jours (soit 2,2% pour les six examens). Quatre truies avaient été diagnostiquées vides; en relisant les images, elles étaient gravides. Une erreur, dans le sens inverse, a également été faite.

- Une seconde source d'écart résulterait de résorption embryonnaire totale et représente 3p100.

L'exactitude, calculée à 21 jours est de 94,8%. Elle atteint 100% pour les examens réalisés entre 33 et 58 jours (examens 3, 4, 5, 6).

DISCUSSION

Chez la truie, avant 18 jours de gestation, la visualisation des vésicules embryonnaires est difficile pour les raisons suivantes:

- les quantités de fluides allantoïdiens et amniotiques sont très faibles (<3 ml et 1 ml/embryon respectivement: GOLDSTEIN *et al.*, 1980; KNIGHT *et al.*, 1977),

- l'attachement définitif du placenta à la surface utérine ne se réalise que vers le 18e jour de gestation (PERRY, 1981).

Il est donc logique que la visualisation de ces structures fixes et liquidiennes (les vésicules embryonnaires) commence à partir de 18 jours chez la truie. Leur croissance est très rapide entre

20 et 30 jours de gestation. Cette évolution est parallèle à celle du liquide allantoïdien. En effet, chez des truies croisées, KNIGHT *et al.* (1977) et GOLDSTEIN *et al.* (1980) observent une première augmentation du liquide allantoïdien entre 20 et 30 jours avec un maximum à 30 jours (180 à 200 ml) alors que le liquide amniotique n'augmente qu'à partir du 2^e mois de gestation. Cet accroissement rapide doit être aussi relié à la montée des oestrogènes observée chez les truies LW gravides entre 20 et 30 jours, le maximum se situant à 25 jours (TERQUI, 1978).

Les embryons ne sont pas repérés par échographie avant 21 jours, bien qu'à 17 jours, ils atteignent 5 mm de longueur et 10 mm à 20 jours (BARRONE, 1978). A 30 jours, les segments des membres sont constitués, mais nous n'en commençons la visualisation qu'à partir de 40 jours. A 35 jours, le coeur, les poumons, le foie sont différenciés, l'ossification a commencé (BRADLEY & PATTERN, 1948), mais seul le coeur est repéré par échographie à ce stade. De même, l'ossification n'est décelée qu'à partir de 37 jours au niveau de la colonne vertébrale et du crâne. Il y a donc un décalage entre le début des événements embryologiques et nos observations. Ceci s'explique, d'une part, par les limites des appareils utilisés et, d'autre part, par notre inexpérience dans la lecture des images des coupes des tissus des foetus. Un léger décalage est également noté entre les mesures de "longueur" des embryons et les mesures cranio-caudales réalisées après abattage. Quant aux mesures de "diamètre" de l'embryon, nous n'avons pas trouvé de données comparatives dans la bibliographie. Entre 19 et 25 jours, la mesure du diamètre vertical des vésicules embryonnaires rend compte du stade de gestation; après 26 jours, c'est celles des embryons (coefficients de variation faibles). Ces derniers sont moins soumis que les liquides aux variations de pression exercées par l'application de la sonde.

L'échographie d'ultrasons permet d'évaluer avec précision le pourcentage de femelles présentant une résorption embryonnaire totale. Dans le cas de cette étude, il est estimé à 3% (7 femelles). Or, la croissance des vésicules de ces animaux n'est pas significativement inférieure aux données moyennes pour un même stade de gestation. Il semble qu'il ne soit pas possible, par ces mesures, de prédire cet événement, mais le faible nombre de données ne nous permet pas de conclure. De même, il n'est pas possible de prédire la taille de la portée par comptage des vésicules, à un stade donné. Ce résultat s'explique, en partie, par la morphologie des cornes utérines qui présentent, chez la truie, de nombreuses circonvolutions. Lors des explorations, nous avons réalisé des coupes selon des plans le plus souvent "anarchiques"; aussi, avons-nous sous-estimé et/ou surestimé le nombre de vésicules.

CONCLUSION

Nos résultats démontrent que la croissance des embryons, chez la truie, peut être suivie par exploration ultrasonore. Le caractère totalement inoffensif de cet examen autorise sa répétition sans danger.

L'évolution des vésicules embryonnaires est très rapide entre 22 et 30 jours de gestation. Or, à ce stade, l'embryon est de taille plus réduite, laissant au liquide une place telle que les images sont faciles à interpréter. Ceci suggère que c'est à partir de 22 jours que le diagnostic de gestation doit être appliqué et, plus particulièrement, par des opérateurs en cours de formation. Au-delà de 35 jours, l'interprétation des images requiert, de la part de l'opérateur, une solide expérience car des coupes de tissus des foetus sont réalisées.

Cette étude démontre aussi que le suivi par échographie de truies gravides permet, d'une part, de connaître avec précision la fertilité d'un troupeau à un instant donné et, d'autre part, de déceler très rapidement les problèmes d'infertilité par le biais de l'évaluation du taux de résorption embryonnaire totale. Cependant, il n'est pas possible d'estimer la mortalité embryonnaire partielle car, par cette technique, nous ne pouvons pas connaître, actuellement, le nombre exact d'embryons ou de foetus présents dans l'utérus.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier chaleureusement MM. DUPUY, LEPERCQ, POUGET, ROUSSEAU, qui nous ont permis de réaliser cette étude. Nous exprimons toute notre reconnaissance à Mme H. CORBE et M. M. TANGUY pour l'aide et les conseils dans le traitement informatique des données.

BIBLIOGRAPHIE

- ANDERSON L.L., 1975. *Am. J. Physiol.*, **229**, 1687-1694.
- BACHACOU J., MASSON J.P., MILLIER C., 1981. Département de Biométrie, pp. 516 ; INRA, Copedith.
- BARRONE P., 1978. Anatomie comparée des Mammifères domestiques. Tome III, pp. 506-677, E.N.V. Lyon.
- BOTERO O., MARTINAT-BOTTE F., CHEVALIER F., 1984. *Journées Rech. porcine en France*, **16**, 181-188.
- BOTERO O., MARTINAT-BOTTE F., BARITEAU F., 1986. *Theriogenology*, **26**, 267-278.
- BRADLEY M., PATTEN C., 1948. *Embryology of the Pig*. pp. 352. McGraw Hill Book Company.
- CHAFFAUX S., REDDY G.N.S., VALON F., THIBIER M., 1986. *Anim. Reprod. Sci.*, **10**, 193-200.
- CHEVALIER F., PALMER E., 1982. *J. Reprod. Fert., Suppl.* **32**, 423-430.
- GOLDSTEIN M.H., BAZER F.W., BARRON D.H., 1980. *Biol. Reprod.*, **22**, 1168-1180.
- KNIGHT J.W., BAZER F.W., THATCHER W.W., FRANKE D.E., WALLACE H.D., 1977. *J. Anim. Sci.*, **44**, 620-637.
- MADEC F., MARTINAT-BOTTE F., LE DENMAT M., FORGERIT Y., 1987. *Journées Rech. porcine en France*, **19**, 135-142.
- MARTINAT-BOTTE F., BOTERO O., BARITEAU F., 1985. *Journées Rech. porcine en France*, **17**, 155-162.
- PERRY J.S., 1981. *J. Reprod. Fert.*, **62**, 321-335.
- TAINTURIER D., FIENI F., ESCOUFLAIRE Ph., 1986. *Rev. Med. Vét.*, **137**, 163-167.
- TERQUI M., 1978. Thèse Doct. Etat ès Sci. Nat., Univ. Paris VI, 86 pp.