

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE EL-HADJ LAKHDAR BATNA
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES**



MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTERE

Filière

Sciences Vétérinaires

Option

Maitrise des facteurs de la reproduction chez les herbivores

Présenté par :

BELKACEM Lilia

Thème

**APPROCHE DE LA BIOPSIE ECHO-GUIDEE DE LA
GLANDE MAMMAIRE CHEZ LA BREBIS**

JURY

Président : Tlidjane M.

Examineur : Bouaziz O.

Examineur : Tebbani A.Y.

Rapporteur : Alloui N.

Invité : Aissi A.

Prof. - Université El-Hadj Lakhdar Batna

M.C.- Université Mentouri Constantine

M.C.- Université El-Hadj Lakhdar Batna

Prof.- Université El-Hadj Lakhdar Batna

M.C.- Université El-Hadj Lakhdar Batna

Année universitaire : 2011-2012

REMERCIEMENTS

J'adresse, en premier lieu, mes Remerciements les plus respectueux et sincères au Professeur *N. ALLOUI* qui a accepté de m'encadrer afin de mener à terme ce travail.

Je tiens à remercier vivement Messieurs les Membres de Jury qui ont accepté d'évaluer le présent travail:

- **Mr. M.TLIDJANE**, Professeur à l'Université de Batna qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury. Qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance et de notre profond respect.
- **Mr. O. BOUAZIZ**, Maître de conférences à l'Université de Constantine, qui nous a fait l'honneur de participer au Jury. Sincères remerciements.
- **Mr. A.Y. TEBBANI.**, Maître de conférences à l'Université de Batna, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Sincères remerciements.

J'adresse également mes remerciements, les plus respectueux à :

- **Mr. A. AISSI**, Maître de conférences à l'Université de Batna, pour m'avoir proposé le sujet de recherche et aidé à la réalisation pratique du travail expérimental au service d'imagerie et de chirurgie du département vétérinaire.
- **Mr. S. DJAABA**, Maître assistant au C.H.U de Batna, pour son aide précieuse dans la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie très respectueusement Mr. *T. MEZIANE.*, Professeur à l'Université de Batna, coordonnateur de l'Ecole Doctorale ; et également Mr. *F. NOUICER* pour ses conseils avisés, *Mr. M. BELKHIRI* ainsi que tous les enseignants du département vétérinaire de l'Université de Batna et les enseignants de l'Université de Tiaret et de Taref qui ont participé à notre formation.

Et enfin, Je remercie, chaleureusement, les étudiants vétérinaires qui m'ont apporté leur aide, le Personnel de l'animalerie au département Vétérinaire ainsi que le Personnel du service d'anatomie pathologique du C.H.U Batna.

DEDICACES

A mes PARENTS, j'espère que vous trouverez dans ce travail ma profonde reconnaissance et mon grand amour pour vous.

A mon ÉPOUX KARIM pour son énorme soutien et à Mes Enfants : Lyne, Cherif, Wassim

A toi GRAND-MERE pour tes prières et ton amour.

A mes frères : MEHDI, son épouse et ses enfants, MOHAMED et MONCEF.

A mes sœurs : LAMIA, son conjoint et ses enfants ; SONIA et sa petite famille

A toute ma FAMILLE et ma BELLE FAMILLE.

A HAKIMA.B.

A DJOHRA. A

A toutes mes amies.

A toute la promotion de l'École Doctorale "Batna, Tiaret et El Taref"

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	2
PARTIE I : RAPPELS D'ANATOMIE, HISTOLOGIE ET PHYSIOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE DES RUMINANTS	3
1. ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE	3
1.1. Topographie et conformation	3
1.2. Structure	3
1.2.1. La peau et le trayon	4
1.2.2. L'appareil suspenseur des mamelles	5
1.2.3. Le parenchyme mammaire	5
a. LA charpente conjonctive	5
b. Le tissu glandulaire	5
1.2.4. Les voies d'excrétion du lait	6
1.3. Irrigation et innervation des mamelles	8
1.3.1. Irrigation artérielle	8
1.3.2. Irrigation veineuse	8
1.3.3. Drainage lymphatique	9
1.3.4. Innervation	10
2. HISTOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE	10
2.1. Histologie du parenchyme glandulaire normal	10
a. Les alvéoles	10
b. Les voies d'excrétion ou canaux galactophores	11
2.2. Histologie du trayon	13
2.3. Le stroma	13
2.4. La cellule épithéliale mammaire ou lactocyte	14
3. PHYSIOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE DES RUMINANTS	15
3.1. LA MAMMOGENESE ET SON CONTROLE HORMONAL	15
3.1.1. Développement et différenciation de la glande mammaire	15
3.1.1.1. Développement mammaire <i>in utero</i>	15
3.1.1.2. Développement mammaire entre la naissance et la puberté	17
3.1.1.3. Développement mammaire après la puberté, les cycles œstraux	18
3.1.1.4. Développement et différenciation de la glande mammaire pendant la première gestation	18
3.1.1.5. Développement mammaire au cours d'une gestation suivante	19
3.1.2. Contrôle endocrine et paracrine du développement mammaire	20
3.1.2.1. Contrôle endocrine de la mammogénèse	20
a. Les hormones stéroïdiennes	21
b. Les hormones hypophysaires	23
c. L'hormone placentaire lactogène	24
d. Les glucocorticoïdes	24
3.1.2.2. Contrôle paracrine du développement mammaire	24

3.2. LA LACTOGENESE	25
3.2.1. La lactogénèse I et II	25
3.2.2. Contrôle hormonal de la lactogénèse	26
a. Les hormones stéroïdiennes	26
b. La prolactine	27
c. L'hormone placentaire lactogène	28
d. La somatotropine	28
e. Les glucocorticoïdes	28
f. L'insuline	29
3.3. LA GALACTOPOÏESE ET SON CONTROLE HORMONAL	29
a. La prolactine	29
b. L'hormone de croissance (somatotropine)	30
c. Les glucocorticoïdes	30
d. Les hormones thyroïdiennes	30
e. L'insuline	30
3.4. L'INVOLUTION DE LA GLANDE MAMMAIRE	30
PARTIE II : L'ECHOGRAPHIE ET LA BIOPSIE ECHOGUIDEE	31
1. LES PRINCIPES DE L'ECHOGRAPHIE	31
1.1. Formation de l'onde ultrasonore	31
1.2. Le faisceau d'ultrasons	31
1.3. Interaction des ultrasons avec les tissus	32
1.3.1. Notion d'impédance acoustique	32
1.3.2. La réflexion et la réfraction des ultrasons	33
1.3.3. La diffusion ou la réflexion multidirectionnelle	33
1.3.4. L'atténuation des ultrasons	34
1.4. Les modes de traitement des échos	34
1.4.1. Mode A amplitude ou mode unidimensionnel	34
1.4.2. Mode B Brillance	34
1.4.3. Mode TM ou Temps-Mouvement	35
1.4.4. Mode Doppler	35
1.5. Les types de sondes et techniques de balayage	35
1.5.1. Balayage mécanique	35
1.5.2. Balayage électronique	35
1.6. Interprétation des images échographiques	36
1.6.1. Images de contours et de tissus divers	36
1.6.2. Images de tissus	36
1.6.3. Images de liquides et des gaz	36
2. LA BIOPSIE ECHOGUIDEE AU PISTOLET AUTOMATIQUE	37
2.1. Matériel de la biopsie	37
2.2. Technique de la biopsie	38

PARTIE PRATIQUE	40
II. MATERIEL ET METHODES	41
1. Matériel	41
1.1. Animaux	41
1.2. Equipement échographique	41
1.3. Matériel de biopsie	42
1.4. Microscope optique	42
2. Méthodes	43
2.1. Etapes de réalisation des biopsies mammaires	43
2.2. Techniques de traitement des prélèvements histologiques	47
2.3. Méthode d'observation et principe de lecture	48
III. RESULTATS	49
1. Description des images échographiques	49
1.1. Description des images échographiques du tissu mammaire sain	49
1.2. Description des images échographiques du tissu mammaire anormal	53
2. Etude histologique descriptive du tissu mammaire	55
2.1. Description des lames histologiques de tissu mammaire sain	55
a. Histologie du tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation	55
b. Histologie du tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation	59
c. Histologie du tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation	64
d. Histologie du tissu mammaire de brebis en fin de gestation	69
e. Histologie du tissu mammaire de brebis en début de lactation	75
2.2. Description des lames histologiques du tissu mammaire anormal	79
IV. DISCUSSION	80
1. Méthode choisie pour la biopsie mammaire	80
2. Résultats de l'examen échographique de la glande mammaire	82
3. Résultats histologiques de la glande mammaire	83
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	86
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	87
RESUME.	

LISTE DES ILLUSTRATIONS

<u>LISTE DES FIGURES</u>	<u>Page</u>
<u>Figure 01:</u> Conformation extérieure de la mamelle chez la brebis (Barone, 1978)	4
<u>Figure 02:</u> Organisation interne de la glande mammaire (Constantinescu et Constantinescu, 2010)	6
<u>Figure 03:</u> Anatomie de la mamelle des ruminants (Constantinescu et Constantinescu, 2010)	7
<u>Figure 04:</u> Artères et veines des mamelles chez la brebis (Barone, 1978)	9
<u>Figure 05:</u> Schéma illustrant les voies du drainage lymphatique de la glande mammaire chez la brebis (Heath et Kerlin, 1986)	10
<u>Figure 06:</u> Structure d'une alvéole glandulaire (Barone, 1978)	11
<u>Figure 07:</u> Coupes histologiques du tissu glandulaire mammaire bovin (Bragulla et König, 2004)	12
<u>Figure 08:</u> Coupe longitudinale de trayon de la brebis (Aughey et Frye, 2001)	13
<u>Figure 09:</u> Représentation schématique d'une cellule épithéliale mammaire complètement différenciée (Houdebine, 2007)	14
<u>Figure 10:</u> La mammogénèse in utero chez le fœtus ovin femelle (Martinet, 1962)	16
<u>Figure 11:</u> Coupe sagittale de la glande mammaire de brebis prépubère (Akers, 2000)	17
<u>Figure 12:</u> Evolution du contenu en ADN des glandes mammaires pendant la gestation et la lactation (Delouis et al., 2001)	19
<u>Figure 13:</u> Développement de la glande mammaire avec les cycles de reproduction (Senger, 2005)	20
<u>Figure 14:</u> Rôle de l'axe hypothalamohypophysaire dans le contrôle du développement et de l'activité de la glande mammaire (Houdebine, 2007)	20
<u>Figure 15:</u> Représentation schématique des changements de concentration des hormones stéroïdiennes plasmatiques lors du cycle œstral de la brebis (Norris, 2007)	21
<u>Figure 16:</u> Les hormones mammaires et leurs récepteurs mammaires (Delouis et al., 2001)	22
<u>Figure 17:</u> Evolution des contenus en ARN des glandes mammaires (Delouis et al., 2001)	26
<u>Figure 18:</u> Taux des hormones en fin de gestation et début de lactation chez la brebis (Neville et al., 2002)	27
<u>Figure 19:</u> schéma d'une sonde ultrasonore disposant d'un cristal piézo-électrique (Chetboul et al., 2005)	31
<u>Figure 20:</u> Phénomènes de réfraction et réflexion de l'onde ultrasonore (Chetboul et al., 2005)	33
<u>Figure 21:</u> La diffusion des ultrasons (Loriot et al., 1995)	34
<u>Figure 22 :</u> Pistolet automatique à biopsie pour tissus mous (www.vtrade.be)	38

LISTE DES TABLEAUX

	<u>Page</u>
<u>Tableau I:</u> Impédance acoustique de différents milieux (Chetboul et al., 2005)	32
<u>Tableau II:</u> Relation entre la profondeur d'exploration et la fréquence de la sonde (Barthez, 2003)	34

LISTE DES PHOTOGRAPHIES

	<u>Page</u>
<u>Photographie 01:</u> Echographe Mylab 40 d'Esaoite	42
<u>Photographie 02:</u> Désinfection chirurgicale de la mamelle	43
<u>Photographie 03:</u> Examen échographique de la mamelle	44
<u>Photographie 04:</u> Anesthésie locale du site de biopsie repéré au marqueur	44
<u>Photographie 05:</u> Incision au bistouri de la peau au site choisi	45
<u>Photographie 06:</u> Introduction de l'aiguille à biopsie et guidage échographique de son trajet	45
<u>Photographie 07:</u> Retrait de l'échantillon au pistolet automatique	46
<u>Photographie 08:</u> Carotte de tissu mammaire dans la logette de l'aiguille	46
<u>Photographie 09:</u> Examen échographique de contrôle post biopsie	47

LISTE DES IMAGES ECHOGRAPHIQUES

	<u>Page</u>
<u>Image 01:</u> Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (sonde linéaire à fréquence 6.6 Mhz)	50
<u>Image 02:</u> Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 3 mois 1 semaine de gestation (sonde linéaire à fréquence 12 Mhz)	50
<u>Image 03:</u> Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 4 mois de gestation (sonde linéaire à fréquence 12 Mhz)	51
<u>Image 04:</u> Aspect échographique de la glande mammaire de brebis en fin de gestation (Sonde linéaire à fréquence 6.6Mhz)	51
<u>Image 05:</u> Doppler pulsé d'une veine mammaire (fréquence 12 Mhz)	52
<u>Image 06:</u> Doppler pulsé d'une artère mammaire (fréquence 12 Mhz)	52
<u>Image 07:</u> Aspect échographique de la mamelle de brebis en lactation (Sonde linéaire à fréquence 6.6 Mhz)	53
<u>Image 08 :</u> Aspect échographique de tissu mammaire de brebis présentant des masses (sonde à fréquence 12 Mhz)	54
<u>Image 09:</u> Aspect échographique du trajet de l'aiguille à biopsie dans la glande mammaire (sonde fréquence 12 Mhz)	54

LISTE DES MICROGRAPHIES

Page

<u>Micrographie 01:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (Gx10, coloration H.E).	56
<u>Micrographie 02:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (Gx20, coloration H.E).	57
<u>Micrographie 03:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (Gx40, coloration H.E).	58
<u>Micrographie 04:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation. (Gx10, coloration H.E).	60
<u>Micrographie 05:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation. (Gx0.25, coloration H.E).	61
<u>Micrographie 06:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (Gx20, coloration H.E).	62
<u>Micrographie 07:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation. (Gx40, coloration H.E).	62
<u>Micrographie 08:</u> (a, b)	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (Gx100, coloration H.E).	63
<u>Micrographie 09:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (Gx10, coloration H.E).	65
<u>Micrographie 10:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (G x20, coloration H.E).	66
<u>Micrographie 11:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (Gx40, coloration H.E).	67
<u>Micrographie 12:</u> (a, b)	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (Gx100, coloration H.E).	68
<u>Micrographie 13:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation. (Gx10, coloration H.E).	70
<u>Micrographie 14:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation. (Gx 0.25, coloration H.E).	71
<u>Micrographie 15:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation. (Gx20, coloration H.E).	72
<u>Micrographie 16:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation. (Gx40, coloration H.E).	73
<u>Micrographie 17:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation. (Gx100, coloration H.E).	74
<u>Micrographie 18:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation. (Gx10, coloration H.E).	76
<u>Micrographie 19:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation (Gx20, coloration H.E).	77
<u>Micrographie 20:</u>	Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation. (Gx100, coloration H.E).	78
<u>Micrographie 21:</u>	Aspect microscopique d'un foyer inflammatoire dans le tissu mammaire (Gx0.25, coloration H.E).	79
<u>Micrographie 22:</u>	Aspect microscopique d'un foyer inflammatoire dans le tissu mammaire (Gx100, coloration H.E).	79

LISTE DES ABREVIATIONS

ABREVIATIONS

ACTH
ADN
ARNm
cm
E
EGF
FSH
G
GC
GH
IGF-1
I.M
I.V
LH
MDGF-1
Mhz
µm
ml
mm
ng
%
PgE2
P
PRL
PL
STH
TGF
TSH

DESIGNATIONS

Adrénecorticotropique hormone
Acide désoxyribonucléique
Acide ribonucléique messenger
Centimètre
Œstrogènes
Epidermal Growth Factor
Follicule stimulating hormone
Gauge
Glucocorticoïdes
Growth hormone
Insulin like growth factor 1
Intramusculaire
Intraveineuse
Luteinizing hormone
Mammary derived growth factor 1
Mégahertz
micromètre
Millilitre
Millimètre
Nanogramme
Pourcent
Prostaglandines E2
Progestérone
Prolactine
Hormone placentaire lactogène
Hormone somatotrope
Transforming Growth Factor
Thyroid stimulating hormone

INTRODUCTION

La glande mammaire fait depuis longtemps l'objet de nombreuses études fondamentales et appliquées chez les différentes espèces. C'est la plus remarquable caractéristique des mammifères et l'organe central de la fonction de lactation dont le rôle est primordial dans le processus reproduction-production (Houdebine, 2007).

En Algérie, les principales contraintes à l'intensification de la production ovine sont liées à la mauvaise gestion des élevages et à la non maîtrise des paramètres de la reproduction. L'amélioration de ce dernier facteur passe nécessairement par la prospection des perspectives de potentialisation des organes en rapport direct avec les performances productives.

La race Ouled Djellel est très appréciée par sa qualité de viande, mais les aptitudes laitières des brebis demeurent peu connues ; la connaissance et l'amélioration de ces performances constituent un important objectif à atteindre.

En effet, des performances laitières élevées des brebis assurent une production importante d'agneaux surtout dans les élevages intensifs ; une production laitière suffisante assure la survie des agneaux et un taux de croissance élevé jusqu'au sevrage (Geety, 2010). Donc, la possibilité d'accroître la productivité du cheptel ovin donne l'intérêt aux travaux concernant la production laitière des brebis, dans la mesure où celle-ci pourrait constituer un facteur limitant à l'extériorisation du potentiel de croissance des agneaux.

La fonction de la glande mammaire peut être évaluée par une biopsie du tissu mammaire sur animal vivant ou par imagerie de la glande (Squires, 2003). Toutefois, une bonne lactation est étroitement liée au bon développement mammaire en période de gestation ; les proportions du tissu sécrétoire et la différenciation du parenchyme glandulaire conditionnent la production laitière ultérieure et en constituent un facteur limitant (Hovey et al., 1999).

Dans ce contexte, les objectifs de ce travail sont :

- L'exploration de la glande mammaire des brebis Ouled Djellel en gestation et en début de lactation par la technique de biopsie écho-guidée au pistolet automatique (une des applications de l'échographie interventionnelle, largement employée en médecine humaine).
- La détermination des aspects échographiques caractérisant les différents stades de gestation.
- L'étude des aspects morpho-histologiques du développement mammaire et des modifications microscopiques induites par la gestation chez ces brebis.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE I : RAPPELS D'ANATOMIE, D'HISTOLOGIE ET DE PHYSIOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE DES RUMINANTS :

1. ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE :

La glande mammaire est une glande sudoripare modifiée d'origine ectodermique, productrice de lait, dépendante de l'appareil génital et caractéristique des mammifères. Chez le mâle, elle reste rudimentaire, chez la femelle au contraire, elle acquiert un développement considérable représentant le caractère sexuel secondaire le plus typique (Barone, 1978; Frandson et al., 2009).

1.1. Topographie et conformation :

Les mamelles se développent de façon symétrique par paires et présentent une morphologie très variable suivant les espèces. Chez les petits ruminants, il n'existe qu'une seule paire de mamelles qui est inguinale. Largement adossées sur le plan médian, ces glandes forment un pis volumineux et pendant, sa hauteur moyenne est de 15-16 cm (\pm 6 cm) chez la brebis (Barone, 1978).

Chaque mamelle comprend un corps (corpus mammae) et un trayon (papilla mammae) s'ouvrant par un seul orifice, la taille relative et la longueur de la glande mammaire varient entre les individus et avec l'état physiologique de la glande. Pendant la lactation, les corps de la mamelle sont plus volumineux, leur peau est tendue, les veines sous cutanées apparentes et la papille de chaque mamelle est plus saillante, allongée et turgescence, celle-ci étant flasque et courte en période de tarissement (Barone, 1978 ; Bragulla et König, 2004).

1.2. Structure :

Quelque soit leur nombre et leur disposition, les mamelles sont toujours complètement distinctes; chacune d'elles comporte une enveloppe conjonctivo-élastique constituant l'appareil suspenseur et un parenchyme associant une charpente conjonctive au tissu glandulaire et du tissu adipeux, le tout est entouré par la peau (Barone, 1978).

1.2.1. La peau et le trayon :

La peau qui revêt les mamelles de la brebis est velue sur tout le corps avec une répartition de la laine très variable entre les races. Les trayons sont toujours presque glabres avec des poils courts et fins à leur extrémité distale et des glandes sébacées développées. Ils sont volumineux de 4-5 cm de long et ont le plus souvent une implantation sub terminale (placés un peu sur le côté de l'organe leur donnant parfois une orientation presque horizontale) (Barone, 1978).

Il existe chez la brebis un sinus inguinal cutané de chaque côté de la base du pis ; une dépression large, profonde de 3-4 cm et limitée crânialement par un épais repli de la peau (figure 01). Le tégument qui le revêt est mince, dépourvu de laine et riche en glandes apocrines particulières. Ce sinus est absent chez la chèvre (Barone, 1978 ; Frandson et al., 2009).

Les trayons surnuméraires, fréquents dans l'espèce ovine, sont habituellement petits et ne semblent pas avoir de tissu glandulaire indépendant comme chez les bovins (Frandson et al., 2009).

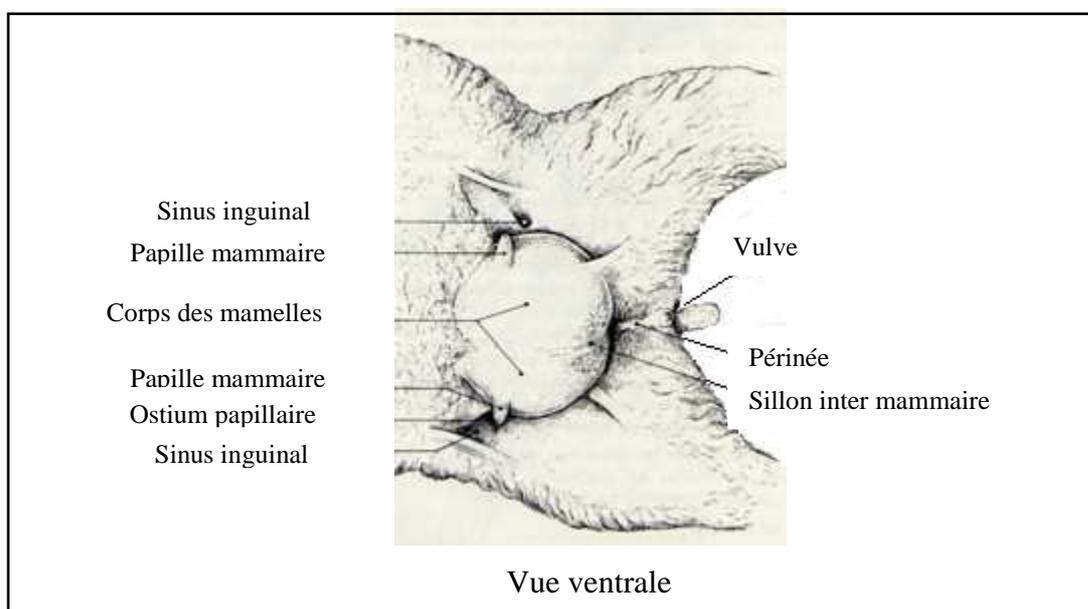


Figure 01: Conformation extérieure de la mamelle chez la brebis (Barone, 1978).

1.2.2. L'appareil suspenseur des mamelles :

L'appareil suspenseur des mamelles est en proportion plus épais et un peu moins élastique chez les ovins que chez les bovins. Les lames médiales sont élastiques et plus fortes que les lames latérales qui ne sont pas extensibles (Schatten et Constantinescu, 2007; Constantinescu et Constantinescu, 2010).

Le sillon inter mammaire, large et peu profond chez les jeunes, est plus net chez les sujets âgés (Barone, 1978).

1.2.3. Le parenchyme mammaire :

On distingue au sein du parenchyme mammaire deux tissus étroitement associés : le tissu glandulaire et la charpente conjonctive.

a) La charpente conjonctive :

Bien plus abondant que le tissu glandulaire jusqu'à la puberté, le conjonctif mammaire perd ensuite de son importance relative. Il présente d'importantes variations structurales en fonction de l'activité de la mamelle. En dehors de la lactation, il est développé et riche en tissu adipeux, en période de lactation, il a tendance à s'amincir progressivement (Bacha et Bacha, 2000).

D'autre part, le tissu conjonctif forme des cloisons qui subdivisent le parenchyme en lobes et lobules, et fournit ainsi un support structural important pour les unités sécrétrices en renfermant les vaisseaux sanguins et lymphatiques et les nerfs. Ce conjonctif est riche en fibres collagènes et élastiques et pourvu de lymphocytes et de plasmocytes surtout abondants dans les périodes de sécrétion (Barone, 1978).

b) Le tissu glandulaire :

Le tissu glandulaire dont la fonction est de produire le lait est organisé en lobes séparés par des cloisons de tissu conjonctif. Chaque lobe est divisé en lobules formés chacun de plus de 200 alvéoles ou éléments sécréteurs tubulo-acineux disposés en grappes au sein d'un stroma délicat et s'ouvrant dans un canal lactifère alvéolaire, ils correspondent aux unités fonctionnelles de la mamelle. Les lobules sont séparés par une mince couche de tissu conjonctif (Bragulla et König, 2004 ; Schatten et Constantinescu, 2007 ; Constantinescu et Constantinescu, 2010) (figure 02).

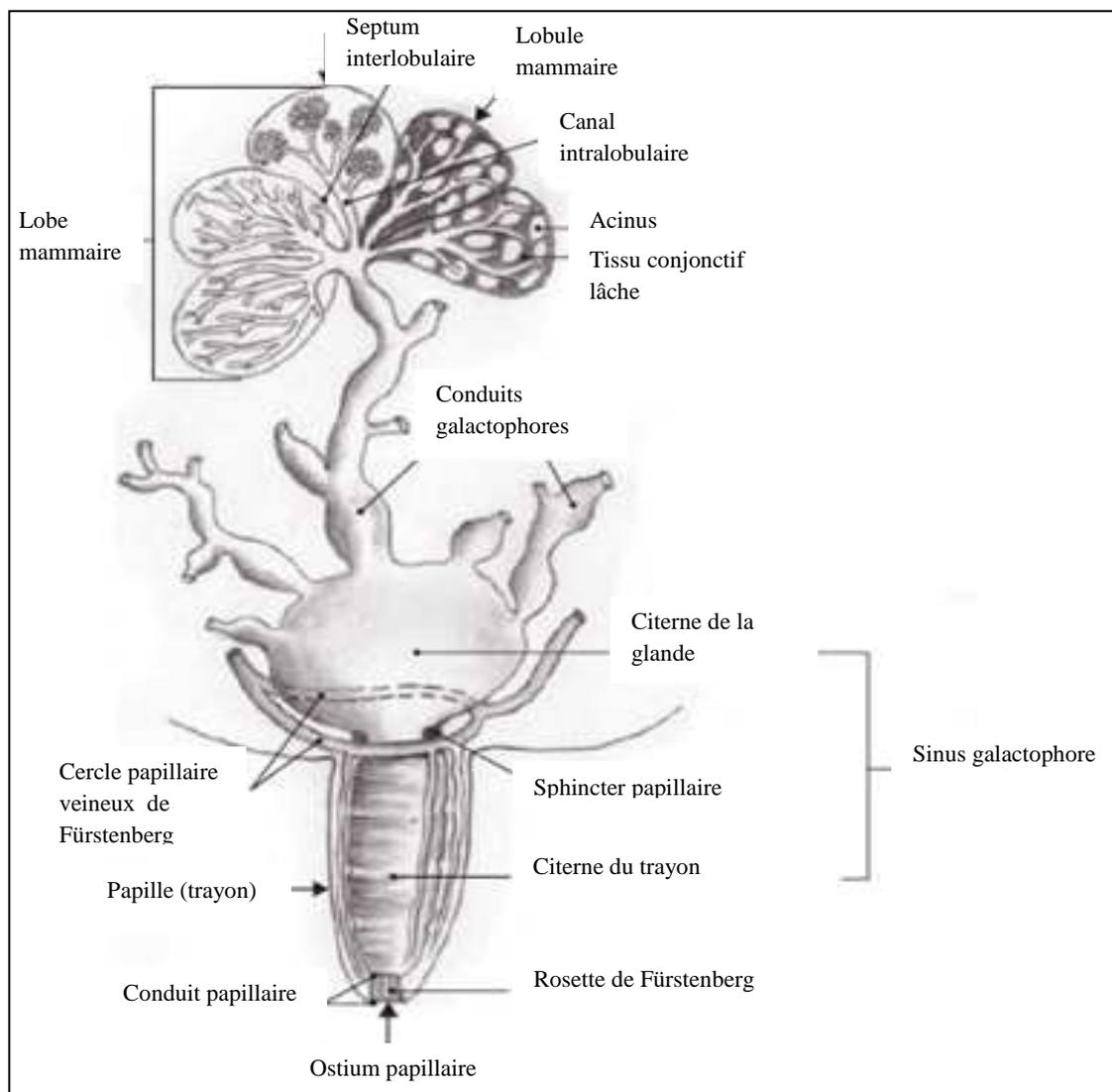


Figure 02 : Organisation interne de la glande mammaire

(Constantinescu et Constantinescu, 2010)

1.2.4. Les voies d'excrétion du lait :

Les voies d'excrétion du lait présentent une arborisation poussée mais ordonnée qui suit celle établie par la ramification du parenchyme. Chaque alvéole est appendue à un bref conduit alvéolaire qui se continue par un canal intralobulaire qui converge en des conduits interlobulaires puis interlobaires s'abouchant à leur tour au niveau des conduits excréteurs ou canaux galactophores, lesquels s'élargissent pour former un sinus galactophore relié à un ostium papillaire (Barone, 1978 ; Bragulla et König, 2004; Frandson et al., 2009).

Le parenchyme donne issue à 15 à 20 conduits lactifères principaux chez la brebis et à 12 à 15 chez la chèvre. Ces conduits sont irréguliers et les plus larges sont latéraux chez la brebis et nettement plus caudaux chez la chèvre (Barone, 1978 ; Constantinescu et Constantinescu, 2010).

Le sinus lactifère présente une partie glandulaire large et une partie papillaire à la limite desquelles un repli annulaire existe chez $\frac{3}{4}$ des sujets (Barone, 1978).

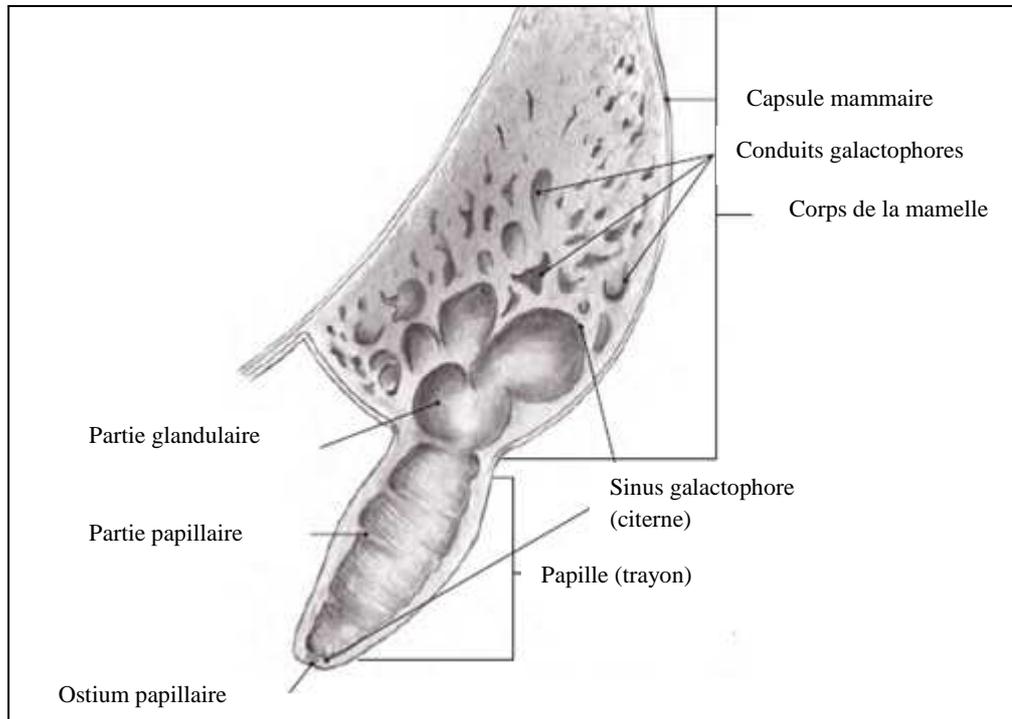


Figure 03: Anatomie de la mamelle des ruminants
(Constantinescu et Constantinescu, 2010)

Les conduits terminaux des voies d'excrétion du lait sont logés dans la papille de la mamelle engainés dans la peau dont le derme présente autour d'eux un fort plexus vasculaire. Chez les ruminants, elle est occupée dans sa majeure longueur par la partie correspondante du sinus lactifère. Le canal papillaire (canal du trayon), qui fait communiquer cette cavité avec l'extrémité, est bref et unique et possède un sphincter qui s'oppose à l'écoulement du lait entre les traites ou les tétés, il se termine par un ostium ou orifice papillaire (Barone, 1978). Chez la brebis, ce sphincter est peu développé, sa fermeture est renforcée par du tissu élastique à l'extrémité du trayon (Frandsen et al., 2009).

La rosette de Fürstenberg peut être notée à la jonction de la citerne papillaire et le canal papillaire, elle est formée de replis muqueux (Pugh, 2002 ; Constantinescu et Constantinescu, 2010).

1.3. Irrigation et Innervation des mamelles:

1.3.1. Irrigation artérielle :

Chez les petits ruminants, comme chez la vache, le sang est fourni de chaque côté par l'artère honteuse externe qui est de gros calibre (3 à 4 mm). A la sortie de l'anneau inguinal superficiel, ce vaisseau délègue vers le périnée un rameau basal caudal qui irrigue la partie dorso-caudale de la glande puis se continue par l'artère labiale ventrale. Il s'infléchit ensuite en direction ventro-crâniale et se divise après quelques centimètres en deux branches : une latérale et l'autre médiale.

- La branche latérale ou artère mammaire latérale : c'est la plus faible et se termine par des rameaux variables dans la partie latérale de la glande. Elle participe à alimenter un réseau périsinusal et de façon inconstante à l'irrigation du trayon.
- La branche médiale ou artère mammaire médiale : semble continuer l'artère honteuse externe entre la mamelle et la paroi abdominale, elle délègue à la partie ventro-caudale de la glande un rameau assez fort : le rameau mammaire caudal. Elle envoie ensuite des divisions variables à la partie médiale et crâniale de la mamelle, alimente le réseau périsinusal et fournit le plus souvent les artères papillaires. Elle échange à travers le ligament suspenseur quelques anastomoses avec celles du côté opposé et se continue sous la peau du ventre par un grêle rameau : l'artère épigastrique caudale superficielle (Barone, 1978).

1.3.2. Irrigation veineuse :

Les veines mammaires sont originaires d'un réseau annulaire fin qui forme à la base du trayon le cercle papillaire veineux drainé par une veine crânio-médiale et une veine caudo-latérale, lesquelles rejoignent respectivement la veine médiale et latérale qui collectent le sang d'un réseau périsinusal et des efférents du parenchyme. L'ensemble irrigue le système basal du pis. Les veines mammaires caudales sont très faibles ou absentes chez la brebis, le sang est dirigé vers la veine honteuse externe.

Trois veines sous cutanées émergent du bord crânial des mamelles :

- Une veine principale impaire à peu près médiane, prend naissance à la partie crâniale du pis où elle s'anastomose aux deux veines honteuses externes ou à l'une d'elles, passe entre le pis et la paroi abdominale, puis se prolonge jusqu'au voisinage de l'ombilic, se bifurque caudalement à celui-ci pour alimenter de chaque côté un réseau à larges mailles d'où procède la racine principale de la veine épigastrique crâniale

superficielle correspondante et rejoint la veine thoracique interne par un orifice de la paroi abdominale. Elle est perceptible sous la peau en période de lactation.

- Deux veines latérales droite et gauche : grêles, flexueuses et l'une ou l'autre manque parfois, elles rejoignent l'extrémité crâniale de la veine médiane.

En dehors de la lactation, les mamelles sont uniquement drainées par les veines honteuses externes, en direction desquelles circule le sang des veines sous cutanées abdominales. Dans les périodes d'activité glandulaire, les valvules de ces dernières deviennent inefficaces et le courant sanguin s'y établit vers le thorax. Les mamelles sont alors drainées à la fois par les veines honteuses externes et sous-cutanées abdominales (Barone, 1978).

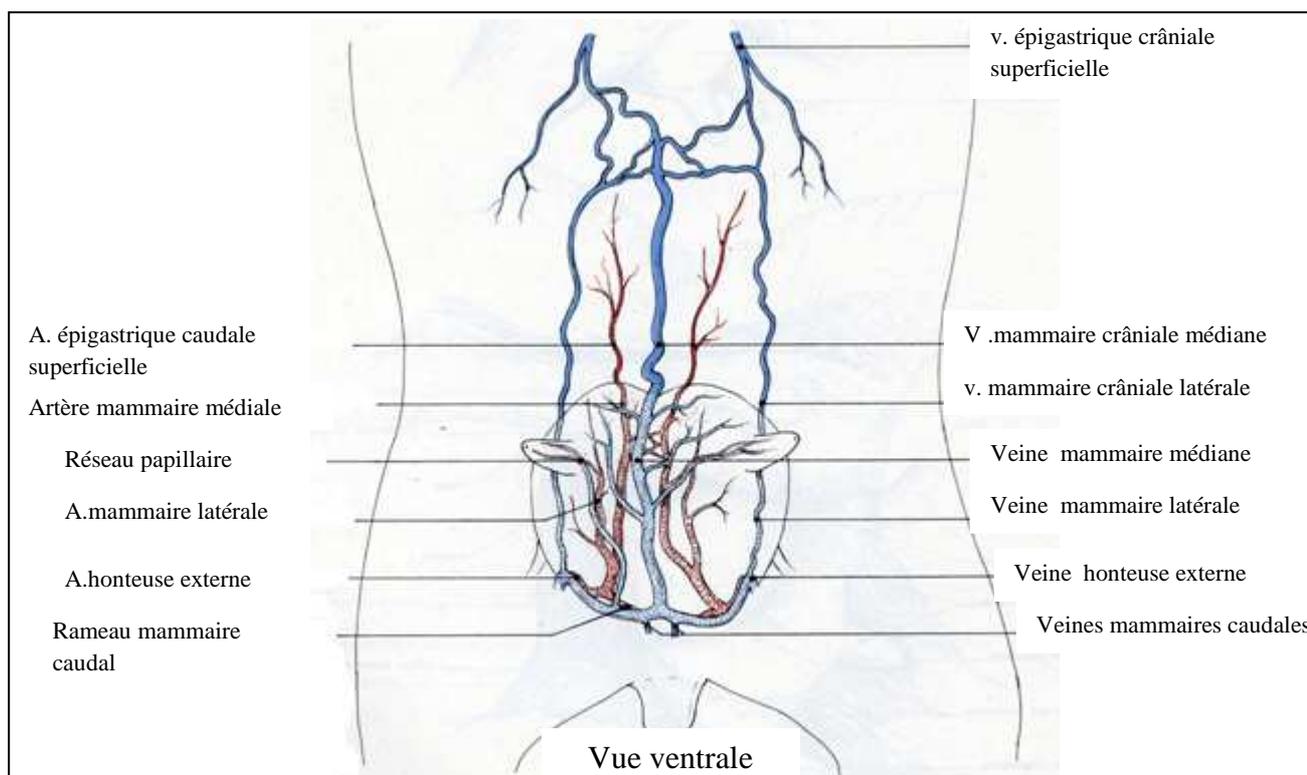


Figure 04 : Artères et veines des mamelles chez la brebis (Barone, 1978).

1.3.3. Drainage lymphatique :

La lymphe efférente des ganglions lymphatiques mammaires traverse le canal inguinal, le ganglion lymphatique ilio-fémoral et les nœuds iliaques médiaux du tronc lombaire. Une partie traverse également le nœud iliaque interne et une autre partie le nœud sacré. Le nœud ilio-fémoral reçoit aussi la lymphe des ganglions lymphatiques sub iliaque et poplité (Heath et Kerlin, 1986).

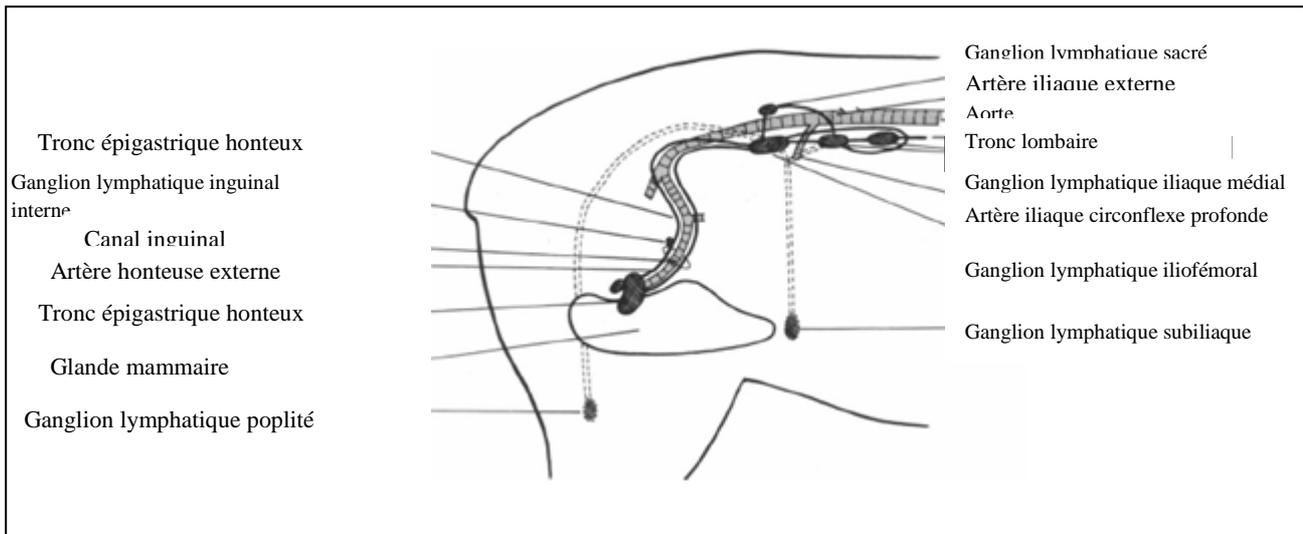


Figure 05 : Schéma illustrant les voies du drainage lymphatique de la glande mammaire chez la brebis (Heath et Kerlin, 1986).

1.3.4. Innervation :

Chez la brebis, les rameaux de la deuxième paire lombaire ne desservent qu'un petit territoire crânial de la mamelle. Le fort nerf mammaire issu de la troisième et quatrième paires lombaires se distribue à la presque totalité de la glande du même côté (Barone, 1978).

2. HISTOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE :

La structure histologique de la glande mammaire est similaire dans les diverses espèces malgré les différences dans le nombre, la taille et la position (Cowie, 1974).

2.1. Histologie du parenchyme glandulaire:

a. Les alvéoles :

Les alvéoles sécrétoires ont une forme sphérique à ovoïde avec une large lumière et sont constituées de cellules épithéliales sécrétrices polarisées organisées en un épithélium monocouche. Chaque alvéole glandulaire est bordée par un épithélium simple et cubique qui repose sur une très mince membrane limitante. Une couche discontinue de cellules myoépithéliales étoilées se place entre cette dernière et l'assise épithéliale glandulaire. Elle constitue un réseau délicat qui enserre dans ses mailles l'alvéole et concourt par ses contractions à en évacuer le contenu (Barone, 1978 ; Eurell et Frappier, 2006).

L'alvéole est irriguée par un système capillaire artério-veineux qui assure l'approvisionnement des cellules en nutriments, en oxygène et en messages hormonaux.

L'aspect de l'épithélium alvéolaire varie considérablement selon l'état fonctionnel de la glande (Eurell et Frappier, 2006). Les cellules myoépithéliales qu'il convient de distinguer

des muscles lisses sont dépourvues de granules lipidiques mais possèdent la phosphatase alcaline qui permet leur coloration. Elles sont également sensibles à l'imprégnation au nitrate d'argent et c'est grâce à cette propriété qu'elles ont été mises en évidence (Lacasse, 2010).

Au-delà de cette lame basale, un troisième compartiment regroupe le stroma, les fibroblastes et les vaisseaux sanguins indispensables au développement des alvéoles. Le tissu conjonctif du parenchyme mammaire est riche en fibres collagènes et élastiques et se charge d'adipocytes. Il forme des cloisons subdivisant ainsi le parenchyme en lobes puis en lobules, unités fonctionnelles de la glande mammaire. Les lobules sont eux-mêmes des groupements d'alvéoles, unités sécrétrices de la glande. Celles-ci sont logées en grappe dans le tissu fibro-adipeux qui s'amincit à leur profit durant la lactation et reprend sa place pendant le tarissement (Eurell et Frappier, 2006).

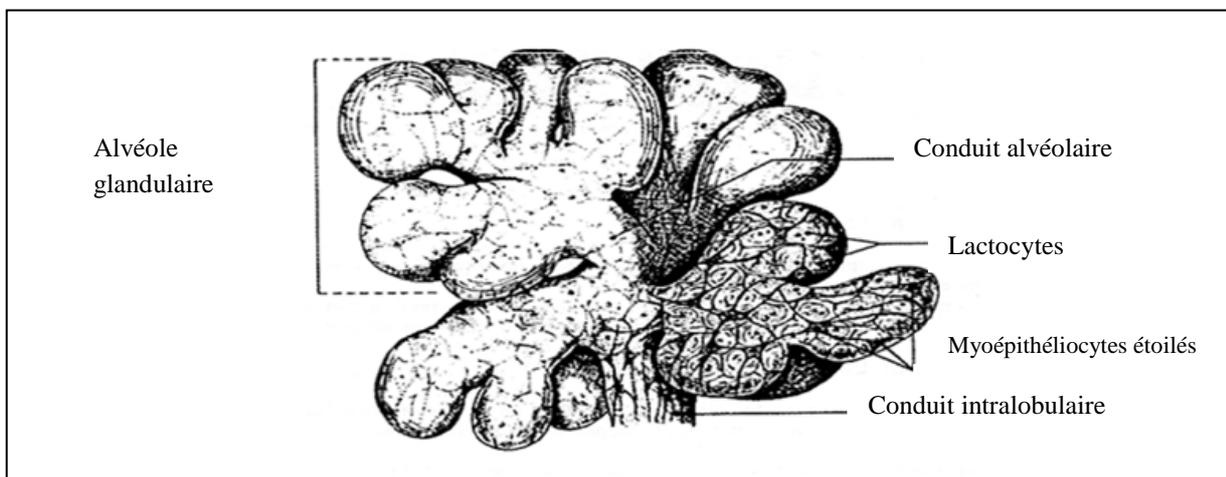


Figure 06: Structure d'une alvéole glandulaire (Barone, 1978).

b. Les voies d'excrétion ou canaux galactophores :

Les alvéoles sont drainées par un réseau de conduits ou canaux excréteurs, elles se prolongent d'abord par de brefs conduits alvéolaires qui présentent la même structure que les alvéoles, la même fonction sécrétrice et subissent les mêmes variations.

***Les conduits intralobulaires :** présentent un épithélium simple, cubique et bas dépourvu d'activité sécrétrice. Les cellules myoépithéliales deviennent fusiformes et à peu près longitudinales.

***Les conduits interlobulaires** drainent les divers lobules, l'épithélium à leur niveau prend un aspect stratifié avec deux assises de cellules épithéliales cubiques ou basses et quelques cellules musculaires lisses longitudinales qui s'associent à la paroi.

***Les conduits galactophores :** le collecteur qui reçoit les conduits précédents à la sortie de chaque lobe est de calibre plus important et irrégulier. L'épithélium reste bistratifié et cubique, les fibres musculaires lisses deviennent abondantes et l'ensemble est doublé d'une gaine conjonctivo-élastique diversement développée selon les espèces (Barone, 1978 ; Banks, 1993).

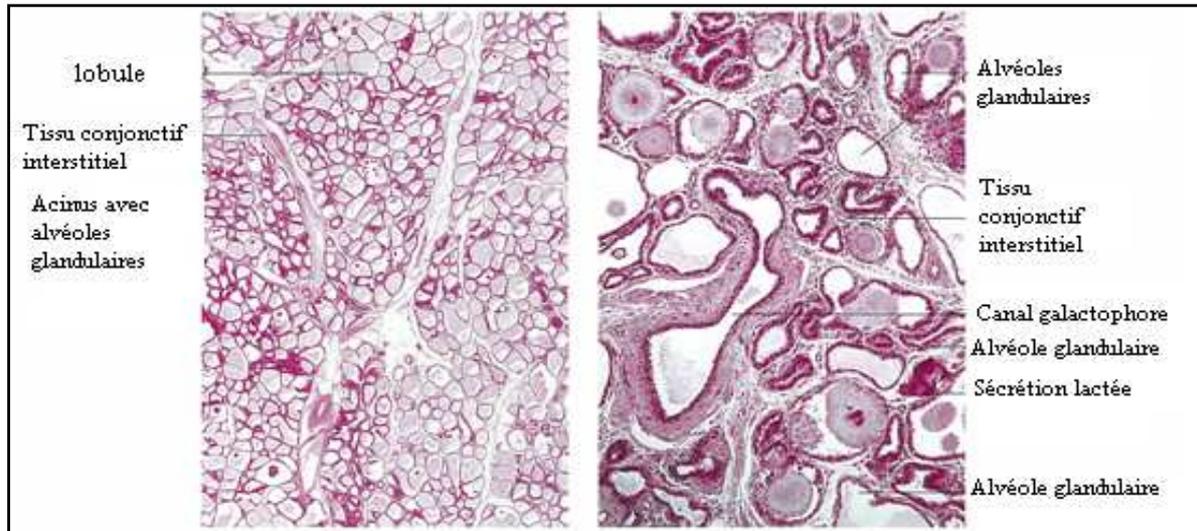


Figure 07 : Coupes histologiques du tissu glandulaire mammaire bovin
(Bragulla et König, 2004).

***Le sinus lactifère ou citerne de la glande:**

La paroi du sinus lactifère ou citerne est constituée comme celle des conduits qu'elle prolonge : l'épithélium est bistratifié mais les cellules de la couche superficielle sont plus hautes et cylindriques. La couche de fibres musculaires lisses est plus nette et la couche fibro-élastique plus épaisse. Les structures de la paroi de la citerne de la glande (sinus) se continuent dans les conduits de la papille (trayon) où elles présentent d'ultimes modifications. Les canaux galactophores lobaires comportent souvent de larges dilatations en sinus constituant la citerne de la glande. Chaque quartier possède une citerne. Cette structure est particulièrement nette chez la brebis et la chèvre qui possèdent des citernes volumineuses (Barone, 1978). Le volume de la citerne varie d'une race à l'autre dans une même espèce entraînant des capacités de stockage de lait variables et par conséquent des intervalles de traite variables. Dans la plupart des races de brebis laitières, 50-70 % du lait se trouve dans la citerne contre 30-50 % pour la fraction alvéolaire (Caja et al., 2000).

2.2. Histologie du trayon :

L'épithélium des conduits papillaires est stratifié pavimenteux, il se raccorde à l'épiderme du revêtement cutané au niveau de l'ostium papillaire. La propria qui le porte est pourvue de fibres musculaires lisses abondantes et développées chez les ongulés autour de la partie papillaire du sinus formant des faisceaux longitudinaux qui soulèvent plus ou moins le revêtement muqueux en plis diversement marqués et concourent à rétracter la papille en dehors des périodes d'activité.

D'autres fibres plus externes à disposition oblique ou irrégulière forment autour du conduit papillaire un véritable sphincter de la papille qui s'oppose à l'écoulement du lait entre les périodes de mulsion ou de tétée (Barone, 1978; Bacha et Bacha, 2000).

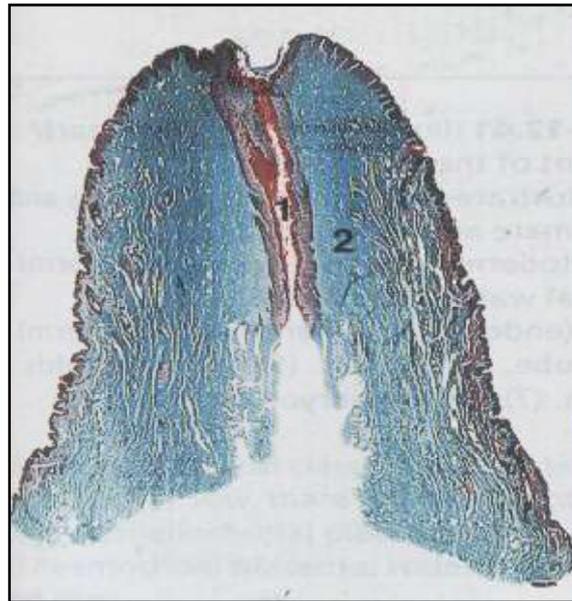


Figure 08: Coupe longitudinale du trayon de la brebis (coloration trichrome x7.5)

(Aughey et Frye, 2001)

- (1) Le canal du trayon est bordé par un épithélium stratifié squameux.
- (2) Le tissu conjonctif de la lamina propria se continue avec celui de la peau.

2.3. Le stroma :

Le stroma entourant les acini et les canaux intralobulaires est délicat contrairement au stroma interlobulaire et interlobaire, les cellules y sont plus nombreuses, les éléments histiocytaires plus importants, les fibres collagènes plus grêles et les substances fondamentales plus abondantes. En dehors de la lactation, il est extrêmement développé et riche en tissu adipeux tandis qu'en période de lactation, il est quasi inexistant (Lacasse, 2010).

2.4. La cellule épithéliale mammaire ou lactocyte :

Les lactocytes présentent des cycles d'activité se traduisant par des changements morphologiques importants. Au repos, elles sont basses cuboïdes avec un noyau central ovalaire et un cytoplasme relativement peu abondant d'aspect homogène en microscopie optique (Barone, 1978).

Au début de la gestation, les cellules sécrétrices apparaissent s'organiser autour de la lumière vide de sécrétion, leur partie basale est ancrée sur une structure de collagène. En lactation, les cellules épithéliales mammaires sont polarisées avec un noyau projeté du côté basal au voisinage de la circulation sanguine, la cellule développe tout son potentiel de synthèse ; les mitochondries sont très nombreuses, grosses et à crêtes marquées, le réticulum endoplasmique très vacuolisé et enveloppe entièrement le noyau, l'appareil de Golgi sécrétant certains composants du lait est alors proche du pôle apical, le réticulum endoplasmique rugueux est bien développé (Martinet et Houdebine, 1993 ; Eurell et Frappier, 2006 ; Houdebine, 2007).

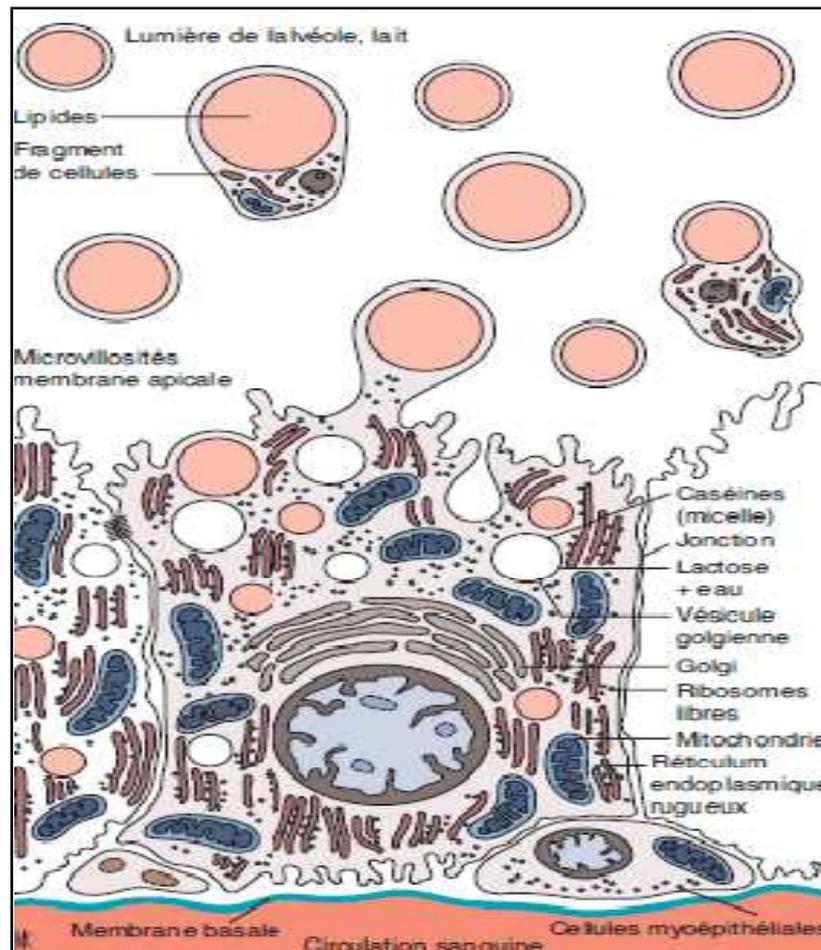


Figure 09: Représentation schématique d'une cellule épithéliale mammaire complètement différenciée (Houdebine, 2007)

3. PHYSIOLOGIE DE LA GLANDE MAMMAIRE DES RUMINANTS :

L'évolution morphologique et fonctionnelle de la glande mammaire pendant la période de reproduction est étroitement tributaire du système hormonal, elle peut être divisée en plusieurs phases :

- La mammogénèse ou développement du tissu mammaire.
- La lactogénèse ou développement de la capacité de sécrétion de lait.
- La galactopoïèse ou maintien de la synthèse de lait pendant une certaine période.
- L'involution ou régression de la glande mammaire après l'arrêt de la lactation.

3.1. LA MAMMOGENESE ET SON CONTROLE HORMONAL:

La mammogénèse est l'ensemble des phénomènes de développement et de différenciations structurales des tissus mammaires. Elle est caractérisée par le développement des canaux, leur ramification et l'apparition du tissu lobulo-alvéolaire. Ce processus s'étend de la vie embryonnaire à la première mise bas. Il est discontinu au cours de la vie d'une femelle (Jammes et Djiane, 1988).

3.1.1. Développement et différenciation de la glande mammaire :

3.1.1.1. Développement mammaire *in utero* :

Les ébauches mammaires apparaissent précocement dès le 28-32^{ème} jours chez l'embryon ovin de 9-10 mm (Martinet, 1962), et dès le 30^{ème} jour chez l'embryon bovin (Akers, 2002). Elle est caractérisée par la formation d'un épaissement linéaire de l'ectoderme qui s'étend rapidement de chaque côté de l'embryon de la région axillaire à la région inguinale et constitue la crête mammaire. Par un phénomène de prolifération de l'ectoderme et de densification du mésoblaste sous-jacent, des nodules ou bourgeons mammaires primaires se différencient vers le 44^{ème} jour chez le fœtus ovin (Martinet, 1962; Barone, 1978) (figure 10a), ils s'accroissent légèrement en surface mais surtout en profondeur.

L'induction à partir de l'ectoderme ventral du fœtus se fait par migration des cellules de la peau et non par multiplication des cellules souches ; c'est le mésenchyme, ou endoderme sous-jacent, qui induit cette migration (Delouis et al., 2001).

Certains bourgeons disparaissent en même temps que s'effacent les portions de crêtes situées entre eux. Le nombre et l'emplacement de ceux qui se développent complètement varient ainsi selon les espèces.

Ultérieurement, ces bourgeons primaires se ramifient et donnent naissance aux bourgeons secondaires, ceux-ci forment par dichotomie un début d'arborisation à l'origine des conduits et des alvéoles. En parallèle, la fovéa mammaire, future papille mammaire, apparaît en surface à partir de chaque nodule épithélial (Barone, 1978) vers le 50^{ème} jour chez l'embryon ovin. Le mésoderme, quant à lui, produit le stroma contenant les vaisseaux sanguins et lymphatiques, le tissu fibreux et le tissu adipeux. Enfin, les ébauches des conduits, d'abord pleines, commencent à se creuser, au 56^{ème} jour chez le fœtus ovin apparaît une lumière dans la partie la plus interne du cordon mammaire et remonte progressivement vers l'extrémité distale (Martinet, 1962). Les cellules ne désagrègent pas mais semblent s'écarter les unes des autres (Ellis, 1998). Vers le 59^{ème} jour le cordon mammaire bourgeonne de nombreuses invaginations secondaires (figure 10b). A 70 jours existe tout un système de canaux dont la paroi est composée de 3 ou 4 assises. A la base du trayon, la lumière d'invagination primaire s'élargit formant ainsi la citerne. Le parenchyme sous le trayon se développe, des îlots de cellules graisseuses commencent à s'y former. La croissance des canaux galactophores se poursuit jusqu'à la naissance (figure 10c) (Martinet, 1962).

Le développement embryonnaire de la glande mammaire nécessite donc une communication entre l'épiderme et le mésenchyme coordonnée par différentes voies de signalisation indépendamment des hormones et autres facteurs systémiques (Hennighausen et Robinson, 2001; Hens et Wysolmerski, 2005). A la naissance, la glande mammaire comprend un ensemble de canaux primaires et secondaires entourés de cellules mésenchymateuses qui forment le stroma.

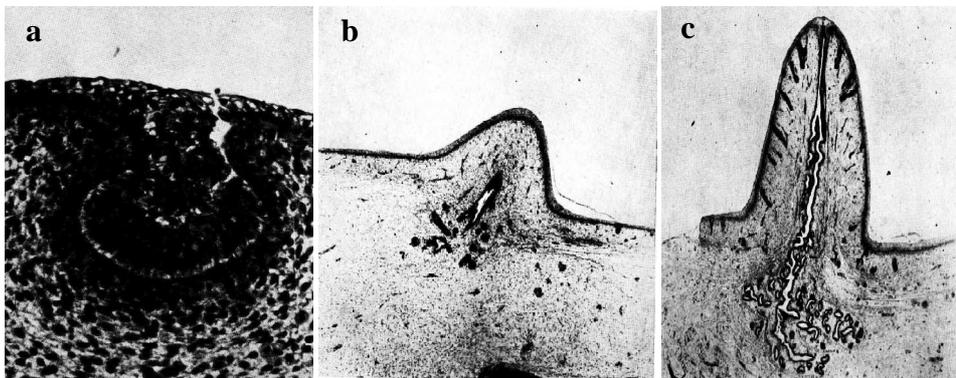


Figure 10: La mammogénèse *in utero* chez le fœtus ovin femelle (Martinet, 1962)

- a) Le bourgeon mammaire (44jours) ; b) Formation de nombreuses invaginations secondaires (70jours) ; c) Le parenchyme mammaire bien développé (97 jours).

3.1.1.2. Développement mammaire entre la naissance et la puberté :

Après la naissance, la glande mammaire se développe d'une façon isométrique (aux mêmes proportions que le reste du corps) jusqu'à l'initiation de la puberté. A ce moment, les premières libérations cycliques d'œstrogènes par l'ovaire stimulent une croissance mammaire de type allométrique et qui s'arrête à des périodes variables suivant la puberté et selon les espèces (Tucker, 1987 ; Martinet et Houdebine, 1993 ; Delouis et al., 2001).

Chez les ruminants, la période prépubère marquée par une croissance allométrique positive (la glande mammaire croît plus vite que le reste du corps) se situe approximativement entre 8 et 20 semaines d'âge chez les ovins (Ellis, 1998 ; Hovey et al., 2002) et entre 3 à 9 mois chez la génisse (Sinha et Tucker, 1969 ; Akers, 2002) avec une prolifération des lobules terminaux sans localisation précise des sites de croissance. A priori, les lieux de divisions cellulaires se situeraient à la périphérie du parenchyme (Hovey et al., 2002). Ce développement canaliculaire allométrique semble initié par l'interaction entre les hormones ovariennes et la sécrétion de l'hormone de croissance résultant de la maturation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Forsyth, 1989). On assiste à la mise en place des canaux galactophores qui s'allongent et se ramifient, mais surtout à une augmentation des tissu conjonctif et adipeux du stroma (Squires, 2003; Lacasse, 2010). Ce tissu adipeux est indispensable à la morphogénèse de la glande mammaire (Hovey et al., 1999, 2000).

A ce stade, les cellules ont une structure simple avec un noyau volumineux et peu d'organites cytoplasmiques (Lawrence et Fowler, 2002).

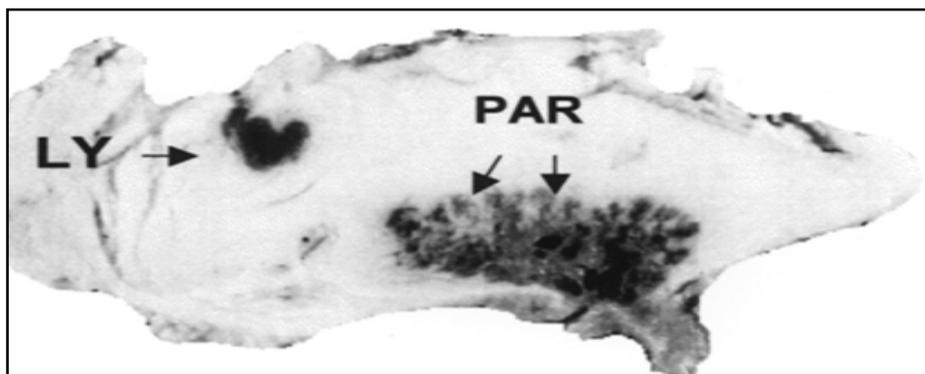


Figure 11 : Coupe sagittale de la glande mammaire de brebis prépubère (Akers, 2000).

PAR : tissu parenchymateux dense ; **LY** : ganglion lymphatique supra mammaire.

Il est important de considérer qu'une alimentation énergétique des ruminants au cours de cette période est préjudiciable à la capacité laitière ultérieure à cause du développement trop important du stroma par rapport au tissu épithélial canaliculaire. Ainsi, la période critique pour la mammogénèse chez les ovins serait entre 2 et 4 mois (Johnson et Hart, 1985 ; Sejrnsen et Purup, 1997 ; Ellis, 1998 ; Caja et al., 2000 ; Delouis et al., 2001).

3.1.1.3. Développement mammaire après la puberté, les cycles œstraux :

En général, après la puberté, le développement mammaire devient allométrique hormono-dépendant et est influencé par le nombre et le type des cycles œstraux de l'espèce. Il redevient isométrique après quelques cycles avec un développement du système canaliculaire à travers le tissu adipeux et conjonctif lors de chaque cycle sexuel sous la dépendance des hormones ovariennes (Sinha et Tucker, 1969 ; Tucker, 1981 ; Jammes et Djiane, 1988 ; Scanes, 2003).

Pour les mammifères à cycle long (primates, bovins, ovins, caprins), la croissance des structures épithéliales canaliculaires se produit durant la phase œstrogénique du cycle, puis la régression est partielle.

Jusqu'à la première gestation, seul le tissu épithélial ductal s'arborise au sein du tissu de soutien (Martinet et Houdebine, 1993 ; Hovey et al., 2002) . La croissance mammaire est minime puisqu'elle n'exige pas la préparation finale du tissu pour la production de lait (Lacasse, 2010).

3.1.1.4. Développement et différenciation de la glande mammaire pendant la première gestation :

Avant la conception, la glande mammaire se compose d'un système canaliculaire partiellement développé se situant dans un tissu adipeux étendu. Au début de la gestation, la croissance de la glande mammaire redevient allométrique et est marquée par la prolifération des lobules terminant les canaux secondaires et tertiaires (Jammes et Djiane, 1988 ; Caja et al., 2000). Contrairement aux rongeurs, le tissu mammaire des ruminants n'a pas de structure en bourgeons terminaux (Ellis, 1998 ; Hovey et al., 2002 ; Capuco et Ellis, 2005). On a estimé à 94% la croissance mammaire au cours de la gestation chez le hamster, 78% chez la souris et la brebis, 66% chez la lapine et 60% chez le rat (Knight et Peaker, 1982).

Au cours de la deuxième moitié de la première gestation, l'extrémité des canaux bourgeonne formant des lobules qui se substituent au tissu adipeux lequel joue un rôle essentiel dans ces processus (Hovey et al., 1999, 2000, 2002). Le développement lobulo-alvéolaire mammaire s'accompagne de la mise en place d'une petite activité sécrétoire (le matériel sécrété est retenu dans la lumière des alvéoles). L'évolution des contenus en ADN de la glande mammaire pendant la gestation et la lactation montre que la croissance alvéolaire a lieu principalement durant le dernier tiers de la gestation (Delouis et al., 2001). Chez la brebis, les cellules alvéolaires absentes à 80 jours de gestation (sur 150 jours) représentent 90 % de la glande au moment de la parturition (Martinet et Houdebine, 1993).

A la fin de la gestation, le parenchyme mammaire se compose d'un épithélium sécrétoire tapissant les alvéoles, de cellules myoépithéliales et d'un épithélium formant les canaux. Le stroma environnant est composé de protéines édifiant une matrice incluant le collagène et la laminine et de composants cellulaires constitués d'adipocytes, de fibroblastes et de cellules immunitaires (Connor et al., 2007).

Chez les primates et les ruminants, espèces à durées de gestation longues, le développement de la glande mammaire est pratiquement complet au moment de la naissance du jeune. Chez les rongeurs, espèces à gestation courte, la glande mammaire poursuit sa croissance pendant toute (ratte) ou une partie (lapine) de la lactation (figure 12). Dans ce dernier cas, des alvéoles mammaires continuent à se former pendant que d'autres secrètent activement du lait (Delouis et al., 2001).

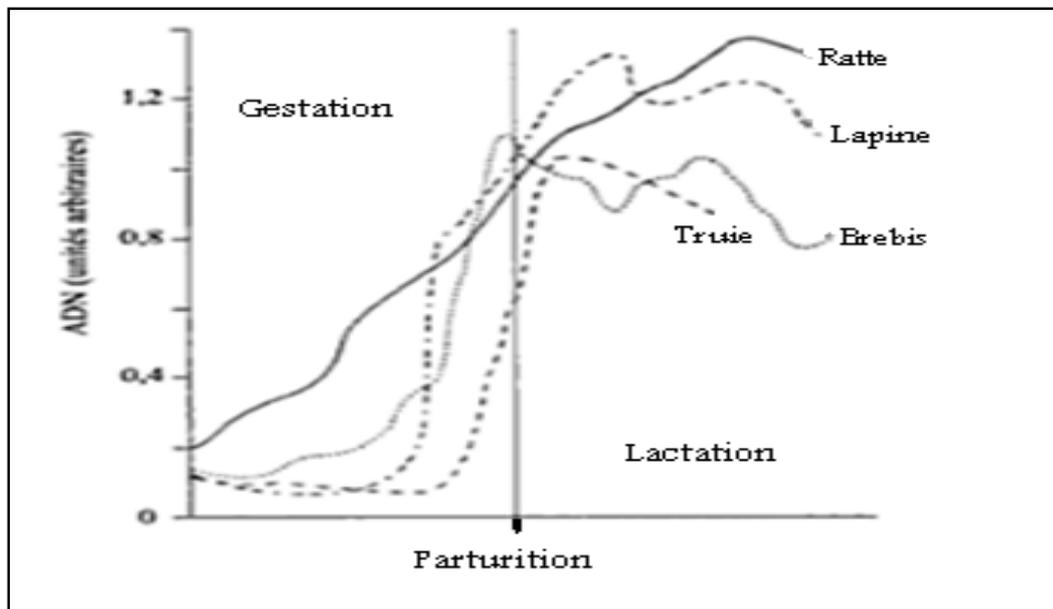


Figure 12 : Evolution du contenu en ADN des glandes mammaires pendant la gestation et la lactation (Delouis et al., 2001).

3.1.1.5. Développement mammaire au cours d'une gestation suivante :

A la fin de la lactation, le tissu alvéolaire est détruit. Lorsque la femelle entre dans un nouveau cycle de reproduction, une nouvelle structure alvéolaire se différencie. Toutefois, chez les ruminants, une gestation peut s'établir pendant la lactation d'où la nécessité de tarir à la fin de gestation pour permettre une formation optimum de nouvelles alvéoles et obtenir une lactation optimale (Delouis et al., 2001).

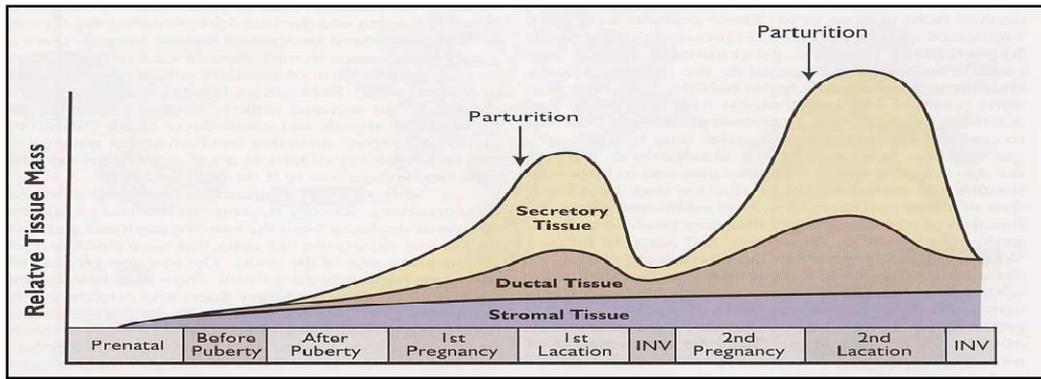


Figure 13: Développement de la glande mammaire avec les cycles de reproduction (Senger, 2005)

3.1.2. Contrôle endocrine et paracrine du développement mammaire :

Le contrôle de la mise en place des structures mammaires et de leur fonctionnement est assuré par l'action combinée de plusieurs hormones et facteurs locaux qui agissent simultanément ou de manière séquentielle et dans des rapports de concentration bien définis (Jammes et Djiane, 1988). L'influence de l'environnement, de l'alimentation ainsi que le profil métabolique de l'animal sont également importants dans le développement global de la glande.

3.1.2.1. Contrôle endocrine de la mammogénèse :

Le rôle des hormones a été mis en évidence dans la croissance de la glande mammaire depuis plusieurs dizaines d'années. L'ablation des glandes endocrines a démontré que l'axe hypothalamo - hypophysaire, les ovaires, la glande surrénale, le placenta et la thyroïde jouaient des rôles complexes et complémentaires (Erb, 1977 ; Delouis et al., 1980 ; Tucker, 1981, 2000 ; Forsyth, 1986 ; Connor et al., 2007, Houdebine, 2007) (figure 14).

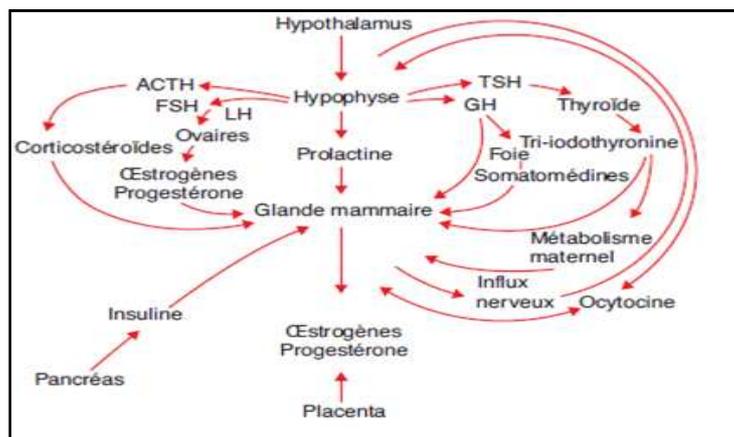


Figure 14: Rôle de l'axe hypothalamo-hypophysaire dans le contrôle du développement et de l'activité de la glande mammaire (Houdebine, 2007)

ACTH : Adrénocorticotrop hormone ; **FSH-LH** : Follicule stimulating hormone-luteinizing hormone ; **TSH** : Thyroid stimulating hormone ; **GH** : Growth hormone.

a. Les hormones stéroïdiennes :

Les hormones stéroïdiennes, essentielles à la mammogénèse, sont d'origine ovarienne ou placentaire au cours de la gestation. En effet, les œstrogènes (E) et la progestérone (P) sont des inducteurs de la croissance de la glande mammaire : au cours du cycle œstral la sécrétion des E et celle de la P sont asynchrones (figure 15). Les œstrogènes en concentration élevée pendant la phase folliculaire favorisent la croissance des canaux mammaires. En phase lutéale, l'association des œstrogènes (en faible concentration) et de la progestérone (en forte concentration) stimulent la mise en place du système lobulo-alvéolaire (Tucker, 1981 ; Forsyth, 1986 ; Jammes et Djiane, 1988 ; Hovey et al., 2002).

Ce processus est interrompu à la fin du cycle ce qui explique l'absence de développement lobulo-alvéolaire net chez la femelle post-pubère avant la première gestation (Lacasse, 2010). La progestérone seule n'a aucun effet sur la prolifération des cellules épithéliales mammaires chez les femelles prépubères, elle supprime l'effet mitogène des œstrogènes (Hovey et al., 2002).

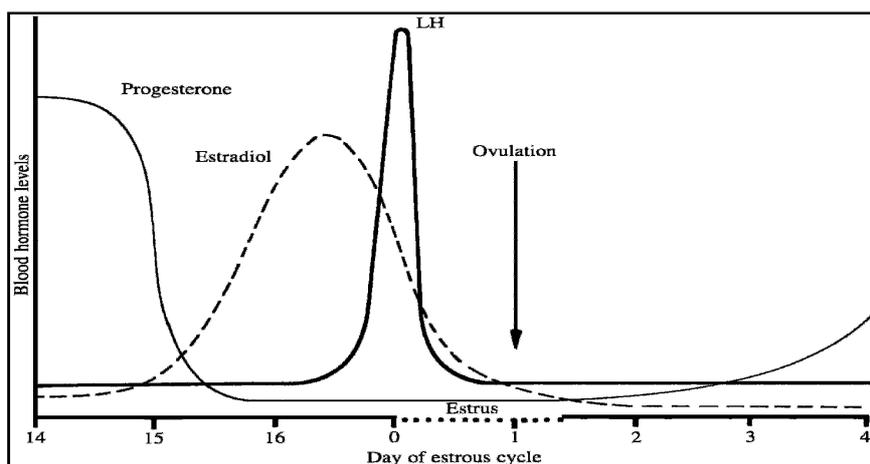


Figure 15: Représentation schématique des changements de concentration des hormones stéroïdiennes plasmatiques lors du cycle œstral de la brebis (Norris, 2007).

La régulation hormonale de la croissance allométrique chez les ruminants semble varier selon les espèces ; une ovariectomie de génisses prépubères supprime le développement de la glande mammaire, tandis qu'un apport exogène d'œstrogènes stimule la prolifération des cellules épithéliales mammaires et rétablit le développement canaliculaire chez les génisses ovariectomisées (Hovey et al., 2002). Cependant, les résultats de plusieurs études indiquent qu'une ovariectomie n'a aucun effet négatif sur la croissance allométrique mammaire des agnelles prépubères, ni sur le taux des œstrogènes circulants (Forsyth, 1989 ; Ellis, 1998 ; Caja et al., 2000).

Au cours de la gestation, l'augmentation simultanée des taux plasmatiques des œstrogènes et de la progestérone induit une amplification de leur action et favorise la croissance allométrique des canaux et du système lobulo-alvéolaire par une synergie hormonale de succession et de simultanéité (Tucker, 1981 ; Jammes et Djiane, 1988 ; Lawrence et Fowler, 2002). Chez la brebis, l'accélération du développement mammaire a lieu après le 80^{ème} jour de gestation au moment où les œstrogènes d'origine placentaire deviennent plus abondants dans la circulation sanguine (Houdebine, 2007).

Ces hormones stéroïdiennes agissent directement au niveau des cellules épithéliales souches situées à l'extrémité des canaux mammaires, elles deviennent capables de se multiplier sous l'effet de la prolactine et de différents facteurs de croissance (Delouis et al., 2001).

Les œstrogènes agissent par leurs récepteurs à localisation nucléaire pour augmenter les récepteurs de la progestérone (Jammes et Djiane, 1988 ; Tucker, 2000; Connor et al., 2007). Ils élèvent la sensibilité des cellules épithéliales à cette hormone qui intervient en synergie avec les œstrogènes et limite le nombre de récepteurs de la prolactine. La progestérone est d'autant plus efficace que le nombre de ses récepteurs augmente (Martinet et Houdebine, 1993 ; Delouis et al., 2001) (figure 16).

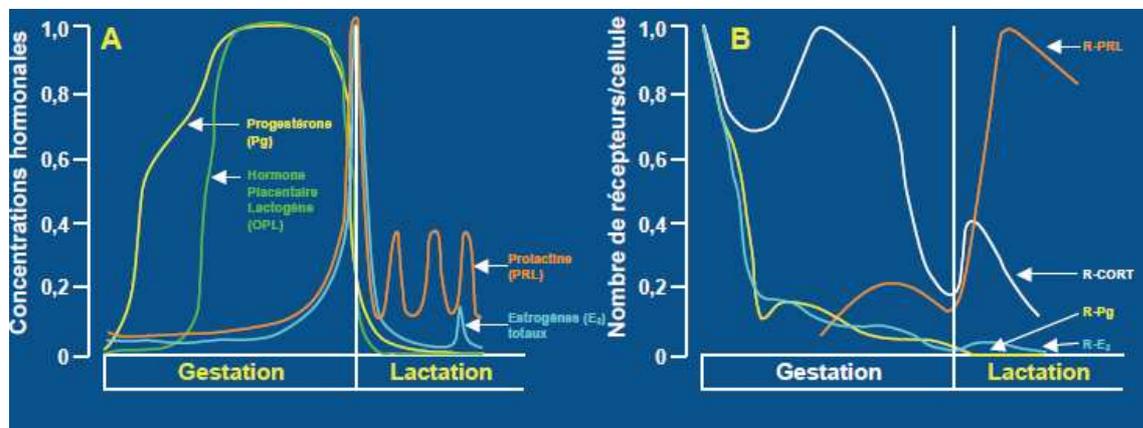


Figure 16: Les hormones mammogènes et leurs récepteurs mammaires (Delouis et al., 2001).

Les valeurs sont exprimées en proportion de la valeur la plus élevée pendant le cycle de reproduction ;
A. Evolution des concentrations plasmatiques de différentes hormones pendant la gestation et la lactation de brebis.

B. Evolution du nombre de récepteurs des hormones mammogènes dans le tissu mammaire de la souris pendant la gestation et la lactation.

b. Les hormones hypophysaires :

Les hormones hypophysaires ont un rôle amplificateur de l'action des stéroïdes (Jammes et Djiane, 1988).

- **L'hormone de croissance (GH):**

La somatotropine sécrétée par l'hypophyse antérieure joue un rôle important avec les œstrogènes dans le développement mammaire canaliculaire chez les ruminants. Administrée à des génisses et des brebis prépubères, elle stimule le développement mammaire allométrique mais elle est inefficace en absence d'œstrogènes (Hovey et al., 2002). Elle entraîne une augmentation marquée du poids du parenchyme (18- 48%) chez les génisses prépubères au dépens du stroma (Sejrsen et al., 1986 ; Radcliff et al., 2000). Cependant, cette augmentation ne s'est traduite que par une augmentation réduite de production laitière (Sejrsen et al., 1999).

La GH exercerait son effet mitogène sur l'épithélium mammaire par l'intermédiaire des Insulin Like Growth factors (IGF-1) produits par le foie ou par les cellules du stroma par des mécanismes endocrines, paracrines ou autocrines. En effet, une grande expression des ARNm des IGF-1 dans le stroma de brebis et de génisses est enregistrée durant la phase de croissance allométrique pré pubère (Forsyth, 1999 ; Akers et al., 2000 ; Tucker, 2000, Hovey et al., 2002).

- **La prolactine (PRL) :**

La prolactine sécrétée par l'hypophyse antérieure joue un rôle essentiel dans toutes les étapes de développement et de différenciation de la glande mammaire chez la plupart des espèces. Pendant la puberté, il existe une corrélation positive entre la croissance de la glande mammaire et la concentration plasmatique de la PRL. L'hypophysectomie de jeunes femelles entraîne une atrophie de cette glande, son développement sera restauré par l'injection de la PRL ou de la GH (Jammes et Djiane, 1988). La PRL est indispensable à l'hyperplasie et à l'hypertrophie mammaire après intervention des stéroïdes sexuels. Pendant la gestation, elle intervient dans la prolifération et la différenciation fonctionnelle des structures lobulo-alvéolaires (Martinet et Houdebine, 1993). Chez la brebis, l'interaction entre la PRL et les E joue un rôle fondamental dans le développement alvéolaire, alors que seule la PRL semble nécessaire chez la génisse (Hovey et al., 2002).

c. L'hormone placentaire lactogène (PL) :

L'hormone placentaire lactogène également appelée somatomammotropine chorionique ou mammotropine chorionique a été isolée à partir de placentas de plusieurs espèces, elle est cependant absente chez la chatte, la chienne, la jument et la truie. Elle présente une homologie structurale et fonctionnelle avec l'hormone de croissance et la prolactine (Martal et Chene, 1993).

Le taux de cette hormone augmente considérablement dans le sang maternel durant la deuxième moitié de la gestation chez la chèvre et la brebis, mais reste faible ou indétectable chez la vache (Akers, 1985 ; Martal et Chene, 1993 ; Houdebine, 2007). Ses rôles ne sont pas bien définis, elle ne semble pas être indispensable au développement normal de la glande mammaire ou à la lactation (Akers, 1985). Elle pourrait contribuer directement ou via la formation de somatomédines à la croissance de la glande mammaire pendant la gestation par sa structure plus apparentée aux hormones de croissance qu'aux prolactines (Houdebine, 1986). Chez la brebis et la chèvre, une corrélation positive a été établie entre la concentration sanguine de l'hormone placentaire lactogène, le nombre de fœtus, la croissance mammaire et la production laitière (Forsyth, 1986 ; Martal et Chene, 1993 ; Houdebine, 2007).

d. Les glucocorticoïdes (GC):

Les glucocorticoïdes sont élaborés par les glandes surrénales sous l'action de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) libérée par l'hypophyse. Leur présence est nécessaire pour un développement maximal des canaux galactophores. Cependant, ces effets sur la mammogénèse semblent permissifs plutôt que directs car leur concentration plasmatique demeure faible pendant la gestation et n'augmente qu'au moment de la parturition, probablement en relation avec le stress de parturition (Erb, 1977 ; Tucker, 1981, 2000 ; Lacasse, 2010). Dans les cellules alvéolaires, le cortisol induirait la différenciation du réticulum endoplasmique rugueux et de l'appareil de Golgi (Tucker, 1981, 2000).

3.1.2.2. Contrôle paracrine du développement mammaire :

La mammogénèse ne se limite pas à la simple action des hormones même si leur rôle est primordial, de nombreux facteurs agissant localement par autocrinie ou paracrinie jouent un rôle décisif dans son développement (Houdebine, 2007). Tous les composants de la glande interviennent dans la régulation complexe de ce développement :

- Les cellules épithéliales portent des récepteurs de l'Epidermal Growth Factor (EGF) dont l'expression augmente sous l'effet des œstrogènes.

- Elles produisent du TGF- α (Transforming Growth Factor α) qui se lie au récepteur de l'EGF et un facteur de croissance spécifique appelé MDGF-1 (Mammary derived growth factor).
- Les cellules myoépithéliales secrètent des IGF-1.
- Les fibroblastes du conjonctif produisent également des facteurs de croissance.
- Les adipocytes libèrent des prostaglandines E2 (PgE2), sous l'effet de la STH qui contrôlent le taux local des hormones sexuelles et libèrent des lipides favorisant la croissance.
- TGF- β inhibe la croissance de la glande.
- EGF et TGF- α diminuent l'expression des récepteurs de la prostaglandine.

3.2. LA LACTOGENESE :

3.2.1. La lactogénèse I et II :

La lactogénèse est caractérisée par l'apparition, pendant la mammogénèse, de l'activité synthétique de la cellule mammaire (Delouis et al., 2001).

La lactogénèse I : commence dès la moitié de gestation, elle correspond à l'augmentation de l'activité enzymatique mammaire, à la différenciation cellulaire et à l'apparition de lactose et d'une sécrétion lactée limitée caractérisée par une faible augmentation du contenu en ARN total au cours de la mammogénèse, ainsi que l'expression progressive de certains gènes impliqués dans la synthèse des composants du lait. Cette phase peut être distinguée morphologiquement par l'apparition de vacuoles lipidiques dans le cytoplasme des cellules épithéliales mammaires (Delouis et al., 2001 ; Neville et al., 2002 ; Reece, 2009).

La lactogénèse II : conduit à une sécrétion abondante des différents composants du lait durant la période péri partum. Elle est caractérisée par une augmentation très importante du contenu en ARN total de la glande mammaire , une augmentation de l'expression des gènes des protéines du lait , la fermeture des jonctions serrées entre les cellules alvéolaires et l'apparition de vacuoles lipidiques et de micelles de caséine dans la lumière alvéolaire, ainsi qu'une augmentation du transfert cytoplasmique des immunoglobulines et d'autres substances caractérisant la formation du colostrum (Delouis et al., 2001 ; Neville et al., 2002 ; Reece, 2009).

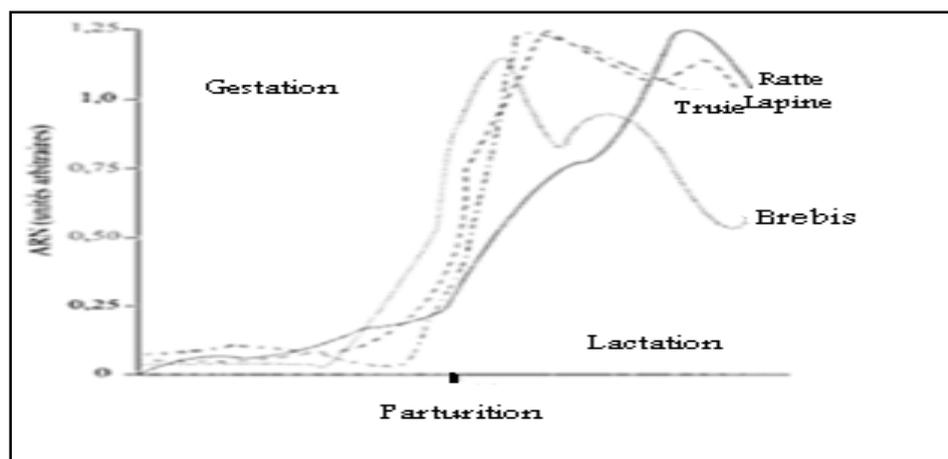


Figure 17: Evolution des contenus en ARN des glandes mammaires (Delouis et al., 2001).

3.2.2. Contrôle hormonal de la lactogénèse:

Les hormones intervenant dans la régulation de la lactogénèse varient selon les espèces (Squires, 2003).

a. Les hormones stéroïdiennes :

Les œstrogènes interviennent dans le déterminisme de la lactation en période péri partum par stimulation de la sécrétion hypophysaire de la prolactine et par augmentation de ses récepteurs dans les cellules mammaires. Une ovariectomie durant la lactation n'a aucun effet sur la production laitière et la lactation déjà établies (Akers, 1985 ; Jammes et Djiane, 1988 ; Tucker, 2000 ; Squires, 2003).

La progestérone exerce un verrou sur les sécrétions lactées tout au long de la gestation avec un double rôle inhibiteur ; au niveau hypophysaire en freinant la sécrétion de prolactine et directement au niveau mammaire en supprimant la formation de ses récepteurs empêchant le signal prolactinique de stimuler l'expression des gènes des protéines du lait (Martinet et Houdebine, 1993). Son effet inhibiteur serait plus grand sur la synthèse des caséines, suivi de l' α -lactalbumine. Ceci expliquerait l'apparition de lactose dans le tissu mammaire avant les caséines (Lacasse, 2010). La progestérone peut également entrer en compétition avec les glucocorticoïdes pour leurs récepteurs (Tucker, 1981 ; Forsyth, 1986 ; Squires, 2003).

La chute du taux de la progestérone autour de la parturition déclenche la lactogénèse II, libère tous les systèmes de synthèse et induit la sécrétion de la prolactine (Martinet et Houdebine, 1993 ; Neville et al., 2002). Cependant, la progestérone n'a aucun effet sur la lactation déjà initiée même injectée à doses élevées. Ses récepteurs ne sont plus exprimés à ce stade physiologique. En plus, étant liposoluble, elle aurait plus d'affinité pour la matière grasse du lait que pour son propre récepteur (Tucker, 1981, 2000 ; Lacasse, 2010).

Chez la brebis, le taux de la progestérone commence à diminuer 3 jours avant l'agnelage, le taux de la prolactine commence à croître environ 25 jours avant la mise bas avec des pics autour de la parturition. Le taux de l'hormone placentaire lactogène chute brusquement avec la naissance alors que la corticostérone est relativement constante (figure 18).

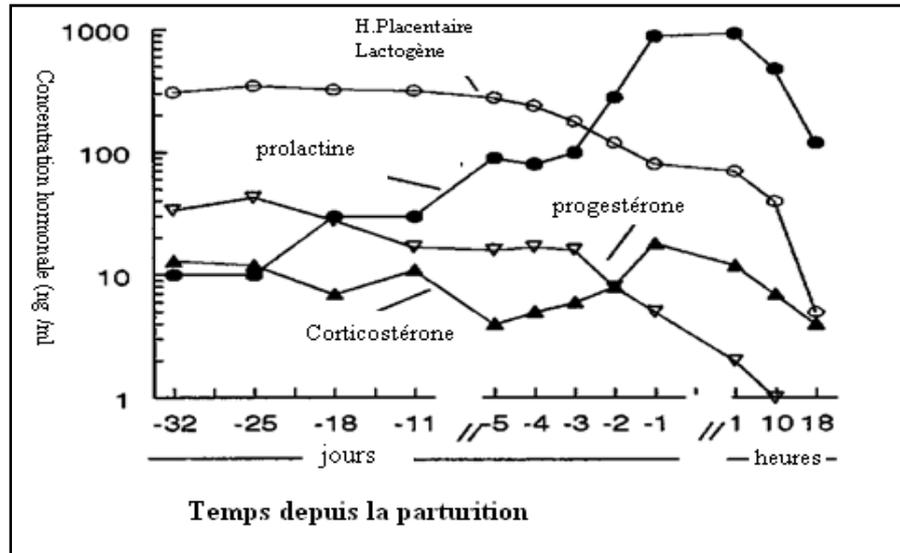


Figure 18: Taux des hormones en fin de gestation et début de lactation chez la brebis (Neville et al., 2002)

b. La prolactine :

La prolactine est indispensable à la prolifération alvéolaire et à la lactogénèse. Chez tous les mammifères, l'hypophysectomie après la moitié de gestation supprime de façon marquée l'induction de la lactation sans pour autant affecter le développement de la glande mammaire (Lacasse, 2010). Chez la brebis, la décroissance brutale de la progestérone durant les 3 ou 4 jours précédant la parturition et l'augmentation notable des œstrogènes maternels et fœtaux le jour de la mise bas sont en relation étroite avec l'augmentation de la prolactine dans le sang et du lactose dans la glande mammaire (Deis et al., 1993 ; Delouis et al., 2001).

Ce pic de PRL joue un rôle primordial dans la phase II de la lactogénèse. Le nombre des récepteurs de la prolactine sur les cellules épithéliales mammaires varie avec les concentrations sanguines de l'hormone. Il augmente très peu durant la gestation mais considérablement au moment de la parturition. La prolactine induit la formation de son propre récepteur, les œstrogènes et les glucocorticoïdes vont aussi augmenter le nombre de ces récepteurs alors que la progestérone les diminue (Akers, 1985 ; Neville et al., 2002 ; Lacasse, 2010).

c. L'hormone placentaire lactogène (PL):

L'hormone placentaire lactogène commence à augmenter à la mi-gestation. Ceci correspondrait à la phase I de la lactogénèse qui serait ainsi initiée grâce aux propriétés lactogéniques de cette molécule. A ce moment, il n'y a pas de sécrétions abondantes de lait à cause du verrou causé par la progestérone (Neville et al., 2002). De plus, l'hormone placentaire lactogène est capable de se lier aux récepteurs de la GH et de la prolactine. Ceci expliquerait les effets mammogènes et lactogènes de la PL ovine *in vivo* chez les brebis (Khan et al., 1999). Chez les bovins, elle est sécrétée dans la circulation fœto-placentaire et non maternelle, il est donc douteux qu'elle ait un rôle à jouer dans la lactogénèse dans cette espèce (Houdebine, 2007).

d. La somatotropine (GH):

La GH est libérée au moment de la parturition et agirait en synergie avec la prolactine et les glucocorticoïdes sur la lactogénèse. Elle est lactogénique chez plusieurs espèces. Elle augmenterait la production laitière chez les brebis et les bovins en lactation (Delouis et al., 1980 ; Neville et al., 2002). Toutefois, l'action de la GH et de l'IGF-1 sur la lactogénèse reste encore imprécise. On pense que la GH agirait pour orienter et mobiliser les éléments nutritifs vers la glande mammaire (effet homéorhétique), son action serait donc métabolique tant sur l'animal que sur les cellules mammaires en lactation. Elle favoriserait la mobilisation des graisses en s'opposant à la lipogénèse induite par l'insuline et en stimulant la lipolyse dans les adipocytes (Jammes et Djiane, 1988 ; Tucker, 2000 ; Lacasse, 2010).

e. Les glucocorticoïdes (GC) :

Les concentrations des glucocorticoïdes sont très faibles durant la gestation (autour de 10 ng /ml chez le rat, la souris et la brebis), leur augmentation considérable au moment de la parturition est probablement liée au stress de la parturition. Ces concentrations restent élevées pendant la lactation expliquant leur effet lactogène (Tucker, 2000). Ils stimulent la synthèse des caséines *in vivo* et *in vitro* et sont essentiellement amplificateurs des hormones du complexe lactogène surtout de la prolactine. Leurs récepteurs peu abondants chez l'animal en gestation, vont tripler dans les derniers jours avant la parturition et diminuer par la suite. Ils sont induits par les glucocorticoïdes eux-mêmes et par la prolactine (Martinet et Houdebine, 1993).

f. L'insuline :

Bien qu'elle stimule la mitose des cellules mammaires *in vitro*, l'insuline ne semble pas indispensable à la mammogénèse *in vivo* (Tucker, 1981, 2000). Elle n'est généralement pas considérée comme faisant partie du complexe hormonal lactogène du fait que l'insulinémie varie peu et est plutôt faible pendant la lactation (Houdebine, 1986). Elle interviendrait au niveau de la glande mammaire dans la lipogénèse et la synthèse du lactose en régulant l'apport de nutriments à la glande mammaire pendant la lactation. Elle favoriserait l'absorption des éléments indispensables au métabolisme cellulaire, exercerait une action mitogène et agirait en synergie avec la PRL et les GC. Elle serait indispensable à la différenciation structurale et fonctionnelle des cellules mammaires. Son action intracellulaire implique une augmentation du réticulum endoplasmique rugueux des lactocytes (Delouis et al., 2001 ; Neville et al., 2002).

3. 3. LA GALACTOPOÏÈSE ET SON CONTROLE HORMONAL :

La galactopoïèse est la phase de sécrétion lactée dont la mise en place intervient à la parturition, elle est entretenue par la traite ou la tétée. Elle se traduit par une hypertrophie importante de la cellule épithéliale mammaire qui s'enrichit en organites pour atteindre une activité synthétique et sécrétoire maximale (Delouis et al., 2001).

Les facteurs essentiels qui limitent la production du lait sont le nombre des cellules épithéliales mammaires présentes et la capacité de l'organisme maternel à orienter son métabolisme en faveur de la glande mammaire (Houdebine, 1986).

Les adaptations du métabolisme maternel supposent une augmentation et une redistribution adéquate des flux sanguins principalement dans le cœur, la mamelle, le tractus digestif et le foie. Elles résultent de la mise en place de régulations coordonnées du métabolisme des différents tissus et organes assurant à la mamelle un approvisionnement prioritaire en nutriments (Chilliard, 1993). Ces modifications résulteraient de l'action combinée de l'insuline, de l'hormone de croissance, de la thyroxine et des glucocorticoïdes qui joueraient un rôle de support métabolique (Lacasse, 2010).

a. La prolactine (PRL) :

La PRL n'est pas une hormone galactopoïétique chez la vache et la chèvre et jouerait un rôle intermédiaire chez la brebis par la régulation du métabolisme minéral où elle favoriserait en gestation l'absorption intestinale et le transfert placentaire de calcium, mais elle n'aurait pas d'effet direct sur le tissu adipeux ovin ni sur le métabolisme intermédiaire chez la chèvre (Chilliard, 1993).

b. L'hormone de croissance (somatotropine, GH) :

La GH est galactopoïétique chez les ruminants par son rôle vraisemblablement stimulateur de la multiplication et du métabolisme cellulaire de la mamelle. Elle est indispensable pour le maintien de la lactation et ses concentrations plasmatiques sont positivement corrélées avec la production laitière (Tucker, 1981 ; Jammes et Djiane, 1988; Frandson et al., 2009).

c. Les glucocorticoïdes (GC) :

La parturition s'accompagne d'une augmentation importante des glucocorticoïdes, une suppression des GC circulants à la parturition réduit très nettement l'intensité de la montée laiteuse, ce qui démontre que c'est la présence des GC mais pas nécessairement leur augmentation qui est indispensable à cette période (Houdebine, 2007).

d. Les hormones thyroïdiennes :

Elles sont requises pour une production laitière maximale car elles augmentent l'activité métabolique de la glande mammaire par rapport aux autres tissus ; une thyroïdectomie entraîne une diminution de la production laitière (Squires, 2003).

e. L'insuline :

Chez les bovins, les concentrations en insuline varient de façon inversement proportionnelle avec la production de lait. Un apport exogène d'insuline aurait comme effet de diminuer la production du lait en diminuant la disponibilité de glucose vers la glande mammaire. Par contre, un apport d'insuline exogène et de glucose afin de maintenir la glycémie aurait comme effet d'augmenter la production de protéines par la glande mammaire (Squires, 2003).

3.4. L'INVOLUTION DE LA GLANDE MAMMAIRE :

L'involution normale du tissu alvéolaire au cours de la lactation est plus ou moins rapide selon les espèces. La disparition totale des alvéoles est lente chez les ruminants (3 à 4 semaines chez la brebis et la vache et 6 mois chez la chèvre). Le tissu alvéolaire est remplacé par du tissu adipeux dans lequel se développera une nouvelle masse glandulaire au cours du cycle de reproduction suivant (Delouis et al., 2001). Dans un premier temps disparaissent les cellules alvéolaires différenciées par apoptose, puis les cellules non différenciées (cellules myoépithéliales, fibroblastes) et la lame basale ; cette deuxième étape est inhibée par l'administration de corticoïdes (Wilde et al., 1997). Avec la dégénérescence du tissu, la glande mammaire est envahie par des macrophages et des lymphocytes qui participeront à la production d'immunoglobulines lors de la phase colostrale du cycle reproductif suivant (Delouis et al., 2001).

PARTIE II : L'ECHOGRAPHIE ET LA BIOPSIE ECHOGUIDEE :

1. L'ECHOGRAPHIE ET SES PRINCIPES:

L'échographie est une technique non invasive d'imagerie médicale basée sur l'utilisation d'ondes ultrasonores. En médecine vétérinaire, les fréquences des ultrasons utilisées varient en général entre 2,5 et 10 MHz (Barthez, 2003 ; Gayrard et al., 2010).

1.1. Formation de l'onde ultrasonore :

L'onde ultrasonore est formée par un cristal piézo-électrique contenu dans la sonde de l'échographe. Ce cristal piézo-électrique, ou transducteur, convertit l'énergie électrique en ultrasons et vice versa. Il émet des ultrasons à partir d'une impulsion électrique et transforme en courant électrique les ultrasons qui reviennent vers la sonde après avoir été réfléchis. La sonde n'émet pas des ultrasons en continu, mais en salve (Barthez, 2003).

Une partie des échos qui sont produits et qui traversent les tissus reviennent au cristal piézo-électrique produisant ainsi une vibration de ce dernier et un courant électrique : le signal échographique. Ce signal électrique est traité par un logiciel pour être traduit par un point sur l'écran. La position de ce point est fonction du temps que met l'écho à revenir à la sonde et donc de la distance entre la sonde et le tissu ayant donné naissance à l'écho.

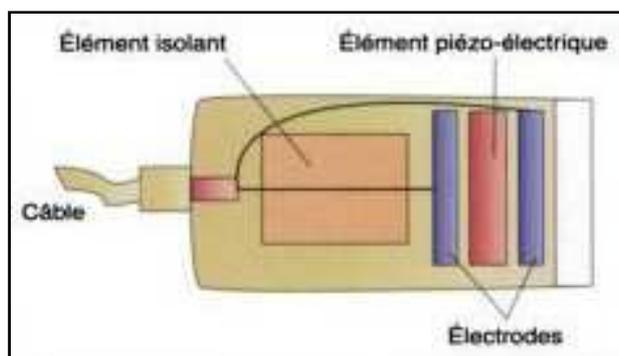


Figure 19: Schéma d'une sonde ultrasonore disposant d'un cristal piézo-électrique (Chetboul et al., 2005)

1.2. Le faisceau d'ultrasons :

Le transducteur n'émet pas une seule onde mais un faisceau d'ultrasons dans lequel on définit deux zones distinctes:

- Un champ proximal ou zone de Fresnel où les ondes sont parallèles entre elles.
- Un champ distal ou zone de Fraunhofer à partir duquel les ondes divergent.

La résolution est la capacité du transducteur à distinguer deux points très proches :

- La résolution axiale permet de distinguer deux structures dans l'axe principal de propagation des ultrasons, plus la fréquence est élevée meilleure est cette résolution.
- La résolution latérale est la capacité de la sonde à distinguer deux objets non alignés sur l'axe de propagation des ultrasons, elle dépend du diamètre du faisceau. Elle est meilleure dans la zone de Fresnel (Chetboul et al., 2005 ; Gayrard et al., 2010).

1.3. L'interaction des ultrasons avec les tissus :

L'image échographique est formée par la réflexion d'une partie des ultrasons sur les tissus. Ce phénomène se produit au niveau de la surface de séparation entre deux milieux d'impédances acoustiques différentes, encore appelée interface acoustique, et subit des lois identiques à celles de l'optique.

1.3.1. Notion d'impédance acoustique :

L'impédance acoustique correspond à la résistance qu'oppose un milieu donné au cheminement des ultrasons et dépend de la densité du milieu et de sa consistance, elle est indépendante de la fréquence des ultrasons (Chetboulet al., 2005)

Tableau I: Impédance acoustique de différents milieux (Chetboul et al., 2005)

Milieu	Impédance (g/cm ² /s)
Air	0.0004x10 ⁵ .
Graisse	1.38x10 ⁵ .
Sang	1.61x10 ⁵ .
Rein	1.62x 10 ⁵ .
Muscle	1.70x10 ⁵ .
Os	7.8x10 ⁵ .

Une **interface** est constituée de la juxtaposition de deux milieux d'impédance acoustique différente. Dans l'organisme, les grandes différences d'impédance acoustique se rencontrent entre les tissus mous et l'air et entre les tissus mous et les tissus durs (os, calculs, corps étrangers) (Barthez, 2003).

1.3.2. La réflexion et la réfraction des ultrasons :

Quand les ultrasons viennent frapper l'interface de deux milieux d'impédances acoustiques différentes, une partie des ondes incidentes est réfléchi, l'autre est réfractée. La direction suivie par les ultrasons réfléchis dépend de l'angle entre les ultrasons incidents et la surface réfléchissante :

- Pour les ultrasons arrivant perpendiculairement à la surface réfléchissante, les ultrasons réfléchis repartent perpendiculairement et le transducteur récupère alors beaucoup d'échos.
- Pour les ultrasons incidents formant un angle inférieur à 90° avec la surface réfléchissante, l'angle de réflexion est équivalent à l'angle d'incidence et le transducteur reçoit peu d'échos.

Les ultrasons non réfléchis sont réfractés et continuent leur pénétration en empruntant une direction différente de celle des ultrasons incidents (Chetboul et al., 2005).

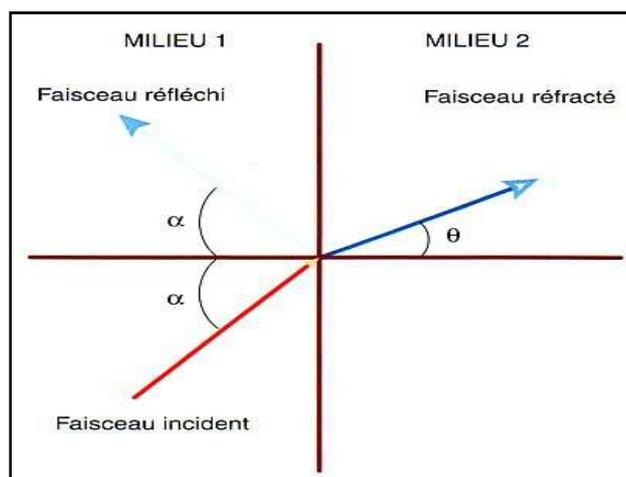


Figure 20: Phénomènes de réfraction et réflexion de l'onde ultrasonore ($\alpha \neq \theta$).
(Chetboul et al., 2005)

1.3.3. La diffusion ou la réflexion multidirectionnelle :

La rencontre entre les ultrasons et des structures petites et irrégulières est responsable de diffusions ou de réflexions multidirectionnelles, c'est à dire de leur réflexion en petite quantité dans de multiples directions. Ce phénomène est notamment responsable de l'aspect granuleux des parenchymes (Chetboul et al., 2005).

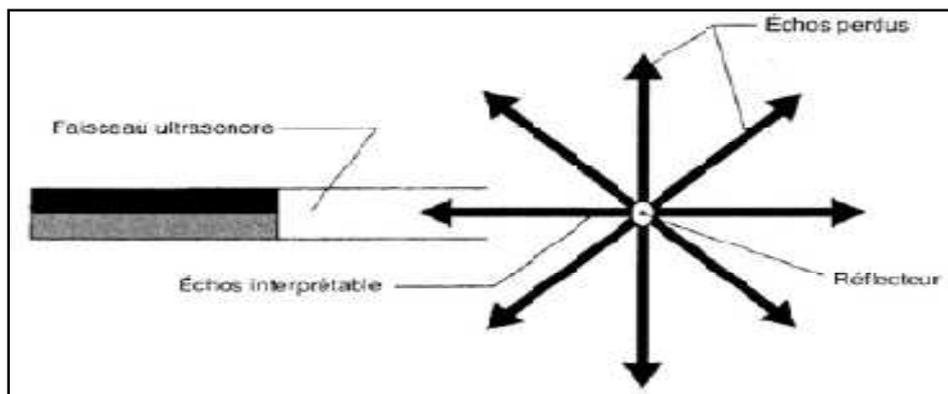


Figure 21: La diffusion des ultrasons (Loriot et al., 1995)

1.3.4. L'atténuation des ultrasons:

Le faisceau ultrasonore perd de son énergie au fur et à mesure de sa pénétration dans les différents tissus. Cette atténuation des ultrasons est due aux multiples interactions (réflexion, dispersion, réfraction). Elle dépend des milieux traversés, mais aussi des caractéristiques de l'onde ultrasonore et en particulier de la fréquence des ultrasons : plus la fréquence des ultrasons augmente, plus l'atténuation est importante (Barthez, 2003).

Tableau II: Relation entre la profondeur d'exploration et la fréquence de la sonde
(Barthez, 2003)

Fréquence des ultrasons (en MHz)	Profondeur d'exploration (en cm)
2,5- 3,5	≥ 15- 20
5	10
7,5	5-6
10	2-3

1.4. Les modes de traitement des échos :

1.4.1. Mode A : Amplitude ou mode unidimensionnel :

Ce mode consiste à afficher l'amplitude du signal recueilli par la sonde en fonction de la profondeur. Un seul faisceau ultrasonore de direction constante est utilisé (Barthez, 2003).

1.4.2. Mode B ou Brillance :

Le mode B ou brillance est le mode de représentation le plus commun. Il s'agit de représenter l'intensité du signal par la brillance d'un point sur l'écran. Plus le point est brillant, plus la réflexion des ultrasons a été importante et donc, plus l'écho est intense.

1.4.3. Mode TM ou Temps-Mouvement :

La représentation des variations de la position et de la brillance des échos en fonction du temps constitue le mode M (mouvement) ou TM (temps-mouvement). Ce mode permet d'obtenir une résolution temporelle supérieure au mode B et d'étudier des structures en mouvement. Il est surtout utilisé en échocardiographie (Barthez, 2003).

1.4.4. Mode Doppler :

Lorsqu'une onde sonore de fréquence donnée rencontre une surface de réflexion mobile, la fréquence de l'onde réfléchi est modifiée : c'est l'effet Doppler.

Le mode Doppler 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. La fréquence Doppler est fonction de la vitesse de l'objet en mouvement et appartient à l'échelle de sons audibles. L'écho produit peut donc être simultanément reproduit par un haut parleur et visualisé sur un écran d'oscilloscope.

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 pulse, 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 la circulation sanguine, il permet d'obtenir une véritable cartographie des flux sanguins superposée à l'image bidimensionnelle (Chetboul et al., 2005).

1.5. Les types de sondes et techniques de balayage :

1.5.1. Balayage mécanique:

L'image échographique est obtenue par un mouvement oscillatoire du cristal piézo-électrique permettant un véritable balayage mécanique de la zone échographiée. A l'écran, l'image a une forme triangulaire dite sectorielle.

1.5.2. Balayage électronique :

Les sondes électroniques réalisent des plans de coupe par stimulation de multiples cristaux disposés selon le grand axe de la sonde et fonctionnant en déphasage électronique. Lorsque les cristaux sont disposés en ligne droite, la sonde est dite linéaire et l'image obtenue est rectangulaire (Chetboul et al., 2005).

1.6. Interprétation des images échographiques :

1.6.1. Images de contours et de tissus divers : on distingue :

- Les images d'interfaces : formées par la réflexion des ultrasons dans une zone qui sépare deux milieux d'impédances acoustiques différentes. Sur l'écran de l'échographe, elles se traduisent par une ligne échogène entourant les organes. Cette ligne est d'autant plus brillante que le faisceau incident est perpendiculaire à l'interface et que la différence d'impédance acoustique entre les deux milieux est importante.
- Les images de paroi et de cloison : se traduisent par des lignes échogènes à l'écran, quelle que soit l'incidence du faisceau. Cette image sera visible même si la paroi ou la cloison sépare deux milieux d'impédance acoustique voisine (Loriot et al., 1995).

1.6.2. Images de tissus :

Les tissus mous (muscles, parenchymes) au sein desquels on observe une diffusion des ondes ultrasonores, sont représentés par une image de texture granuleuse, plus ou moins grisâtre en fonction des caractéristiques structurales de l'organe. Parmi les tissus mous on distingue les tissus graisseux, qui sont très échogènes et souvent à l'origine d'images de mauvaise qualité, en raison de l'atténuation et de la diffraction qu'y subissent les ondes ultrasonores.

Les tissus osseux ont une impédance acoustique très élevée. La réflexion est quasi-totale à leur interface. Il n'y a donc pas d'image derrière le tissu osseux et sa description se limite à celle de sa surface (Loriot et al., 1995).

1.6.3. Images des liquides et des gaz:

Les liquides purs (sang, urine, bile, liquide amniotique) transmettent parfaitement les ultrasons et apparaissent comme des zones anéchogènes (vides d'échos), noires à l'écran. En revanche, des liquides à cellularité élevée ou contenant des particules en suspension, tels que le pus ou certains épanchements, sont qualifiés d'«impurs» et paraissent à l'écran piquetés de blanc (Loriot et al., 1995).

2. LA BIOPSIE ECHOGUIDEE AU PISTOLET AUTOMATIQUE :

L'échographie interventionnelle recouvre l'ensemble des techniques qui utilisent l'échographie en tant que moyen de guidage d'un geste diagnostique (ponction, biopsie) ou thérapeutique (drainage percutané). Dans ces procédures, l'image n'est pas une fin en soi mais un moyen (Perret et al., 1998 ; Agut, 2008).

Une biopsie implique le prélèvement d'un échantillon de tissu pour un examen histologique dont l'intérêt est d'éliminer les prélèvements cytologiques acellulaires et permettre un diagnostic anatomopathologique (Escolano et al., 1999).

2.1. Matériel de la biopsie :

Les aiguilles à biopsie destinées aux prélèvements histologiques servent à découper un échantillon de volume suffisant pour réaliser une étude architecturale. Le volume de l'échantillon est proportionnel au calibre de l'aiguille, à l'efficacité du système de découpe, à la cohésion cellulaire de la cible et à la qualité de la méthode de prélèvement (Perret et al., 1998).

Une large gamme d'aiguilles de biopsie est disponible sur le marché, le plus répandu est le système automatique Trucut (coupe échantillon) (Mannion, 2006 ; Agut, 2008). Ces biopsies utilisent un pistolet automatique à ressort avec une aiguille de 14 Gauge (G) parfois 16 ou 18 G et permettent d'obtenir des fragments hémicylindriques de 15 mm en moyenne et de 10 à 20 mg (14 G) (Levy, 2005).

Bien que conçus pour un usage unique dans le domaine vétérinaire, ces pistolets à biopsie sont souvent stérilisés et réutilisés. Selon une étude récente, on n'a pas rapporté d'effet néfaste sur la qualité de l'échantillon obtenu (Mannion, 2006).

La microbiopsie réalisée avec un pistolet automatique, technique plus invasive que la ponction échoguidée à l'aiguille fine, est un examen facile permettant un diagnostic histologique très fiable (Seror et Uzan, 2007). Cependant, le risque d'hémorragie peut être plus élevé (Agut, 2008).

La sonde doit être de taille réduite afin d'être maniable ; les sondes convexes sectorielles, plus adaptées, sont le plus souvent utilisées, les sondes linéaires offrent un champ d'exploration large en superficie facilitant le repérage de l'aiguille dans les premiers centimètres de son trajet sous-cutané.

La fréquence de la sonde a également une grande importance et doit être adaptée à la profondeur du champ d'exploration et à la situation de la cible à ponctionner qui doit être placée en avant de la zone de focalisation. En ce qui concerne les mesures, il est utile de tester l'intermètre et de mesurer sur l'écran la distance depuis la surface cutanée à la cible, d'autant plus qu'actuellement les aiguilles à biopsie sont graduées (Perret et al., 1998).

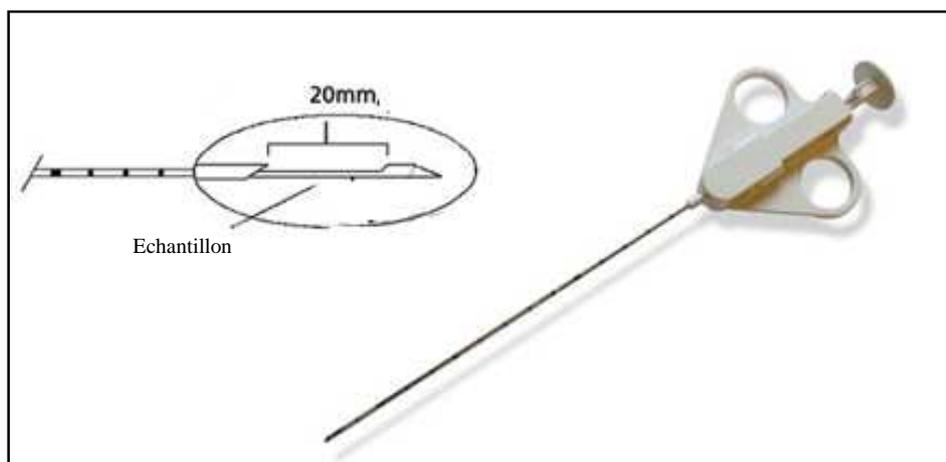


Figure 22: Pistolet automatique à biopsie pour tissus mous (www.vtrade.be)

2.2. Technique de la biopsie :

Une sédation ou une anesthésie générale sont parfois nécessaires (Mannion, 2006). La zone de prélèvement est soigneusement nettoyée et désinfectée chirurgicalement (alcool et solutions iodées). La désinfection est effectuée sur une surface large autour du site de prélèvement (Nyland et al., 2002).

Un marqueur indélébile peut être utilisé sur la peau pour repérer le site de prélèvement choisi par un examen échographique. Une anesthésie locale superficielle et des aiguilles de calibre suffisant (18 à 14 G) sont utilisées. Les prélèvements sont réalisés sous contrôle échographique (Seror et Uzan, 2007). Pour les biopsies effectuées avec des aiguilles de gros calibre (14 G), une petite incision cutanée peut être effectuée avec une petite lame de bistouri (n°11) avant de réaliser le prélèvement pour faciliter le passage de l'aiguille et limiter la déviation de celle-ci par rapport au plan de coupe ultrasonore (Mannion, 2006). La sonde et l'aiguille doivent se trouver dans un plan perpendiculaire afin de visualiser l'aiguille sur tout son trajet (Perret et al., 1998). L'aiguille apparaît sous forme d'un trajet hyperéchogène linéaire dont la pointe est repérée par un écho très brillant (Escolano et al., 1999).

Lorsqu'un pistolet automatique est utilisé, il est chargé stérilement avant ou après avoir positionné l'aiguille : l'aiguille, entourée de sa gaine en plastique protectrice, est manipulée par son extrémité plastique. Celle-ci est retirée juste avant la biopsie (Nyland et al., 2002). Le mécanisme automatique à double détente permet d'obtenir une carotte de tissu sur un organe mou et mobile ; l'aiguille est placée sous contrôle échographique dans l'organe ou la lésion et le tir est effectué par une pression exercée sur la détente, son recouvrement immédiat par la gaine permet le prélèvement à l'emporte pièce d'un fragment de tissu lésionnel (Escolano et al., 1999).

Le prélèvement effectué, l'échantillon est extrait de l'encoche à biopsie à l'aide d'une aiguille à injection et il est placé dans un flacon de formol à 10% ou dans du liquide de Bouin pour examen histopathologique ou dans un récipient stérile pour culture bactérienne. Il est préférable de prendre au moins trois échantillons (Mannion, 2006).

Un contrôle échographique est réalisé après la biopsie : l'aspect d'une hémorragie récente varie en fonction de la localisation et de l'échogénicité des tissus environnants (Perret et al., 1998).

L'architecture trouvée dans l'échantillon détermine sa qualité et cela varie selon les organes. Dans une récente étude, il a été constaté que la qualité des biopsies spléniques était insuffisante et bien qu'il y ait un succès raisonnable dans le taux d'obtention de biopsies du foie et des reins, tous n'étaient pas de bonne qualité (Mannion, 2006).

PARTIE PRATIQUE

I. MATERIEL ET METHODES :

Le travail expérimental (les biopsies mammaires) a été réalisé au niveau du Département Vétérinaire de l'Université de Batna au Service de Chirurgie et d'Imagerie Vétérinaire (SCIV).

Les prélèvements histologiques ont été traités au laboratoire d'anatomie pathologique du Centre Hospitalier et Universitaire (C.H.U) de Batna.

L'étude s'est étalée de septembre 2010 à avril 2011.

1. MATERIEL :

1.1. Les animaux :

Notre étude a porté sur sept brebis multipares de race Ouled Djellel achetées gestantes et placées au niveau de l'animalerie du département vétérinaire, en plus d'une brebis primipare.

Ces brebis sont réparties comme suit :

Nombre	Age (an)	Stade de gestation	Stade de lactation
1	5	2.5 mois	
2	3 et 4	3 mois et 1 semaine	
2	2 et 3	4mois	
2	3	4 mois et 3 semaines	
1	1		2 ^{ème} jour

- L'âge des brebis a été déterminé par examen de leur dentition.
- Le stade de gestation a été déterminé par examen échographique.

1.2. Equipement échographique :

- **Echographe utilisé :**

Tous les examens échographiques ont été réalisés avec un Echographe My lab 40 d'Esate avec une échelle de gris qui comprend 256 niveaux et une très bonne résolution d'image. Il est équipé d'un Doppler couleur, puissance, continu et pulsé.

Les images échographiques sont systématiquement enregistrées puis transférées sur clé USB ou sur DVD.

- **Les sondes :**

L'échographe est relié à des sondes linéaire, sectorielle et endocavitaire ; sondes multifréquences à large bande allant de 2 à 16 MHz.

- **Un gel échographique de couplage** : appliqué sur la mamelle pour améliorer le contact de la sonde.



Photographie 01 : Echographe Mylab40 Esaote [Image SCIV-département vétérinaire]

1.3. Matériel de biopsie :

- **Pistolets automatiques à biopsie** :

L'ensemble des prélèvements histologiques a été réalisé par biopsie sur des animaux vivants à l'aide de pistolet à biopsie pour tissus mous : vet-core (Surgivet) avec une aiguille intégrée de diamètre 14 gauge, 15 cm de longueur permettant d'obtenir une carotte de 20 mm.

C'est un système automatisé dont le principe est d'allier un mandrin et une canule qui le recouvre. Pour effectuer le tir, après avoir pénétré l'organe, il faut actionner le pistolet. Le mandrin va alors s'avancer d'une longueur « x » puis la canule va le recouvrir. Par conséquent, l'organe à prélever doit avoir une épaisseur au moins égale à « x » (Nyland et al., 2002).

- Les prélèvements histologiques ont nécessité des flacons de formol à 10% tamponné à la neutralité étiquetés pour identification des biopsies.

1.4. Le microscope optique:

La lecture des lames histologiques a été réalisée avec un microscope photonique Leica équipé d'objectifs ($\times 10$, $\times 0.25$, $\times 20$, $\times 40$ et $\times 100$ à immersion), il est relié à un micro-ordinateur permettant de reprendre et d'enregistrer les images histologiques.

2. METHODES :

Les biopsies mammaires ont été obtenues selon la méthode décrite par Kacskovics (2005) chez la brebis : biopsie au pistolet automatique 14G. Pour plus de précision, on a assisté le guidage de l'aiguille à biopsie par échographie.

2.1. Etapes de réalisation des biopsies mammaires

Préparation de l'animal et de la mamelle :

Une tranquillisation préalable de brebis à l'acépromazine est obtenue par injection I.M ou I.V à la dose de 0.5 ml. Cette sédation est facultative puisque les brebis suivantes n'ont manifesté aucune agitation.

Un lavage soigneux du pis à l'eau savonneuse est pratiqué, on procède ensuite au séchage de la mamelle

Contention :

L'animal est placé sur la table de chirurgie à hauteur adaptée, en décubitus latéral. Les membres antérieurs, les postérieurs et la tête sont fermement neutralisés par deux aides.

Un examen clinique préalable de la mamelle est réalisé par palpation pour déceler d'éventuelles anomalies ; indurations, signes d'inflammations...

Préparation du site :

La mamelle est soigneusement nettoyée et désinfectée chirurgicalement à l'alcool puis par application d'une solution iodée (photographie 02).



Photographie 02: Désinfection chirurgicale de la mamelle [Image SCIV].

Un 1^{er} examen échographique est effectué dans le but de voir le stade de la gestation par voie trans-abdominale avec une sonde sectorielle à fréquence superficielle après application d'un gel échographique de contact, ou par une sonde endovaginale.

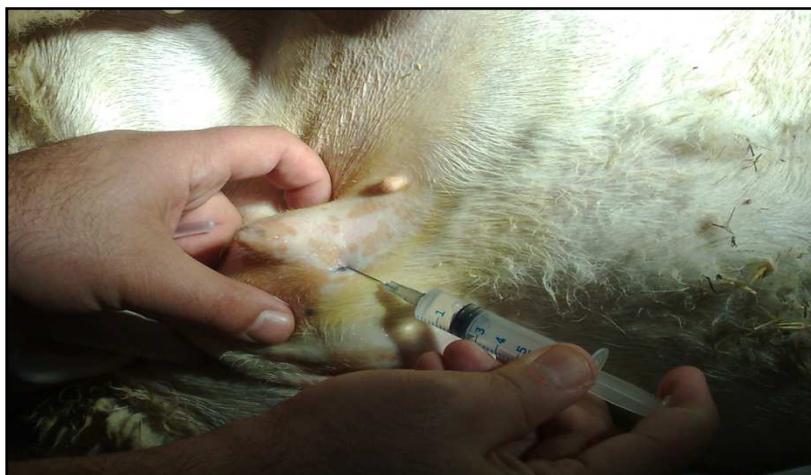
Technique de la biopsie échoguidée :

- Un examen échographique transcutané de la mamelle est réalisé en mode B pour voir l'aspect global de la glande et d'éventuelles lésions par une sonde linéaire ou sectorielle à fréquence superficielle (6.6, 7.5 ou 12 Mhz) après application du gel échographique sur la mamelle (photographie 03).



Photographie 03: Examen échographique de la mamelle [Image SCIV].

- L'utilisation de l'échographie en mode Doppler permet d'évaluer la vascularisation de la mamelle et de mieux diriger le prélèvement. L'aiguille ne doit pas franchir les vaisseaux sanguins surtout les plus importants.
- Le site de la biopsie est alors repéré avec un marqueur indélébile.
- Essuyer le gel échographique et restériliser l'endroit de biopsie avec de l'alcool.
- Une fois le site de biopsie localisé, faire une infiltration d'un anesthésique local (2 ml de lidocaïne à 2%) (photographie 04).



Photographie 04: Anesthésie locale du site de biopsie repéré au marqueur [Image SCIV].

- Une petite incision cutanée est faite au point marqué avec une petite lame de bistouri n°11 avant de réaliser le prélèvement pour faciliter le passage de l'aiguille à biopsie et limiter sa déviation par rapport au plan de coupe ultrasonore (photographie 05).



Photographie 05 : Incision au bistouri de la peau au site choisi [Image SCIV].

Le trajet de l'aiguille est alors visualisé sur l'écran de l'échographe par une droite hyperéchogène.

- L'aiguille est positionnée sous contrôle échographique à la profondeur désirée dans le tissu mammaire (photographie 06), le tir est effectué par une pression exercée sur la détente du pistolet automatique (photographie 07).

Tout mouvement de l'animal doit être évité de manière à empêcher un déplacement de la position du site de prélèvement par rapport à la peau.



Photographie 06: Introduction de l'aiguille à biopsie et guidage échographique de son trajet [Image SCIV].



Photographie 07: Retrait de l'échantillon au pistolet automatique [Image SCIV].

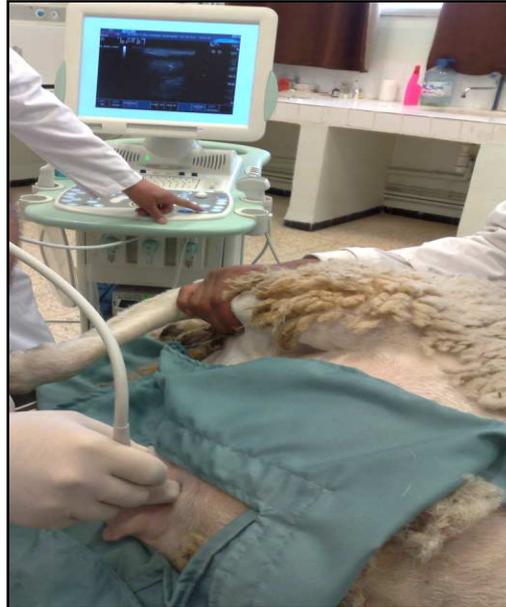
- Le prélèvement effectué, l'aiguille est retirée et le tissu biopsié est contenu dans la logette de l'aiguille (photographie 08).



Photographie 08: Carotte de tissu mammaire dans la logette de l'aiguille [Image SCIV].

- L'échantillon (la carotte) est extrait de l'encoche à biopsie à l'aide d'une aiguille à injection et il est placé dans un flacon de formol à 10% pour examen anatomohistologique.
- Si nécessaire un point de suture est effectué au niveau du site de l'incision.
- Une échographie de contrôle est réalisée après la biopsie afin de localiser un éventuel hématome ou une hémorragie (aucune hémorragie n'a été décelée lors des biopsies réalisées) (photographie 09).
- Une couverture antibiotique par injection I.M de Penicilline-Streptomycine est faite pour prévenir tout risque infectieux.

Aucune infection du point d'incision ou mammite n'a été signalée suite aux biopsies réalisées.



Photographie 09: Examen échographique de contrôle post biopsie [Image SCIV].

2.2. Techniques de traitement des prélèvements histologiques :

a. Fixation des prélèvements, inclusion en paraffine:

Les prélèvements de 20 mm (carottes) obtenus par biopsie sont fixés dans un fixateur chimique, le formaldéhyde (formol) dilué à 10% tamponné à la neutralité. La durée de fixation est de 24 heures à température ambiante et permet de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire, d'augmenter la consistance du tissu pour faciliter la coupe et de potentialiser la coloration en améliorant la captation des substances colorantes. De plus, elle stabilise les composants architecturaux tissulaires dans des conditions les plus proches possibles de celles rencontrées *in vivo*.

Les biopsies sont ensuite placées dans des cassettes identifiées.

Pour permettre l'inclusion en bloc de paraffine, les tissus doivent être déshydratés par passage dans des bains successifs d'alcool (éthanol) de concentration croissante (80°, 95° et 100°) puis éclaircis dans des bains de solvant organique (toluène ou xylène) puis dans de la paraffine chaude. L'ensemble de ces opérations est réalisé dans un automate programmable (Leica), le cycle complet dure en routine 20-24 heures.

Ils vont ensuite subir les différentes étapes du processus d'inclusion en paraffine (paraffine liquide à 56°C) dont le but est d'enrober le tissu et de durcir l'échantillon pour en faciliter les sections histologiques ultérieures. Pour finir, on récupère l'échantillon dans le milieu d'inclusion et on le laisse se solidifier pour former un bloc (tissu + paraffine dans la cassette).

b. Confection des coupes histologiques:

Les prélèvements inclus en paraffine dans une station d'enrobage sont ensuite coupés à une épaisseur de 3 -5 μm à l'aide d'un microtome (Leica) à mouvement vertical muni d'un réglage de l'épaisseur des coupes; la paraffine apparaît translucide.

Les coupes obtenues sont déposées sur des lames traitées préalablement identifiées et recouvertes d'une goutte d'albumine glycinée. Ces lames sont placées sur une platine chauffante à 46°C afin de permettre leur étirement puis séchées à l'étuve (1 heure à 37°C) avant d'être colorées.

c. Réhydratation, coloration et montage des préparations :

Après déparaffinage au toluène ou xylène, les lames ainsi préparées sont réhydratées dans des bains successifs de solutions d'éthanol de degrés décroissants (bains d'alcools à 100°, 95° et eau), et colorées par la coloration Hématoxyline-Eosine (Hémalum-éosine)

Les coupes sont plongées pendant 2 minutes dans une solution d'hématoxyline puis rincées à l'eau courante pendant 5 minutes avant de subir une deuxième coloration dans une solution d'Eosine aqueuse à 2% pendant 30 secondes. Elles sont enfin rapidement rincées à l'eau courante puis déshydratées par passage dans des alcools de concentrations croissantes puis placées dans du toluène ou xylène.

La coloration permet de mettre en évidence et de différencier les structures cellulaires et tissulaires. La coloration hématoxyline et éosine (H.E) est la plus couramment utilisée en histologie animale. L'hématoxyline est un colorant basique qui réagit avec les composants intracellulaires et intercellulaires acides ; elle colore les noyaux cellulaires en violet. L'éosine est un colorant acide qui réagit avec les composants basiques, elle colore le cytoplasme des cellules en rose. Les deux sont des colorants hydrophiles.

Le montage de la préparation histologique s'effectue par apposition d'une lamelle sur chaque lame qui reste fixée par le dépôt préalable d'une noisette de baume synthétique non miscible à l'eau (milieu Eukitt) ce qui permet de conserver la préparation.

2.3. Méthode d'observation et principe de lecture :

L'ensemble des lames histologiques a été lu sur un microscope optique Leica équipé d'objectifs x10, x0.25, x20, x40, x100. Un micro ordinateur relié au microscope permet d'enregistrer les images histologiques reprises sur écran. Les photographies s'effectuent à plusieurs niveaux de grossissement pour chaque lame histologique.

La dernière étape, phase d'interprétation a consisté à réaliser le bilan de l'observation histologique du tissu mammaire de brebis saines en gestation. Par la même occasion les cas pathologiques retrouvés ont été illustrés sous forme de photographies développées également.

III. RESULTATS :

La technique de biopsie appliquée dans notre étude nous a permis d'avoir en plus des résultats histologiques, d'autres données sur l'aspect échographique du tissu mammaire en période de gestation et en début de lactation.

1. Description des images échographiques :

1.1. Description des images échographiques du tissu mammaire sain:

La mamelle est une structure superficielle dont l'examen échographique requiert un transducteur de haute fréquence. Ces fréquences donnent une bonne résolution de l'image et une pénétration adéquate des tissus mammaires.

L'examen échographique transcutané direct de la mamelle de brebis, après application d'un gel de contact, avec une sonde linéaire ou sectorielle de fréquences allant de 5 à 12 Mhz permet d'obtenir des images ultrasonographiques de l'anatomie interne de la glande mammaire caractéristique de chaque stade de développement.

L'image échographique décrite est la suivante :

- La peau et la capsule mammaire apparaissent clairement au sommet de l'image échographique. Le plan cutané apparaît hyperéchogène tandis que la capsule mammaire (tissu conjonctif sous cutané) est hypoéchogène.
- Le parenchyme glandulaire mammaire normal présente une échostructure homogène, dense, il est décrit comme hyperéchogène avec de petites zones anéchogènes correspondant à des vaisseaux sanguins ou à des conduits galactophores de forme irrégulière (image 01). Le mode Doppler couleur permet de faire la distinction entre ces deux structures (images 02, 03).
- Le stroma mammaire (tissu conjonctif et adipeux) apparaît moins échogène que le tissu glandulaire et devient de moins en moins important avec l'avancement de la gestation et le développement du tissu noble.
- Les vaisseaux sanguins apparaissent très développés surtout en fin de gestation témoignant de la richesse de vascularisation mammaire en préparation à la lactation.
- Les images 05 et 06 illustrent respectivement la différence entre le flux sanguin d'une veine et d'une artère ; les veines présentent un mouvement laminaire tandis que les artères des pulsations.

On remarque que la densité du tissu mammaire glandulaire en fin de gestation (image 04) est plus importante par rapport à celle observée à 2.5 mois de gestation (image 01)

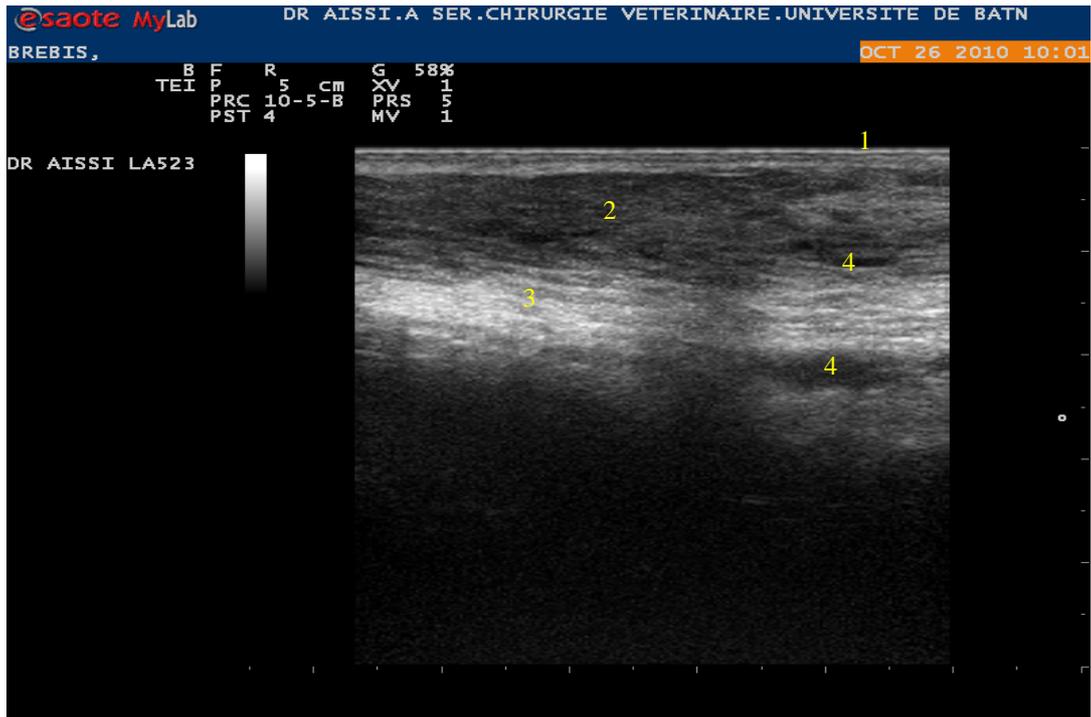


Image 01: Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (Sonde linéaire à fréquence 6.6Mhz) [Image SCIV]

1 : Plan cutané ; 2 : Stroma mammaire ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Vaisseau sanguin ou canal galactophore.



Image 02: Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 3 mois 1 semaine de gestation (sonde linéaire à fréquence 12 Mhz) [Image SCIV]

1 : Peau ; 2 : Capsule mammaire ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Conduit galactophore ; 5 : Vaisseau sanguin.



Image 03 : Aspect échographique de la glande mammaire de brebis à 4 mois de gestation (sonde linéaire à fréquence 12 Mhz) [Image SCIV]

- 1 : Peau ; 2 : Capsule ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Stroma ; 5 : Vaisseaux sanguins ;
6 : Canal galactophore



Image 04: Aspect échographique de la glande mammaire de brebis en fin de gestation (Sonde linéaire à fréquence 6.6Mhz) [Image SCIV]

- 1 : Peau ; 2 : Parenchyme glandulaire ; 3 : Canal galactophore



Image 05: Doppler pulsé d'une veine mammaire (sonde à fréquence 12 Mhz) [Image SCIV]
 1 : Peau ; 2 : Capsule ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Veine ; 5 : Canal galactophore.

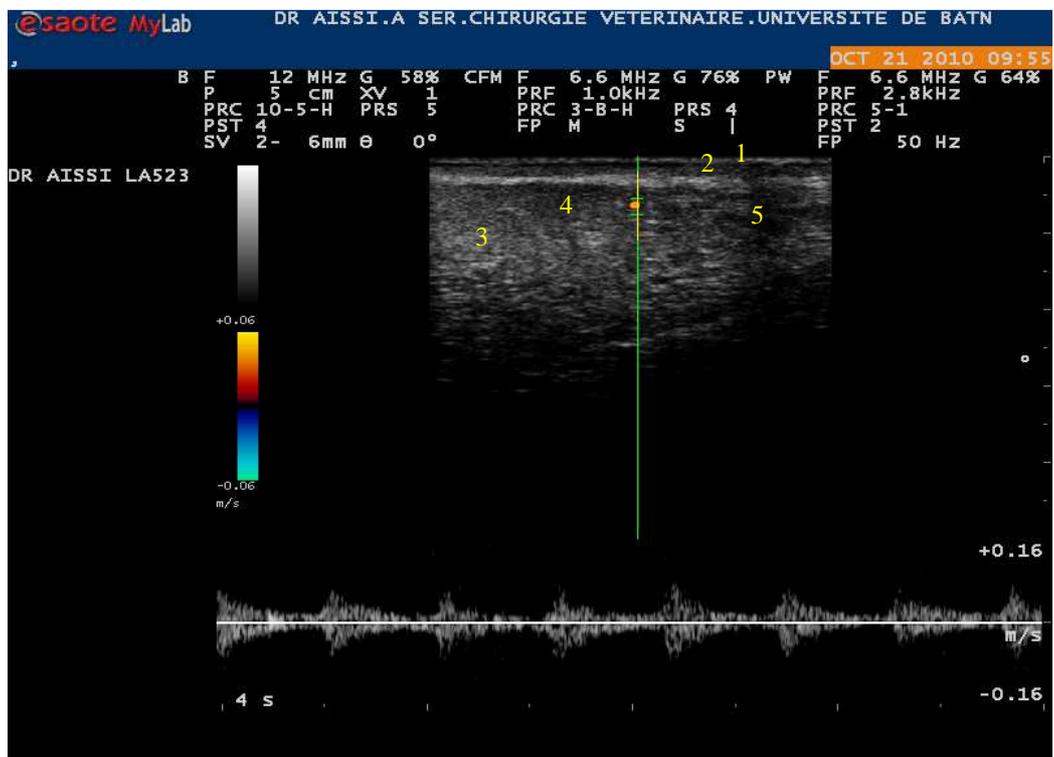


Image 06: Doppler pulsé d'une artère mammaire (sonde à fréquence 12 Mhz) [Image SCIV]
 1 : Peau ; 2 : Capsule ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Artère ; 5 : Canal galactophore.

En lactation, la mamelle présente à l'examen échographique un parenchyme glandulaire hyperéchogène très dense. La citerne apparaît en zone anéchogène de forme irrégulière.

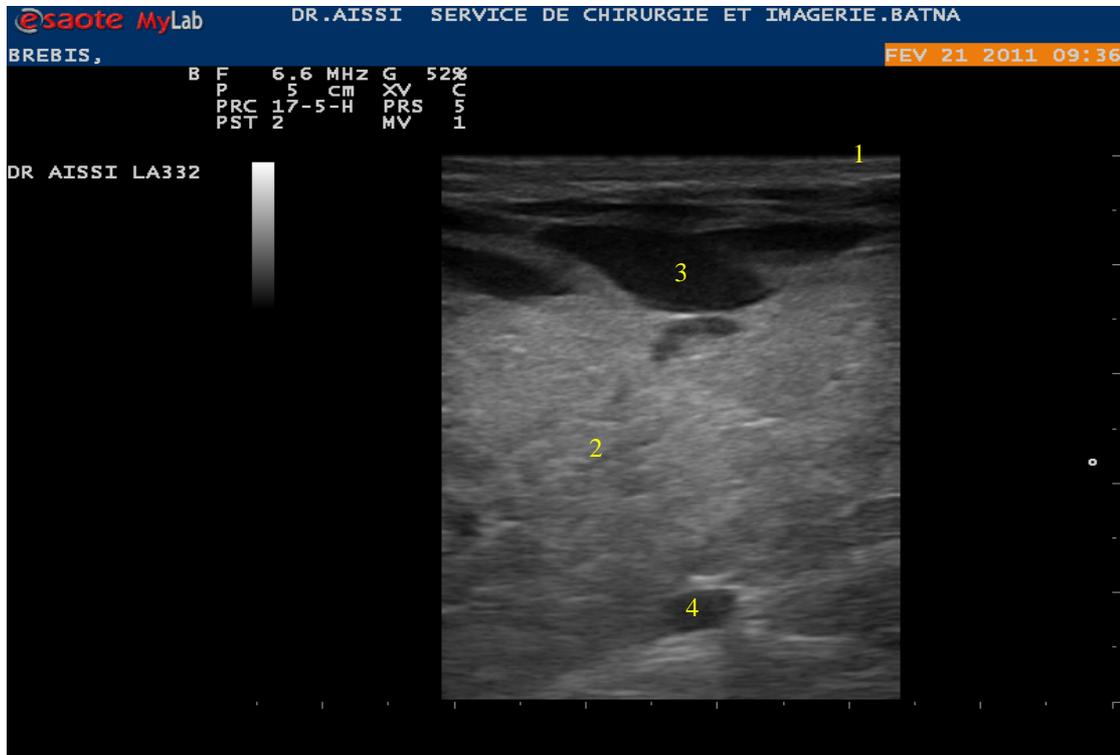


Image 07 : Aspect échographique de la mamelle de brebis en début de lactation (Sonde linéaire à fréquence 6.6 Mhz) [Image SCIV]

1 : Plan cutané ; 2 : Parenchyme glandulaire ; 3 : Citerne de la glande ; 4 : conduit galactophore

1.2. Description des images échographiques du tissu mammaire anormal :

Les aspects échographiques anormaux retrouvés dans ce travail chez deux brebis multipares gestantes sont des masses de différentes tailles correspondant à des abcès à localisations multifocales au sein du parenchyme glandulaire, elles se présentent sous forme arrondie bien délimitée avec une capsule hypoéchogène et un contenu hétérogène échogène ou hyperéchogène (image 08).

L'image 09 montre l'aspect échographique hyperéchogène de l'aiguille à biopsie au sein du tissu mammaire lésé.

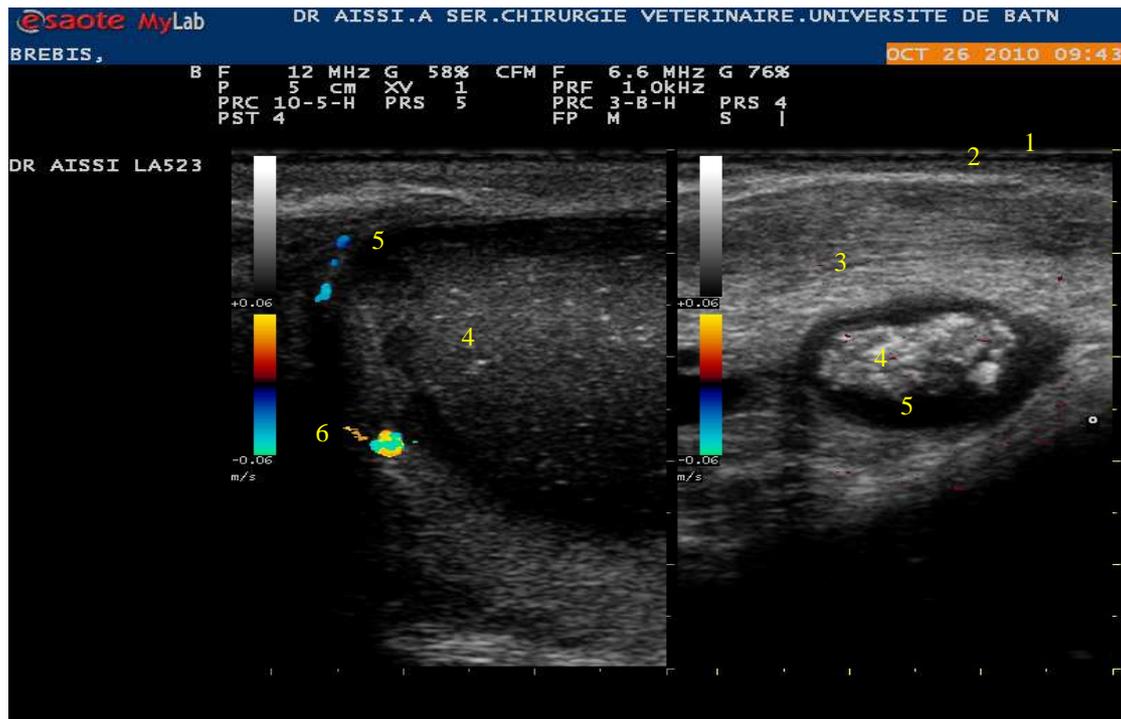


Image 08: Aspect échographique de tissu mammaire de brebis présentant des masses (sonde à fréquence 12 Mhz) [Image SCIV]

- 1 : Peau ; 2 : Capsule mammaire ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Masse ; 5 : Capsule de l'abcès ;
6 : Vaisseaux sanguins

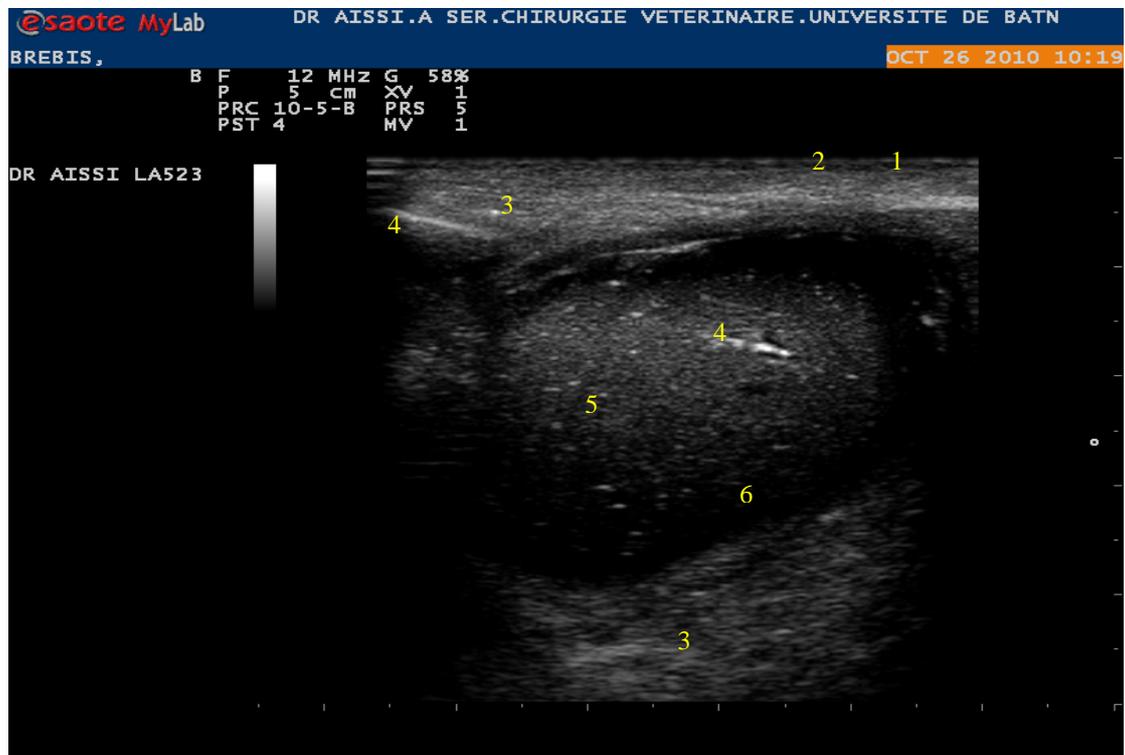


Image 09 : Coupe échographique transverse présentant le trajet de l'aiguille à biopsie dans la glande mammaire (sonde à fréquence 12Mhz) [Image SCIV]

- 1 : Peau ; 2 : Capsule mammaire ; 3 : Parenchyme glandulaire ; 4 : Aiguille ;
5 : Masse (contenu de l'abcès) ; 6 : Capsule de l'abcès

2. Etude histologique descriptive du tissu mammaire :

Les coupes histologiques ont été photographiées à divers grossissements de façon à permettre la compréhension des rapports anatomie / histologie.

Pour préparer la sécrétion lactée, la glande mammaire subit des changements structuraux intenses. Les modifications histologiques dans ces glandes avant et après l'agnelage concernent le parenchyme glandulaire, le tissu conjonctif (stroma) ainsi que les conduits galactophores. Durant la première moitié de gestation, les canaux intra lobulaires subissent une prolifération rapide et forment les bourgeons terminaux qui se différencient en alvéoles. Au cours de la gestation, la glande mammaire au repos se transforme progressivement en un tissu pleinement sécrétant.

2.1. Description des lames histologiques du tissu mammaire sain :

a. Histologie du tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation :

Morphologiquement la glande mammaire est encore peu développée et de taille réduite. Histologiquement, au microscope optique au plus faible grossissement (micrographie 01) avec la coloration Hématoxyline-Eosine (H.E), on observe deux types de tissus ; des lobules et du tissu conjonctif relativement abondant.

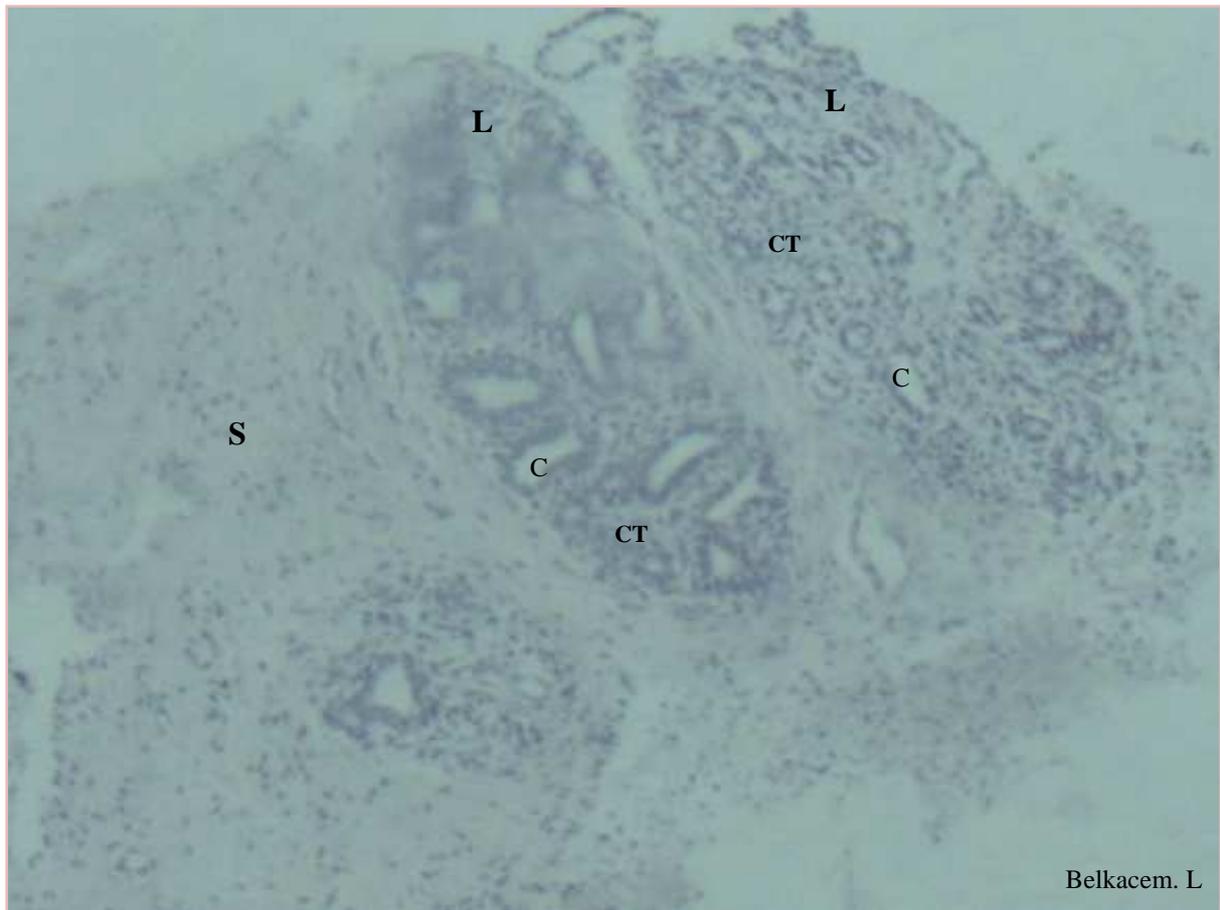
Les lobules mammaires apparaissent peu développés, petits et séparés par de larges bandes de tissu conjonctif.

En augmentant le grossissement, au niveau de la zone présentant de multiples petits lobules (micrographie 02), on remarque que les lobules sont en fait riches en structures alvéolaires et canalaire.

Au grossissement supérieur (micrographie 03) on observe les détails des cellules épithéliales qui présentent un noyau hyperchromatique volumineux par rapport au cytoplasme.

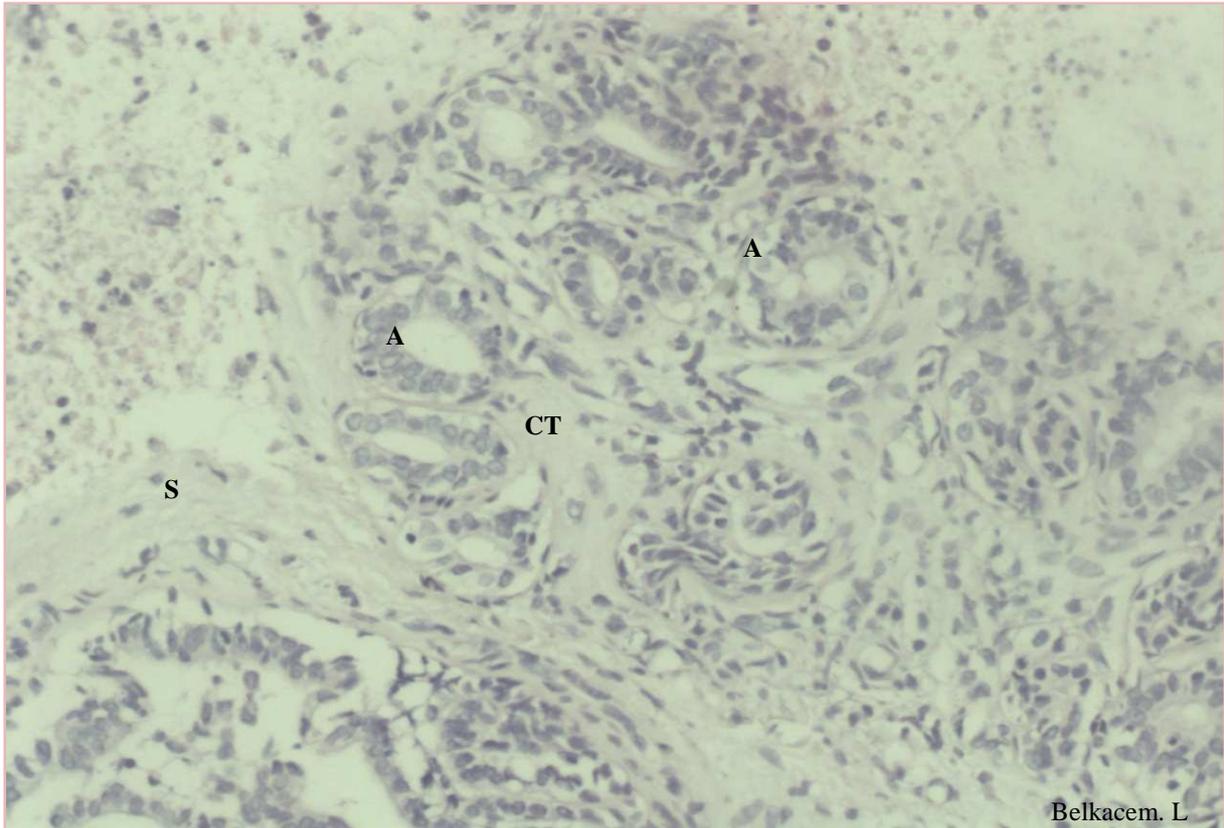
Les cellules myoépithéliales fusiformes allongées peuvent être observées autour des alvéoles.

Les alvéoles à ce stade sont vides.



Micrographie 01 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation
(G x10; coloration H.E)

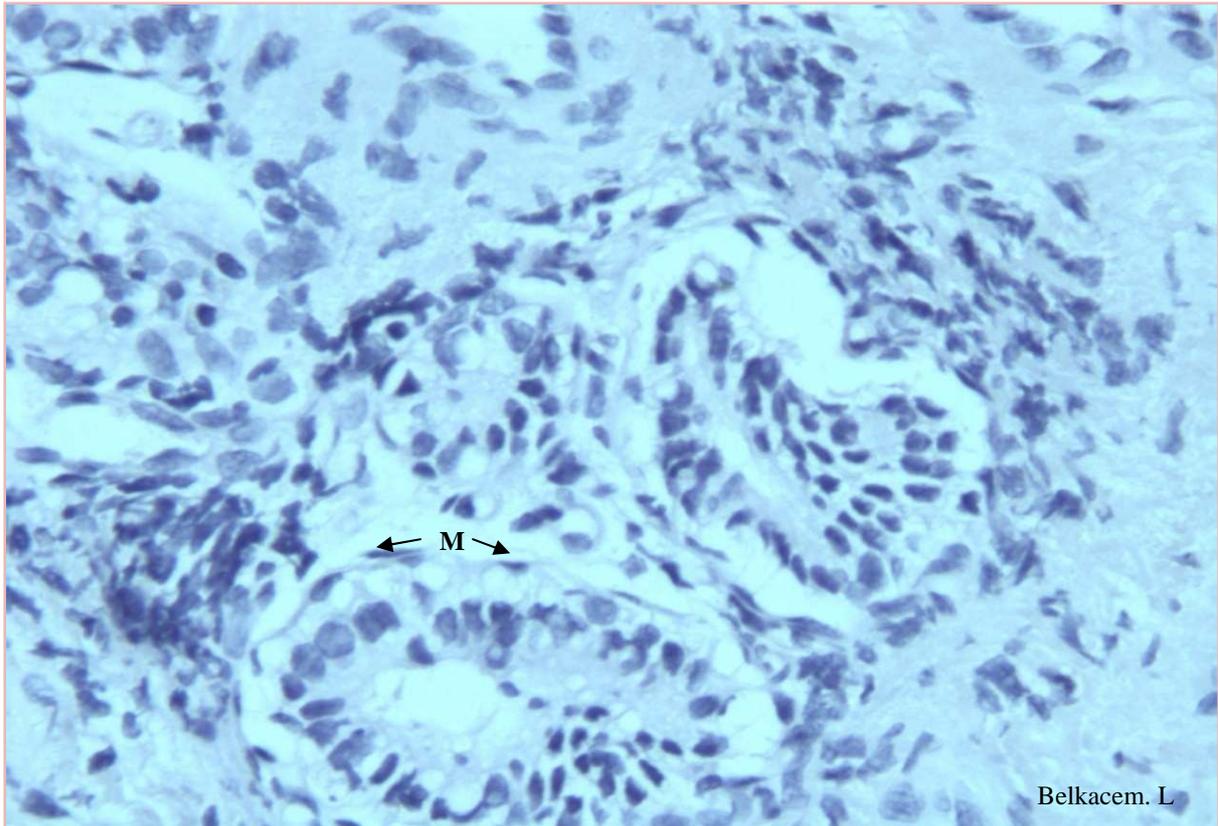
Sur cette coupe au faible grossissement, le parenchyme mammaire est reconnaissable par la présence de lobules (L) peu différenciés dans un large stroma (S) riche en fibroblastes. Dans les îlots de lobules, on reconnaît le tissu conjonctif intralobulaire (CT) qui sépare les conduits intra lobulaires (C).



Micrographie 02: Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois gestation
(G x20, coloration H.E).

On peut observer sur cette micrographie le détail d'un lobule mammaire avec quelques acini (A) constitués de cellules peu organisées, à rapport nucléocytoplasmique élevé, au cytoplasme éosinophile clair et à noyau hyperchromatique.

Le tissu conjonctif intralobulaire (CT) et interlobulaire (S) est important.



Micrographie 03: Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 2.5 mois de gestation (G x40, coloration H.E).

A ce fort grossissement apparaissent des acini mammaires de forme variable composés de cellules épithéliales et de cellules myoépithéliales (M) en couche discontinue de forme allongée fusiforme de coloration plus claire. Certaines cellules acineuses présentent un noyau hyper chromatique volumineux arrondi, d'autres les noyaux apparaissent plus ou moins allongés. Le cytoplasme est basophile.

La lumière des alvéoles est réduite.

b. Histologie du tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation :

L'examen histologique des glandes mammaires de brebis à 3 mois et une semaine de gestation révèle un début de la maturation lobulo-alvéolaire.

L'observation au faible grossissement (micrographie 04) permet de distinguer un parenchyme mammaire formé de nombreux lobules mammaires séparés par la composante conjonctive.

Ces lobules sont plus ou moins différenciés et les cellules épithéliales présentent un noyau hyperchromatique dense.

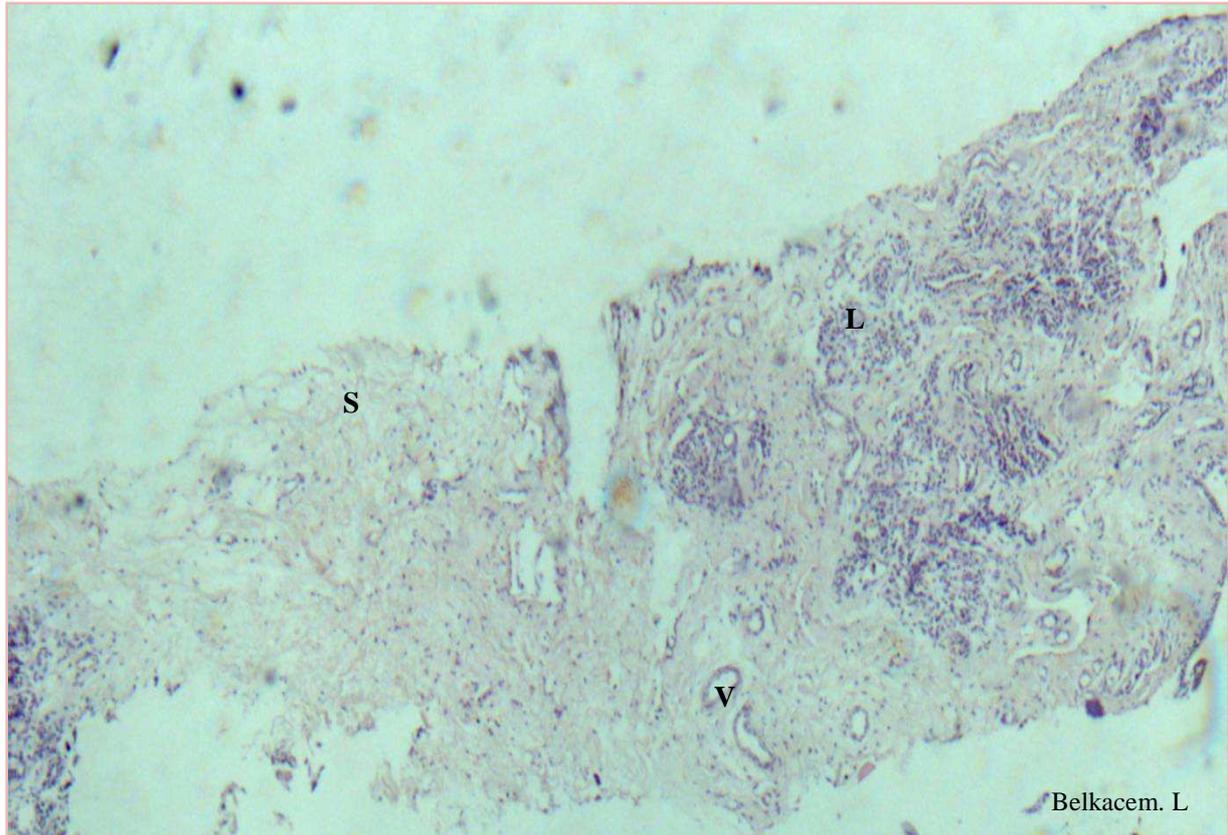
Des vaisseaux sanguins apparaissent clairement au sein du tissu conjonctif inter lobulaire.

Aux grossissements supérieurs (x20 ; x40) sur les micrographies 06 et 07 les lobules apparaissent pleins et peu différenciés. Les cellules présentent un cytoplasme réduit et un noyau hyperchromatique traduisant une activité mitotique modérée.

A l'objectif à immersion (x100), les cellules épithéliales alvéolaires sont hyper basophiles, avec de gros noyaux sphériques hyperchromatiques et un cytoplasme éosinophile peu abondant. Ces cellules présentent un fort rapport nucléo-cytoplasmique. On peut noter aussi la présence de quelques figures de mitose témoignant de la division des cellules épithéliales à ce moment.

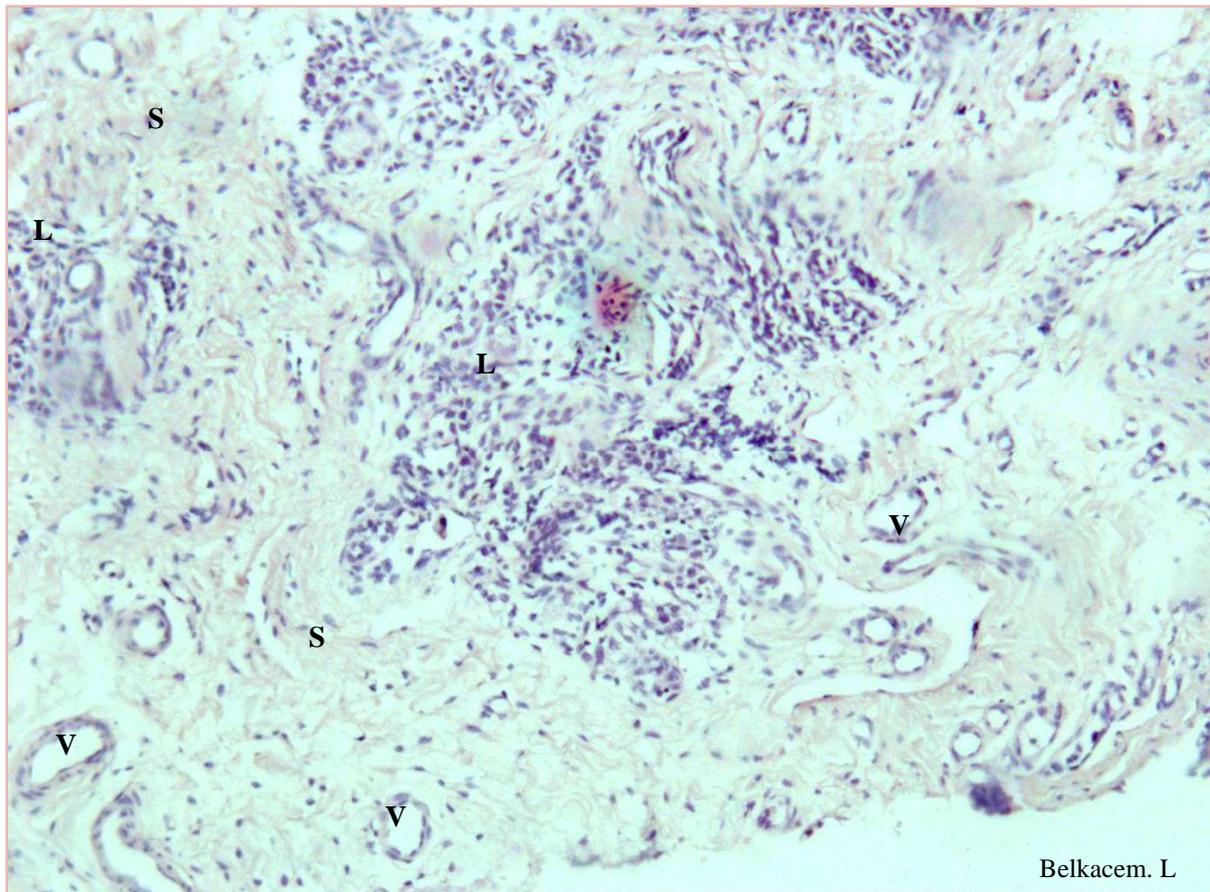
Quelques cellules alvéolaires présentent des vacuoles cytoplasmiques.

Il ne semble pas y avoir encore d'activité sécrétoire.



Micrographie 04 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (G x10, coloration H.E).

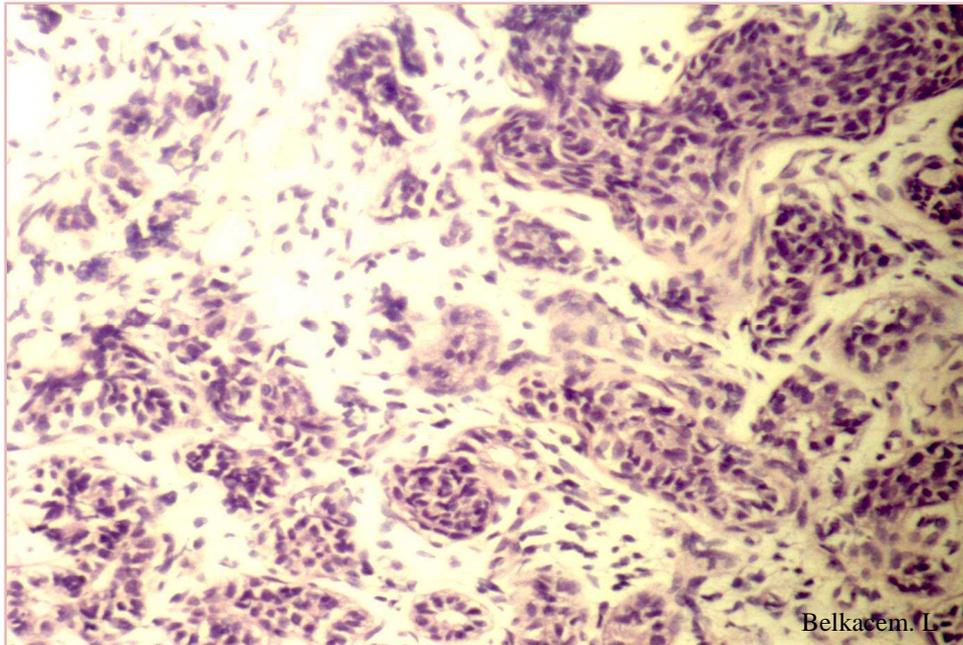
Dans cette vue à faible grossissement, on observe un parenchyme mammaire présentant des lobules disséminés plus ou moins différenciés (L) avec des cellules à noyau hyperchromatique dense. Le stroma inter lobulaire (S) est abondant et vascularisé.



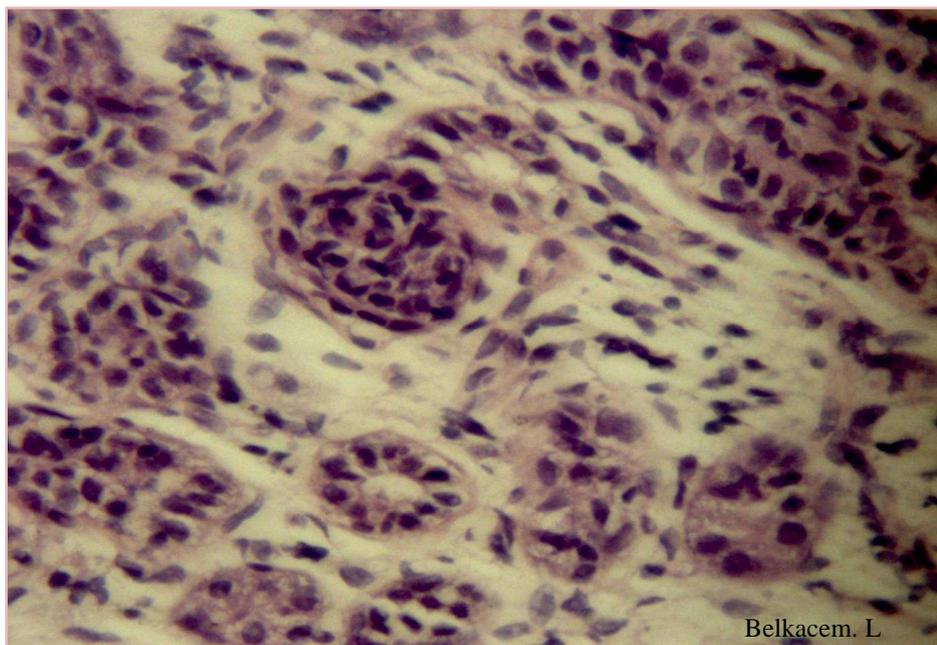
Micrographie 05 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (G x0.25, coloration H.E).

Sur cette micrographie apparait le parenchyme mammaire avec des lobules (L) disséminés peu développés et un hyperchromatisme nucléaire.

Les vaisseaux sanguins (V) s'identifient dans le tissu conjonctif inter lobulaire (S) par la présence d'un endothélium bordant une lumière centrale.

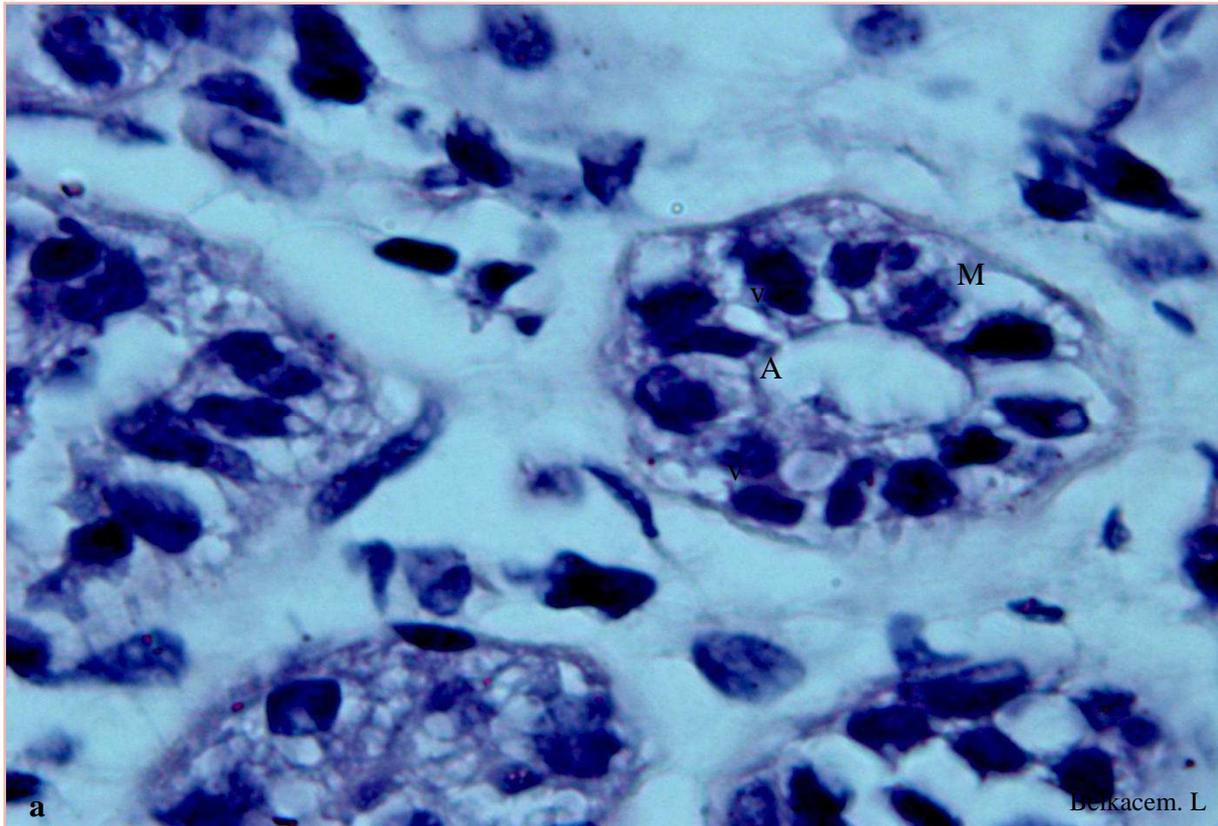


Micrographie 06 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (G x20, coloration H.E).



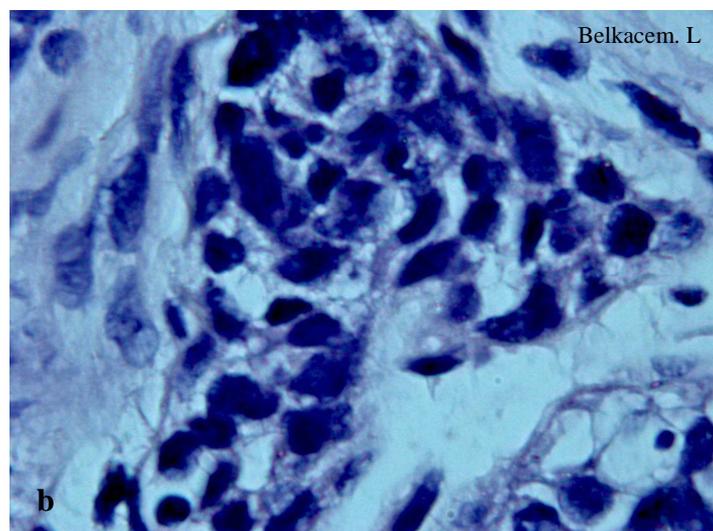
Micrographie 07 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (G x40, coloration H.E).

Les micrographies 06 et 07 représentent les détails des lobules aux grossissements supérieurs. Ces lobules sont pleins et peu différenciés. Les cellules présentent un cytoplasme réduit et un noyau hyperchromatique traduisant une activité mitotique.



Micrographie 08 (a, b): Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 3 mois et 1 semaine de gestation (G x100, coloration H.E).

On retrouve sur la micrographie 08a observée en objectif à immersion (x100) un acinus bien individualisé (A) avec formation de quelques vacuoles cytoplasmiques (v) et de nombreuses cellules en mitoses présentant un cytoplasme éosinophile réduit et un noyau volumineux (micrographie 08b). On peut également voir des cellules myoépithéliales (M) fusiformes à la périphérie des alvéoles.



c. Histologie du tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation :

L'examen histologique des glandes mammaires un mois avant l'agnelage a révélé une grande maturation lobulo-alvéolaire. L'activité sécrétoire des cellules alvéolaires a commencé.

Au plus faible grossissement (x10) sur la micrographie 09, on observe la présence de larges structures lobulaires bien différenciées au sein de la charpente conjonctive. En effet, sont nettement visibles les lobules mammaires qui se sont beaucoup développés aux dépens du tissu conjonctif intralobulaire et du tissu interlobulaire. Ce dernier est fibreux et vascularisé.

Au grossissement supérieur (x0.25) on voit des acini de tailles variables dont la lumière de certains contient un produit de sécrétion éosinophile.

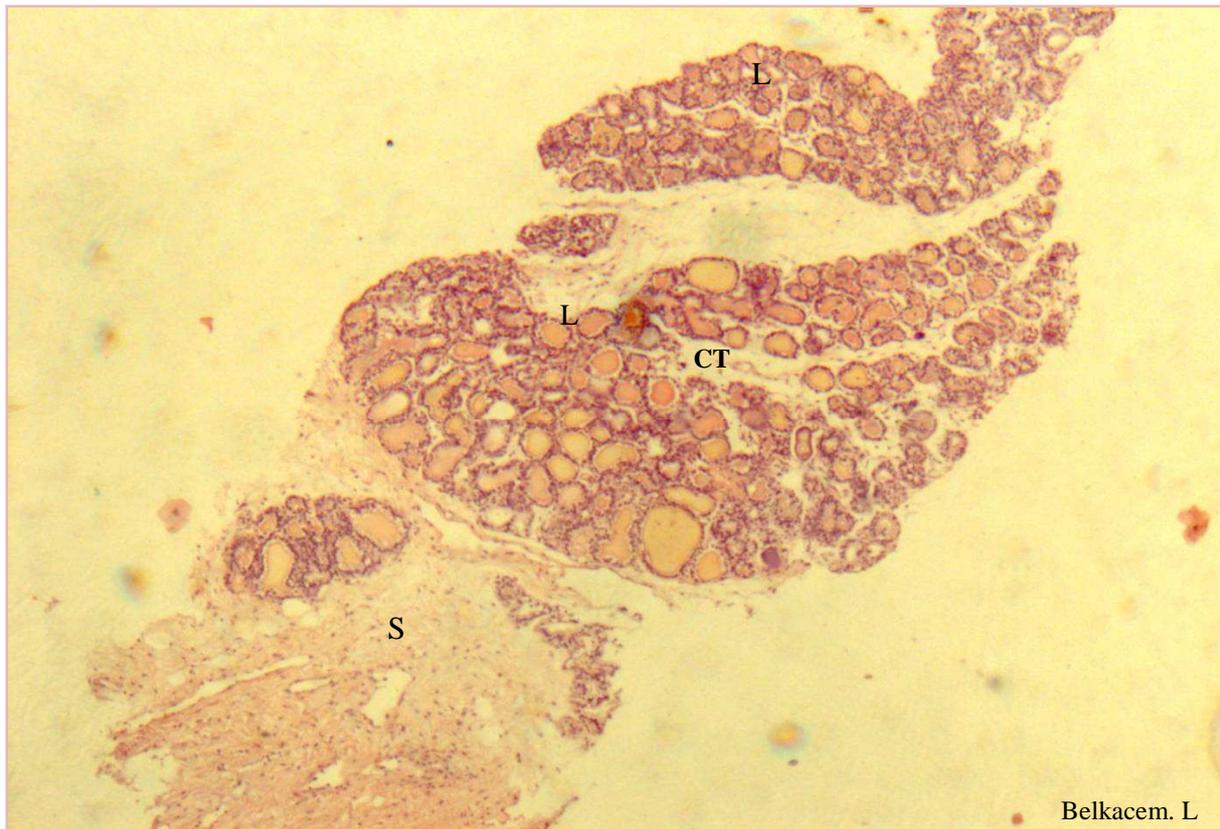
Des vaisseaux sanguins apparaissent clairement dans le stroma interlobulaire (micrographie 10).

Au grossissement (x20), le cytoplasme de certaines cellules épithéliales renferme des vacuoles lipidiques à localisation apicale. Le noyau devient basal.

L'accroissement du volume cytoplasmique par rapport au noyau avec élévation du rapport Cytoplasme /Noyau et l'apparition des premiers signes d'activité sécrétoire caractérisent la différenciation de la cellule épithéliale mammaire. Les lipides apparaissent sous forme de gouttelettes d'abord situées à la base, puis confluent peu à peu en gouttelettes plus volumineuses stockées dans le cytoplasme.

Au plus fort grossissement (x40), les structures épithéliales alvéolaires et canalairees sont bien différenciées. Ces dernières étant bordées par un épithélium cubique simple ou double. Les lumières sont nettes et assez rondes. Les cellules épithéliales sont parfois vacuolisées et leurs noyaux sont homogènes.

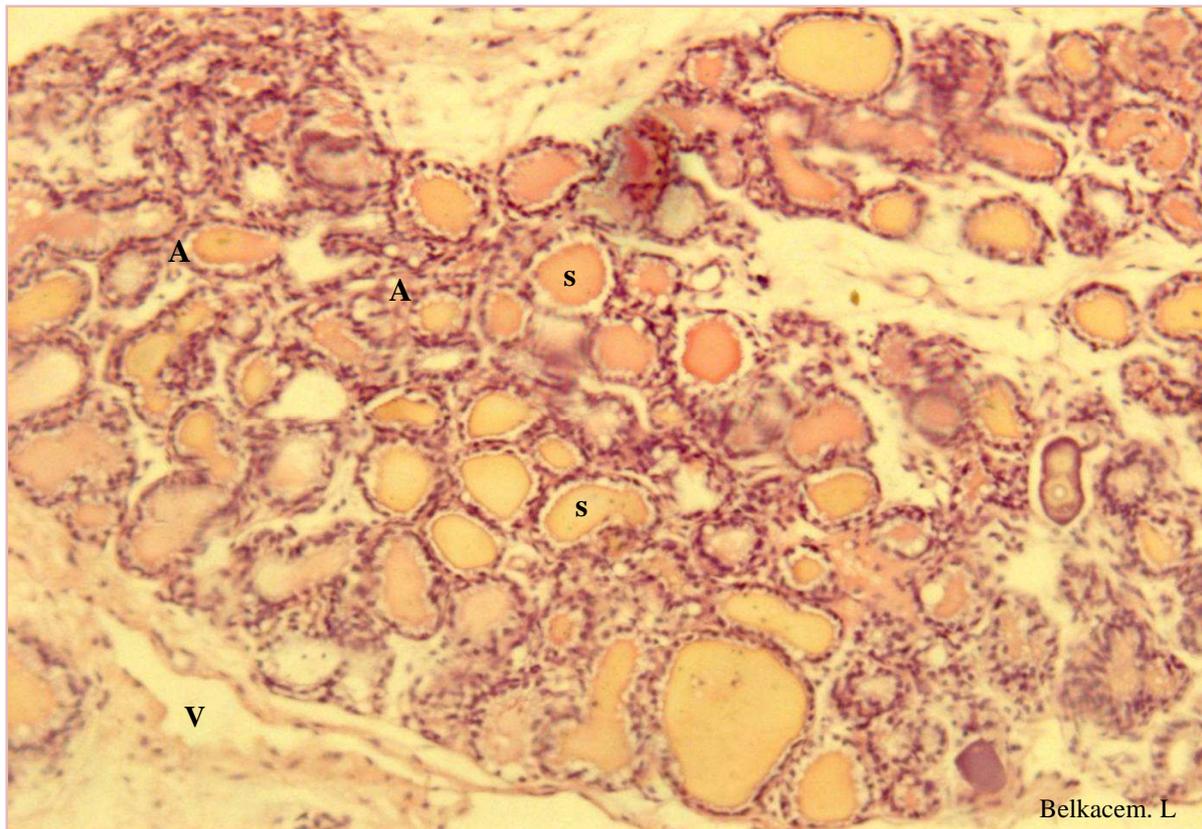
A l'immersion (x 100), les cellules épithéliales sont cubiques ou cylindriques basses avec un noyau basal et contiennent des vacuoles cytoplasmiques au niveau apical.



Micrographie 09 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (G x10, coloration H.E).

Au plus faible grossissement (x10) sur cette micrographie, on note la présence de larges structures lobulaires (L) bien individualisées au sein d'une charpente conjonctive.

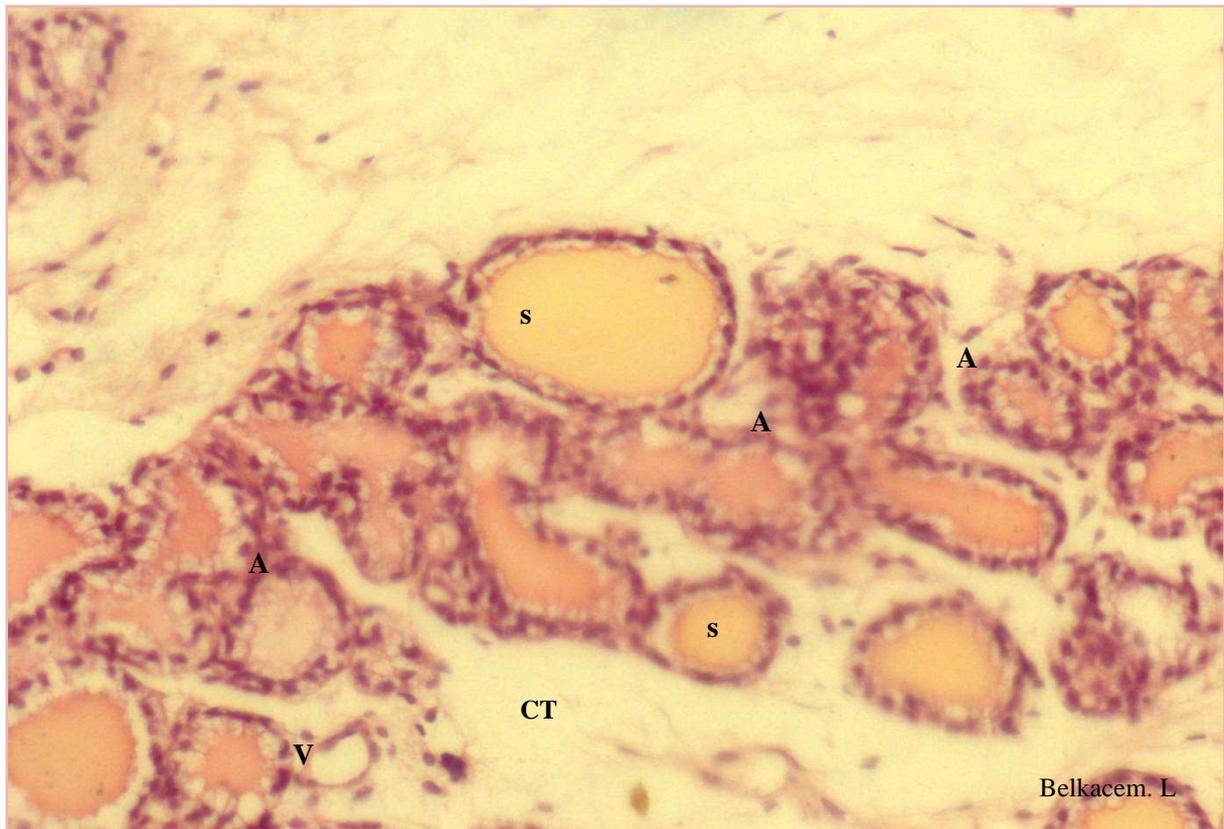
Les lobules mammaires sont nettement visibles, ils se sont beaucoup développés aux dépens du tissu conjonctif intralobulaire (CT) et du tissu interlobulaire (S). Ce dernier est vascularisé.



Micrographie 10 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation
(G x20, coloration H.E)

On note sur cette image un début de sécrétion lactée ; dans ce lobule à structure bien organisée les acini (A) présentent des tailles variables dont la lumière de certains paraît dilatée et contient un produit de sécrétion éosinophile (s).

Des vaisseaux sanguins (veinules : V) apparaissent clairement dans le stroma interlobulaire.



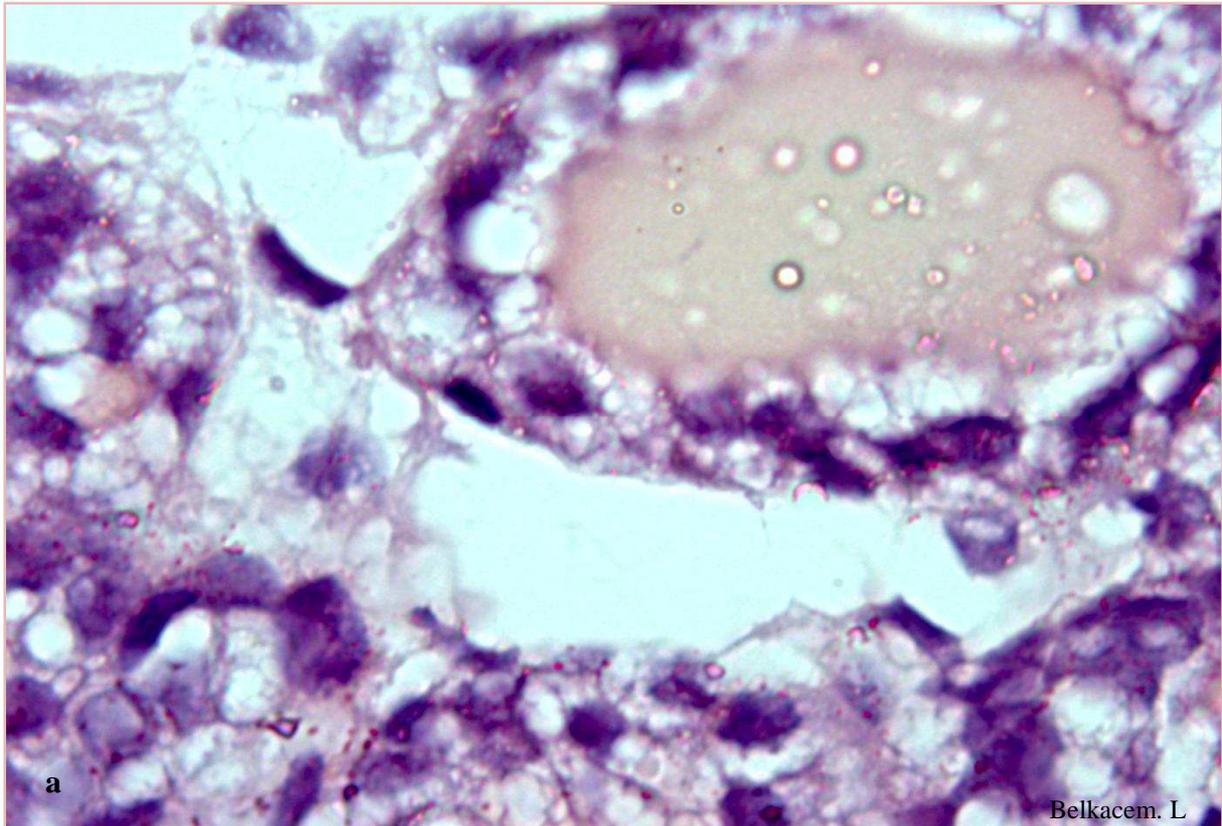
Micrographie 11 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation.

(G x40, coloration H.E)

A ce grossissement s'observent des acini (A) bien individualisés de formes et tailles variables et dont la lumière de certains est nettement arrondie et dilatée par des sécrétions (s).

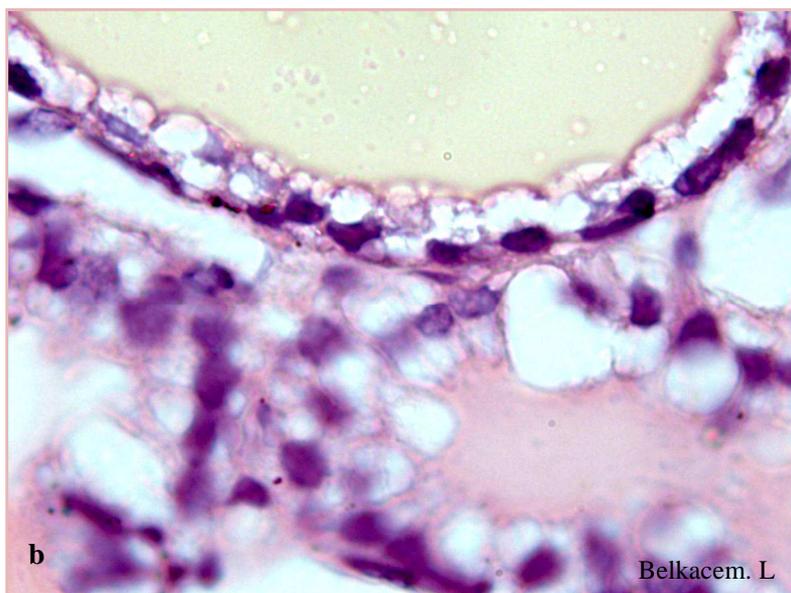
Les cellules épithéliales présentent des vacuoles apicales dans leur cytoplasme et leurs noyaux sont homogènes à localisation basale.

On note également la présence de vaisseaux (V) dans le stroma intralobulaire (CT).



Micrographie 12 (a, b) : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis à 4 mois de gestation (G x100, coloration H.E).

A l'immersion (x 100), les cellules épithéliales sont cubiques ou cylindriques basses avec un noyau basal et contiennent des vacuoles cytoplasmiques au niveau apical. La lumière alvéolaire contient un produit de sécrétion.



d. Histologie du tissu mammaire de brebis en fin de gestation (une semaine avant l'agnelage) :

L'activité de la glande mammaire se remarque au faible grossissement par l'importance de la composante épithéliale dont les formations lobulaires et glandulaires sont dilatées.

En effet, l'examen histologique de la glande mammaire vers la fin de la gestation au faible grossissement montre des lobules serrés du parenchyme et du tissu conjonctif vascularisé. Le parenchyme glandulaire est préparé pour la lactation, des lobules sont richement remplis de sécrétion dans leurs alvéoles (micrographie 13).

Avec l'approche de la parturition, des sécrétions s'accumulent dans les alvéoles et des grosses gouttelettes sont de plus en plus importantes dans les cellules épithéliales glandulaires.

Aux grossissements supérieurs (micrographies 14, 15, 16, 17) les acini apparaissent emplis d'un matériel éosinophile contenant des vacuoles claires correspondant aux gouttelettes lipidiques. Les cellules épithéliales sont polarisées et les acini distendus par les sécrétions.

Les alvéoles et les conduits s'élargissent par l'accumulation de produit de sécrétion (colostrum) dans les lumières acineuses et canalaire comme on voit sur les mêmes micrographies. La plupart des cellules présentant des vacuoles.

Les lumières alvéolaires sont dilatées et nettes et la quantité de sécrétion à l'intérieur est plutôt importante.

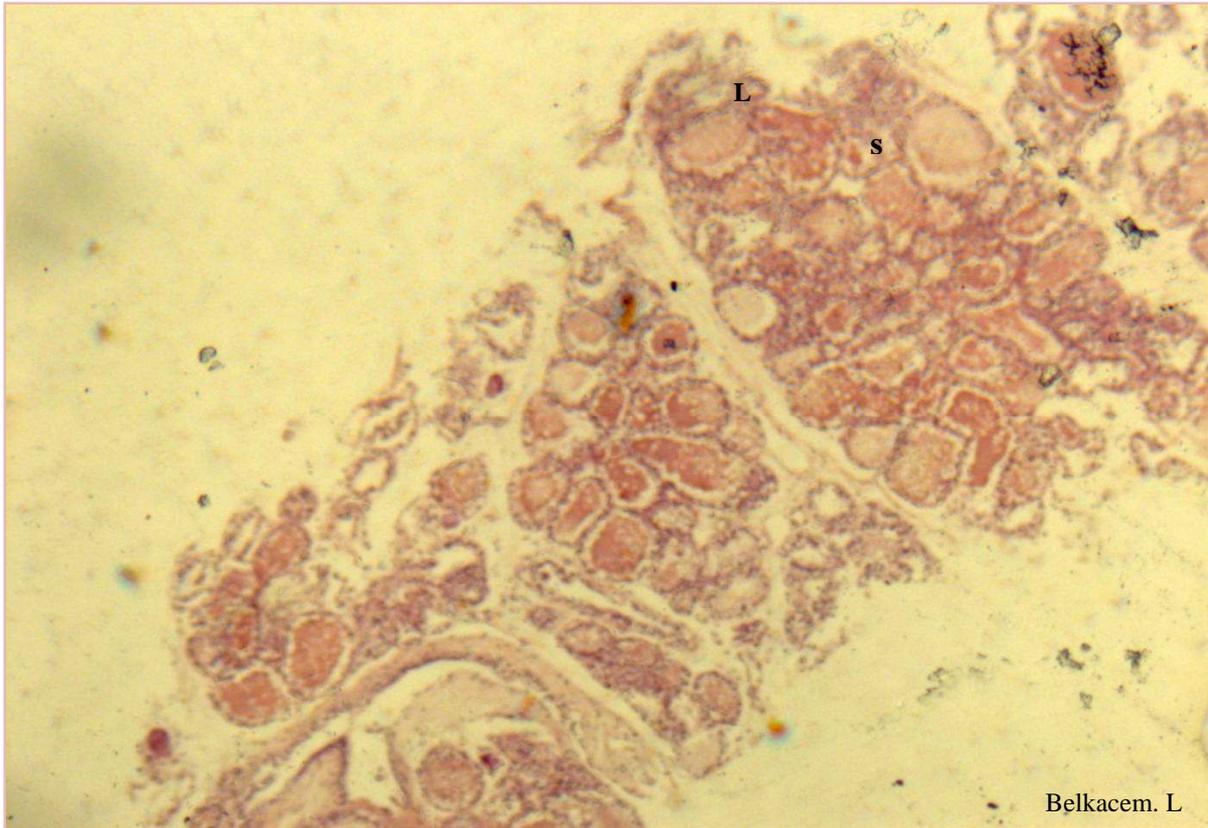
On n'observe aucune figure de mitose au niveau des structures épithéliales ou stromales.

Simultanément, on note une diminution de l'épaisseur du tissu conjonctif entre les lobes et les lobules, et aussi de la densité du tissu conjonctif entre les alvéoles.

Les vaisseaux sanguins apparaissent entre les alvéoles dans le tissu conjonctif.

Des cellules myoépithéliales aplaties entourant les alvéoles sont nettement identifiables au fort grossissement en couche discontinue.

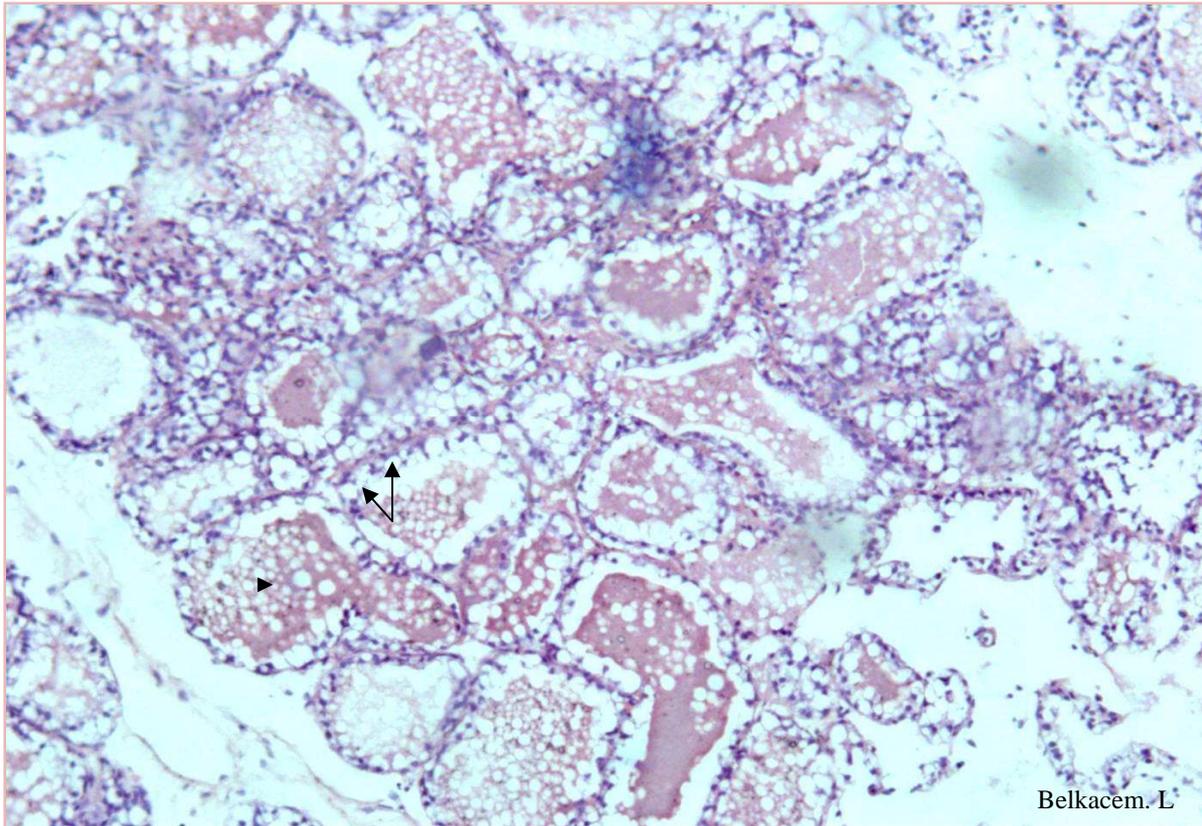
Les canaux excréteurs intralobulaires de la glande mammaire contiennent également du matériel sécrétoire, la distinction entre les alvéoles et les conduits est difficile (Eroschenko, 2008) surtout en coupe transversale car leur paroi est identique. Un développement complet de l'épithélium qui tapisse les alvéoles mammaires s'est produit pendant la gestation. A la fin de celle-ci, la glande mammaire est prête à la lactation.



Micrographie 13 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation
(G x10, coloration H.E).

Sur cette micrographie correspondant à la fin de gestation, on observe des lobules serrés du parenchyme (L) et du tissu conjonctif vascularisé et moins abondant.

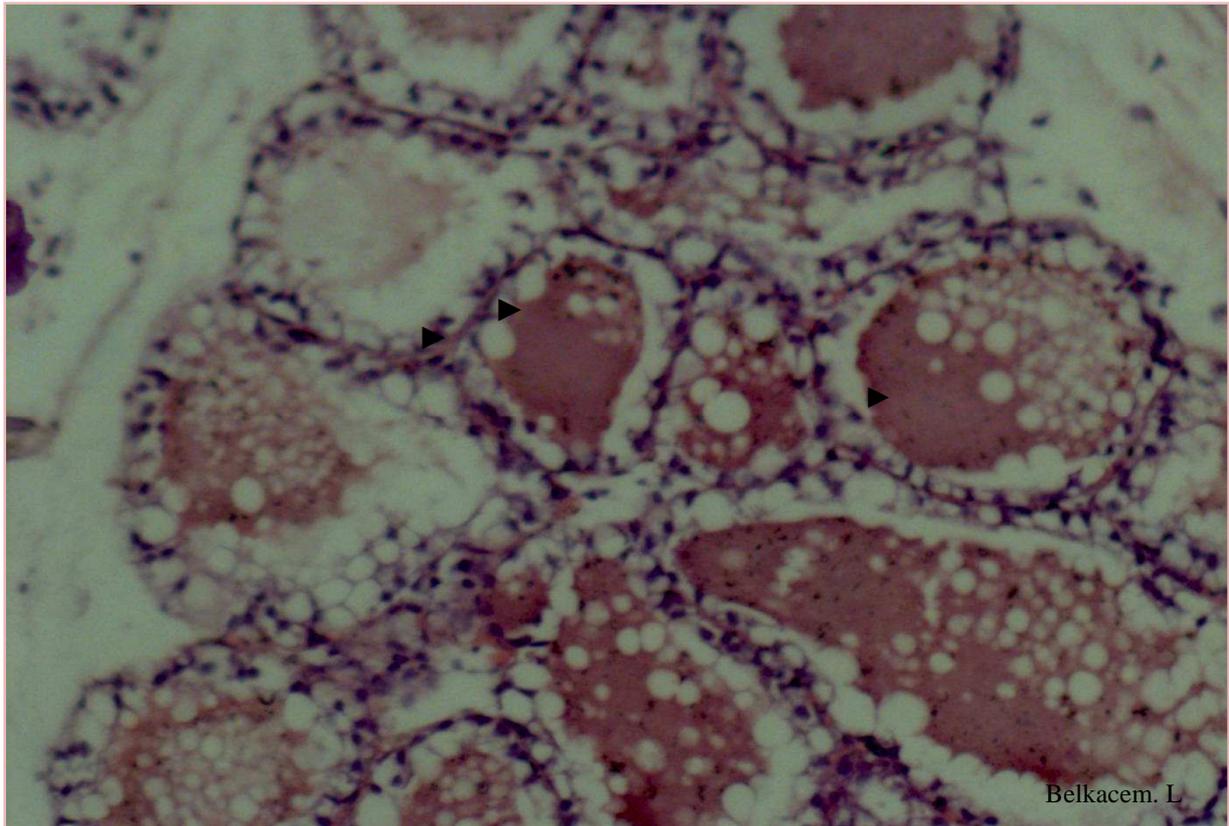
Le parenchyme glandulaire est préparé pour la lactation, les lobules sont richement remplis de sécrétion dans leurs alvéoles (s).



Micrographie 14 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation
(G x0.25, coloration H.E).

A ce grossissement s'observe une juxtaposition lobulaire avec des sécrétions éosinophiles. La lumière présente une quantité relativement importante de sécrétion lactée et on y observe de larges vacuoles lipidiques (►); c'est la montée laiteuse.

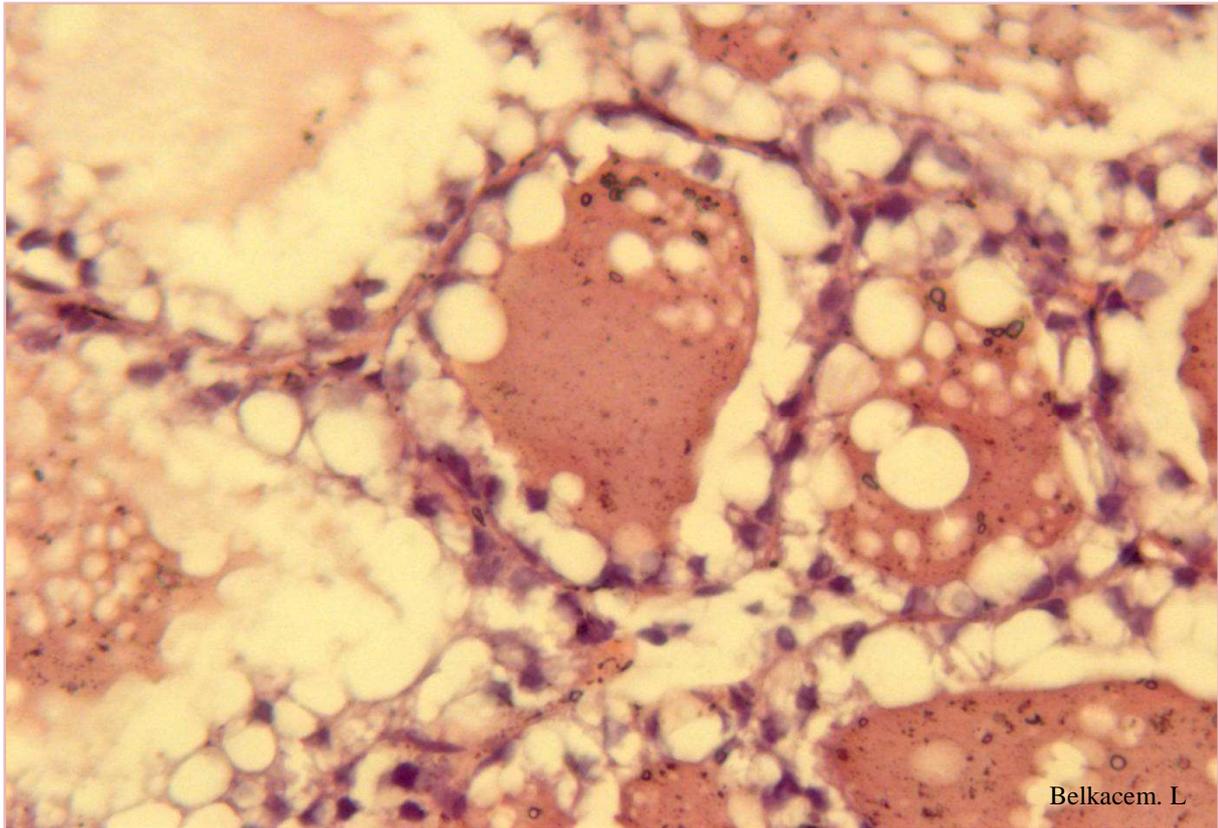
On voit nettement l'apparition de vacuoles sécrétoires (flèches) au pôle apical des cellules. Le noyau y est basal.



Micrographie 15 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation
(Gx20, coloration H.E).

A ce grossissement on observe des acini de formes variables dont la lumière est dilatée par des produits de sécrétion éosinophiles. De nombreuses vacuoles lipidiques (►) occupent le cytoplasme des cellules épithéliales et la lumière alvéolaire.

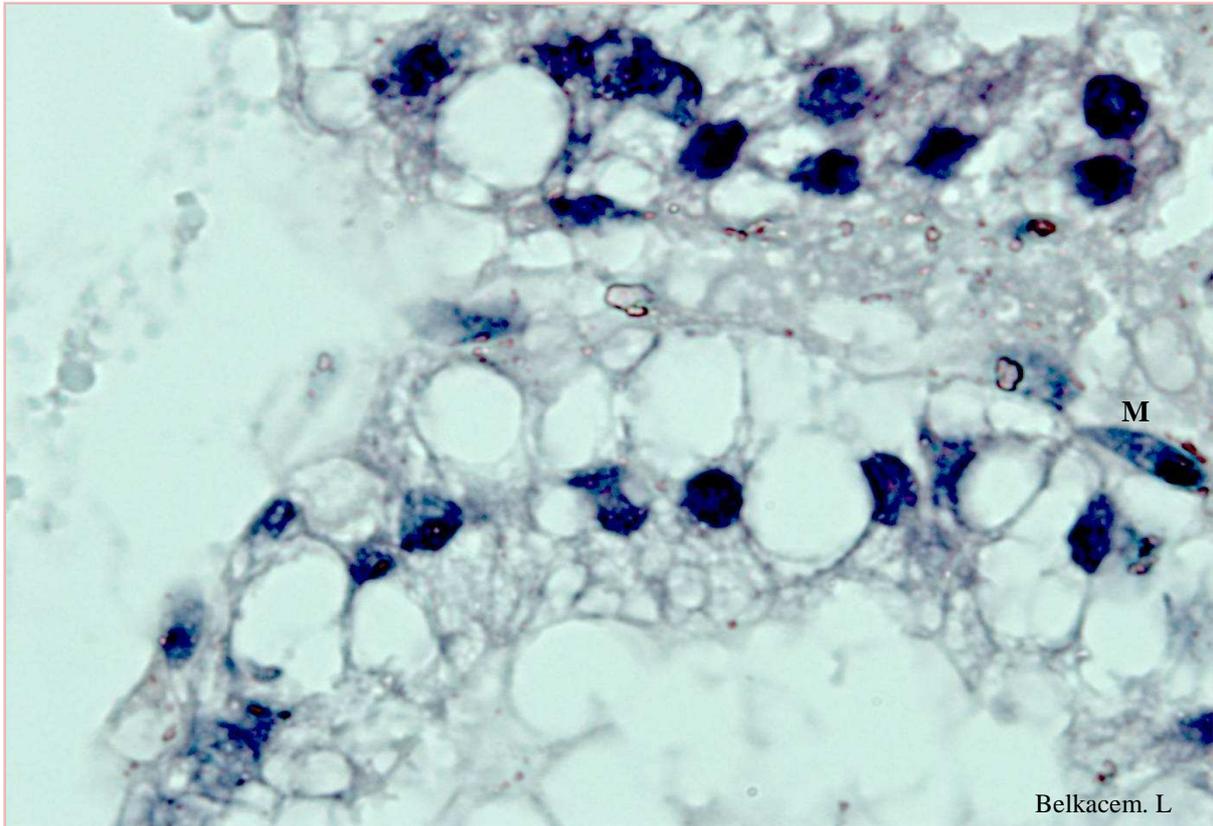
Le noyau des lactocytes est basal et le rapport nucléo-cytoplasmique est réduit.



Micrographie 16 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation
(G x40, coloration H.E).

Apparaissent sur cette image des lobules juxtaposés bordés par un épithélium avec des cellules à noyau basal et dont le cytoplasme est occupé par des vacuoles de sécrétions de tailles variables.

Les acini apparaissent distendus par les sécrétions et emplis d'un matériel éosinophile contenant des vacuoles claires correspondant aux gouttelettes lipidiques.



Micrographie 17 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en fin de gestation
(G x100, coloration H.E).

Ce très fort grossissement est un détail d'un acinus sécrétoire d'une glande en fin de gestation. Les cellules sont polarisées avec un noyau basal et des vacuoles lipidiques cytoplasmiques claires. La lumière alvéolaire contient également des vacuoles de sécrétion. Les cellules myoépithéliales (M) sont identifiables autour des acini.

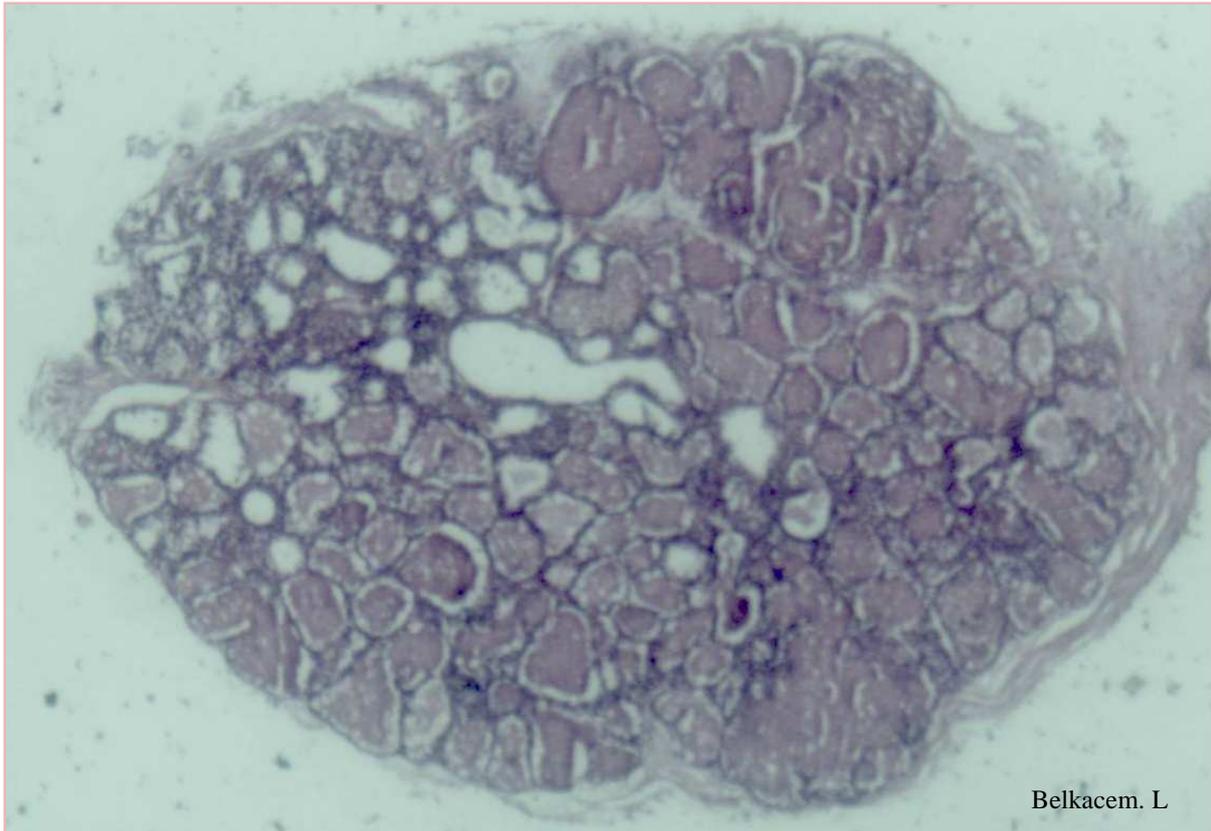
e. Histologie du tissu mammaire de brebis en début de lactation (2 jours après agnelage):

Immédiatement après l'agnelage, les alvéoles sont fortement distendues par les sécrétions et les cellules de l'épithélium glandulaire sont élargies et aplaties. Le tissu conjonctif de la glande devient discret surtout dans les zones entre les alvéoles. En effet, la proportion de tissu conjonctif est faible par rapport à l'étendue du parenchyme glandulaire.

En lactation, la composante épithéliale hypertrophiée l'emporte en volume sur la composante conjonctive. La glande mammaire est richement vascularisée. Les vaisseaux sanguins se remarquent particulièrement dans le conjonctif interlobulaire.

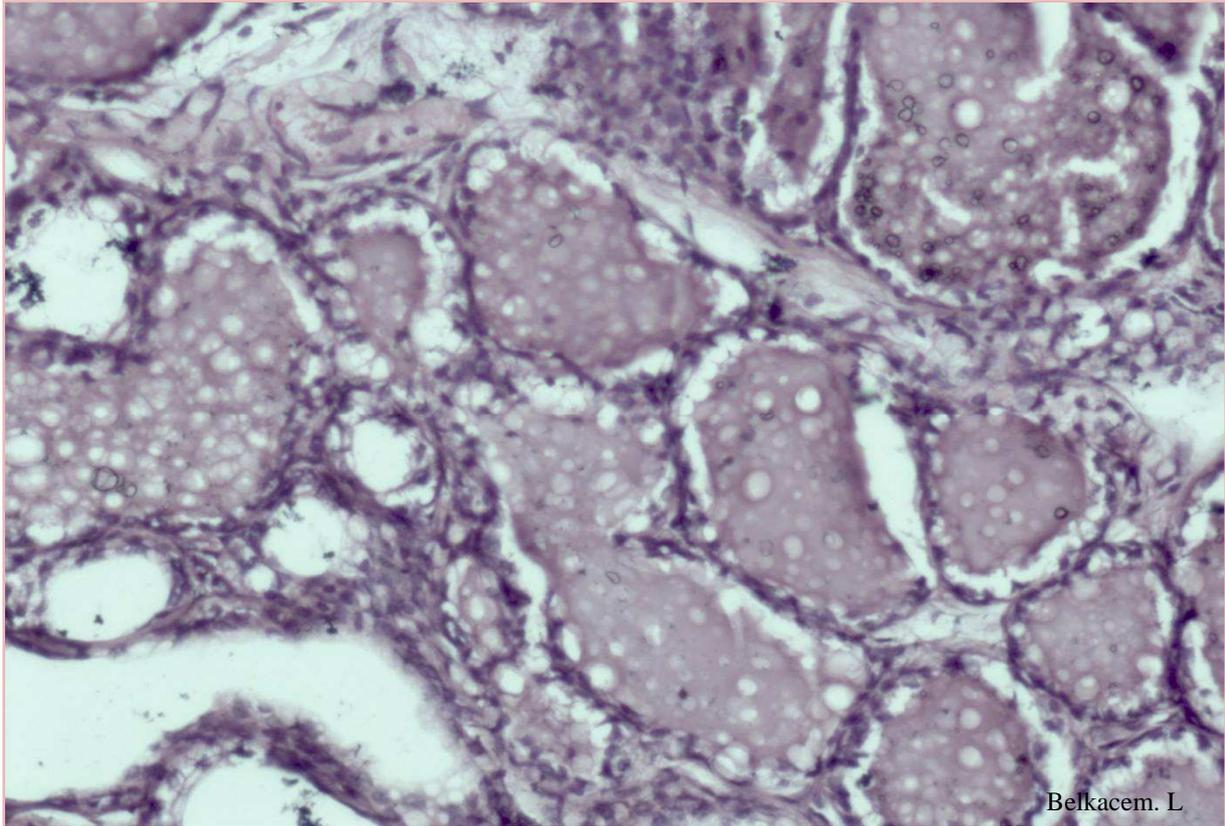
Comme on le voit sur la micrographie 18, la glande en lactation est presque entièrement constituée d'acini dilatés par le lait, le tissu interlobulaire se réduisant à présent à de fins septa entre les lobules. Un canal intralobulaire apparaît clairement dilaté.

Aux plus forts grossissements (micrographies 19, 20), les acini de forme et de taille variables apparaissent distendus et emplis de matériel sécrétoire éosinophile contenant des vacuoles claires correspondant aux gouttelettes lipidiques dissoutes. Les cellules épithéliales sont aplaties avec un noyau basal et un cytoplasme dilaté par de grosses vacuoles.



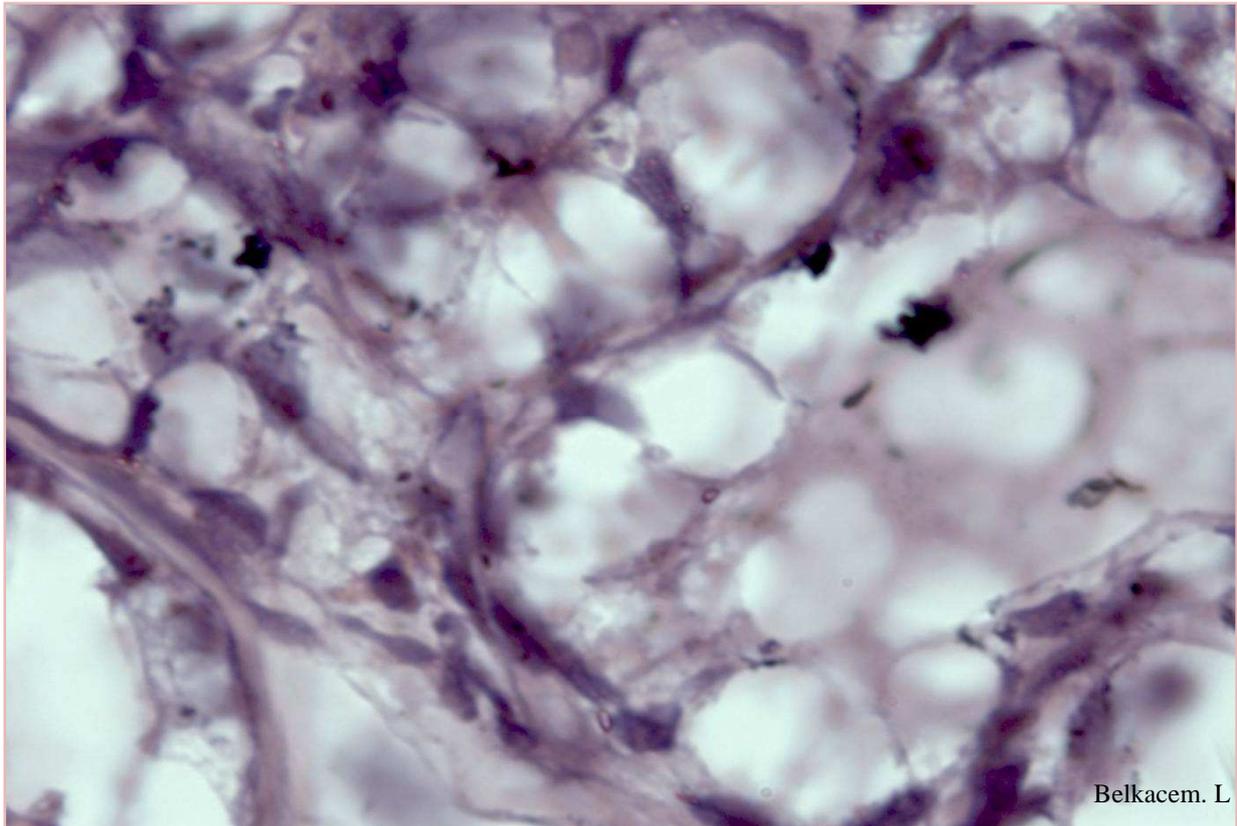
Micrographie 18 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation
(G x10, coloration H.E)

Cette image fait apparaître l'aspect du parenchyme mammaire en lactation avec des lobules très serrés formés d'acini fortement dilatés par les sécrétions lactées éosinophiles. Des canaux dilatés sont bien visibles et le conjonctif intralobulaire est très réduit.



Micrographie 19 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation
(G x20, coloration H.E)

Ce grossissement de l'image précédente montre des alvéoles de taille variable dont la lumière est fortement distendue par les sécrétions lactées éosinophiles. Des gouttelettes lipidiques abondantes apparaissent claires dans la lumière alvéolaire. Les cellules épithéliales présentent un noyau basal et un cytoplasme occupé de larges vacuoles de sécrétions qui donnent un aspect irrégulier à la face luminale des acini. Un canal intra lobulaire dilaté est bien visible en bas de l'image. Le conjonctif intralobulaire est réduit

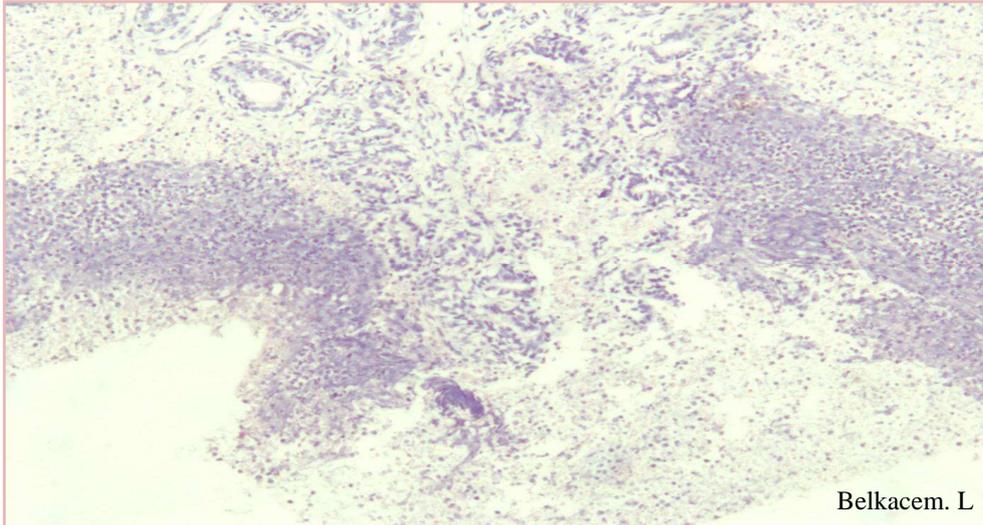


Micrographie 20 : Coupe histologique de tissu mammaire de brebis en début de lactation
(G x100, coloration H.E).

A l'objectif à immersion, on observe les détails des acini dont les cellules épithéliales en activité présentent un noyau réduit refoulé à l'extrémité basale des cellules épithéliales et un cytoplasme avec de larges vacuoles. La lumière alvéolaire est remplie de sécrétion et de grosses gouttelettes lipidiques.

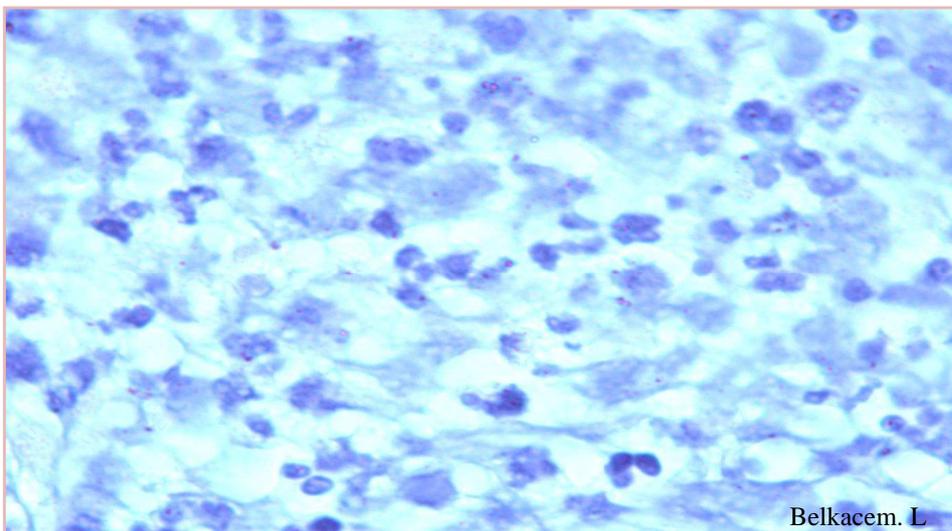
2.2. Description des lames histologiques du tissu mammaire anormal :

Parmi les brebis biopsiées nous avons trouvé deux cas pathologiques chez des multipares gestantes correspondant à des abcès mammaires. L'aspect microscopique décrit de ces lésions révèle la présence de foyers inflammatoires riches en polynucléaires neutrophiles témoignant de la présence d'une inflammation aigüe.



Micrographie 21 : Aspect microscopique d'un foyer inflammatoire dans le tissu mammaire.
(G x0.25, coloration H.E)

L'observation au faible grossissement montre un parenchyme mammaire reconnaissable par ses quelques structures lobulaires avec des foyers d'infiltrats inflammatoires denses et polymorphes.



Micrographie 22 : Aspect microscopique d'un foyer inflammatoire dans le tissu mammaire
(G x100, coloration H.E)

L'image présente l'aspect d'un granulome inflammatoire riche en polynucléaires altérés.

IV. DISCUSSION :

1. Méthode choisie pour la biopsie mammaire: La biopsie échoguidée au pistolet automatique :

La biopsie mammaire est une technique peu utilisée en pratique, vu la rareté des tumeurs mammaire chez les ruminants (Pugh, 2002), mais qui présente pourtant un grand intérêt dans l'exploration et l'étude morpho-fonctionnelle de la glande mammaire voire lésionnelle et pathologique. La biopsie est donc un procédé qui peut être utilisé à des fins expérimentales (études sur le tissu mammaire).

Différentes techniques ont été décrites chez les humains ou chez les animaux domestiques pour des études fondamentales ou appliquées.

Pour la réalisation des biopsies mammaires des brebis dans notre étude, on a appliqué une technique décrite par Kacskovics (2005) dans ses différentes étapes en utilisant un pistolet automatique à biopsie pour tissus mous dont l'aiguille est de 14 G de diamètre et 15 cm de longueur. Cette technique est peu invasive par rapport à la biopsie chirurgicale, elle peut être répétée plusieurs fois chez le même animal avec le moins de traumatisme et de risques d'altération du parenchyme mammaire, comme elle permet de suivre les événements physiologiques en temps réel. Le diamètre de 14 G de l'aiguille à biopsie est selon cet auteur assez large pour inclure un lobule mammaire avec plusieurs acini : échantillon tissulaire suffisant qui permet d'avoir plusieurs coupes histologiques après inclusion en paraffine, et est adéquat pour des examens histologiques, immuno histochimiques ou pour l'hybridation in situ.

Les biopsies au pistolet automatique ont été décrites par plusieurs auteurs dans diverses études portant sur l'espèce ovine ;

Nørgaard et al. (2008) ont employé cette technique avec un pistolet automatique dont l'aiguille est de 14 G et 19 cm de longueur pour prélever des échantillons de tissu mammaire d'environ 15 mg sur des brebis en gestation pour des analyses de l'ARN, avec application d'une anesthésie locale (injection sous cutanée de 0.5 ml de lidocaïne (20 mg/ml) et 3 échantillons tissulaires par site.

Mayer et al. (2002) ont obtenu des biopsies de glandes mammaires de brebis en gestation et à différents stades de lactation par des aiguilles à biopsie 16 G et 16 cm de longueur pour étudier la distribution du récepteur Fc dans la glande mammaire en péripartum.

Pour plus de précision et afin d'éviter tout trajet des vaisseaux sanguins mammaires pour avoir moins de risques d'hémorragies ou d'hématomes, ces biopsies ont été assistées

dans notre travail par échographie pour le guidage de l'aiguille ; technique largement employée en médecine humaine. Elle permet d'obtenir des biopsies de tissu mammaire en quantité suffisante et qualité satisfaisante sur des femelles gestantes ou en lactation pour des études *In vitro* ; histologiques, immuno histochimiques, biochimiques par des méthodes simples et sûres et moins invasives par rapport à d'autres méthodes décrites en littérature dans les différentes espèces, telles que la biopsie chirurgicale sous anesthésie générale employée par Byatt et Bremel (1986) chez des génisses en gestation et par Knight et al. (1992); ou la technique de biopsie à l'aide de rotation d'une canule en acier inoxydable avec une lame rétractable à la pointe décrite par Farr et al. (1996).

Koringa et al. (2008) ont fait des biopsies mammaires chirurgicales sur des buffles en gestation et en lactation en position debout sous anesthésie locale.

On n'a pas trouvé dans la littérature publiée une description de la technique de biopsie échoguidée de la glande mammaire chez les ruminants. Ce procédé est utilisé surtout en médecine humaine comme examen complémentaire en oncologie principalement.

Les avantages de cette méthode (biopsie échoguidée) par rapport à celles réalisées à l'aveugle par les pistolets automatiques ou semi automatiques ou aux autres méthodes de biopsie est la précision surtout dans les cas pathologiques. Et malgré l'utilisation d'une course longue de l'aiguille pour obtenir une carotte conséquente, les complications n'ont pas été enregistrées.

Cependant, nous n'avons pas fait de biopsies chez les brebis en début de gestation en raison du développement insuffisant et de la taille réduite des mamelles (Nørgaard et al., 2008).

Enfin, cette biopsie mammaire échoguidée au pistolet automatique est une technique peu invasive qui nous a permis une étude morphologique descriptive des modifications cellulaires de la glande mammaire avec l'avancement de la gestation et en particulier les changements induits par la montée laiteuse sans complications ni conséquences néfastes sur la mamelle ou l'animal.

Néanmoins, les biopsies destinées à l'examen anatomopathologique de la mamelle, et encore moins la possibilité d'assister ces biopsies par échographie reste une technique peu utilisée en pratique vétérinaire, c'est pourquoi nous trouvons que l'emploi de l'échographie dans l'exploration mammaire renseigne au moins sur la santé du pis et permet de gagner du temps en intervenant rapidement pour limiter les complications.

2. Résultats de l'examen échographique de la glande mammaire :

L'emploi de l'échographie pour l'examen de la glande mammaire a été décrit chez les ovins par Ruberte et al. (1994), Nudda et al. (2000), Wojtowski et al. (2002), Franz et al. (2003), Ayadi et al. (2003) et Rovai et al. (2008), chez les caprins (Fasulkov et al., 2010), chez les bovins (Franz et al, 2004; Klein et al, 2005; Flock et Winter, 2006; Franz et al. 2009), chez les buffles (Rambadu et al., 2008) et également chez les camelins (Abshenas et al., 2007) . Ces études portaient surtout sur l'échographie des trayons et la mesure des capacités de la citerne de la glande mammaire pour l'évaluation des aptitudes de production laitière dans les différentes espèces. Ces examens ont été réalisés sur des mamelles d'animaux vivants ou d'animaux abattus en immersion dans des bains d'eau surtout pour l'échographie des trayons ou par application directe de la sonde sur la peau de la mamelle après utilisation d'un gel échographique. Cependant peu de publications concernant la description échographique du parenchyme mammaire normal ou pathologique existent et l'échographie de la mammite n'a pas donné de résultats concluants de diagnostic à l'exception de certaines modifications telles que les abcès (Flock et Winter, 2006). L'échographie des mamelles en lactation a bénéficié de beaucoup plus d'intérêt que celle durant la gestation.

Dans notre travail on s'est intéressé plus à l'aspect normal du parenchyme mammaire qu'à celui des trayons ou de la citerne.

L'échographie est réalisée par voie transcutanée après application d'un gel de contact échographique et avec une sonde sectorielle ou linéaire à fréquence réglable (6.6, 7.5 ou 12Mhz), l'image échographique visualisée sur l'écran de l'échographe Mylab40 Esaote du parenchyme mammaire des brebis gestantes correspond à la description rapportée chez les bovins par Flock et Winter (2006) et chez les caprins par Fasulkov et al. (2010); le parenchyme de la glande mammaire présente un aspect granulaire, il est uniformément échogène. Cette image caractéristique est le résultat de la distribution d'un tissu conjonctif échogène de densité élevée et du parenchyme glandulaire moins échogène. Les zones anéchogènes ne peuvent pas être toujours correctement déterminées, elles peuvent correspondre à des vaisseaux sanguins ou conduits lactifères (Flock et Winter, 2006). La peau de la mamelle apparaît hyperéchogène au sommet de l'image échographique. En passant en mode Doppler couleur, on peut facilement faire la distinction ; les canaux galactophores sont anéchogènes alors que les vaisseaux sanguins présentent des intensités de couleur

variable selon leur profondeur allant du rouge au bleu comme on peut différencier les veines des artères par leurs mouvements laminaires et pulsatils respectifs.

L'aspect du parenchyme glandulaire en fin de gestation est plus dense que celui observé en mi gestation et cela correspond à la description faite par Nishimura et al. (2011) chez des bovins par examen échographique réalisé au milieu et à la fin de la gestation. Selon ces auteurs, les variations de la forme et de l'étendue en longueur et largeur des structures hypoéchogènes semble refléter le développement du système canaliculaire mammaire.

Nous avons également enregistré chez deux brebis des masses arrondies, ce sont des structures bien définies de taille variable dont on peut facilement mesurer les dimensions et le volume, elles présentent une capsule anéchogène bien délimitée et un contenu échogène non homogène ou hyperéchogène correspondant à des abcès, ces mêmes images ont été décrites par (Flock et Winter, 2006) dans l'espèce bovine.

3. Résultats histologiques de la glande mammaire :

Au cours de la gestation, la glande mammaire qui était au repos se transforme progressivement en un tissu pleinement sécrétant. La différenciation de la cellule au repos en cellule sécrétante se traduit au microscope optique par l'accroissement du volume cytoplasmique par rapport au noyau avec élévation du rapport Cytoplasme/Noyau et par l'apparition des premiers signes d'activité sécrétoire vers le milieu de la gestation chez la femme (Debrux, 1979 ; Eroschenko, 2008) ; les lipides apparaissent sous forme de gouttelettes d'abord situées à la base, puis confluent peu à peu en gouttelettes plus volumineuses stockées dans le cytoplasme. Les grains de protéines apparaissent dans la région golgienne sous forme de petits granules ronds et denses à la limite de la résolution photonique (Debrux, 1979). La synthèse des lipides a également lieu à la fin de gestation chez la souris (Richert et al., 2000).

Ces modifications morpho-histologiques de l'épithélium glandulaire et des cellules sécrétrices mammaires qui ont lieu durant la gestation ont été étudiées *in vivo* chez les brebis de race Ouled Djellel par des biopsies mammaires effectuées à différents stades de celle-ci et ont permis de dessiner une image histologique progressive du développement mammaire et de la différenciation des cellules épithéliales et des acini.

Chez les ovins, le développement majeur de la glande mammaire a lieu durant la puberté et la gestation (Anderson, 1975). Au 30-90^{ème} jour de gestation, l'épithélium mammaire est rudimentaire même chez les brebis multipares, mais à partir de 90 jours, les cellules alvéolaires commencent à synthétiser les lipides et les protéines du lait (Martinet et Houdebine, 1993 ; Sulochana et Singh, 1995 ; Houdebine, 2007 ; Norgaard et al., 2008).

En effet, dans les trois premiers mois de la gestation le parenchyme glandulaire est rudimentaire, ce fait est confirmé par la biopsie mammaire qu'on a réalisée en mi gestation chez une brebis multipare qui donne l'image histologique de tissu mammaire encore peu développé , et à trois mois et une semaine le développement alvéolaire a commencé. Et conformément aux travaux réalisés chez diverses espèces, nos observations concordent avec celles de Lee et Lascelle (1970) faites chez des brebis de race Mérinos croisée où la maturation lobulo-alvéolaire a été terminée dans le mois qui précède l'agnelage et les alvéoles complètement différenciés et remplis de sécrétion avant la mise bas. Un développement complet de l'épithélium qui tapisse les alvéoles mammaires s'est produit pendant la gestation avec l'évidence histologique d'une sécrétion lactée dans la lumière alvéolaire (gouttelettes de lipides, granules de sécrétion).

Une étude similaire chez des bufflesses en gestation a été faite par Patel et al. (2007), les descriptions en microscopie optique correspondent à celles de la brebis. Les biopsies ont été obtenues chirurgicalement en position debout sous anesthésie locale. Nordin et Lee (1985), Ji et al. (2006) de leur part ont étudié le développement mammaire dans l'espèce porcine, les images histologiques du parenchyme mammaire décrites ne présentent pas de grandes différences structurales avec celles qu'on a étudié, la différenciation étant terminée vers la fin de gestation. Ces résultats ont également été mentionnés dans l'espèce humaine (De Brux, 1979 ; Eroschenko, 2008).

Cependant, les observations histologiques rapportées par Pulina et al. (2009) dans leur étude menée sur les brebis laitières de race Sarde décrivent en fin de gestation un épithélium mammaire dont les alvéoles sont immatures avec une lumière réduite bordée de cellules cuboïdales luminales et un noyau occupant la presque totalité des cellules épithéliales, et seulement quelques alvéoles avec des vacuoles lipidiques et peu de sécrétion dans leur lumière. Selon ces auteurs la différenciation complète des alvéoles, représentée

histologiquement par une polarisation des cellules épithéliales avec des vacuoles au pôle apical et un noyau central ou basal, n'est observée qu'en 30 jours de lactation.

Ces résultats ne concordant pas aux nôtres laissent suggérer l'existence de variation de la mammogénèse durant la gestation entre les races ovines.

Nous avons complété les images histologiques par une biopsie réalisée sur une brebis primipare en début de lactation (2 jours après agnelage). Les observations décrites correspondent en totalité à l'image de la glande mammaire active chez toutes les espèces étudiées : la femme (De Brux, 1979 ; Eroschenko, 2008), les bovins (Aughey et Frye, 2001), la souris (Richert et al., 2000), la truie (Nordin et Lee, 1985 ; Ji et al., 2006), et la bufflesse (Patel et al., 2007)...

La croissance mammaire est donc caractérisée durant la première moitié de gestation par une prolifération rapide du système canaliculaire et par la mise en place du système lobulo-alvéolaire à la fin de celle-ci avec des cellules épithéliales bien différenciées formant les acini de la glande mammaire.

Selon Hovey et al. (1999), la production laitière dépend du nombre total de ces cellules épithéliales mammaires présentes. Anderson (1975) a estimé que chez la brebis 98% du nombre des lactocytes est atteint au moment la parturition et 2% seulement du développement a lieu durant la lactation contrairement à la chèvre dont le développement de la glande continue en période de lactation (Knight et Peaker, 1984).

L'évolution histologique et fonctionnelle de la glande mammaire serait une conséquence de l'action simultanée de diverses hormones hypophysaires, ovariennes et placentaires (voir partie bibliographique). Selon Hovey et al. (2002), l'interaction entre la prolactine et les œstrogènes joue un rôle fondamental dans le développement alvéolaire chez la brebis.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES:

L'effectif restreint étudié constitue une limite à l'extrapolation des résultats à l'ensemble des brebis de la race Ouled Djellel, mais donne néanmoins certaines indications qui méritent d'être exploitées et approfondies :

- La technique de biopsie écho guidée au pistolet automatique, employée dans ce travail, est peu invasive et n'a pas eu de conséquences ni sur la mamelle, ni sur les brebis gestantes ou en lactation étudiées.
- En plus, cette étude montre les caractéristiques échographiques du tissu mammaire normal chez les brebis à différents stades de gestation et apporte de nouvelles données concernant le développement mammaire dans l'espèce ovine qui est encore peu étudié par imagerie.
- Comme elle suggère que l'échographie peut être un outil important pour évaluer le développement normal et les variations pathologiques de la glande mammaire ovine, et mérite d'être introduite en clinique dans l'examen des mamelles pour évaluer la qualité et la santé du pis.
- L'histologie, du moins chez les brebis étudiées, a révélé un développement complet du parenchyme glandulaire mammaire en fin de gestation. Ceci peut être une caractéristique de la race Ouled Djellel.
- Ces variations structurales du tissu mammaire durant la gestation et la lactation peuvent être une base pour estimer l'évolution du nombre des cellules sécrétrices chez les brebis et évaluer la production laitière ultérieure.

Enfin, l'amélioration de la gestion de l'élevage ovin (surtout en alimentation) contribuerait à augmenter les performances laitières des brebis Ouled Djellel, et rentabiliser les activités de production essentiellement en agneaux.

1. Abshenas, J., Vosough, D., Masoudifard, M. et Molai, M.M. (2007). B-mode ultrasonography of the udder and teat in camel. *Journal of Veterinary Research*. **62**: 27-31.
2. Agut, A. (2008). How to use ultrasound guidance for biopsy and more in Proceeding of the Southern European Veterinary Conference and Congreso Nacional AVEPA, Oct. 17-19. Barcelona, Spain
3. Akers, R.M. (1985). Lactogenic hormones: binding sites, mammary growth, secretory cell differentiation, and milk biosynthesis in ruminants. *Journal of Dairy Science*. **68(2)**: 501-519.
4. Akers, R.M. (2000). Selection for milk production from a lactation biology viewpoint. *Journal of Dairy Science*. **83 (5)**: 1151–1158
5. Akers, R.M., McFadden, T.B., Purup, S., Vestergaard, M., Sejrsen, K. et Capuco, A.V. (2000). Local IGF-I axis in peripubertal ruminant mammary development.
6. Akers, R.M. (2002). Lactation and the mammary gland. Blackwell Publishing. Iowa State Press.
7. Anderson, R.R. (1975). Mammary gland growth in sheep. *Journal of animal science* **41(1)**: 118-123.
8. Aughey, E., Frye, F.L. (2001). Mammary glands in Comparative veterinary histology with clinical correlates. Manson publishing/Veterinary Press p194-195.
9. Ayadi, M., Caja, G., Such, X. et Knight, C.H. (2003). Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. *Journal of Dairy Research*. **70** : 1-7.
10. Bacha, Jr .W.J., Bacha, L.M. (2000). Color atlas of veterinary histology 2nd edition Lippincott Williams/Wilkins.USA p 102 -103.
11. Banks, W.J (1993) Integumentary system in Applied veterinary histology third edition New-York Mosby p 306-311.
12. Barone, R. (1978). Les mamelles dans Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 3 Splanchnologie II. Editions Vigot Frères. Paris p 449-501
13. Barthez, P. (2003) Cours en ligne d'imagerie médicale, E.N.V. Lyon.
<http://www2.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/11.Echo1/Echo1.html>
<http://www2.vet-lyon.fr/ens/imagerie/D1/12.Echo2/Echo2.html>
14. Bragulla, H. et König, H.E. (2004). Mammary gland in Veterinary anatomy of domestic mammals. König, H.E., Liebich, H-G. Schattauer GmbH, Germany P 595-603.
15. Byatt, J. C. et Bremel, R.D. (1986). Lactogenic effect of bovine placental lactogen on pregnant rabbit but not pregnant heifer mammary gland explants. *Journal of Dairy Science*. **69(8)**: 2066-2071.

- 16.** Caja, G., Such, X. et Rovai, M. (2000). Udder morphology and machine milking ability in dairy sheep. In Proceedings of the 6th Great lakes dairy sheep symposium, November, 2- 4. Guelph, Ontario, Canada.
- 17.** Capuco, A.V. et Ellis, S. (2005). Bovine mammary progenitor cells: current concepts and future directions. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*.**10(1)**: 5-15
- 18.** Chetboul, V., Pouchelon, J.L., Tessier-Vetzel, D., Bureau-Amaglio, S., Blot, S., Cotard, J.P., Simon, M. et Tainturier, D. (2005). Echocardiographie et Doppler du chien et du chat. Paris : Masson p 3-9, 13-22.
- 19.** Chiliard, Y. (1993). Adaptations métaboliques et partage des nutriments chez l'animal en lactation *dans* Biologie de la lactation. Edition INRA /INSERM p 431-475.
- 20.** Connor, E.E., Meyer, M.J., Li, R.W., Van Amburgh, M.E., Boisclair, Y.R. et Capuco, A.V. (2007). Regulation of gene expression in the bovine mammary gland by ovarian steroids. *Journal of Dairy Science*. **90** (E. Suppl.) : E55-E65.
- 21.** Constantinescu, G.M. et Constantinescu, I.A. (2010). Functional Anatomy of the Goat (Mammary glands) *in* Goat science and production Solaiman, S.G. Blackwell Publishing. p126-128
- 22.** Cowie, A.T. (1974). Overview of the mammary gland. *The journal of investigative dermatology*. **63(1)** : 2-9
- 23.** De Brux, J. (1979). Histopathologie du sein. Masson Paris p 21-50
- 24.** Deis, R.P., Jahn, G.A. et Périer, A. (1993) physiologie et biochimie de la lactogénèse, stimulation de la montée laiteuse par les antiprogestatifs *dans* Biologie de la lactation. INSERM et INRA éditions. p179- 195.
- 25.** Delouis, C., Djiane, J., Houdebine, L.M. et Terqui, M. (1980). Relation between hormones and mammary gland function. *Journal of Dairy Science*. **63(9)** :1492-1513.
- 26.** Delouis, C., Houdebine, L.M. et Richard, P. (2001). La lactation *dans* La reproduction chez les mammifères et l'homme. Thibault C., Levasseur, M-C INRA / Ellipses éditions. p 580-610
- 27.** Ellis, S.E. (1998). Mechanism controlling ductal morphogenesis in the ruminant mammary gland.
- 28.** Erb, R.E. (1977). Hormonal control of mammogenesis and onset of lactation in cows. A review. *Journal of Dairy Science*. **60(2)**: 155-169.
- 29.** Eroschenko, V.P. (2008). Di Fiore's Atlas of histology with functional correlations 11th edition. Wolters Kluwer / Lippincott Williams / Wilkins p 482-487.
- 30.** Escolano, E., Zoppardo, P., LE Marc'hadour, F., Panh, M.H. et Bernard, P. (1999) Apport de la micro-biopsie échoguidée dans la pathologie mammaire. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction*. **28(5)** : 425-432 Masson Paris.

31. Eurell, J.A. et Frappier, B.L. (2006). Dellmann's Textbook of Veterinary Histology, 6th edition. Ames, IA: Blackwell Publishing p 340- 341.
32. Farr, V.C., Stelwagen, K., Cate, L.R., Molenaar, A.J., McFadden, T.B. et Davis, S.R. (1996). An improved method for the routine biopsy of the bovine mammary tissue. *Journal of Dairy Science*. **79(4)**: 543-549.
33. Fasulkov, I. R., Georgiev, P. I., Antonov, A. L. et Atanasov, A. S. (2010). B-mode ultrasonography of mammary glands in goats during the lactation period. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*. **13(4)** : 245-251
34. Flock, M. et Winter, P. (2006). Diagnostic ultrasonography in cattle with disease of the mammary gland. *The Veterinary Journal*. **171**: 314-321.
35. Forsyth, I.A. (1986). Variation Among Species in the endocrine control of mammary growth and function : the role of Prolactin, Growth hormone, and Placental Lactogen *Journal of Dairy Science*. **69(3)**: 886-903.
36. Forsyth, I. A. (1989). Mammary development. *Proceedings of the Nutrition Society*. **48(1)** : 17-22.
37. Forsyth, I. A., Gianfranco, G. et Morgan, G. (1999). Spatial and temporal expression of insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-II and the insulin-like growth factor-I receptor in the sheep fetal mammary gland. *J. Dairy Res*. **66**: 35-44.
38. Frandson, R.D., Wilke, W.L. et Fails, A.D. (2009). Anatomy and physiology of the mammary glands in Anatomy and physiology of farm animals. 7th edition Wiley- Blackwell Publishing p 449-461.
39. Franz, S., Hofmann-Parisot, M., Gutler, S. et Baumgartner, W. (2003). Clinical and ultrasonographic findings in the mammary gland of sheep. *New Zealand Veterinary Journal*. **51**: 238–243.
40. Franz, S., Hofmann-Parisot, M. et Baumgartner, W. (2004). Evaluation of three dimensional ultrasonography of the bovine mammary gland. *American Journal of Veterinary Research*. **65** : 1159–1163.
41. Franz, S., Floek, M. et Hofmann-Parisot, M. (2009). Ultrasonography of the bovine udder and teat. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. **25**: 669-685
42. Gayrard, V. D., Carrière, P. et Des Côteaux, L. (2010). Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography. Blackwell Publishing p3-19
43. Geety, K. G. (2010) Lactation and lamb growth in International sheep and wool handbook. Cottle, D.J. Nottingham University Press. p 259
44. Heath, T. J. et Kerlin, R.L. (1986). Lymph drainage from the mammary gland in sheep. *Journal of anatomy*. **144** : 61-70.

45. Hennighausen, L. et Robinson, G.W. (2001) Signaling pathways in mammary gland development. *Developmental Cell*. **1(4)**: 467-475.
46. Hens, J.R. et Wysolmerski, J.J. (2005) Review : Key stages in mammary gland development : Molecular mechanisms involved in the formation of the embryonic mammary gland. *Breast Cancer Research*. **7(5)**: 220-224.
47. Houdebine, L.M. (1986). Contrôle hormonal du développement et de l'activité de la glande mammaire. *Reproduction. Nutrition. Développement*. **26 (2B)** : 523- 541
48. Houdebine, L.M. (2007). Biologie de la lactation. *Encycl. Méd. Chir. (Elsevier, Paris), Gynécologie/Obstétrique*, 5-008-A-30, 22 p
49. Hovey, R.C., McFadden, T.B. et Akers, R.M. (1999) Regulation of mammary gland growth and morphogenesis by the mammary fat pad: a species comparison. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **4(1)**: 53-68.
50. Hovey, R.C., Auldist, D.E., Mackenzie, D.D. et McFadden, T.B. (2000). Preparation of an epithelium-free mammary fat pad and subsequent mammogenesis in ewes. *Journal of Animal Science*. **78(8)** : 2177-2185.
51. Hovey, R.C., Trott, J.F. et Vonderhaar, B.K. (2002) Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **7(1)**: 17-38.
52. Jammes, H. et Djiane, J. (1988) Le développement de la glande mammaire et son contrôle hormonal dans l'espèce bovine. *INRA Production Animale*. **1(5)**: 299-310.
53. Ji, F., Hurley, W.L. et Kim, S.W. (2006). Characterization of mammary gland development in pregnant gilts. *Journal of Animal Science*. **84**: 579- 587
54. Johnson, I.D. et Hart, I.C. (1985) Pre-pubertal mammogenesis in the sheep. *Animal Production*. **41** : 323-332.
55. Kacs Kovics, I. (2005). Mammary gland tissue for histologic examination *dans* Mucosal immunology. Mestecky, J. et al., Third edition. Elsevier. p 1855.
56. Kann, G., Delobelle-Deroide, A., Belair, L., Gertler, A. et Djiane, J. (1999). Demonstration of *in vivo* mammogenic and lactogenic effects of recombinant ovine placental lactogen and mammogenic effect of recombinant ovine GH in ewes during artificial induction of lactation . *Journal of Endocrinology*. **160(3)**: 365-377
57. Klein, D., Flock, M., Khol, J. L., Franz, S., Stuger, H.P. et Baumgartner, W. (2005). Ultrasonographic measurement of the bovine teat: Breed differences and the significance of the measurements for udder health. *Journal of Dairy Research*. **72**: 296-302.
58. Knight, C.H. et Peaker, .M. (1982). Development of the mammary gland. *J. Reprod. Fertil*. **65(2)**: 521-536.

59. Knight, C.H. et Peaker, .M. (1984). Mammary development and regression during lactation in goats in relation to milk secretion. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. **69**: 331-338
60. Knight, C.H., Hillerton, J.E., Teverson, R.M. et Winter, A. (1992) Biopsy of the bovine mammary gland. *British veterinary Journal*. **148(2)**: 129-132.
61. Koringa, P.G., Patel, A.K., Nandasana, K.N., Ramani, U.V., Bhong, C., Joshi, V.K., Wadhvani, K.N., Kelawala, N.H. et Barvalia, D.R. (2008). Mammary gland biopsy in pregnant and lactating buffaloes in standing position. *Indian J. Vet. Surg*. **29(1)**: 50-51
62. Lacasse, P. (2010) Cours sur la Biologie de la Lactation, Département de Biologie Université de Sherbrooke, <http://pages.usherbrooke.ca/infosbio/PSL705/course-f.htm>
63. Lawrence, T.L.J. et Fowler, V.R. (2002). Mammary gland growth and product yield in Growth of farm animals Second Edition CABI Publishing.p103-119.
64. Lee, C.S. et Lascelles, A. K. (1970). Antibody-producing cells in antigenically Stimulated mammary glands and in the Gastrointestinal tract of sheep. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci*. **48**: 525-535.
65. Lévy, L., Reizine, A., Suissa, M., Teman, G. et Chiche, J-F. (2005). Comment je fais une biopsie échoguidée du sein. *Imagerie de la Femme*. **15(4)**: 206-218
66. Loriot, N., Martinot, S. et Frank, M. (1995). Notions de base dans Echographie abdominale du chien et du chat. Paris: Ed. Masson. p 1-17
67. Mannion, P. (2006). Diagnostic ultrasound in small animal practice. Blackwell Science p 32-37
68. Martal, J. et Chene, N. (1993) Placenta et lactation dans Biologie de la lactation INSERM et INRA éditions. p31- 58
69. Martinet. L (1962). Embryologie de la mamelle chez le mouton. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys*. **2**:175–184.
70. Martinet, J. et Houdebine, L.M. (1993) Glande mammaire, mammogénèse, facteurs de croissance, lactogénèse dans Biologie de la lactation. INSERM et INRA éditions. p3- 29.
71. Mayer, B., Zolnai, A., Frenyo, L., Jancsik, V., Szentirmay, Z., Hammarstrom, L. et Kacs Kovics, I. (2002). Redistribution of the sheep neonatal Fc receptor in the mammary gland around the time of parturition in ewes and its localization in the small intestine of neonatal lambs. *Immunology*. **107**: 288–296
72. Neville, M.C., McFadden, T.B. et Forsyth, I. (2002). Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **7(1)**: 49-66.
73. Nishimura, M., Yoshida, T., El-Khodery, S., Miyoshi, M., Furuoka, H., Yasuda, J., et Miyahara, K. (2011). Ultrasound imaging of mammary glands in dairy heifers at different stages of growth. *J. Vet. Med. Sci*. **73**: 19-24.

- 74.** Nordin, W. et Lee, C.S. (1985). Histological Changes in the pregnant, lactating and involuting mammary gland of the guinea pig. *Pertanika*. **8(3)**: 417- 424
- 75.** Nørgaard, J.V., Nielsen, M.O., Theil, P.K., Sørensen M.T., Safayi, S. et Sejrsen, K. (2008) Development of mammary glands of fat sheep submitted to restricted feeding during late pregnancy. *Small Ruminant Research*. **76**: 155-165
- 76.** Norris, D. O. (2007). Vertebrate endocrinology 4th edition Elsevier Inc p359.
- 77.** Nudda, A., Pulina, G., Vallebella, R. , Bencini, R.et Enne, G. (2000). Ultrasound technique for measuring mammary cistern size of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. **67** : 101–106.
- 78.** Nyland, T.G., Mattoon, J.S, Herrgesell, E.J. et Wisner, E.R. (2002) Ultrasound guided biopsy *in* : Small animal diagnostic ultrasound. Nyland, T.G., Mattoon, J.S. 2nd Ed. Philadelphia : WB Saunders. p 30-48.
- 79.** Patel, A.K., Koringa, P.G., Nandasana, K.N., Ramani, U.V., Goriya, H.V. et Panchal, K.M. (2007). Comparative histology of mammary gland in heifer, pregnant, lactating and dry buffaloes. *Indian Journal of Veterinary Anatomy*. **19(1)**: 71-78
- 80.** Perret, B., Legmann, P., Vignaux, O., Costes, V., Hazebroucq, V., Sahut d’Izarn, J.J. et Bonnin, A. (1998). Techniques de guidage en échographie interventionnelle. *Encycl Méd Chir* (Elsevier, Paris), Radiodiagnostic- Appareil digestif, 33-680-A-05, 17 p
- 81.** Pugh, D.G. (2002). Sheep and goat medicine, Saunders, Philadelphia, PA .p 341-342.
- 82.** Pulina, G., Colitti, M., Farinacci, M., Mazzette, A., Canu, G., Castro, C.N. et Nudda, A. (2009) The evolution of mammary glands at different stages in Sarda dairy ewes: preliminary results. *Ital.J.Anim.Sci*. **8** (Suppl. 2): 652-654
- 83.** Radcliff, R.P., VandeHaar, M.J., Chapin, L.T., Pilbeam, T.E., Beede, D.K., Stanisiewski, E.P. et Tucker, H.A. (2000). Effects of diet and injection of bovine somatotropin on prepubertal growth and first-lactation milk yields of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. **83**: 23-29.
- 84.** Rambadu, K., Sreenu, M., Suresh Kumar, R.V. Et Rao, T.S.C (2008). Ultrasonography of the udder and teat in buffaloes: A comparison of four methods. *Buffalo Bulletin*. **27**: 269–273.
- 85.** Reece, W.O. (2009). Functional anatomy and physiology of domestic animals 4th edition .Wiley Blackwell.USA. p501-510
- 86.** Richert, M.M., Schwertfeger, K. L., Ryder, J.W. et Anderson, S.M. (2000). An atlas of mouse mammary gland development *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. **5(2)**: 227-241
- 87.** Rovai, M., Caja, G. et Such, X. (2008). Evaluation of udder cisterns and effects on milk yield of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. **91(12)** : 4622–4629.
- 88.** Ruberte, J., Carretero, A., Fernandez, M., Navarro, M., Caja, G., Kirchner, F. et Such, X. (1994). Ultrasound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical section. *Small Ruminant Research*. **13(2)** : 199–204.

- 89.** Scanes, C.G. (2003). Growth of the mammary gland *in* Biology of growth of domestic animals. 1st edition. Iowa State Place. Blackwell publishing. USA. p233-248
- 90.** Schatten, H. et Constantinescu, G. M. (2007) Anatomy of reproductive organs (The mammary gland) *in* Comparative reproductive biology. Blackwell Publishing. p17-19
- 91.** Sejrsen, K., Foldager, J., Sorensen, M.T., Akers, R. M. et Bauman, D.E. (1986). Effect of exogenous bovine somatotropin on pubertal mammary development in heifers. *Journal of Dairy Science*. **69(6)**: 1528-1535.
- 92.** Sejrsen, K. et Purup, S. (1997) Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a review. *Journal of animal science*. **75**: 828-835.
- 93.** Sejrsen, K., Purup, S., Vestergaard, M., Weber, M.S. et Knight, C.H. (1999). Growth hormone and mammary development. *Dom. Anim. Endocrinol.* **17**: 117-129.
- 94.** Senger, P.L. (2005). Pathways to pregnancy and parturition 2nd revised edition Current concepts, inc .p341
- 95.** Seror, J.Y. et Uzan, S. (2007). Indications respectives des différentes techniques de radiologie interventionnelle dans le diagnostic des lésions du sein potentiellement cancéreuses. *Presse med.* **36**: 322-332
- 96.** Sinha, Y. N. et Tucker, H.A. (1969). Mammary development and pituitary prolactin levels of heifers from birth through puberty and during the œstrus. *Journal of Dairy Science*. **52**: 507-512
- 97.** Squires, E.J. (2003). Mammary gland development and milk production *in* Applied animal endocrinology CABI Publishing UK p 124-135
- 98.** Sulochana, S. et Singh, Y. (1995). Histochemical-studies of mammary gland parenchyma in pregnant nali ewes. *Small Ruminant. Research*. **18**: 189-192.
- 99.** Tucker, H. A. (1981). Physiological control of mammary growth, lactogenesis and lactation *Journal of Dairy Science*. **64(6)**: 1403-1421
- 100.** Tucker, H. A. (1987). Symposium : Mammary growth ; Quantitative estimates of mammary growth during various physiological states : A review *Journal of Dairy Science*. **70(9)**: 1958-1966
- 101.** Tucker, H.A. (2000). Symposium : Hormonal regulation of milk synthesis hormones, mammary growth, and lactation : a 41-year perspective. *Journal of Dairy Science* **83(4)**: 874-884.
- 102.** Wilde, C.J., Quarrie, L.H., Tonner, E., Flint, D.J. et Peaker, M. (1997). Mammary apoptosis *Livestock. Production. Science*. **50**: 29-37.
- 103.** Wojtowski, J., Slosarz, P., Malecha, W. et Dankow, R. (2002). Ultrasound measurements of goats mammary gland cisterns during lactation. *Medycyna-Weterynaryjna*. **58**: 977-980.

APPROCHE DE LA BIOPSIE ECHO-GUIDEE DE LA GLANDE MAMMAIRE CHEZ LA BREBIS

RESUME

Les aspects morphologiques du développement mammaire chez les brebis Ouled Djellel en gestation ont été étudiés *in vivo* par une exploration échographique et histologique. Les prélèvements ont été obtenus par des biopsies échoguidées sur des mamelles de sept brebis à différents stades de gestation.

Les images échographiques obtenues varient avec le développement de la glande et l'étude morpho-histologique montre que le tissu mammaire encore rudimentaire et peu développé au milieu de la gestation présente une différenciation complète du parenchyme glandulaire avant l'agnelage avec l'évidence histologique d'une sécrétion lactée dans la lumière alvéolaire.

Mots-clés : Glande mammaire, biopsie, histologie, gestation, brebis

ABSTRACT

The morphological aspects of mammary glands development in pregnant sheep breed Ouled Djellel were studied *in vivo* by ultrasound and histological exploration. Samples were obtained by ultrasound-guided biopsies on udders of seven ewes at different stages of gestation.

Ultrasound images varies with the development of mammary glands and the morpho-histological study shows that mammary tissue still rudimentary and undeveloped in the middle of gestation has a complete differentiation of the glandular parenchyma before lambing with histological evidence of milk secretion in the alveolar lumen.

Keywords: Mammary gland, biopsy, histology, pregnancy, sheep

المخلص

أجريت هذه الدراسة على أضرع سبع نعاك من سلالة أولاد جلال لمعرفة التغيرات النسيجية الشكلية للغدة الثديية أثناء فترة الحمل. وقد تم الحصول على العينات بواسطة خزعات موجهة بالموجات فوق الصوتية خلال مراحل مختلفة من الحمل. بين الكشف بالموجات فوق الصوتية صوراً مختلفة للغدة الثديية مع تطور الحمل. أما الدراسة النسيجية فقد أوضحت أن نسيج الثدي يكون في منتصف الحمل غير متطور و في حالة بدائية يصبح عند نهاية الحمل غدة مكتملة النمو مع أدلة نسيجية واضحة لإفرازات الحليب في التجويف السنخي.

كلمات البحث : الغدة الثديية، علم الأنسجة، خزعة، حمل، نعاك.