

LA REFORME DES VERRATS DE CENTRES D'INSEMINATION ARTIFICIELLE POUR BAISSSE DE QUALITE DE SEMENCE : APPROCHE ANATOMOPATHOLOGIQUE ET HISTOLOGIQUE

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2002
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Anne, Noëlle LE ROUX

Née, le 25 juillet 1978 à SURESNES (Hauts-de-Seine)

Directeur de thèse : M. le Professeur Guy-Pierre MARTINEAU

JURY

PRESIDENT :
M. Henri DABERNAT

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :
M. Guy-Pierre MARTINEAU
M. Maxence DELVERDIER

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

LA REFORME DES VERRATS DE CENTRES
D'INSEMINATION ARTIFICIELLE POUR BAISSSE DE
QUALITE DE SEMENCE : APPROCHE
6608-2002-201



**LA REFORME DES VERRATS DE C.I.A.
POUR BAISSSE DE QUALITE DE SEMENCE :**

Approche anatomopathologique et histologique

A notre jury de thèse

Monsieur le Professeur
De l'Université Paul Sabatier de Toulouse
Qui nous a fait le grand honneur
d'en accepter la présidence

Hommages respectueux

Monsieur le Professeur MARTINEAU
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
qu'il trouve ici notre reconnaissance pour son travail
sur le terrain avec les étudiants et son enthousiasme
et notre gratitude pour ses conseils et son soutien
tout au long de ce travail

Monsieur le Professeur DELVERDIER
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
qui a mis son expérience en histologie et son temps
au service de ce travail
et a accepté de faire partie de notre jury

A toute ma famille, qu'elle demeure unie.

A Georges et Jeanine Grall, mes grands-parents, dans mon cœur et mon souvenir.

A Yvonne et Laurent Le Roux, mes grands-parents, qu'ils trouvent ici ma reconnaissance pour l'esprit terrien qu'ils m'ont transmis.

A Christine et Charles Le Roux, mes parents, qu'ils trouvent ici l'accomplissement de leur amour, leur patience et leur soutien quotidien.

A Erwan, mon frère, ne change pas.

A Fred, pour tout.

A mes amis

REMERCIEMENTS

Je remercie le personnel de l'Unité Expérimentale d'Insémination Artificielle de l'I.N.R.A. de Rouillé, et en particulier Philippe Guillouët, directeur de l'U.E.I.C.P., pour sa bonne humeur communicative, son soutien, sa disponibilité et sa confiance tout au long de ce travail expérimental, ainsi que Michèle Magistrini, pour son dynamisme, Francis Bussière, pour sa sagesse, Gérard Bertaud, pour sa rigueur, et Liliane Uson, Yohann, les deux Christian, Jany, Patrick, Yvonnick et tous les autres pour leur aide et leur accueil chaleureux... Je remercie Alain Beguey, photographe du centre I.N.R.A.- P.R.C. pour la qualité de son travail sur les photos de tractus génitaux et sa sympathie, ainsi que Francis Paulmier et le personnel de l'abattoir expérimental pour leur adresse et leur bonne volonté.

Je remercie le personnel de la société KUBUS, Carmen De Alba Romero, Alfredo Romero, Quini et Eduardo, Siso qui m'ont appris les bases nécessaires à la réalisation de cette thèse sous le soleil espagnol et Nuria, Chelo, Chesia pour leur accueil.

Je remercie Madame Mazzera du Laboratoire de Sécurité Alimentaire pour sa gentillesse et son aide.

Je remercie Marie-Odile, ancienne assistante d'Anatomo-Pathologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, pour son aide précieuse et constante.

Je remercie l'I.N.R.A. Poitou-Charentes
pour le soutien logistique apporté
à la réalisation de cette étude,
et plus particulièrement
l'Unité Expérimentale d'Insémination Caprine et Porcine
le centre P.R.C. et l'abattoir expérimental de Nouzilly.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : l'Insémination Artificielle et la production de semence porcine	
A. Historique de l'Insémination Artificielle porcine.....	2
1. Les débuts difficiles de l'I.A. porcine en France	
1.1 Les années 50-70 : les débuts timides de l'I.A. et les premiers CIA.....	2
1.2 La prédominance de la saillie naturelle sur l'I.A.....	2
1.3 Les années 70-80 : le perfectionnement de l'I.A.....	3
2. L'intégration de l'I.A. dans les élevages français.....	4
2.1 Les années 80-90 : la prédominance de l'I.A. avec prélèvement à la ferme.....	4
2.2 Les progrès apportés par le prélèvement de semence à la ferme.....	7
2.3 Les années 89-93 : le développement des CIA.....	8
3. La stagnation actuelle du marché de l'I.A. et les perspectives.....	9
3.1 Les années 93-99 : l'envahissement du marché de l'I.A. par les CIA.....	9
3.2 La nécessité actuelle de maîtrise des coûts en CIA.....	10
3.3 Les perspectives actuelles en reproduction porcine.....	12
B. Anatomie et physiologie de l'appareil génital du verrat.....	15
1. Le testicule et la spermatogenèse.....	16
1.1.L'anatomie du testicule.....	16
1.1.1. Les enveloppes et la capsule testiculaire.....	16
1.1.1.1.Les enveloppes testiculaires	
1.1.1.2.La capsule testiculaire	
1.1.2. Les structures intra-testiculaires : tubes séminifères et espaces interstitiels.....	17
1.1.2.1.Les tubes séminifères et les voies spermatiques intra-testiculaires	
1.1.2.2.Les espaces interstitiels	
1.1.3. La vascularisation et l'innervation du testicule.....	20
1.2.La fonction testiculaire : la spermatogenèse.....	21
1.2.1. L'évolution cytologique jusqu'aux spermatides.....	21
1.2.2. La spermiogenèse.....	21
1.2.3. La cinétique de la spermatogenèse.....	22
1.2.3.1.Le renouvellement des spermatogonies souches	
1.2.3.2.Le cycle spermatogénétique	
1.2.3.3.Le cycle de l'épithélium germinale	
1.2.3.4.La production journalière de spermatozoïdes	

1.3.La structure et les anomalies des spermatozoïdes.....	24
1.3.1. La structure et les fonctions des spermatozoïdes.....	24
1.3.2. Description des spermatozoïdes immatures et anormaux.....	26
1.3.3. Origine des spermatozoïdes immatures et anormaux.....	28
2. L'épididyme et la maturation et le stockage des spermatozoïdes.....	29
2.1 La structure épидидymaire.....	29
2.1.1 La structure anatomique	
2.1.2 La structure histologique.....	30
2.2 Les fonctions épидидymaires.....	31
2.2.1 La maturation, le transport et le stockage des spermatozoïdes	
2.2.2 La réabsorption d'eau, d'ions et de protéines.....	32
2.2.3 La sécrétion de substances organiques et la concentration de substances sanguines dans la lumière du tube épидидymaire.....	33
2.3 La maturation des spermatozoïdes.....	34
2.3.1 Les changements morphologiques	
2.3.2 L'acquisition de la mobilité	
2.3.3 L'apparition du pouvoir fécondant.....	35
3. Les glandes annexes et la production du plasma séminal et du tapioca.....	37
3.1 Les vésicules séminales et la prostate : la production de plasma séminal.....	37
3.1.1 Les vésicules séminales	
3.1.2 La prostate	38
3.1.3 Le plasma séminal : composition et rôle.....	39
3.2 Les autres glandes annexes et leurs sécrétions.....	39
3.2.1 Les glandes bulbo-urétrales et la production de « tapioca »	
3.2.2 Les autres glandes et leurs sécrétions.....	40
C. Anomalies et pathologies de l'appareil génital du verrat.....	41
1. Anomalies et pathologies testiculaires.....	41
1.1. Anomalies du testicule	
1.2. Infections du testicule	
1.3. Dégénérescence testiculaire	
2. Anomalies et pathologies épидидymaires.....	43
2.1. Anomalies de l'épididyme	

2.2. Epididymite	
2.3. Spermatocoeles et granulomes spermatiques	
3. Anomalies et pathologies des enveloppes et des glandes annexes.....	44
3.1. Anomalies et lésions de la tunique vaginale	
3.2. Anomalies et pathologies des vésicules séminales	
3.3. Anomalies et pathologies de la prostate.....	45
D. Application de l'Insémination Artificielle dans l'espèce porcine.....	46
1. Description et utilisation de la semence porcine.....	46
1.1 Description et caractéristiques de la semence porcine	
1.2 Méthodes classiques de récolte de la semence en CIA.....	47
1.2.1 Principes de la collecte de semence et matériel utilisé chez le verrat	
1.2.2 Technique et rythme de collecte de la semence porcine	
1.3. Contrôle de routine de la qualité de semence et fabrication des doses d'I.A.....	49
1.3.1. Contrôle de routine de la qualité de semence	
1.3.2. Fabrication des doses d'I.A.....	50
2. Spécificités porcines de la production de semence, avantages et inconvénients.....	52
2.1 Spécificités porcines de la production de semence.....	52
2.1.1 Adaptation à l'espèce porcine	
2.1.2 Origine des verrats et introduction en CIA.....	53
2.2 Fonctionnement d'un CIA porcin.....	55
2.2.1 Organisation de la production de semence	
2.2.2 Quarantaine et renouvellement des verrats.....	56
2.2.3 Conduite et causes de réforme des verrats de CIA.....	57
3. Facteurs de variation de la qualité de semence.....	58
3.1 Facteurs intrinsèques.....	58
3.1.1 Race	
3.1.2 Age.....	60
3.1.3 Etat de santé : maladies et parasitisme.....	61
3.1.4 Malformations congénitales	
3.2 Facteurs extrinsèques.....	62
3.2.1 Rythme de collecte	
3.2.2 Conditions d'élevage et de stress.....	63

3.2.3	Saison : température et photopériode.....	65
3.2.4	Alimentation.....	68
3.3	Facteurs agissant directement sur la semence.....	69

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale sur la réforme pour qualité de semence

A.	Protocole expérimental.....	70
1.	Intérêts, principes et objectifs de l'étude.....	70
1.1.	Intérêts de l'étude.....	70
1.2.	Travail préliminaire et inspirateur de l'étude.....	71
1.3.	Principes et objectifs de l'étude.....	72
2.	Choix des animaux et collecte des données.....	73
2.1.	Nombre et choix des animaux.....	73
2.2.	Vérification du premier critère d'exclusion.....	74
2.3.	Collecte des données.....	74
3.	Principes et objectifs des techniques mises en œuvre.....	74
3.1.	Principes des tests effectués sur la semence.....	74
3.1.1.	Analyse de routine de la qualité de semence	
3.1.1.1.	Conditions de réalisation de l'analyse de routine	
3.1.1.2.	Examen macroscopique de la semence	
3.1.1.3.	Examen microscopique de la semence	
3.1.2.	Analyse approfondie de la qualité de semence.....	75
3.1.2.1.	Coloration vitale à l'éosine négrosine	
3.1.2.2.	Test de résistance en milieu hypoosmotique	
3.1.2.3.	Double coloration vitale avec deux sondes fluorescentes : CFDA et IP	
3.1.3.	Analyse de la qualité bactériologique de la semence.....	78
3.2.	Principes de l'examen clinique et échographique des organes génitaux externes.....	80
3.2.1.	Intérêts et objectifs de l'examen clinique génital	
3.2.2.	Intérêts et objectifs de l'examen échographique	
3.2.3.	Appréciation des images échographiques normales et anormales.....	81
3.3.	Principes de l'étude anatomo-histo-pathologique.....	83
B.	Matériels et méthodes.....	84

1. Analyse de la qualité de semence.....	84
1.1. Evaluation de routine de la qualité de semence.....	84
1.1.1. Evaluation des paramètres quantitatifs : volume et concentration	
1.1.2. Evaluation des paramètres qualitatifs : % de spermatozoïdes mobiles et motilité	
1.2. Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de la semence.....	85
1.2.1. Mesure du pH et de la pression osmotique de la semence pure	
1.2.2. Dénombrement de la flore totale sur un échantillon de semence pure.....	86
1.3. Evaluation de la qualité fonctionnelle de la semence.....	86
1.3.1. Vitalité des spermatozoïdes	
1.3.1.1. Coloration éosine-négrosine	
1.3.1.2. Test CFDA-IP	
1.3.2. Intégrité fonctionnelle des membranes – HOS Test.....	88
2. Examen clinique et échographique des organes génitaux externes du verrat.....	89
2.1. Examen clinique génital	
2.2. Examen échographique des organes génitaux externes du verrat	
3. Etude morphologique et histologique du tractus génital du verrat.....	90
3.1. Procédure de dissection du tractus génital du verrat.....	90
3.1.1. Préparation du matériel	
3.1.2. Abattage et récupération du tractus génital sur la carcasse.....	91
3.1.3. Latéralisation et dissection du tractus.....	93
3.1.4. Observation du tractus entier et relevés des dimensions des différents organes	
3.2. Réalisation des prélèvements et fabrication des lames d’histologie.....	94
3.2.1. Fabrication du fixateur : formaldéhyde à 10% tamponné à la neutralité	
3.2.2. Technique de prélèvement et localisation des prélèvements systématiques.....	95
3.2.3. Préparation des lames d’histologie après fixation au formol.....	96
C. Résultats et Discussion.....	97
1. Résultats obtenus sur les profils de production de semence.....	98
2. Résultats obtenus sur la semence.....	102
2.1. Résultats de l’analyse de routine de la qualité de semence.....	102
2.1.1. Résultats pour chaque verrat – comparaison au témoin	
2.1.2. Résultats globaux du lot expérimental.....	104

2.2. Résultats de l'analyse physico-chimique et microbiologique de la semence pure.....	104
2.2.1. Résultats de l'analyse physico-chimique de la semence pure	
2.2.2. Résultats de l'analyse microbiologique de la semence pure.....	105
2.3. Résultats de l'analyse approfondie de la qualité fonctionnelle de la semence.....	106
2.3.1. Résultats du test de vitalité et morphologie des spermatozoïdes (éosine)	
2.3.2. Résultats du test de fonctionnalité des membranes (HOS Test).....	107
2.3.3. Résultats du test d'intégrité des membranes (CFDA-IP).....	108
3. Résultats obtenus sur les tractus génitaux.....	112
3.1. Synthèse examens clinique, échographique et anatomopathologique.....	113
3.1.1. Résultats des verrats du lot témoin	
3.1.2. Résultats des verrats du lot expérimental.....	118
3.1.3. Comparaison des résultats des deux lots.....	123
3.2. Synthèse poids et dimensions des organes génitaux.....	124
3.2.1. Comparaison aux valeurs usuelles	
3.2.2. Relation âge – poids et dimensions des organes génitaux.....	127
3.2.3. Relation lot – poids et dimensions des organes génitaux.....	133
4. Synthèse et discussion des résultats.....	134
CONCLUSION.....	140

ANNEXES

Annexe 1 : profil de production du verroat E1

Annexe 2 : comparaison des profils de qualité de semence du verroat E1 et de son témoin

Annexe 3 : comparaison des profils de production du verroat E2 et de son témoin

Annexe 4 : comparaison des profils de qualité de semence du verroat E2 et de son témoin

Annexe 5 : comparaison des profils de production du verroat E3 et de son témoin

Annexe 6 : comparaison des profils de qualité de semence du verroat E3 et de son témoin

Annexe 7 : comparaison des profils de production du verroat E4 et de son témoin

Annexe 8 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E4 et de son témoin

Annexe 9 : comparaison des profils de production du verrat E5 et de son témoin

Annexe 10 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E5 et de son témoin

Annexe 11 : résultats de l'analyse de routine de la qualité de semence des verrats VDQS+

Annexe 12 : résultats de l'analyse approfondie de la qualité de semence des verrats VDQS+

Annexe 13 : résultats de l'analyse de routine de la qualité de semence des verrats VDQS-

Annexe 14 : résultats de l'analyse approfondie de la qualité de semence des verrats VDQS-

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

<u>Figure 1</u> : répartition géographique des élevages pratiquant le prélèvement de semence à la ferme (LE DENMAT <i>et al.</i> , 1985).....	6
<u>Figure 2</u> : évolution du nombre de doses vendues par les C.I.A. français depuis 1985 (source I.T.P.).....	10
<u>Figure 3</u> : Représentation schématique de l'appareil génital de verrat (BARONE, 2000).....	15
<u>Figure 4</u> : représentation schématique des parties génitales externes et des enveloppes testiculaires (vue ventrale) (PAVAUX C., photocopié d'enseignement. Splanchnologie des Animaux Domestiques. Fascicule II. Appareil Uro-génital).....	17
<u>Figure 5</u> : Structure interne du testicule (source INRAP).....	18
<u>Figure 6</u> : Représentation schématique des composants cellulaires de l'épithélium séminifère (FAWCET, 1974).....	19
<u>Figure 7</u> : Gamétogenèse chez les Porcins (MARTINAT-BOTTE <i>et al.</i> , 1986).....	22
<u>Figure 8</u> : Cycle de l'épithélium séminifère chez le verrat (MARTINAT-BOTTE <i>et al.</i> , 1986).....	23
<u>Figure 9</u> : Représentation schématique du spermatozoïde de verrat (MARTIN, 1993).....	24
<u>Figure 10</u> : coupe transversale schématique du complexe axonémal (THIBAUT LEVASSEUR, 2001).....	25
<u>Figure 11</u> : Positions de la gouttelette cytoplasmique des spermatozoïdes immatures (MARTIN RILLO).....	26
<u>Figure 12</u> : Anomalies de la tête des spermatozoïdes (MARTIN RILLO).....	27
<u>Figure 13</u> : Anomalies du flagelle des spermatozoïdes (MARTIN RILLO).....	27
<u>Figure 14</u> : Zonation fonctionnelle de l'épididyme du verrat (THIBAUT LEVASSEUR, 2001).....	29
<u>Figure 15</u> : Caractéristiques ultrastructurales des cellules principales de l'épididyme (THIBAUT, LEVASSEUR, 2001).....	30
<u>Figure 16</u> : Localisation des principales transformations subies par les spermatozoïdes durant le transit épидидymaire (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980).....	31
<u>Figure 17</u> : Fonctions de sécrétion et de réabsorption de l'épithélium épидидymaire (WROBEL, 1990).....	32

<u>Figure 18</u> : Concentration de la carnitine le long de l'épididyme (JEULIN <i>et al.</i> , 1987).....	34
<u>Figure 19</u> : Evolution de la trajectoire de déplacement des spermatozoïdes selon les zones épидидymaires (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980).....	35
<u>Figure 20</u> : Profil de maturation des spermatozoïdes de verrat au cours du transit épидидymaire (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980).....	36
<u>Figure 21</u> : diagramme des composants de l'éjaculat de verrat (CAMERON, 1989).....	46
<u>Figure 22</u> : effet du type génétique sur les caractéristiques qualitatives de l'éjaculat de verrat (GUILLOUET <i>et al.</i> , 99).....	60
<u>Figure 23</u> : Effet de l'âge sur le volume et la concentration de l'éjaculat (GUILLOUET <i>et al.</i> , 1999).....	61
<u>Figure 24</u> : Effet de l'intervalle entre collectes sur le nombre de spermatozoïdes produits par jour (BUSSIÈRE et BARITEAU, 1992).....	62
<u>Figure 25</u> : Variations annuelles du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat pour un groupe de verrats avec un environnement social riche (●) et un groupe avec un environnement restreint (o) (TRUDEAU et SANFORD, 1986).....	64
<u>Figure 26</u> : Motilité des spermatozoïdes de verrats témoins ou exposés à un stress thermique (WETTERMANN <i>et al.</i> , 1976).....	67
<u>Figure 27</u> : Répartition des causes de réforme dans l'effectif des verrats réformés de Gènes Diffusion en 2000 et 2001 – taux proportionnels - hors réformes en quarantaine (source Gènes Diffusion).....	70
<u>Figure 28</u> : Notes de motilité des spermatozoïdes (selon Synthèse Elevage).....	85
<u>Figure 29</u> : schéma récapitulatif des coupes échographiques effectuées sur les deux testicules de chaque verrat (vue arrière).....	90
<u>Figure 30</u> : représentation schématique d'un tractus génital de verrat étalé avec localisation des prélèvements pour histologie.....	95
<u>Figure 31</u> : relation entre l'âge des verrats et le poids des deux testicules.....	128
<u>Figure 32</u> : relation entre l'âge et le poids épидидymaire moyen.....	129
<u>Figure 33</u> : relation entre le poids des deux testicules et celui des deux épидидymes pour les dix verrats étudiés.....	130
<u>Figure 34</u> : relation entre l'âge des verrats et la taille des vésicules séminales.....	131
<u>Figure 35</u> : relation entre l'âge des verrats et la taille des glandes bulbo-urétrales.....	132

<u>Figure 36</u> : relation entre l'âge des verrats et la taille de la prostate.....	133
--	-----

TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : exemples de résultats du réseau de référence pour les années 1984 et 1985 (CHATELIER, 86).....	5
<u>Tableau 2</u> : Exemples de niveaux de performances atteints en I.A. en 1984, 1985 et 1986 (VAUDELET, 1986).....	6
<u>Tableau 3</u> : influence de la formation technique des éleveurs sur les résultats de l'I.A. (BARITEAU <i>et al.</i> , 1984).....	8
<u>Tableau 4</u> : estimation des coûts liés à la présence d'un verrot en C.I.A. (en euros) (RUTTEN <i>et al.</i> , 2000).....	11
<u>Tableau 5</u> : estimation du coût de réalisation d'une collecte et du coût de production d'une dose d'I.A. (en euros) (RUTTEN <i>et al.</i> , 2000).....	11
<u>Tableau 6</u> : caractéristiques moyennes et extrêmes de la semence porcine (MARTIN RILLO, 1996).....	47
<u>Tableau 7</u> : comparaison des éjaculats et des caractéristiques de la production de semence de différentes espèces utilisées en IA (CHAMOULAUD, 1995).....	48
<u>Tableau 8</u> : échelle de Bishop (selon MARTIN RILLO, 1994).....	49
<u>Tableau 9</u> : critères d'utilisation d'un éjaculat pour la fabrication de doses commerciales et seuils inférieurs.....	51
<u>Tableau 10</u> : Compositions et caractéristiques respectives de principaux dilueurs commerciaux d'après WABERSKY <i>et al.</i> , 94 ; PAQUIGNON, 84 et MARTINAT-BOTTE <i>et al.</i> , 86.....	52
<u>Tableau 11</u> : Effet de la race sur les caractéristiques de la semence de verrot (KENNEDY et WILKINS, 1984).....	59
<u>Tableau 12</u> : Comparaison du comportement sexuel et de l'âge à la première collecte réussie entre des verrats exposés à une photopériode naturelle ou allongée (BERGER <i>et al.</i> , 1980)..	66
<u>Tableau 13</u> : Production et pouvoir fécondant du sperme de verrats soumis à des températures ambiantes et des durées d'éclairage différentes (MAZZARI <i>et al.</i> , 1968).....	66
<u>Tableau 14</u> : tableau récapitulatif des VDQS+ (en gras) et de leurs témoins respectifs pour la semence (E1 est associé à Ts1, E2 à Ts2...).....	97
<u>Tableau 15</u> : tableau récapitulatif des VDQS+ (en gras) et des VDQS-, témoins pour les tractus, dans l'ordre chronologique d'abattage.....	98

<u>Tableau 16</u> : Résultats du test CFDA-IP avant modification du mode opératoire (en %).....	108
<u>Tableau 17</u> : Résultats du test CFDA-IP après modification du mode opératoire (en %)....	109
<u>Tableau 18</u> : Comparaison des résultats du test CFDA-IP et des comptages éosine (notés EOS)	110
<u>Tableau 19</u> : Récapitulatif des lésions observées sur les tractus génitaux des VDQS+ et VDQS-.....	112
<u>Tableau 20</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du Tt1.....	114
<u>Tableau 21</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du Tt3.....	115
<u>Tableau 22</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du Tt4.....	116
<u>Tableau 23</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du Tt5.....	117
<u>Tableau 24</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du E1.....	118
<u>Tableau 25</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du E2.....	119
<u>Tableau 26</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du E3.....	120
<u>Tableau 27</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du E4.....	120
<u>Tableau 28</u> : Résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus du E5.....	121
<u>Tableau 29</u> : Valeurs moyennes et extrêmes des poids et des dimensions des organes génitaux du verrat (BARONE, 2000 et MORNET P., TOURNUT J., TOMA B. <i>et al.</i> , 1982).....	124
<u>Tableau 30</u> : Relevés de poids et des dimensions des testicules et des épидидymes des verrats étudiés.....	125
<u>Tableau 31</u> : Relevés des dimensions des glandes annexes des verrats étudiés (les données des verrats du lot expérimental sont en gras).....	126
<u>Tableau 32</u> : Répartition des dix verrats de l'étude selon leur âge.....	127
<u>Tableau 33</u> : Répartition des dix verrats de l'étude dans trois groupes de poids testiculaire.....	127
<u>Tableau 34</u> : Répartition des dix verrats de l'étude dans trois groupes de poids épидидymaire.....	128
<u>Tableau 35</u> : Répartition des dix verrats dans trois groupes de taille de vésicules séminales.....	130

Tableau 36 : Répartition des dix verrats dans trois groupes de taille de glandes bulbo-urétrales.....131

Tableau 37 : Répartition des dix verrats dans deux groupes de taille de prostate.....132

PHOTOS

Photo 1 : apparence échographique normale du parenchyme testiculaire, au centre la zone hyperéchogène correspond au rete testis (coupe transversale).....81

Photo 2 : apparence échographique normale du tissu épидидymaire, queue de l'épididyme (coupe transversale).....82

Photos 3 et 4 : apparence échographique normale du tissu épидидymaire, tête de l'épididyme à gauche et plexus pampiniforme à droite (coupe transversale).....82

Photo 5 : réponse au test de vitalité à l'éosine-négrosine, un spermatozoïde est vivant car non coloré, l'autre est mort car coloré en rose (source : INRA, U.E.I.C.P.).....annexe 15

Photo 6 : réponse au test HOS : un spermatozoïde est « gonflé », l'autre non. (source : INRA, U.E.I.C.P.).....annexe 15

Photo 7 : la contention en cage est indispensable mais ne facilite pas toujours l'examen échographique.....89

Photo 8 : incision du scrotum et désolidarisation des testicules de la carcasse.....92

Photo 9 : prélèvement d'urine post-mortem.....92

Photo 10 : tractus du Tt2 (aucune lésion).....113

Photo 11 : tractus du Tt1 (atrophie vésicule séminale).....114

Photo 12 : visualisation d'une vésicule kystique à l'échographie.....114

Photo 13 : tractus du Tt3 (aucune lésion).....115

Photo 14 : tractus du Tt4 (zone fibrosée et nœud lymphatique hypertrophié).....116

Photo 15 : tractus du Tt5 (atrophie testicule gauche).....117

Photo 16 : tractus du E1 (kyste épидидymaire et nœuds lymphatiques hypertrophiés).....118

Photo 17 : visualisation des adhérences fibreuses à l'ouverture de la capsule du testicule droit du vertrat E2.....118

Photo 18 : tractus du E4 (nœud lymphatique testiculaire hypertrophié à droite).....121

<u>Photo 19</u> : kyste congénital situé dans la tête de l'épididyme.....	122
<u>Photo 20</u> : visualisation du kyste à l'échographie.....	122
<u>Photo 21</u> : tâches jaunes indurées sur un plexus pampiniforme du verrat E5.....	123

INTRODUCTION

L'Insémination Artificielle (I.A.) est une technique de fécondation sans accouplement naturel qui s'est développée dans l'espèce porcine plus tardivement que dans l'espèce bovine et qui n'a vraiment pénétré dans les élevages de porcs français qu'à la fin des années 80. L'I.A. est devenue depuis un mode de reproduction à part entière, utilisé dans plus de 80% des élevages à partir de doses fabriquées en Centre d'Insémination Artificielle (CIA), avec des conséquences diverses sur la production porcine française. En effet, l'I.A. a contribué à accélérer le progrès génétique avec la sélection par la voie mâle et est devenue un outil indispensable à l'amélioration génétique porcine. Elle a aussi bouleversé la conduite de la reproduction et a modifié la place du verrat dans cette conduite. Ainsi, le verrat de CIA, issu d'un schéma génétique et provenant d'un élevage de sélection, produit par semaine de la semence destinée à féconder 15 à 20 truies (en pratiquant la double insémination) soit 1000 truies par an et trois à quatre fois plus qu'en saillie naturelle. On comprend donc qu'un problème de reproduction sur un verrat peut affecter les résultats de fertilité et de prolificité d'un grand nombre de truies.

La qualité de la semence produite par les verrats de CIA constitue un souci permanent pour le personnel du centre, tant du point de vue de la sécurité sanitaire, la semence étant un vecteur potentiel d'agents infectieux, que du point de vue des performances de reproduction des truies inséminées. Aussi la semence fait-elle l'objet de contrôles de routine systématiques en CIA et de tests plus approfondis dans le cadre des recherches menées sur la semence et les technologies de la semence telles que la congélation. La régularité des contrôles de qualité sur la semence en CIA ainsi que les exigences face aux conséquences négatives de la diffusion de semence de mauvaise qualité expliquent en partie pourquoi la qualité de semence constitue la principale cause de réforme des verrats de CIA.

La réforme pour qualité de semence n'a pourtant pas fait l'objet de nombreux travaux jusqu'à maintenant, sans doute à cause du contexte économique très faste de la production de semence porcine dans les années 90. Cependant la situation actuelle de progression très limitée du nombre de doses d'I.A. vendues et le climat de concurrence entre les CIA rendent nécessaire l'examen minutieux de la conduite du CIA, depuis l'introduction des verrats jusqu'à leur réforme, afin d'optimiser la productivité des verrats et du centre et d'améliorer la qualité des doses d'I.A. Aussi cette thèse s'inscrit-elle dans ce contexte particulier de maîtrise des coûts en CIA, avec pour objectifs d'approfondir la baisse de qualité de semence à l'origine de la réforme de nombreux verrats dans différents CIA (35% des réformes chez Gènes Diffusion) et de préciser des hypothèses explicatives sur ce phénomène, et avec comme perspectives à long terme de maîtriser ce phénomène.

La première partie de cette thèse consiste à regrouper les connaissances nécessaires à la réalisation de l'étude expérimentale, connaissances sur l'anatomie de l'appareil reproducteur du verrat et les pathologies décrites chez le verrat ainsi que sur la physiologie et l'organisation de la production de semence dans l'espèce porcine. La seconde partie consiste en l'expérimentation proprement dite, basée sur la comparaison d'un lot de cinq verrats réformés pour baisse de qualité de semence avec un lot témoin de dix verrats produisant de la semence de bonne qualité, la comparaison étant réalisée sur les profils de carrière, les caractéristiques de la semence et la description post-mortem de l'appareil reproducteur.

Première partie : étude bibliographique sur l'Insémination Artificielle porcine

A. Historique de l'Insémination Artificielle porcine

Le développement de l'I.A. en France s'est fait par étapes depuis les années'50 ; les procédés, les intervenants et surtout les résultats n'ont cessé d'être en constante évolution. Malgré une technique fiable et des résultats satisfaisants, l'I.A. porcine a peu évolué jusqu'à 1988 et c'est seulement à partir de 1989 que l'on a assisté à une forte progression de l'I.A. à partir de semences produites en Centre d'Insémination Artificielle (C.I.A.). Outre les techniques performantes, les avantages sanitaires, génétiques et économiques ont contribué à l'intégration de l'I.A. comme mode de reproduction en élevage porcin, en parallèle avec les profondes modifications des structures d'élevage. L'I.A. a fini par convaincre la majorité des éleveurs et par faire partie intégrante de la production porcine. Mais quel est l'avenir de l'I.A. et des C.I.A. porcins face à la situation du marché français de l'I.A. et face à l'émergence de nouvelles techniques de reproduction dans l'espèce porcine?

1. Les débuts difficiles de l'I.A. porcine en France

1.1. Les années 50-70 : les débuts timides de l'I.A., les premiers CIA

On doit la première application de l'I.A. sur l'espèce porcine à MILANOV en Russie en 1932 et les premiers travaux français, réalisés à l'Ecole Nationale de Rambouillet, datent des années'40. Cependant ce n'est qu'en 1955 que l'I.A. apparaît en France comme une alternative à la saillie naturelle pour la reproduction des porcs avec les travaux de DU MESNIL DU BUISSON et les chercheurs de la Station de Recherche de Physiologie Animale de l'I.N.R.A. de Jouy en Josas. En 1957 la création du premier Centre d'Insémination Artificielle porcin de France à Loudéac dans les Côtes d'Armor est la traduction concrète de cette idée nouvelle, suivie de l'ouverture en 1966 de la Station Expérimentale d'Insémination Artificielle de l'I.N.R.A. de Rouillé (86).

Cependant, pendant vingt ans, l'I.A. reste une technique marginale, aux résultats aléatoires du fait du manque de données scientifiques et des difficultés techniques de mise en œuvre et de maîtrise technique et peut être aussi à cause de la réticence des groupements et des fermes qui voulaient maintenir leurs ventes de reproducteurs. Elle est réservée à de rares élevages pour introduire des lignées pures dans les schémas de sélection. La semence est exclusivement produite en C.I.A. et mise en place par des inséminateurs spécialisés « porc » ou par des inséminateurs « mixtes » intervenant à la fois en élevage porcin et bovin (qui travaillent pour des coopératives d'insémination bovine ayant reçu en 1962 l'autorisation d'exercer dans l'espèce porcine).

1.2. La prédominance de la saillie naturelle sur l'I.A.

La saillie naturelle est, jusque dans les années'70, le mode de reproduction privilégié en élevage porcin, du fait de la petite taille des élevages et de l'absence de synchronisation des chaleurs des truies. A cette époque, l'élevage-type possède une à deux dizaines de truies, ce qui nécessite la présence d'un ou deux verrats, dont l'utilisation est étalée dans le temps du fait de l'absence de groupage des chaleurs. On évite ainsi les contraintes de la saillie naturelle, contraintes physiologiques et matérielles, qui surgiront avec l'augmentation de la taille des élevages, la synchronisation des cycles des truies et la mise en place de la conduite en bandes.

Les contraintes physiologiques de la saillie naturelle sont liées aux limites naturelles d'utilisation des verrats ; ainsi la conduite en bandes et surtout la conduite à trois semaines (deux semaines de reproduction) impose ponctuellement aux verrats des rythmes de saillie élevés (pendant les semaines de saillie) qui entraînent une baisse du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat avec des répercussions sur la fertilité des truies, et ce avant même que l'ardeur sexuelle des verrats ne soit visiblement affectée. De plus la surutilisation d'un verroat peut provoquer assez rapidement un refus de monte et donc une absence de saillie sur une ou plusieurs truies en chaleurs (98), ce qui entraîne une perte de temps et d'argent pour l'éleveur (un cycle non productif pour chaque truie non saillie). Ainsi le ratio verroat/truie préconisé dans le Mémento de l'éleveur de porc 2000 est de l'ordre de un verroat adulte pour trois truies à saillir, soit un verroat adulte pour 15 à 20 truies présentes. L'utilisation de verrats en saillie naturelle dans un élevage comptant plusieurs dizaines de truies doit s'accompagner d'une gestion adroite des verrats présents afin de pouvoir pallier aux imprévus liés aux animaux (boiteries, verroat trop petit pour saillir des multipares ou trop gros pour les cochettes...) et surtout afin de pouvoir respecter le planning de saillies.

Les contraintes liées à la saillie naturelle dans un élevage de plusieurs dizaines de truies sont aussi matérielles puisque liées au temps et à l'aspect fastidieux du travail avec les déplacements d'animaux (les truies étant saillies soit dans la case du verroat soit dans un ring de saillie) et la surveillance des saillies (le temps nécessaire à une saillie correctement accomplie étant de 15 minutes environ). Ainsi, FLOWERS a montré en 1992 que l'I.A. est un facteur de gain de temps dès qu'il y a plus d'une truie à saillir et que ce gain de temps relatif est d'autant plus important qu'il y a de truies à inséminer (43). Enfin il faut considérer le coût lié à la présence d'un ou plusieurs verrats (à savoir le coût du renouvellement, le coût du logement, le coût alimentaire et les charges opérationnelles dont les frais vétérinaires) et la place nécessaire aux verrats qui est autant de place non disponible pour les truies.

Face à ces contraintes qui limitent le développement des élevages, certains éleveurs visionnaires trouvent dans l'I.A. un moyen d'échapper aux contraintes physiologiques imposées par la saillie naturelle et surtout un moyen de rationaliser la conduite de la reproduction en parallèle à l'intensification de leur système de production. Cependant la présence d'un verroat dans un élevage pratiquant l'I.A. demeure nécessaire pour la détection correcte des chaleurs et le recours à la saillie naturelle peut se révéler utile dans le cas des retours en chaleurs décalés ou des retours en chaleurs très rapides après le sevrage, ou encore pour les cochettes logées en cases de 5 ou 6 et pour lesquelles la détection des chaleurs n'est pas évidente (les chaleurs étant plus courtes et plus frustes chez les nullipares que chez les multipares).

1.3. Les années 70-80 : le perfectionnement de l'I.A.

Les années'70 voient un développement de l'I.A. en réponse à la demande des éleveurs qui y voient un remède possible à certains problèmes de reproduction (77). De plus, elle s'inscrit naturellement dans le cadre de la conduite en bandes comme un outil de rationalisation du travail et accompagne l'augmentation de la taille des élevages.

Ainsi, entre 1972 et 1975, les stations de production de semence développent des services d'expédition de semence aux éleveurs qui inséminent eux-mêmes leurs truies, ce qui leur apporte des avantages à la fois économique (réduction des coûts liés aux verrats), sanitaire (danger lors d'introduction de reproducteurs et risque de contamination lors de la saillie naturelle) et pratique (insémination au moment idéal) (79). Ainsi les éleveurs ne sont plus

simples utilisateurs de l'I.A. mais deviennent des acteurs en prenant le rôle des inséminateurs. Ils contribuent ainsi à l'amélioration des résultats en appliquant la technique dans les meilleures conditions possibles (double insémination et au moment idéal par rapport aux chaleurs).

Cependant, les éleveurs ne sont pas tous convaincus de la fiabilité des services proposés par les C.I.A. et certains trouvent le moyen de pratiquer l'I.A. sans dépendre d'un C.I.A., notamment avec le suivi d'entreprises privées comme Synthèse Elevage : ils commencent à prélever eux-mêmes la semence des verrats présents sur l'exploitation, ce qui leur permet aussi de diminuer le nombre de verrats ainsi que les risques sanitaires. Mais avant 1980, du fait de l'absence d'enregistrement de données sur cette pratique, on peut seulement estimer le nombre d'éleveurs ayant eu recours au prélèvement à la ferme à une centaine.

2. L'intégration de l'I.A. dans les élevages français

2.1. Les années 80-90 : la prédominance de l'I.A. avec prélèvement à la ferme

Au cours des années'80, la généralisation de la conduite en bandes favorise l'extension de l'I.A. aux gros élevages dans les régions de production intensive. Ainsi en 1983, 41% des utilisateurs de l'I.A. se trouvent en Bretagne, surtout dans le Finistère et le Morbihan. C'est aussi pourquoi cette période est marquée par le recul très net des inséminateurs spécialisés « porc » (de 80.000 inséminations réalisées par eux en 1983 à 15.000 en 1986 alors que le nombre d'I.A. en France ne cesse d'augmenter), recul dû à la disparition des petits élevages et à l'acquisition de la technicité nécessaire par les plus « gros » éleveurs (78).

En 1981 l'Institut Technique du Porc crée un observatoire de l'I.A. en France constitué par un réseau d'enregistrement des résultats de reproduction d'abord sur 10 élevages puis sur 15 pratiquant l'I.A. (78)(125). Les résultats sont publiés chaque année et le nombre d'élevages référencés augmente d'année en année.

L'I.T.P. montre ainsi que ce sont surtout les gros élevages qui pratiquent l'I.A. (la moitié ont plus de 100 truies), mais pas de façon systématique puisque 50% le pratiquent sur plus de $\frac{3}{4}$ de leur cheptel et 33% sur moins de la moitié de leur cheptel (78). La publication annuelle par l'I.T.P. des résultats du réseau de référence contribue beaucoup à changer les idées reçues sur la mauvaise réussite de l'I.A. dans l'espèce porcine puisque, dès 1985, l'I.A. présente des résultats proches ou supérieurs aux moyennes nationales concernant la fertilité et la prolificité (tableau 1) (21). La variabilité importante des résultats selon les élevages et les années (21)(78) montre que la réussite de l'I.A. dépend du degré de maîtrise de la technique par l'éleveur. Elle laisse surtout une grande marge d'amélioration, d'autant plus que les études ont pu chaque année préciser les facteurs de maîtrise, d'échec et d'amélioration de la technique (les effets saison / rang de portée et l'importance des conditions de récolte et de conservation de la semence).

Tableau 1 : Exemples de résultats du réseau de référence pour les années 1984 et 1985

(CHATELIER,1986)

N° ELEVAGE	% DE FECONDITE (toutes portées)		PROLIFICITE (toutes portées)		I.A. REALISEES	
	1984	1985	1984	1985	1984	1985
1	83,23	89,16	11,38	11,71	2 147	2 685
2	88,30	82,25	11,90	12,01	180 (51)	338 (112)
3	78,14	73,66	12,57	11,49	151 (8)	245 (50)
4	85,95	77,66	11,91	11,13	242 (32)	278 (62)
5		63,48		11,03		304 (76)
6		71,94		10,10		619
7		77,77		11,00		100 (34)
8	79,95	89,04	10,90	11,31	409 (81)	354 (75)
9	74,93	79,38	11,34	11,02	6 416	6 140
11		69,48		11,12		1842
12	63,09	60,94	10,83	10,61	84	194 (44)
13	58,96	73,13	10,09	10,54	446	898 (324)
14	75,10	83,54	10,42	11,62	165 (21)	333
15	81,67	87,69	12,32	12,10	382	845
TOTAL					10 622(193)	15 175 (777)
MOYENNE PONDEREE	76,81	79,20	11,35	11,19		
MOYENNE ARITHMETIQUE	76,93	77,08	11,36	11,20		
ECART-TYPE	9,45	8,74	0,81	0,56		
COEFFICIENT DE VARIATION	12,30	11,03	7,1	5,00		

Cependant la technique diffuse essentiellement d'éleveur convaincu en éleveur à convaincre puisque, pour tous les éleveurs enquêtés, l'idée de pratiquer l'I.A. est venue d'une discussion avec un autre éleveur et dans un quart de cas l'apprentissage de la technique s'est fait avec l'aide d'un éleveur pratiquant déjà l'I.A. (78). Aussi l'I.T.P. a-t-il conclu sur le besoin d'informations techniques exprimé par les éleveurs, auquel les organisations professionnelles doivent répondre en organisant des réunions et en publiant des fiches techniques pratiques (74). Ainsi à partir de cette date, l'I.A. est-elle beaucoup plus encadrée techniquement sous l'influence de l'I.T.P. et des E.D.E. mais aussi via des initiatives privées comme Synthèse Elevage créée par le Docteur LE COZ et qui encadre des éleveurs pratiquant le prélèvement à la ferme. Elle n'est désormais plus considérée comme une technique de reproduction marginale aux résultats obscurs mais comme une pratique accessible à tous et présentant de nombreux avantages. Au cours des années suivantes, les résultats s'améliorent et montrent une moindre variabilité (tableau 2), cela grâce aux progrès réalisés par les éleveurs dans la maîtrise de la technique et des facteurs de variation et grâce à la codification des règles d'utilisation de l'I.A.

Tableau 2 : Exemples de niveaux de performances atteints en I.A. en 1984, 1985 et 1986 (VAUDELET, 1986)

	% de mise bas					
	1984		1985		1986	
	Toutes portées	Primi-pares	Toutes portées	Primi-pares	Toutes portées	Primi-pares
Moyenne pondérée . . .	76,81	83,93	79,20	68,31	81,60	75,10
Ecart-type	9,45	9,26	8,74	14,57	9,94	11,00

En 1983 le nombre d'éleveurs à pratiquer le prélèvement à la ferme est de 550, en 1984 100.000 à 120.000 doses sont élaborées à la ferme par 600 éleveurs (77), en 1985 on estime le nombre de doses produites à la ferme à 150.000 et en 1986 à 250.000 (125). La répartition des élevages pratiquant le prélèvement de semence à la ferme en 1983 (figure 1) montre que les élevages bretons sont les plus nombreux puisqu'ils représentent 41% des élevages pratiquant cette technique, et ce sans doute grâce à la concentration des structures encadrant les élevages, qui assurent un suivi continu et sont à la pointe des nouvelles techniques.

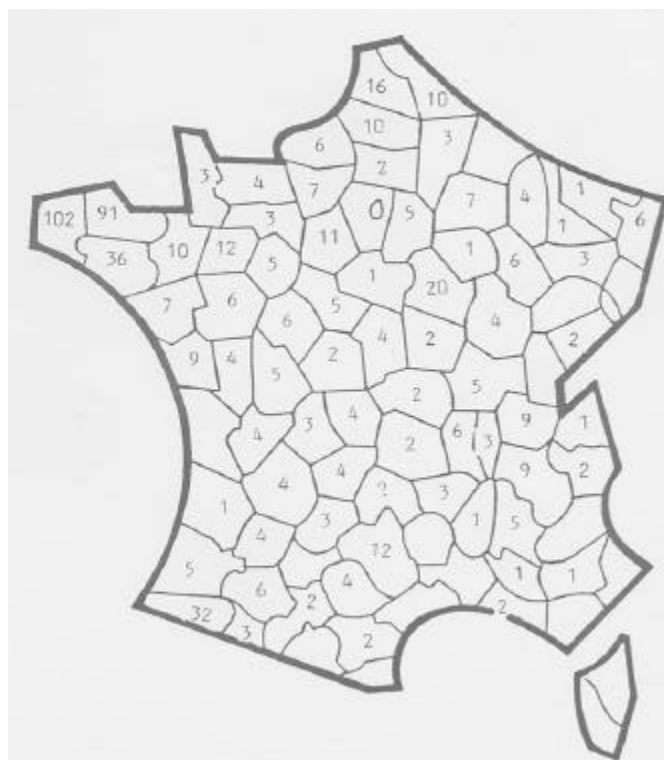


Figure 1 : répartition géographique des élevages pratiquant le prélèvement de semence à la ferme (LE DENMAT *et al.*, 1985)

Le recul des C.I.A. entre 1980 et 1989 ne signifie pas qu'ils ne s'améliorent pas eux aussi, que ce soit pour la conservation de la semence ou pour le transport des doses. Ils vont bientôt bénéficier de la démocratisation de l'I.A. dans les élevages via le prélèvement à la ferme ainsi

que de l'augmentation de la taille des élevages qui entraîne des problèmes d'organisation du travail. Enfin l'autorisation de détenir des verrats croisés et de commercialiser leur semence donné par l'arrêté du 23 Mai 1985 constitue le dernier coup de pouce pour le développement massif de l'activité des C.I.A. qui peuvent dès lors se jeter à la conquête du marché de l'I.A.

2.2. Les progrès apportés par le prélèvement de semence à la ferme

Les avantages de l'I.A. avec prélèvement de semence à la ferme par rapport à la saillie naturelle sont d'ordre pratique, zootechnique et sanitaire. Il faut d'abord souligner qu'un éleveur pratiquant le prélèvement à la ferme conserve la même autonomie et l'indépendance en matière de reproduction qu'avec la saillie naturelle ; l'élevage fonctionne alors en vase clos au niveau de la reproduction, ce qui est idéal du point de vue sanitaire mais pas forcément du point de vue génétique.

Du point de vue pratique, le recours au prélèvement à la ferme permet de diminuer nettement le nombre de verrats nécessaires à la conduite de la reproduction dans un élevage puisqu'au lieu d'un verrot pour saillir 2 à 3 truies, il ne faut plus qu'un verrot pour inséminer 5 à 8 truies. Cette diminution du nombre de verrats permet de réaliser des économies non négligeables en matière d'achat des verrats, de coût de logement et de coût alimentaire. De plus même si le prélèvement à la ferme constitue un travail supplémentaire, le temps global de travail est moindre puisque l'I.A. est plus rapide que la saillie et le prélèvement d'un verrot permet d'inséminer deux fois plus de truies par rapport à la saillie.

L'avantage zootechnique majeur du prélèvement à la ferme est de permettre le contrôle de la qualité de semence (impossible en saillie naturelle), la détection et le suivi des verrats subfertiles et la non-utilisation d'éjaculats présentant des anomalies spermatiques majeures dans des proportions importantes. Ainsi, après un temps d'apprentissage des techniques de prélèvement de semence à la ferme et d'I.A. par les éleveurs, l'I.A. avec prélèvement à la ferme obtient depuis 1990 des résultats supérieurs à la saillie naturelle en matière de fertilité et de prolificité.

Les avantages sanitaires du prélèvement de semence à la ferme sont liés à la diminution du nombre de verrats dans les élevages, ce qui réduit d'autant le risque d'introduction de maladies contagieuses telles que la maladie d'Aujesky ou la Brucellose à l'introduction des reproducteurs. De plus la suppression des contacts rapprochés entre le verrot et les truies, l'utilisation de matériel à usage unique pour l'I.A. et le nettoyage désinfection des vulves des truies avant l'I.A. permettent de limiter la diffusion au sein de l'élevage de pathologies existantes par rapport à la saillie naturelle avec laquelle le verrot passant d'une truie à une autre constitue un vecteur idéal de germes responsables entre autres de vaginites et de métrites, qui peuvent affecter négativement les résultats de reproduction de l'élevage si beaucoup de truies sont concernées.

Fac à ces nombreux avantages, l'I.A. avec prélèvement à la ferme présente aussi quelques inconvénients par rapport à la saillie naturelle, tels que l'investissement obligatoire en matière de locaux, de matériel et de compétences. Ainsi cette technique nécessite la mise en place d'un local faisant office de laboratoire et équipé d'un microscope, d'un bain-marie et de petit matériel de laboratoire, ainsi que l'achat ou la fabrication d'un mannequin pour faire sauter les verrats, ce qui constituait un investissement total de 25 000 francs il y a 10 ans, d'après les calculs de SALAUN (111). Il a montré, entre autres, que cet investissement nécessaire rend le prélèvement à la ferme plus coûteux que la saillie naturelle pour les élevages de moins de 70

trues. De plus l'acquisition de compétences en matière de prélèvement de semence à la ferme et d'I.A. constitue aussi un investissement lié soit à la formation de l'éleveur ou d'un salarié, soit à l'embauche d'un salarié compétent en la matière. Cet investissement est cependant nécessaire à l'obtention de résultats corrects de fertilité (tableau 3)(6).

Tableau 3 : influence de la formation technique des éleveurs sur les résultats de l'I.A. (BARITEAU *et al.*, 1984)

Fertilité	Formation des éleveurs	
	Formés à la S.E.I.A.	Autres éleveurs
Nb de femelles inséminées	6 219	1 176
Mise bas (%)	75,8	61,9
Prolificité	10,4	10,0

Enfin, même si l'I.A. avec prélèvement de semence à la ferme apporte des plus par rapport à la saillie naturelle, elle n'est pas parfaite puisque le contrôle de la qualité de semence est limité à l'appréciation de la motilité des spermatozoïdes sans évaluation précise des anomalies spermatiques et sans contrôle de la qualité microbiologique. Beaucoup ont considéré cette technique comme une transition en douceur de la saillie naturelle à l'I.A. avec des doses achetées en C.I.A., transition nécessaire pour convaincre les éleveurs de l'intérêt et de l'avenir de l'I.A. et des C.I.A. comme vecteurs de diffusion du progrès génétique dans les élevages de production grâce à la présence dans les C.I.A. de reproducteurs issus de schémas privés de sélection, ce que ne permet pas le prélèvement à la ferme (52).

2.3. Les années 89-93 : l'explosion des C.I.A.

En 1989, un mouvement net de recours aux C.I.A. dans les pratiques de reproduction s'amorce en France. Plusieurs phénomènes y contribuent :

- l'I.A. a fait ses preuves auprès des éleveurs puisque dès 1984 elle a obtenu les mêmes résultats que la saillie naturelle en taux de mise-bas.
- les éleveurs ont appris à maîtriser la technique de l'I.A. qui constitue un outil de rationalisation du travail dans le cadre de la généralisation de la conduite en bandes et de l'intensification des systèmes de production.
- les C.I.A. ont privilégié la qualité concernant le choix des verrats, le contrôle de qualité de semence, la livraison des doses et l'analyse des résultats en élevages : ainsi l'achat de doses aux C.I.A. est dès lors considéré comme plus fiable et plus pratique que la saillie naturelle et le prélèvement à la ferme (52).
- et enfin le principal, l'autorisation de diffuser de la semence de verrot hybrides est obtenue en 1989 par les C.I.A. et donne le dernier coup de pouce nécessaire à la pénétration de l'I.A. dans les élevages en tant que moyen de diffusion du progrès génétique à tous les élevages.

Ainsi en 1989 les C.I.A. voient leur activité augmenter de 65% par rapport à 1988, celle-ci va suivre ensuite une courbe de croissance exponentielle. Entre 1989 et 1990, le nombre de doses simples envoyées aux éleveurs est plus que doublé. En 1991 la progression du nombre de doses simples vendues est tout de même de 69% malgré des accidents sanitaires (Aujesky), elle se maintient à 60% en 1992.

Dès lors Cobiporc et Gènes Diffusion, les deux C.I.A. les plus importants en France, se disputent le marché de l'I.A. porcine qu'ils l'occupent à 87% en 1991. Ainsi en France coexistent trois systèmes de reproduction, la saillie naturelle étant généralement restreinte aux cochettes et aux truies en retour décalé, l'I.A. étant elle majoritaire avec utilisation soit de doses achetées en C.I.A., soit de doses fabriquées à la ferme.

Il faut souligner que la démocratisation de l'I.A. en France est surtout le résultat des efforts de communication réalisés par l'I.T.P. sur la technique d'I.A. et sur ses avantages, conjugués aux efforts des C.I.A. et de tous les organismes d'encadrement des élevages avec l'organisation de stages de formation technique et de journées d'information sur l'I.A.. Ainsi Cobiporc fut créé en 1985 à l'initiative des groupements de producteurs, de l'union des groupements, de l'I.T.P., des E.D.E. bretons et de la Chambre Régionale d'Agriculture, qui l'ont soutenu à ses débuts.

3. La situation actuelle du marché de l'I.A. et les perspectives

3.1. Les années 93-99 : l'envahissement du marché de l'I.A. par les C.I.A.

A partir de 1992, la croissance des ventes de doses d'I.A. par les C.I.A. diminue : supérieure à 60% de 1989 à 1992, elle n'est plus que de 28 % en 1993. Cependant il faut tout de même considérer que la moitié des truies en France sont inséminées avec des doses de C.I.A. en 1994 et deux tiers en 1996. La progression des C.I.A. et la concurrence extrême qu'ils se livrent sur la qualité des produits et des services proposés aux éleveurs se traduit par :

- le recul de l'I.A. à la ferme : les nombreuses études de comparaison des coûts en saillie naturelle ou I.A. avec prélèvement de semence à la ferme ou avec achat de doses de C.I.A. réalisées par l'I.T.P. au début des années 90 ont montré qu'il est plus rentable et plus pratique d'avoir recours aux C.I.A. surtout dans le cadre de l'augmentation de la taille des élevages. Ainsi, en 1995, seulement 25% des truies sont inséminées avec des doses fabriquées à la ferme (53) (98) (113).
- l'ouverture de nouvelles stations par les deux leaders du marché de l'I.A., ainsi que des laboratoires de recherche sur les biotechnologies avec pour buts l'amélioration des dilueurs de semence ou la recherche de techniques innovantes comme le « blister » par exemple.
- l'orientation vers l'assurance qualité avec obtention de la certification ISO 9002 par certains C.I.A.
- le développement international qui pourrait être une alternative face à la saturation du marché français. Gènes Diffusion a des filiales en Belgique, Espagne, aux Pays-Bas, en Grande-Bretagne et, bien sûr, aux Etats-Unis où le marché à conquérir est encore très vaste.

Cependant, l'inflexion de la courbe de croissance vers un plateau se profile, comme le montre la figure 2. Ainsi le bilan 1997 constate une croissance de 20% et le bilan 1998 de 8% seulement. L'I.A. s'est donc infiltrée partout où elle le pouvait grâce aux efforts des C.I.A. pour augmenter la rentabilité de l'achat des doses et pour améliorer et étendre les services proposés à leurs clients (suivi technique et conseil en élevage, formations, diagnostics de gestation échographie...).

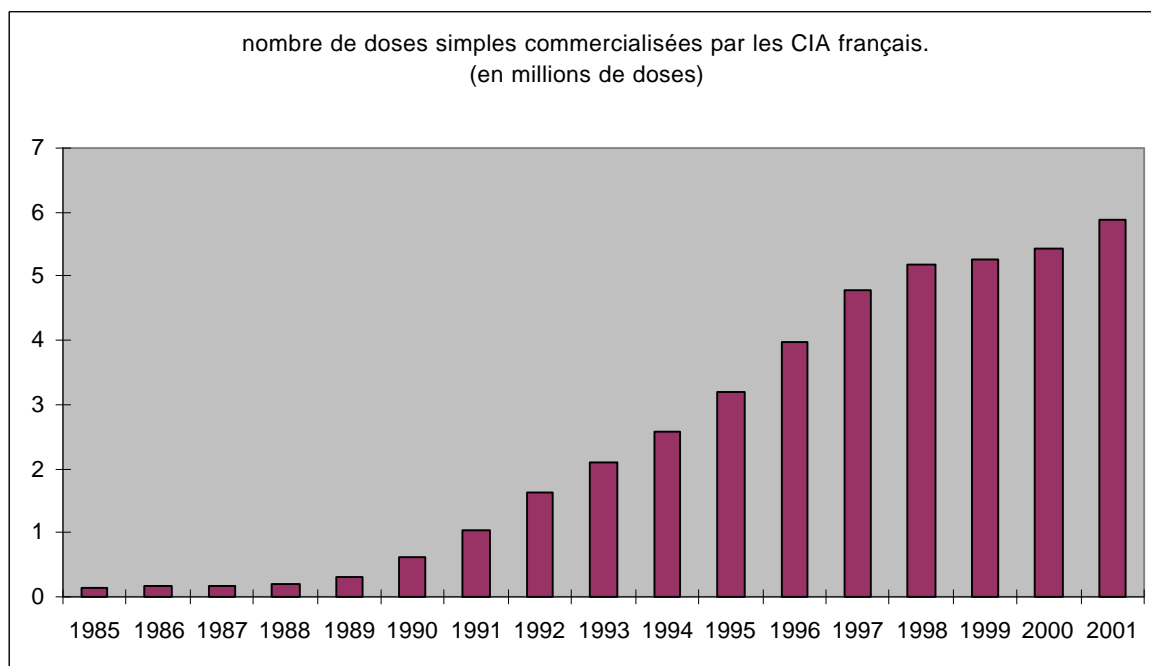


Figure 2 : évolution du nombre de doses vendues par les C.I.A. français depuis 1985 (source I.T.P.)

En 2001, l'I.A. représente 80% des truies inséminées dont 55 à 60% par achat de semence à un C.I.A (47). Le taux de pénétration plafond est atteint ; le marché de l'I.A. porcine en France a presque atteint le niveau de saturation de la production porcine française. L'heure n'est plus à l'expansion mais à la maîtrise des coûts de production des C.I.A. grâce à l'optimisation des méthodes de production et au développement de nouvelles technologies de la semence.

3.2. La nécessité actuelle de maîtrise des coûts en C.I.A.

La réduction des coûts de production des doses d'I.A. est devenue essentielle du point de vue des CIA face à la situation actuelle de concurrence entre les entreprises spécialisées en I.A. porcine. Un facteur limitant de la rentabilité en C.I.A. est le nombre de doses produites par verrat et par an qui est, outre les contraintes imposées par la physiologie de la production de semence, directement lié à la conduite du centre, et plus particulièrement à l'entraînement des jeunes verrats, aux techniques de collecte, de contrôle et de conditionnement de la semence, aux rythmes de collecte et enfin à la conduite du renouvellement des verrats. Une étude américaine récente (110) a calculé les coûts fixes liés à la présence d'un verrat dans un C.I.A., ainsi que les coûts liés à la réalisation d'une collecte et à la fabrication d'une dose. Les coûts fixes par verrat ne comprennent pas l'achat du verrat car, depuis 1995, les centres de

production de semence ne sont plus propriétaires des verrats, qui restent la propriété des O.S.P. Ainsi les coûts fixes sont proportionnels à la durée de carrière du verroat.

Tableau 4 : estimation des coûts liés à la présence d'un verroat en C.I.A. (en euros) (RUTTEN *et al.*, 2000)

		par semaine	par mois	par an
coûts fixes par verroat		10,89	43,56	522,72
	équipements	6,93	27,72	332,64
	aliment	3,3	13,2	158,4
	services	0,22	0,88	10,56
	frais vétérinaires	0,44	1,76	21,12

Tableau 5 : estimation du coût de réalisation d'une collecte et du coût de production d'une dose d'I.A. (en euros) (RUTTEN *et al.*, 2000)

coût par collecte		12,98
	main d'œuvre	6,93
	fournitures labo	6,05
coût par dose		0,63
	dilueur	0,22
	équipements	0,22
	main d'œuvre	0,19

A partir de ces données, on peut calculer, sur la base d'une collecte par semaine, de 30 doses produites par collectes (13) (30) et d'un prix moyen de la dose de 6.1 euros en 2002 (pour un verroat croisé de l'U.E.I.C.P.):

- **le coût par verroat et par semaine**
 = coûts fixes par verroat et par semaine + nombre de collectes par semaine*coût par collecte + nombre de doses vendues par verroat et par semaine*prix de la dose
 = 10.89 + 1*12.98 + 30*0.63 = **42.77 euros**
- **le revenu lié à la vente des doses produites par verroat et par semaine**
 = 30*6.1= **183 euros**
- **le bénéfice lié à la vente des doses produites par verroat et par semaine**
 = revenu lié à la vente des doses - coût par verroat et par semaine
 = 183 – 42.77 = **140.23 euros** par verroat et par semaine

On considère que la durée de « carrière » d'un verroat de C.I.A. est de 16 mois (en sachant que les verrats sont utilisés à partir de 8 mois d'âge et réformés en moyenne à l'âge de 2 ans) soit 1.3 an de service. On peut donc calculer :

- **le coût de carrière d'un verroat :**

= coût par verrat et par semaine * nombre de semaines par an * nombre d'années de service du verrat
= $42.77 * 52 * 1.3 = 2891.25$ euros

- **le revenu lié à la vente des doses produites par un verrat pendant sa carrière**
= $183 * 52 * 1.3 = 12370.8$ euros
- **le bénéfice lié à la vente des doses produites par un verrat pendant sa carrière**
= $140.23 * 52 * 1.3 = 9479.55$ euros

Cette étude des coûts en C.I.A. montre que la maîtrise des coûts passe par :

- l'optimisation de la production de semence (ne pas altérer de la semence lors de la collecte et assurer un rythme régulier de collecte pour maintenir des caractéristiques séminales quantitatives et qualitatives maximales...),
- l'amélioration de la production des doses (produire plus de doses à partir d'un même éjaculat),
- la maîtrise de la durée de carrière des verrats (éviter les réformes anticipées et assurer la longévité des verrats).

Une perspective pour augmenter la rentabilité de la production de semence pourrait être la diminution du nombre de spermatozoïdes par dose grâce à l'amélioration du contrôle de la qualité de la semence et de la prédiction de la fertilité, comme le dit Xavier DRUART, ingénieur à l'Union Nationale des Coopératives d'Élevages et d'Insémination Artificielle (U.N.C.E.I.A.) en 2002 (47). Cette réduction pourrait être réalisée grâce à une nouvelle méthode d'I.A., l'I.A. profonde ou intra-utérine décrite par VASQUEZ *et al.* en 1999, qui consiste à déposer la semence diluée dans l'utérus après passage du col grâce à des sondes spécialement conçues à cet effet, ce qui permet de mettre moins de spermatozoïdes dans la dose.

Ainsi, les avancées technologiques qui permettront d'augmenter la durée de conservation, d'améliorer le contrôle de la qualité de la semence avec des critères mieux corrélés à la fertilité, de réduire le nombre de spermatozoïdes par dose ou bien le volume des doses contribueront à la maîtrise des coûts de production de la semence en production porcine. D'ailleurs selon Jean-Luc Guérin, directeur de la Pig International Corporation (P.I.C.), « une nouvelle technique n'est porteuse d'avenir que si elle permet de diminuer les coûts sans remettre en cause les résultats techniques des éleveurs » (47).

3.3. Les perspectives actuelles d'amélioration de l'I.A. porcine

Ces perspectives suivent trois grandes directions, l'amélioration du contrôle de la qualité de la semence et la biosécurité, la longue conservation de la semence par la microencapsulation ou la congélation et le sexage des spermatozoïdes.

L'amélioration du contrôle de la qualité de semence a pour but de pouvoir prédire de façon fiable la fertilité d'une semence. En effet les tests utilisés en routine (évaluation du pourcentage de spermatozoïdes mobiles et type de mouvement) montrent une faible corrélation avec la fertilité. C'est pourquoi ont été mis au point et adaptés à la semence de verrat de nouveaux tests tels que le Test de Résistance Osmotique ou O.R.T. (SCHILLING *et al.*, 1986), des colorations vitales (TAMULI et WATSON, 1994), le test de pénétration dans l'œuf (HARRISON, 1995), le passage au cytomètre en flux (DOBLINSKY *et al.*, 1994) et le

système CASA pour Computer Aid Sperm Assessment (HOLST, 1995) (49). Cependant, outre la valeur prédictive sur la fertilité, il faut aussi considérer la fiabilité, la rapidité et le coût d'un test avant d'envisager son utilisation en routine en C.I.A. (91). Outre la qualité « fonctionnelle » de la semence (c'est-à-dire la capacité à atteindre et féconder l'ovule), il faut aussi envisager la qualité sanitaire, la biosécurité étant primordiale pour un C.I.A. qui doit fournir à ses clients une semence de bonne qualité microbiologique (c'est-à-dire peu contaminée) et dépourvue d'agents pathogènes. Un C.I.A. pouvant offrir une garantie sanitaire sur la semence bénéficiera d'un avantage économique majeur, même s'il sera difficile d'augmenter la marge de production sur ce critère (49). C'est pourquoi RUVALCABA, vétérinaire de la société espagnole KUBUS, a défini la biosécurité comme l'application de moyens de contrôle et de prévention pour éviter l'introduction et la multiplication d'agents responsables de maladies dans le C.I.A. et les élevages qu'il fournit et a mis au point en 2001 un programme de biosécurité appliqué au C.I.A. (111). En France plusieurs C.I.A., dont Cobiporc, se sont lancés dans la certification qualité de l'outil de production, cette démarche visant la transparence sur les méthodes de production de la semence et la mise en avant de garanties sanitaires (126).

La perspective majeure en I.A. porcine est la longue conservation de la semence. En effet, l'I.A. porcine est majoritairement basée sur l'utilisation de semence fraîche après dilution avec une durée de conservation maximale de 5 jours, ce qui constitue un handicap, par exemple pour les exportations de semence vers des destinations lointaines ou pour la conservation des gènes sur du très long terme (plusieurs dizaines d'années). Or la congélation permet de collecter la semence indépendamment du moment prévu pour son utilisation (30). Ainsi, après des années de recherches infructueuses sur la semence de verrat, des techniques prometteuses ont été décrites avec utilisation de jaune d'œuf et de glycérol comme cryoprotecteurs (dilueur THILMANT), et ont permis d'obtenir des taux de mise-bas proches de 70% (14). Cependant elles sont restées jusqu'à maintenant cantonnées à la préservation de races locales menacées avec la constitution de la cryobanque porcine européenne des races locales à laquelle a participé l'U.E.I.C.P. de Rouillé. La maîtrise de la congélation du sperme de verrat faciliterait les échanges internationaux de semence tout en assurant la biosécurité et permettrait le maintien des échanges réguliers de matériel génétique dans la même structure d'élevage ; elle permettrait aussi de conserver la semence de certains verrats après leur mort et d'effectuer un retour en arrière en cas de sélection génétique trop poussée sur une race par exemple (49). Une autre méthode permettant la longue conservation de la semence de verrat est la microencapsulation des spermatozoïdes, qui consiste à capturer des petites populations de spermatozoïdes dans une matrice de gel pour suspendre leur métabolisme et donc leurs déplacements et prolonger leur durée de vie. La viabilité des spermatozoïdes est alors maintenue grâce à la membrane semi-perméable qui facilite les échanges de nutriments et de métabolites avec le milieu extérieur (43). Le défi réside donc dans le maintien de la viabilité des spermatozoïdes avec arrêt temporaire de leur métabolisme pendant le processus d'encapsulation et la restauration complète de la mobilité et du pouvoir fécondant après libération des spermatozoïdes dans le tractus femelle, libération qui est lente, ce qui permettrait de n'effectuer qu'une seule mise en place au lieu de deux I.A. Cette technologie a donc un avenir potentiel pour la longue conservation mais aussi pour la réduction du nombre de spermatozoïdes nécessaires et l'I.A. unique (49).

La troisième perspective en technologie de la semence de verrat est le sexage des spermatozoïdes, qui permettrait de maîtriser le ratio des sexes dans une portée et apporterait ainsi un avantage économique majeur en élevage porcin. Pour cela, la séparation des spermatozoïdes selon la présence du chromosome X ou Y semble plus pratique que le sexage

des embryons (49). Le F.A.C.S. ou Fluorescent Activated Sperm Sorting semble être la technique la plus sûre pour le sexage des spermatozoïdes de taureau. Pour les spermatozoïdes de verrat, JOHNSON a décrit en 1997 la possibilité de séparer les spermatozoïdes portant le chromosome X par passage au cytomètre en flux après coloration de l'ADN par une sonde fluorescente (65). La quantité d'ADN légèrement supérieure dans les spermatozoïdes avec le chromosome X fournit une base de tri pour le cytomètre des spermatozoïdes en deux populations, ceux possédant le chromosome X et ceux possédant le chromosome Y, selon le degré de fluorescence. RATH *et al.* ont réussi à obtenir des portées de porcelets présélectionnés sur le sexe en 1997 selon cette méthode. Ainsi une adaptation réussie de cette technologie à l'espèce porcine, c'est-à-dire avec des résultats de fertilité et de prolificité satisfaisants, rendra possible la production de portées de porcelets du même sexe (35).

B. Anatomie et physiologie de l'appareil génital du verrat

L'appareil génital du verrat, représenté de façon schématique par la figure 3, est composé des testicules, épидидymes et des glandes annexes. Il est caractérisé chez le verrat par les dimensions importantes des organes reproducteurs (testicules, vésicules séminales et glandes bulbo-urétrales) par rapport aux autres mammifères domestiques (71).

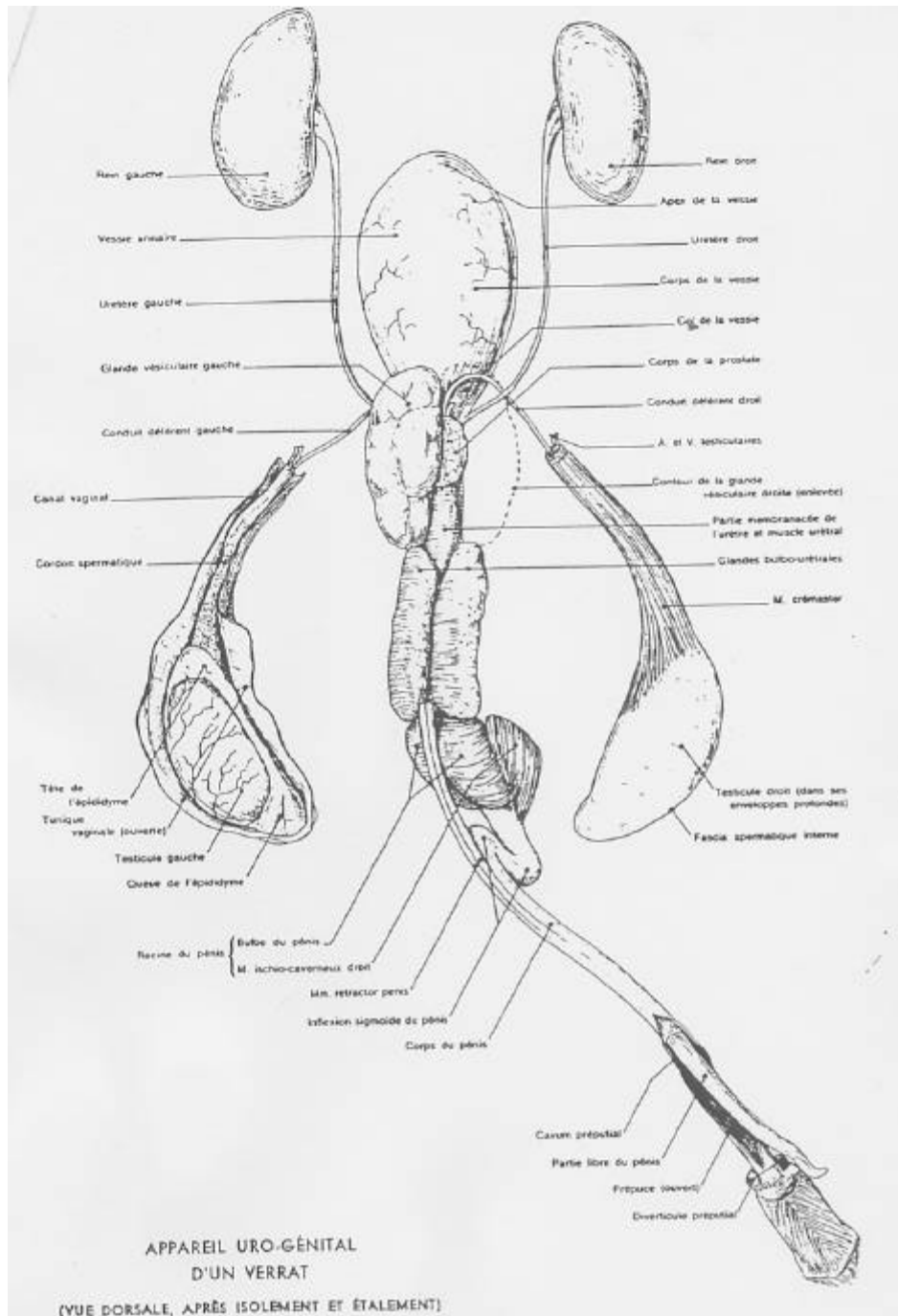


Figure 3 : Représentation schématique de l'appareil génital de verrat (BARONE, 2000)

1. Le testicule et la spermatogénèse

1.1. L'anatomie du testicule

Les testicules sont des organes pairs dotés d'une double fonction :

- la fonction gamétogène ou spermatogénèse, assimilable à une véritable fonction exocrine et assurée par les tubes séminifères
- la fonction endocrine de sécrétion des hormones mâles, les androgènes, assurée par les cellules de Leydig situées entre les tubes séminifères.

La taille du testicule varie selon l'espèce animale. Le rapport poids du testicule/poids du corps est très élevé chez le ver rat puisqu'il est de $4,2 \cdot 10^{-3}$ alors qu'il est de $1 \cdot 10^{-3}$ chez le Taureau (71). Chez le ver rat, les testicules sont donc relativement volumineux par rapport au format de l'animal, le testicule gauche étant généralement plus gros que le droit. Le poids moyen des deux testicules est compris entre 300 et 800 grammes (il est en moyenne de 600 grammes chez le taureau et l'étalon). Ils sont de forme elliptique chez le ver rat et ont une localisation sous anale haute, dans le périnée ; ils sont en général peu détachés du corps mais avec l'âge ils peuvent l'être un peu plus (90). Le parenchyme testiculaire est de couleur grise à bordeaux et plus foncé avec l'âge (71).

1.1.1. Les enveloppes et la capsule testiculaires

1.1.1.1. Les enveloppes testiculaires

Chez le porc les bourses testiculaires sont situées en partie postérieure de la région périnéale, sous l'anus, où elles forment une saillie hémisphérique peu détachée et très incomplètement bilobée (36).

Chaque bourse est constituée de six plans membraneux, dont :

- deux plans superficiels, le scrotum et le dartos
- un plan intermédiaire, la tunique celluleuse
- trois plans profonds, le crémaster, la tunique fibreuse et la tunique séreuse vaginale.

Le **scrotum** constitue l'enveloppe cutanée commune aux deux testicules, la peau est mince, glabre, adhérente au dartos. Le **dartos** est une enveloppe propre à chaque testicule constituée de fibres élastiques, conjonctives et musculaires lisses. Les deux sacs dartoïques sont indépendants l'un de l'autre mais forment une double cloison sur la ligne médiane, ils constituent l'appareil suspenseur des bourses. Chez le ver rat, elle joue un rôle important dans la thermorégulation testiculaire (42). La **celluleuse** n'est pas une membrane distincte, séparable mais plutôt un fascia, très mobile. Le **crémaster** est un muscle à contraction volontaire, étalé sur la face externe et les bords de la tunique vaginale ; il participe avec la tunique dartos à la régulation de la température testiculaire. La contraction du crémaster (sensible à la température) détermine l'ascension du testicule en cas de baisse de la température ambiante et son relâchement le retour du testicule en position normale en cas de remontée de la température ambiante (42) (figure 4). La **gaine vaginale** représente un diverticule de la cavité abdominale, elle est constituée d'une partie externe fibreuse et d'une partie interne séreuse. La partie supérieure de la gaine forme l'anneau vaginal, point de communication avec la cavité péritonéale. La partie fibreuse est continue au fascia transversalis, dont elle n'est qu'une dépendance ; la partie séreuse est une expansion du péritoine et comprend un feuillet pariétal qui tapisse la face interne de la fibreuse et un feuillet

viscéral qui recouvre le testicule et le cordon testiculaire. Les deux feuillets sont réunis par un frein séreux formé de deux lames adossées soutenant le cordon spermatique (107).

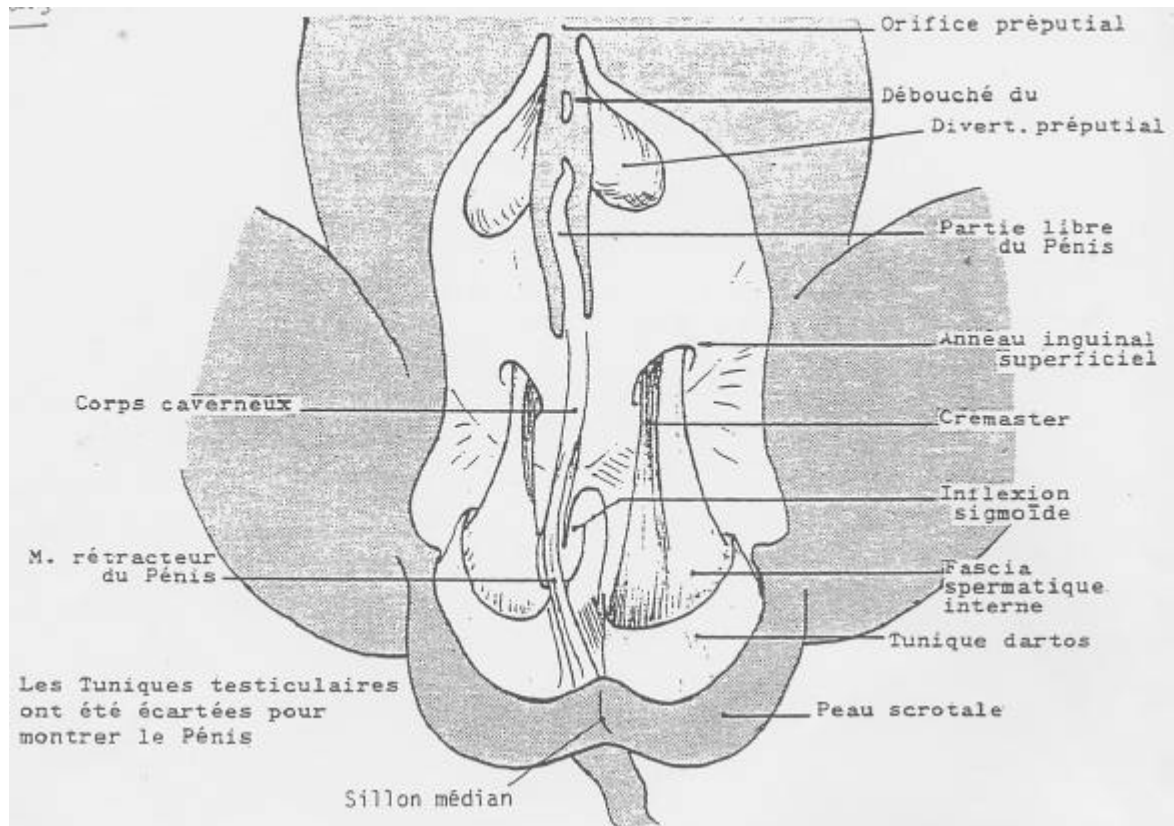


Figure 4 : représentation schématique des parties génitales externes et des enveloppes testiculaires (vue ventrale) (PAVAUX C., polycopié d'enseignement. Splanchnologie des Animaux Domestiques. Fascicule II. Appareil Uro-génital)

1.1.1.2. la capsule testiculaire

Les testicules sont revêtus d'une capsule fibreuse, non élastique, l'albuginée, tapissée à l'extérieur par la tunique vaginale, feuillet viscéral du diverticule péritonéal, et à l'intérieur par la tunique vasculaire riche en vaisseaux sanguins.

L'albuginée est constituée de fibres de collagène et chez le verrat de cellules musculaires lisses, dont l'activité contractile myogénique provoquent des contractions rythmiques de la tunique albuginée qui propulsent les spermatozoïdes et le liquide testiculaire hors du testicule. L'albuginée forme en profondeur du testicule le corps de Highmore, perforé par des vaisseaux, ainsi que des cloisons conjonctives tendues depuis la capsule vers le corps de Highmore qui servent de support aux éléments vasculo-nerveux et qui délimitent des lobules testiculaires (200 lobules par testicule), à l'intérieur desquels se trouvent les tubes séminifères (2 à 5 par lobules).

1.1.2. Les structures intra-testiculaires : tubes séminifères et espaces interstitiels

Le parenchyme testiculaire est de couleur grise à bordeaux foncé chez le verrat, avec un mediastinum proéminent (71). Le parenchyme est composé des tubes séminifères et d'espaces interstitiels et divisé en lobes et lobules par des travées conjonctives issues de l'albuginée et du rete testis (figure 5).

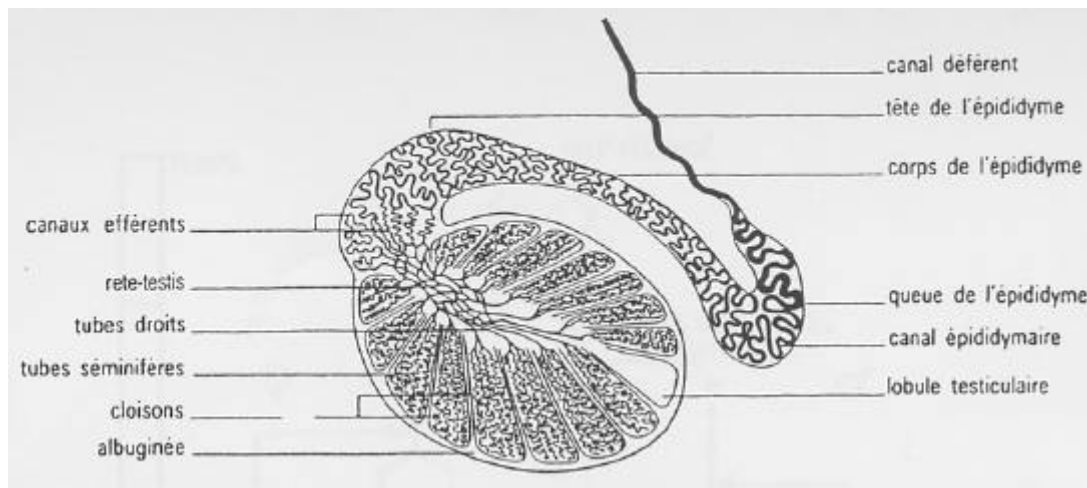


Figure 5 : Structure interne du testicule (source INRAP)

1.1.2.1. Les tubes séminifères et les voies spermatiques intra-testiculaires

Les tubes séminifères ont un diamètre de 200 à 250 μm , ils sont pelotonnés et forment des anses qui s'ouvrent à leurs deux extrémités sur les tubes droits (34).

Leur paroi est constituée, de la lumière vers la périphérie, d'une lame basale connectée par des fibres de collagène et des fibres élastiques aux cellules myoïdes (appelées cellules péritubulaires) qui forment une strate de une à cinq couches selon les espèces, ces couches étant elles-mêmes recouvertes d'une assise de cellules endothéliales séparant les capillaires lymphatiques du tissu interstitiel. Les cellules péritubulaires qui ressemblent à la naissance à des cellules mésenchymateuses, se différencient progressivement en cellules contractiles, riches en actine, myosine et fibronectine, qui présentent des contractions dépendantes d'un contrôle endocrine-paracrine permettant l'évacuation des spermatozoïdes des tubes séminifères. Chez le ver, elles acquièrent toutes les caractéristiques de cellules musculaires lisses (alors que, chez le taureau, elles deviennent des myofibroblastes) (129). On peut retrouver des lymphocytes et des monocytes dans la lamina propria, mais jamais dans l'épithélium séminifère.

Les tubes séminifères se jettent dans les tubes droits qui s'anastomosent au niveau du corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, appelé le rete testis, d'où partent une dizaine de canaux efférents qui traversent l'albuginée pour former la tête de l'épididyme (34).

L'épithélium séminifère est constitué des cellules sustentaculaires (anciennement appelées cellules de Sertoli) et des cellules germinales à différents stades de la spermatogenèse (spermatogonies A et B, spermatocytes I et II et spermatides). Les cellules sustentaculaires sont de grandes cellules pyramidales qui s'étendent sur toute la hauteur de l'épithélium séminifère et dont la forme et le volume varient au cours du cycle de l'épithélium séminifère de façon synchrone à l'évolution des cellules germinales. On voit approximativement vingt cellules sustentaculaires sur la section d'un tube séminifère sur un mâle adulte (129). Chaque cellule de Sertoli est connectée aux cellules adjacentes par des jonctions serrées au niveau du pôle basal appelées desmosomes ; ces jonctions délimitent un compartiment basal, auquel le fluide inter-tubulaire a un accès relativement aisé et où ont lieu le renouvellement des cellules spermatogéniques et la multiplication des spermatogonies, et un compartiment luminal avec spermatocytes et spermatides, où les processus vitaux de méiose et de spermatogenèse ont lieu dans un environnement contrôlé (figure 6). Ainsi, les jonctions serrées constituent une

barrière de diffusion, appelée la barrière hémato-testiculaire, qui empêche de façon sélective de nombreuses substances pouvant être délétères pour la spermatogénèse d'entrer dans le compartiment luminal (129).

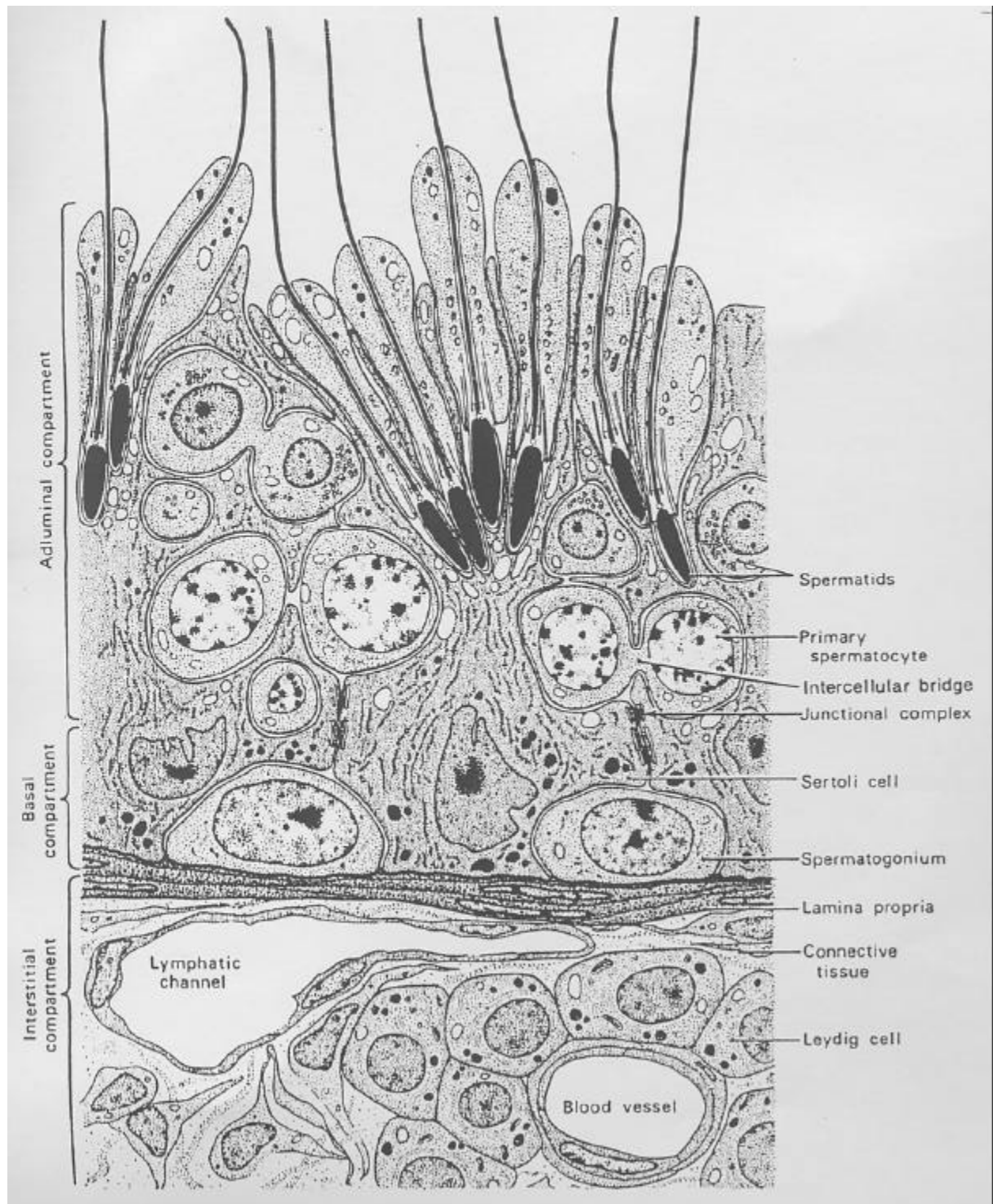


Figure 6 : Représentation schématique des composants cellulaires de l'épithélium séminifère (FAWCET, 1974)

Les fonctions des cellules de Sertoli sont multiples :

- elles jouent un rôle protecteur des cellules germinales du compartiment supérieur contre les réactions immunitaires en empêchant la reconnaissance par le système immunitaire des protéines de surface apparaissant à la surface des spermatoocytes I dès le stade pachytène et le passage des anticorps.
- elles contrôlent la maturation et la migration des cellules germinales vers la lumière des tubes séminifères grâce à la présence de microfilaments dans leur cytoplasme et grâce au fluide testiculaire qu'elles sécrètent en continu
- elles assurent la phagocytose des cellules germinales dégénérantes
- elles synthétisent l'ABP ou Androgen Binding Protein qui possède une très grande affinité pour la testostérone et qui permet ainsi d'avoir des concentrations en androgènes intratesticulaires supérieures à leur limite de solubilité.
- elles synthétisent l'inhibine et l'activine qui inhibent ou activent la sécrétion de FSH par les cellules hypophysaires

1.1.2.2. Les espaces interstitiels

Les espaces entre les tubes séminifères sont occupés par du tissu conjonctif lâche, riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en nerfs, dans lequel sont répartis des cellules interstitielles en amas appelées cellules de Leydig ainsi que diverses cellules libres (fibroblastes, macrophages, lymphocytes...) (34). Le ver rat est l'espèce avec la plus grande quantité de tissu interstitiel, puisqu'il constitue 40% du tissu testiculaire et ce tissu est très riche en cellules de Leydig qui remplissent entièrement les espaces inter-tubulaires en laissant peu de place aux rares capillaires sanguins et lymphatiques (5).

Les cellules de Leydig sont des cellules polygonales avec un noyau rond central et un cytoplasme spumeux (aspect dû aux nombreuses enclaves lipidiques chez les cellules matures) contenant de nombreuses citernes de réticulum endoplasmique lisse et de nombreuses mitochondries. Elles produisent les androgènes testiculaires ainsi que de hauts niveaux d'androgènes chez le ver rat. Elles sont soit isolées soit groupées en amas autour des capillaires sanguins et lymphatiques ce qui leur permet d'assurer leur fonction endocrine de sécrétion d'hormones mâles puisqu'elles synthétisent 95% de la testostérone présente dans le sang et de 20 à 50% des autres androgènes tels que la dihydrotestostérone, déhydroépiandrostérone et l'androstédione. L'activité endocrine des cellules de Leydig est stimulée par hCG et par la LH, LH dont l'effet est potentialisé par FSH et modulé par l'hormone de croissance et l'insuline via la formation de récepteurs à LH. Par contre les oestrogènes et les glucocorticoïdes inhibent la synthèse de la testostérone.

1.1.3. La vascularisation et l'innervation du testicule

Les testicules sont suspendus dans le scrotum à l'extrémité du cordon spermatique entouré d'une tunique fibreuse elle-même recouverte du muscle crémaster sensible à la température. Ce cordon renferme l'artère testiculaire et les veines testiculaires et épидидymaires, des filets nerveux vago-sympathiques ainsi que le canal déférent.

L'artère testiculaire pénètre par le pôle apical et se ramifie en branches terminales dans l'albuginée et les cloisons interlobulaires pour irriguer les lobules testiculaires. Le retour veineux est satellite des artérioles et forme au pôle dorsal du testicule le plexus pampiniforme étroitement appliqué contre l'artère testiculaire et qui joue un rôle dans la thermorégulation du testicule (34). Il faut noter que le débit sanguin est faible en comparaison à d'autres tissus,

ainsi toute augmentation du métabolisme ou de la température non accompagnée d'une augmentation du débit sanguin est susceptible de causer une hypoxie testiculaire.

Les rameaux innervant les testicules se divisent en fines terminaisons qui longent les branches terminales de l'artère testiculaire et qui sont constituées de fibres afférentes motrices, dont certaines innervent les vaisseaux et ont donc un rôle vasomoteur. Le tractus nerveux contient en plus des fibres efférentes sensibles reliées à différents types de récepteurs (mécaniques, chimiques et thermiques) et probablement impliquées dans la perception de la douleur associée à tout traumatisme testiculaire.

1.2. La fonction testiculaire : la spermatogenèse

La spermatogenèse est l'ensemble des processus de multiplication et de différenciation cellulaire de cellules de la lignée germinale mâle qui, à partir des cellules souches ou spermatogonies aboutit à la production de spermatozoïdes (figure 8). C'est un processus très productif qui se déroule de façon continue dans les tubes séminifères à partir de la puberté.

1.2.1. L'évolution cytologique jusqu'aux spermatides

Les cellules germinales primordiales des testicules de l'embryon se différencient en spermatogonies, ou cellules diploïdes précurseurs des spermatozoïdes. Situées près de la paroi externe de tubes séminifères, les spermatogonies subissent des mitoses successives, ce qui crée des populations nombreuses et renouvelables de spermatozoïdes potentiels. Dans un groupe homogène de cellules souches de la même génération, les spermatogonies restent connectées par des ponts intercellulaires après leurs divisions. Les spermatocytes I sont issus de la dernière division des spermatogonies (figure 8).

La méiose, qui permet d'obtenir à partir de spermatocytes I diploïdes des spermatides haploïdes, s'effectue en deux étapes :

- la première division méiotique permet de passer à deux spermatocytes II par séparation des chromosomes homologues ; elle est précédée par une prophase méiotique pendant laquelle se produisent des échanges de matériel génétique entre chromosomes homologues et/ou entre chromatides, échanges à l'origine de l'unicité et de la diversité du génome de chaque individu
- la seconde division méiotique aboutit à quatre spermatides haploïdes par séparation des deux chromatides de chaque chromosome.

1.2.2. La spermiogénèse

La spermiogénèse correspond à la différenciation des spermatides en spermatozoïdes, avec passage par différents stades successifs, dont le nombre est fonction de l'espèce (15 stades chez le ver rat). Elle s'effectue aussi dans les parois des tubes séminifères, dans les replis des cellules de Sertoli. Elle comprend :

- la réorganisation du noyau avec rotation du noyau et condensation de la chromatine

- le développement du système acrosomique par fusion des vésicules golgiennes coalescentes au pôle antérieur du noyau puis différenciation de la lame dense post-acrosomale
- la formation du flagelle à partir des deux centrioles, le centriole distal orienté perpendiculairement à la surface cellulaire donnant naissance aux microtubules du complexe axonémal, entourés par les fibres denses et l'hélice mitochondriale limitée au niveau distal par l'anneau de Jensen.

1.2.3. La cinétique de la spermatogénèse

1.2.3.1. le renouvellement des spermatogonies souches

La production continue de spermatozoïdes nécessite la prolifération de spermatogonies souches qui commencent à se différencier (cellules souches de renouvellement) mais aussi le maintien constant du pool de cellules souches (cellules souches de réserve).

1.2.3.2. le cycle spermatogénétique

Le cycle spermatogénétique correspond à la succession chronologique des différents stades de maturation d'une génération de cellules germinales en un point fixe du tube. La durée de la spermatogénèse est constante pour une espèce donnée : elle est de 74 jours chez l'Homme, d'environ 54 jours chez le taureau et le chien et de 34 jours chez le verrot (15). De même pour chaque espèce chacune des étapes de la spermatogénèse a une durée fixe et constante.

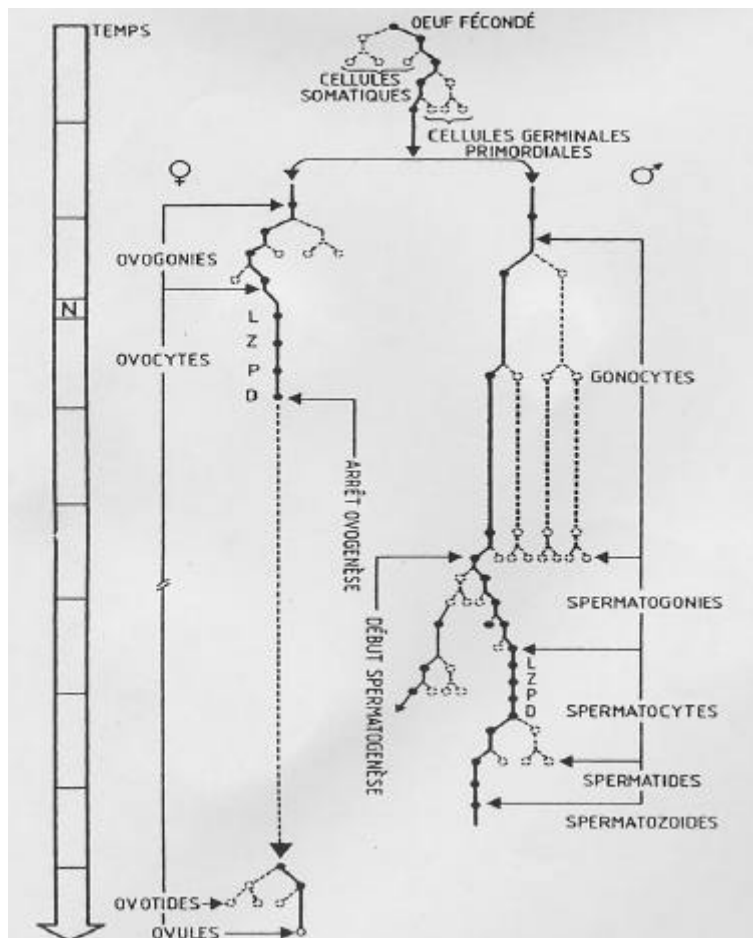


Figure 7 : Gamétogénèse chez les Porcins (MARTINAT-BOTTE *et al.*, 1986)

1.2.3.3. le cycle de l'épithélium séminal

Les cellules souches de renouvellement entrent en spermatogenèse périodiquement et à intervalles réguliers. Les cellules souches d'une même génération entament la spermatogenèse ensemble et restent reliées par des ponts cytoplasmiques jusqu'à la fin de la différenciation. Ainsi des groupes isogéniques de cellules germinales de la même génération effectuent leur spermatogenèse de façon synchrone. On désigne par *onde spermatogénétique* l'arrangement spatial des associations de cellules d'une même génération le long des tubes séminifères, dont l'ordre correspond à l'ordre numérique des stades du cycle. Ainsi l'épithélium séminal est constitué de quatre ou cinq couches superposées correspondant à autant de générations de cellules germinales, les plus jeunes disposées le long de la paroi du tube séminifère et les plus matures au bord de la lumière du tube. Cette stratification résulte de la durée fixe de chaque stade de la spermatogenèse combinée à l'entrée périodique de nouvelles spermatogonies en spermatogenèse. Chaque génération correspond donc à une association de cellules qui définit un stade de la spermatogenèse (figure 10). En un point donné du tube séminifère, les stades se succèdent donc avec le temps et dans un ordre précis. Le nombre de stades et la durée relative de chaque stade diffèrent entre les espèces. La succession de tous les stades correspond au cycle de l'épithélium séminal. La durée du cycle de l'épithélium séminal est déterminée par l'intervalle de temps entre l'entrée en spermatogenèse de deux générations successives de cellules germinales. Enfin la durée du cycle de l'épithélium séminal et de la spermatogenèse sont des constantes biologiques indépendantes de toute action hormonale.

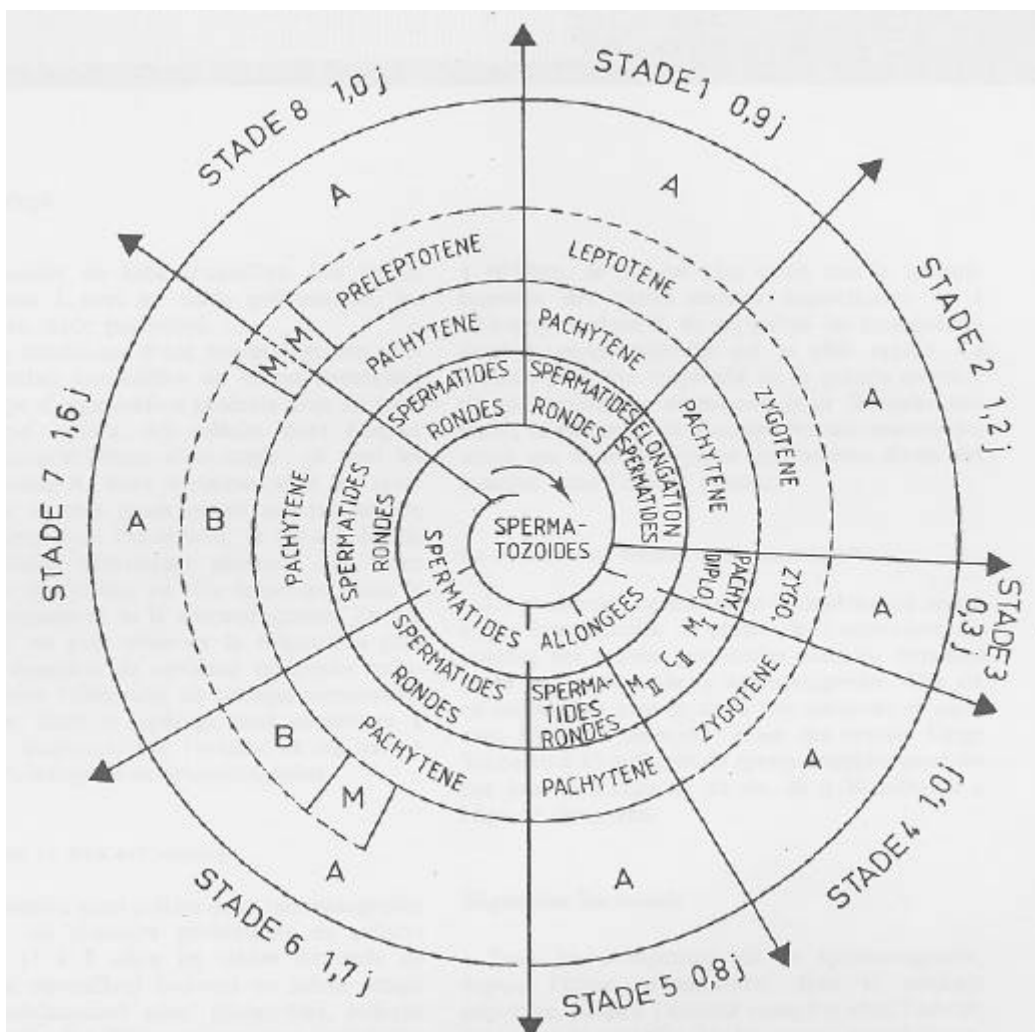


Figure 8 : Cycle de l'épithélium séminifère chez le verrat (MARTINAT-BOTTE *et al.*, 1986)

1.2.3.4. la production journalière de spermatozoïdes

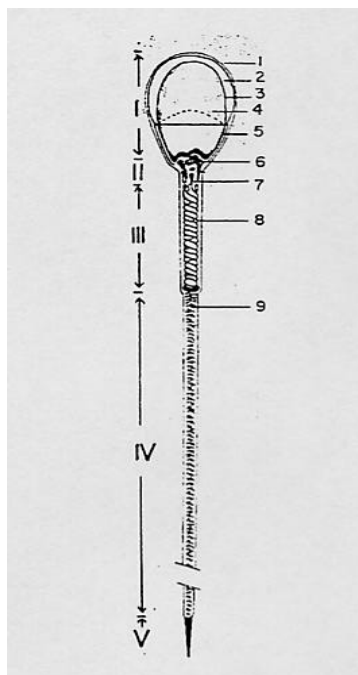
Chez les mammifères la production moyenne de spermatozoïdes se situe entre 20 et 25 millions de spermatozoïdes par gramme de testicules et par jour, à l'exception du taureau et de l'étalon (respectivement 12 et 16 millions/jour/g. de testicule) et de l'homme qui a le niveau de production le plus faible (5 millions/jour/g. de testicule). De plus la production quotidienne de spermatozoïdes féconds décroît progressivement avec l'âge dans toutes les espèces de mammifères mais elle affecte plus gravement la fertilité humaine du fait de son niveau de production relativement bas. La décroissance de la production journalière est sans doute liée à l'augmentation du taux de dégénérescence des cellules germinales au cours de la prophase méiotique car on observe dans les éjaculats d'hommes féconds âgés de plus de 50 ans une diminution du nombre de spermatozoïdes mobiles et normaux.

Le verrat quand à lui présente un niveau de production testiculaire et une capacité de stockage épидидymaire largement supérieurs à ceux des autres mammifères puisqu'il produit 16 milliards de spermatozoïdes par jour et qu'il peut en stocker 185 milliards dans l'épididyme (15).

1.3. La structure et les anomalies des spermatozoïdes

1.3.1. la structure et les fonctions du spermatozoïde mature

Le spermatozoïde est une cellule très différenciée qui possède une structure effilée, très hydrodynamique, divisée en trois régions distinctes : la tête, la pièce de connexion ou cou et le flagelle. Chez le verrat, un spermatozoïde fait environ 45µm de longueur ; la tête faisant 7µm, la pièce de connexion 0.7µm et le flagelle 37µm de longueur (9). La tête est ovale et plate, avec deux faces non symétriques : une face est plate et l'autre présente une protubérance apicale en forme de demi-lune. Elle contient l'acrosome et le noyau. La pièce de connexion est de forme conique, sa base étant en contact avec la tête et la partie la plus étroite en contact avec la pièce intermédiaire du flagelle.



I, la tête; II, le cou; III, la pièce intermédiaire; IV, pièce principale; V, pièce terminale.

- 1, membrane cytoplasmique;
- 2, acrosome;
- 3, membrane nucléaire;
- 4, nucléus;
- 5, capuchon post-nucléaire;
- 6, centriole proximal;
- 7, filament axial;
- 8, hélice mitochondriale;
- 9, gaine fibreuse.

Figure 9 : Représentation schématique du spermatozoïde de verrat (MARTIN, 1993)

Le flagelle a une forme filamenteuse et cylindrique, il est divisé en trois pièces (figure 9):

- la pièce intermédiaire, aussi appelée région mitochondriale, est assez rigide et moins sensible à l'enroulement que le reste du flagelle, chez le verrat elle est souvent implantée en position abaxiale par rapport à la tête (10),
- la pièce principale constitue la majeure partie du flagelle, elle est très flexible,
- la pièce terminale mesure seulement 2µm de long et est très fusiforme

Le gamète mâle a deux objectifs à atteindre puisqu'il doit :

- arriver jusqu'à l'ovule, pour cela il lui faut un appareil cinétique efficace ainsi que de l'énergie
- féconder le gamète femelle, pour pénétrer dans l'ovule le spermatozoïde utilise les enzymes contenues dans l'acrosome

Ainsi la structure du spermatozoïde est orientée vers ces objectifs puisqu'on distingue trois parties aux fonctions différentes : la tête préserve les éléments nécessaires à la fécondation, la pièce intermédiaire renferme le système producteur d'énergie (hélice mitochondriale) et le flagelle assure le déplacement pour parvenir à l'ovocyte.

Deux structures sont très importantes quand aux fonctions du spermatozoïde : l'acrosome et le flagelle. L'acrosome est une structure étalée sur le pôle apical du noyau qui contient des enzymes hydrolytiques comme la hyaluronidase, la neuramidase et la phosphatase acide et une protéase à activité trypsinique, ces enzymes jouant un rôle majeur dans la pénétration de l'ovocyte. Le flagelle est constitué du complexe axonémal entouré d'une gaine fibreuse, elle-même entourée de l'hélice mitochondriale. Le complexe axonémal composé d'un doublet de microtubules centraux et de neuf doublets de microtubules périphériques (microtubule A de section circulaire et microtubule B incomplet) est l'élément essentiel de la mobilité : l'énergie nécessaire au mouvement est produite par l'hydrolyse de l'ATP par une ATPase liée à une molécule de dynéine présente sur chaque microtubule A et le mouvement flagellaire résulte des glissements des microtubules mus par les accrochages et décrochages successifs des bras internes et externes de la dynéine sur les microtubules B adjacents (figure 10).

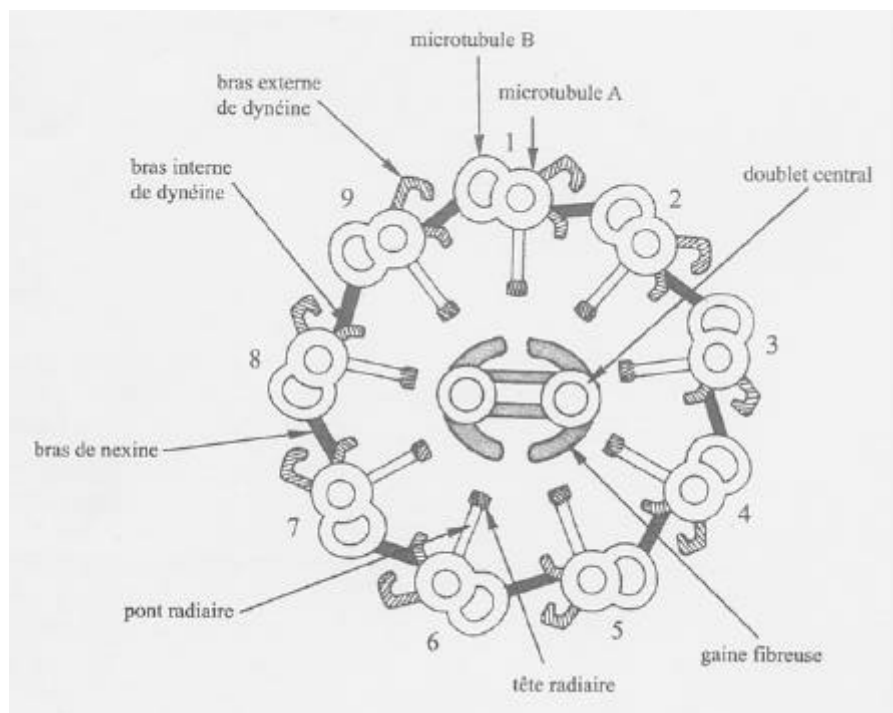


Figure 10 : coupe transversale schématique du complexe axonémal (THIBAUT LEVASSEUR, 2001)

1.3.2. Description des anomalies des spermatozoïdes

Selon BONET et al., on observe dans un éjaculat normal de *Sus scrofa domesticus* entre 80 et 95% de spermatozoïdes matures, entre 5 et 15% de spermatozoïdes immatures et entre 1 et 5% de spermatozoïdes anormaux (10).

Les spermatozoïdes immatures sont essentiellement caractérisés par la présence de la gouttelette cytoplasmique, avec deux positions possibles de la gouttelette : on parle de gouttelette proximale si elle est positionnée sur la pièce de connexion et de gouttelette distale si elle est positionnée au niveau de l'anneau de Jensen, en partie proximale de la pièce principale du flagelle, ce qui définit deux types de spermatozoïdes immatures, les spermatozoïdes avec gouttelette cytoplasmique proximale et les spermatozoïdes avec gouttelette cytoplasmique distale (figure 11). La gouttelette cytoplasmique est formée des restes de cytoplasme résiduel éliminé lors des dernières étapes de la spermiogénèse, elle est présente en position proximale sur tous les spermatozoïdes à la sortie du testicule et elle se déplace normalement jusqu'à l'anneau de Jensen pendant le transit épидидymaire pour être perdue à la sortie de la queue de l'épididyme lors de l'éjaculation. Ainsi la présence et la proportion de spermatozoïdes éjaculés avec des gouttelettes cytoplasmique proximales ou distales nous permettent d'évaluer le fonctionnement épидидymaire. Enfin il faut souligner que les spermatozoïdes immatures sont plus fragiles que les spermatozoïdes matures donc plus sujets aux fractures de la tête ou du flagelle, ce qui entraîne la présence de têtes seules et flagelles seules dans l'éjaculat (46), et que l'on peut observer des anomalies concernant les gouttelettes telles que des anomalies de nombre (présence de deux gouttelettes sur un spermatozoïde), de forme (gouttelette cytoplasmique très volumineuse) ou encore de position (gouttelette en partie distale de pièce principale)...

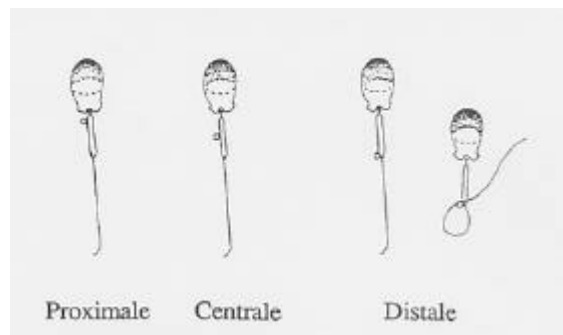


Figure 11 : Positions de la gouttelette cytoplasmique des spermatozoïdes immatures (MARTIN RILLO)

Les anomalies des spermatozoïdes ont été décrites chez le Verrat par BONET et al. (9)(10) selon la région concernée du spermatozoïde et sont alors classées en anomalies de la tête et anomalies du flagelle ; cependant elles peuvent aussi classées en anomalies primaires et secondaires en fonction de leur origine dans le tractus génital mâle.

Les anomalies de la tête des spermatozoïdes, qui représentent 1.5% des spermatozoïdes d'un éjaculat normal, regroupent (figure 12) :

- les anomalies de forme de la tête, les plus fréquentes, telles que les têtes allongées, les têtes ovales, rondes et les têtes piriformes ou encore les têtes courbées,

- les anomalies de taille de la tête, pour lesquelles on distingue les spermatozoïdes macrocéphaliques (tête plus large ou tête plus longue et plus large) et les spermatozoïdes microcéphaliques (tête plus courte ou tête plus courte et plus étroite)
- les anomalies de nombre de têtes, c'est-à-dire les spermatozoïdes bicéphaliques (avec deux têtes coplanaires superposées ou opposées) et les spermatozoïdes tricéphaliques (avec trois têtes coplanaires disposées à 30° les unes des autres)

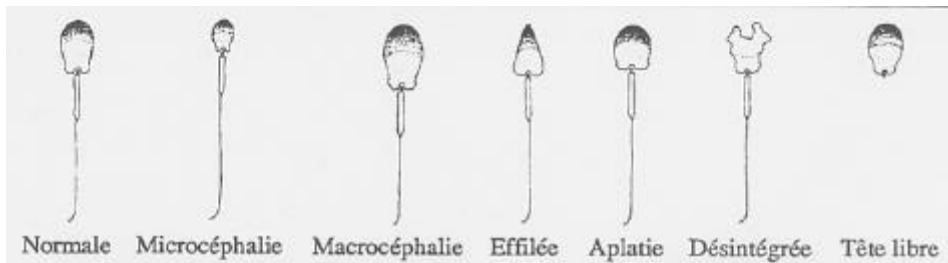


Figure 12 : Anomalies de la tête des spermatozoïdes (MARTIN RILLO)

Les anomalies de flagelle, qui représentent 3.5% des spermatozoïdes d'un éjaculat normal, regroupent (figure 13) :

- les anomalies de trajectoire du flagelle, les plus fréquentes, avec les flagelles pliés, souvent associés à la présence de la gouttelette cytoplasmique distale, et les flagelles enroulés entièrement ou partiellement selon des angles et des formes très variables
- les anomalies de taille du flagelle, dues souvent à des anomalies de taille de la pièce intermédiaire
- les anomalies de nombre de flagelles, avec les spermatozoïdes sans flagelle, ce qui se traduit par la présence de têtes et de flagelles seuls dans l'éjaculat (ceci peut aussi être dû à la manipulation des échantillons de semence) et les spermatozoïdes avec deux flagelles, semblables ou non, fusionnés ou non.

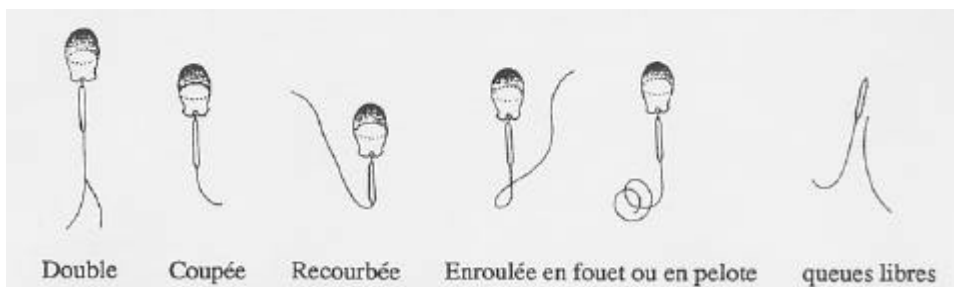


Figure 13 : Anomalies du flagelle des spermatozoïdes (MARTIN RILLO)

Outre la persistance de la gouttelette cytoplasmique, l'anomalie la plus fréquemment observée en routine à l'aide d'un microscope photonique est le flagelle plié ou enroulé. On parle de flagelle plié quand le flagelle est plié tel que les deux parties du flagelle soient perpendiculaires. La figure la plus fréquente est le flagelle plié au niveau de l'anneau de Jensen avec persistance de la gouttelette distale, et il est possible que le flagelle se plie à 180° et que la pièce principale fusionne avec la pièce intermédiaire puis avec la face plane de la tête, le flagelle est ainsi plié à l'extrême et de façon irréversible. La figure la plus fréquente d'enroulement du flagelle est le flagelle qui tourne autour de la première partie de la pièce intermédiaire : la taille de l'enroulement varie en fonction de l'intensité de l'enroulement et la

longueur du flagelle enroulé, sa forme peut être circulaire, sphérique, ovoïde ou elliptique et l'angle formé par l'enroulement et la tête peut être de 180°, 90° ou 45°. L'enroulement peut concerner toute la pièce intermédiaire et être alors de forme elliptique. Lorsque le degré d'enroulement est faible on parle de spermatozoïdes avec une « queue en fouet » et lorsqu'il est intense, on parle de spermatozoïdes avec une « queue en chignon » ou « en pelote » (figure 13).

Selon les conséquences sur la viabilité et la fertilité des spermatozoïdes, on classe ces anomalies en anomalies mineures, dont la présence même en fortes proportions n'a pas de conséquence grave sur la qualité de la semence et en anomalies majeures, dont la présence même en faible proportion a des conséquences marquées en termes de viabilité et fertilité de l'éjaculat. Ainsi les gouttelettes cytoplasmiques distales sont considérées comme des anomalies mineures alors que les gouttelettes cytoplasmiques proximales sont classées dans les anomalies majeures. Les anomalies concernant la tête des spermatozoïdes sont toutes considérées comme étant des anomalies majeures alors que celles concernant le flagelle sont considérées comme mineures à l'exception des queues en chignons, considérées comme anomalies majeures. La proportion acceptable de spermatozoïdes présentant une anomalie dans un éjaculat varie selon que cette anomalie est mineure ou majeure, elle est d'autant plus faible que cette anomalie a peu de conséquences sur la fertilité. Ainsi il est recommandé pour la fabrication de doses d'I.A. en C.I.A. de n'utiliser que des semences présentant moins de 15% de gouttelettes distales et proximales en raison de la corrélation négative entre le pourcentage de gouttelettes cytoplasmiques et le taux de mise-bas et la taille de portée démontrée par WABERSKI *et al.* (3).

1.3.3. Origine des spermatozoïdes immatures et anormaux

Pour décrire l'origine des spermatozoïdes anormaux présents dans la semence de verrat, on peut reprendre la classification en anomalies primaires et secondaires : les anomalies primaires sont celles se développant dans le testicule pendant la spermatogenèse ou la spermio-genèse et les anomalies secondaires sont celles se développant dans l'épididyme pendant la maturation des spermatozoïdes. En général, les anomalies de la tête ont souvent une origine primaire, sauf les anomalies de nombre de tête qui peuvent aussi avoir une origine secondaire. Les anomalies de taille et de nombre de flagelle sont d'origine primaire alors que les anomalies de trajectoire sont d'origine secondaire (10).

Ainsi, un pourcentage élevé de têtes anormales indiquerait une perturbation du fonctionnement testiculaire pouvant être le résultat d'une hypoplasie, d'une orchite ou de dégénérescence testiculaire (46). On a trouvé sur des verrats stériles des défauts au niveau de l'acrosome résultant d'une anomalie spécifique de la spermio-genèse. Les anomalies au niveau de la pièce intermédiaire et la pièce principale du flagelle résultent d'une perturbation du fonctionnement soit du testicule soit des voies spermatiques extra-testiculaires. Le pourcentage de spermatozoïdes avec des gouttelettes cytoplasmiques proximales est élevé dans la semence des jeunes verrats ainsi que celle de verrats avec de l'hypoplasie ou de la dégénérescence testiculaire (108). Un pourcentage élevé de gouttelettes cytoplasmiques distales ne reflète pas systématiquement un processus pathologique puisqu'il peut être la conséquence d'une faible fréquence de collecte de semence. L'augmentation de flagelles repliés et enroulés peut refléter une perturbation du fonctionnement testiculaire ou épидидymaire (12). Ainsi HOLT a montré l'origine épидидymaire (plus précisément la queue de l'épididyme) de la présence de 40 à 80% de spermatozoïdes avec un flagelle enroulé dans

l'éjaculat d'un verrat, et a identifié le défaut de migration de la gouttelette cytoplasmique comme un facteur prédisposant à la pathogénèse de cette anomalie spermatique (62).

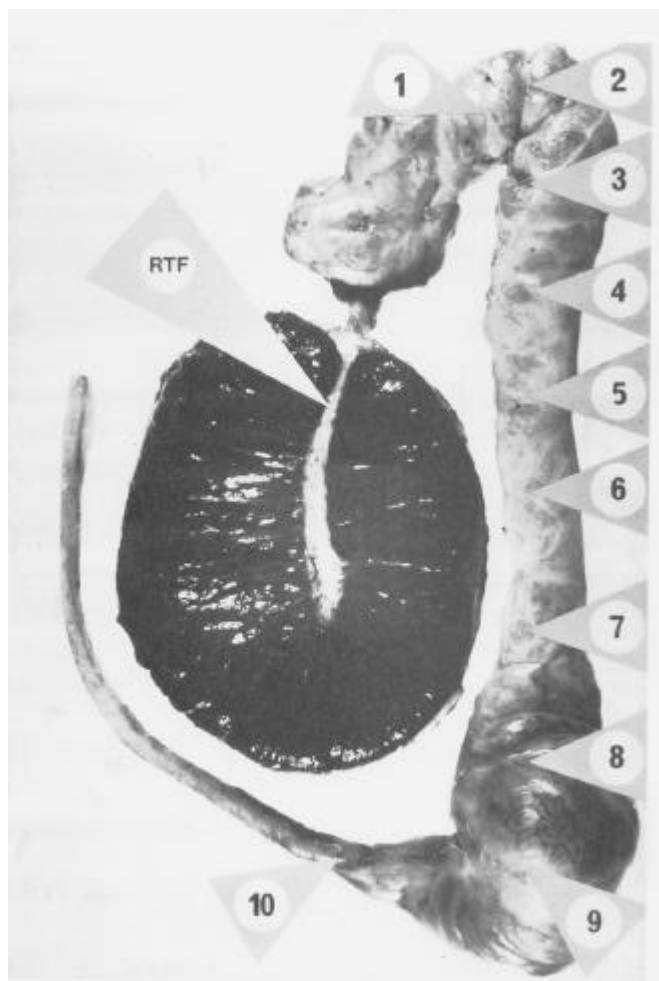
2. L'épididyme : la maturation et le stockage des spermatozoïdes

2.1. La structure épидidymaire

2.1.1. la structure anatomique

L'épididyme est un organe adjacent au testicule qui mesure 15 à 20 cm de long chez le verrat et qui contient un tube allongé, très contourné qui relie les canaux efférents issus du testicule au canal déférent et qui mesure 70 m chez le verrat (33). Il est volumineux et pèse en moyenne 80 grammes avec des poids extrêmes allant de 46 g à 110g (7).

D'un point de vue anatomique, il est habituellement séparé en trois parties anatomiques distinctes : la *tête*, ventrale et rabattue sur l'extrémité capitée du testicule, le *corps* et la *queue*, plus volumineuse que la tête et bien détachée du testicule. Cependant la zonation physiologique de l'épididyme est plus complexe car il n'y a aucun repère anatomique pour distinguer les différentes régions épидidymaires, spécialisées dans des activités précises (figure 14).



Légende :

R.T.F : zone de canulation pour obtention de sperme testiculaire

1.2.3.4. : région épидidymaire antérieure : tête

5.6.7. : région épидidymaire médiane : corps

8.9.10. : région épидidymaire postérieure : queue

Figure 14 : Zonation fonctionnelle de l'épididyme du verrat (THIBAUT LEVASSEUR, 2001)

2.1.2. la structure histologique du tube épидидymaire

Les canaux efférents, qui constituent avec les portions initiales du canal épидидymaire, la tête de l'épididyme, sont bordés par un épithélium simple cylindrique lui-même entouré de trois à six couches de tissu conjonctif riche en myofibroblastes. L'épithélium est constitué de cellules ciliées, assurant le transport des spermatozoïdes et des cellules non ciliées, impliquées dans des processus de résorption du fluide canalaire (présence de corps résiduels positifs à l'acide périodique de Schiff) (129).

La paroi du tube comprend une lame basale, trois couches de fibres musculaires lisses (un couche circulaire intercalée entre deux couches longitudinales) qui présentent des contractions péristaltiques régulières et un épithélium pseudostratifié où l'on distingue deux types de cellules : de petites cellules basales et de grandes cellules principales avec microvillosités (42). Ces microvillosités hautes et irrégulières sont appelées stéréocils de manière impropre car elles ne comportent pas les structures internes microtubulaires des cils et ne fonctionnent pas de la même manière ; ces stéréocils font 80 μ de haut dans la tête de l'épididyme et 40 μ dans la queue (117). Bien que les cellules principales aient une morphologie semblable tout au long de l'épididyme, on note seulement une diminution de la hauteur des microvillosités en région caudale) (figure 15), elles assurent pourtant des fonctions de synthèse et de sécrétion différentes, spécifiques de chaque région épидидymaire.

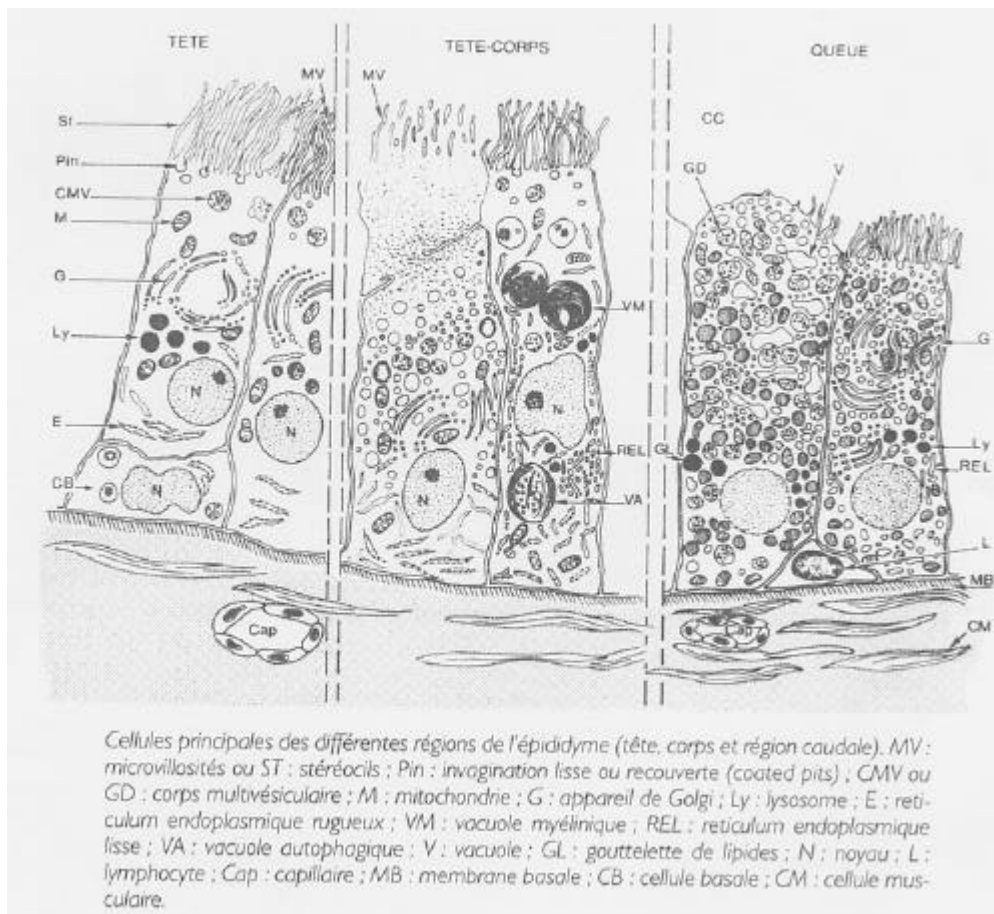


Figure 15 : Caractéristiques ultrastructurales des cellules principales de l'épididyme (THIBAUT, LEVASSEUR, 2001)

Ainsi tout au long du tube épидидymaire on trouve les mêmes composants (cellules basales et principales, muscle lisse et tissu conjonctif) ; les différences structurales apparaissent dans la taille des cellules épithéliales et des microvillosités et l'épaisseur du muscle : ainsi l'épaisseur du muscle lisse augmente nettement entre la tête et la queue de l'épididyme alors que l'épaisseur de l'épithélium diminue. D'autre part il y a des variations avec l'âge puisque dans la tête proximale, les cellules épithéliales et les microvillosités augmentent de taille avec l'âge alors que dans la tête distale la taille des cellules épithéliales diminue avec l'âge à partir de la puberté (17). Enfin on peut observer, contrairement à l'épithélium séminifère, des lymphocytes et monocytes dans l'épithélium du canal épидидymaire.

Chez le ver rat, on trouve en région antérieure des cellules intercalées entre les cellules principales, ce sont les cellules apicales qui contiennent de l'anhydrase carbonique permettant la sécrétion de protons et la réabsorption des bicarbonates, ces cellules seraient donc responsables de l'acidification du liquide épидидymaire (chez le ver rat le pH passe de 7.2 à 6.5 entre la tête et la queue de l'épididyme). Le canal déférent, qui relie le canal épидидymaire à l'urètre, est bordé par un épithélium pseudostratifié cylindrique avec quelques cellules à stéréocils, qui peut devenir simple cylindrique en partie distale. Le muscle lisse de la tunique musculieuse épaisse présente une variété d'arrangement différents, sans qu'aucun arrangement particulier soit spécifique d'une espèce (5).

2.2. Les fonctions épидидymaires

2.2.1. la maturation, le transport et le stockage de spermatozoïdes

Les spermatozoïdes testiculaires ne sont ni mobiles ni fertiles, ils sont entraînés hors des tubes séminifères par le fluide testiculaire, liquide produit en continu par les cellules de Sertoli, pour aboutir dans le rete testis au centre du testicule puis ils atteignent l'épididyme via les canaux efférents (36) (figure 16).

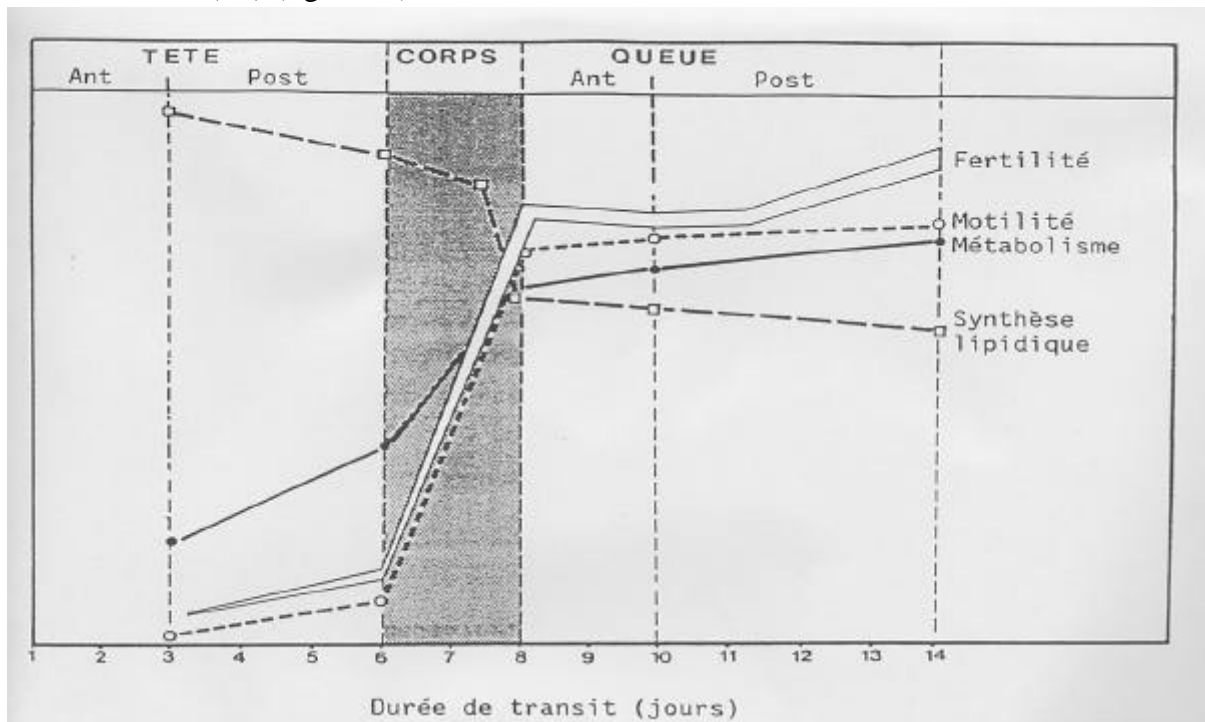


Figure 16 : Localisation des principales transformations subies par les spermatozoïdes durant le transit épидидymaire (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980)

- dans la tête de l'épididyme, les spermatozoïdes dépourvus de mouvements propres progressent grâce à la contraction périodique de la gaine de fibres musculaires lisses entourant les tubules, la sécrétion glandulaire et les mouvements ciliaires.
- dans le corps de l'épididyme, ils deviennent mobiles et aptes à féconder, c'est la **maturation épидидymaire**.
- dans la queue de l'épididyme les spermatozoïdes sont ensuite stockés avant leur émission par le système éjaculateur : selon SINGH, la queue de l'épididyme contient 55% des spermatozoïdes épидидymaires (116).

Le transit épидидymaire dure de 9 à 14 jours chez le verrat (17). La durée du transit dans la tête et le corps est de 6 à 8 jours quelque soit la fréquence d'éjaculation de l'animal alors que le temps de séjour dans la queue de l'épididyme varie avec la fréquence des collectes (5 à 8 jours) (115).

2.2.2. la réabsorption d'eau, d'ions et de protéines

L'épithélium épидидymaire réabsorbe de l'eau, des ions et des protéines présents dans le fluide testiculaire. Ainsi la plus grande partie du fluide testiculaire (99% chez le verrat), est réabsorbée dans les premières régions épидидymaires, ce qui entraîne une concentration des spermatozoïdes (de 10^7 à 10^9 spermatozoïdes par mL chez le verrat) (32). La réabsorption d'eau se fait en association avec les mouvements des ions Na^+ et Cl^- (réabsorbés) et des ions K^+ et PO_4^{3-} (sécrétés), ce qui aboutit à une diminution du rapport Na/K d'un facteur 10 entre la tête et la queue de l'épididyme (20) (figure 18).

La majorité des protéines présentes dans le fluide testiculaire, comme l'ABP, la clustérine et la transferrine sont réabsorbées, par endocytose fluide ou spécifique ou par transcytose ; elles sont remplacées par de nouveaux composés sécrétés par les cellules épithéliales (figure 17).

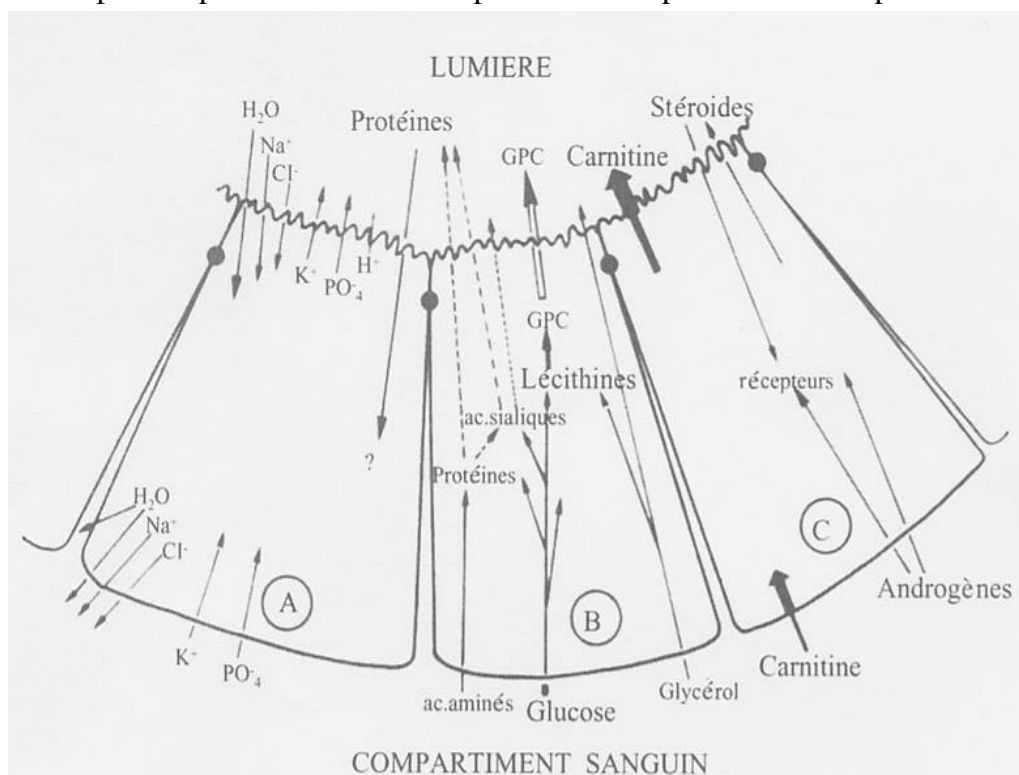


Figure 17 : Fonctions de sécrétion et de réabsorption de l'épithélium épидидymaire (WROBEL,1990)

La régulation de cette réabsorption pourrait être due à l'aldostérone (puisque des récepteurs auraient été localisés sur les cellules épидидymaires) ou à un système rénine-angiotensine local (car l'épithélium épидидymaire contient tous les éléments du système à savoir la rénine, les enzymes de conversion...) (31).

2.2.3. la sécrétion de substances organiques et la concentration de substances sanguines dans la lumière du tube

L'épithélium épидидymaire sécrète des protéines telles que la GPC GlycérylPhosphorylCholine, dont le rôle reste encore incertain (elle pourrait contribuer au maintien de la viabilité des spermatozoïdes). Il synthétise aussi des protéines spécifiques dont la plupart sont des enzymes, phosphatases acides et alcalines, protéases, glucosidases, glycosyltransférase qui peuvent modifier le fluide épидидymaire et la membrane des spermatozoïdes (figure 18).

La composition protéique du fluide épидидymaire est donc en constante évolution tout au long de l'organe : les protéines testiculaires entrant dans l'épидидyme disparaissent rapidement dans la tête antérieure ou plus lentement dans la tête médiane ou distale, elles sont remplacées par des protéines nouvelles sécrétées surtout dans la tête de l'épидидyme (qui assure de 60 à 80% de la sécrétion protéique totale de l'épидидyme selon les espèces). Parmi ces protéines, on distingue les protéines majeures, spécifiques de l'épидидyme, sécrétées par les cellules épithéliales et les protéines mineures, qui semblent provenir d'autres types cellulaires et qui sont aussi présentes dans le testicule. La plupart des protéines majeures sont ensuite réabsorbées dans une partie plus distale de l'épидидyme. Ainsi la composition protéique du fluide épидидymaire dans la queue de l'épидидyme est la résultante de l'activité de synthèse, de sécrétion et de réabsorption épидидymaire, spécifique de chaque protéine et de chaque espèce.

Certaines de ces protéines ont des rôles connus : des protéines mineures comme la lactoferrine et la clustérine qui permettent la survie et la protection des spermatozoïdes au cours du transit épидидymaire, la lactoferrine séquestrant les ions ferriques et la clustérine se liant à la membrane des spermatozoïdes et la protégeant. Des protéines majeures telles que des glucosidases et des protéases (procathepsine L) modifient la membrane des spermatozoïdes et assurent la maturation épидидymaire (31).

La fonction de concentration de substances sanguines dans la lumière du tube de l'épithélium épидидymaire est illustrée par la concentration en carnitine et acétylcarnitine dans le fluide épидидymaire. La carnitine produite par le foie et véhiculée par le sang est réabsorbée par transport actif et concentrée dans la lumière du tube (figure 18). Il semble qu'elle soit transformée en acétylcarnitine et utilisée comme substrat énergétique pour la mobilité des spermatozoïdes. L'augmentation de la carnitine et de l'acétylcarnitine dans les spermatozoïdes est associée à une augmentation de leur mobilité (33).

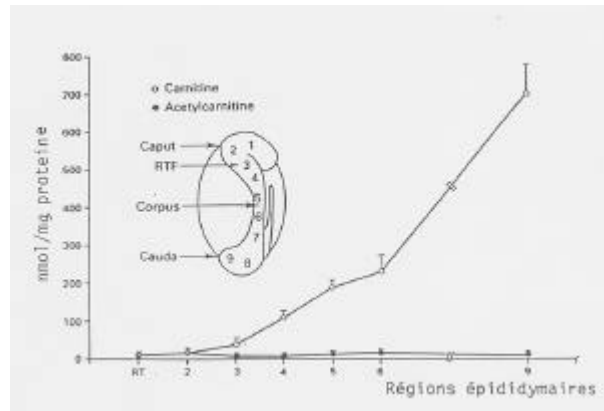


Figure 18 : Concentration de la carnitine le long de l'épididyme (JEULIN *et al.*, 1987)

Conclusion : l'épithélium épидидymaire assure des fonctions de réabsorption, sécrétion et concentration de substances qui contribuent à modifier la composition du fluide épидидymaire pour favoriser la survie des spermatozoïdes matures avant leur émission dans la queue de l'épididyme. Cet épithélium constitue aussi une véritable barrière entre le milieu sanguin et la lumière du tube, qui permet aux gamètes mâles d'être dans un milieu favorable à leur survie et à leur maturation (pH acide, faible taux d'électrolytes, taux élevé de K⁺, absence de fructose) (33).

2.3. la maturation des spermatozoïdes

La maturation est l'ensemble des modifications morphologiques et physiologiques subies par les spermatozoïdes au cours de leur passage dans l'épididyme, modifications qui leur permettent d'acquérir la mobilité et le pouvoir fécondant. Ces modifications sont morphologiques avec la migration de la gouttelette cytoplasmique proximale et la condensation de la chromatine stabilisée par l'augmentation des ponts disulfures. Elles sont également métaboliques avec une diminution des synthèses lipidiques, une augmentation du métabolisme oxydatif et glycolytique et une accumulation de carnitine transformée en acétylcarnitine, substrat énergétique pour les spermatozoïdes (31).

2.3.1. les changements morphologiques

A la sortie du testicule, le spermatozoïde a une forme pratiquement définitive. Cependant, il présente chez le verrat ainsi que chez d'autres espèces, un résidu cytoplasmique placé au pôle basal du noyau et appelé gouttelette cytoplasmique. Lors du transit dans la tête de l'épididyme, cette structure migre jusqu'à la pièce intermédiaire, cette migration est très rapide et se produit dans une région épидидymaire précise (figure 20. 1). Elle se détache souvent du spermatozoïde lors de l'éjaculation (33), ce phénomène est appelé spermiation.

2.3.2. l'acquisition de la mobilité

A la sortie du testicule le spermatozoïde présente des mouvements lents d'oscillation du flagelle. Chez le verrat, DACHEUX et PAQUIGNON (32) ont montré que les spermatozoïdes épидидymaires observés directement dans leur milieu d'origine sont très peu mobiles mais que ces même spermatozoïdes, plongés dans un milieu salin, sont de plus en plus mobiles au cours du transit épидидymaire (figure 20. 2).

Le type de mobilité évolue avec la position épидидymaire (31) (figure 19):

- dans la partie antérieure de la tête, les spermatozoïdes sont immobiles

- dans la partie distale de la tête, ils présentent une grande courbure statique avec quelques oscillations à l'extrémité du flagelle sans déplacement
- dans le corps ils présentent des mouvements transitoires selon une grande courbure, donc une distribution asymétrique des ondes entraînant des mouvements inefficaces
- dans la queue ils produisent un mouvement mature avec une distribution symétrique des ondes de part et d'autre du flagelle permettant une trajectoire rectiligne (ce qu'on appelle « mobilité progressive » ou « fléchante »)

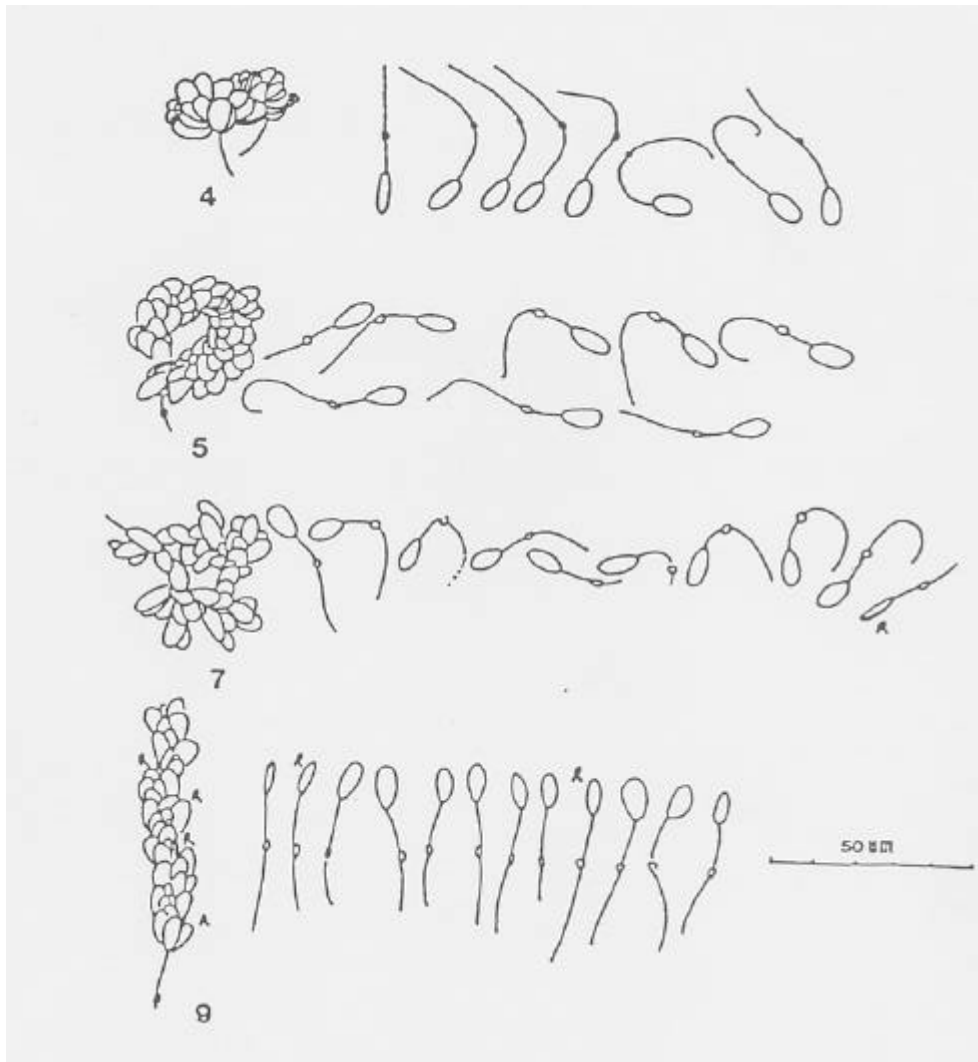


Figure 19 : Evolution de la trajectoire de déplacement des spermatozoïdes selon les zones épидидymaires (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980)

Ainsi l'apparition de la mobilité progressive est en rapport avec l'efficacité du battement flagellaire et en particulier avec sa fréquence qui s'accroît au cours du transit épидидymaire.

2.3.3. l'apparition du pouvoir fécondant

Au cours du transit épидидymaire, des modifications de la membrane des spermatozoïdes se produisent et leur confèrent la capacité de féconder le gamète femelle (figure 21. 3 et 4). Les changements de propriétés de la membrane et les modifications des protéines de surface

constituent les principales modifications membranaires observées lors du transit épидидymaire.

L'apparition sur les gamètes mâles de sites de liaison de spermatozoïdes entre eux entraîne une agglutination potentielle des gamètes, maximale dans le corps de l'épididyme. Chez le ver rat (comme chez le bélier et le taureau) les spermatozoïdes sont agglutinés seulement *in vitro* après dilution mais pas *in vivo* grâce à une protéine spécifique, l'anti-agglutinine, qui masque les sites de liaison. Chez les cobayes et les marsupiaux, les spermatozoïdes sont agglutinés dans l'épididyme et ne se séparent que lors de l'éjaculation et, chez l'Homme et l'étalon, ils ne sont pas du tout agglutinés du fait de la forme conique de la tête des spermatozoïdes (31).

Des récepteurs à la zone pellucide et à la membrane plasmique de l'ovocyte apparaissent aussi à la surface des spermatozoïdes, qui vont permettre la reconnaissance ovocytaire (figure 20.3) ; les nombreux travaux n'ont pas permis d'aboutir à un consensus sur leur identification.

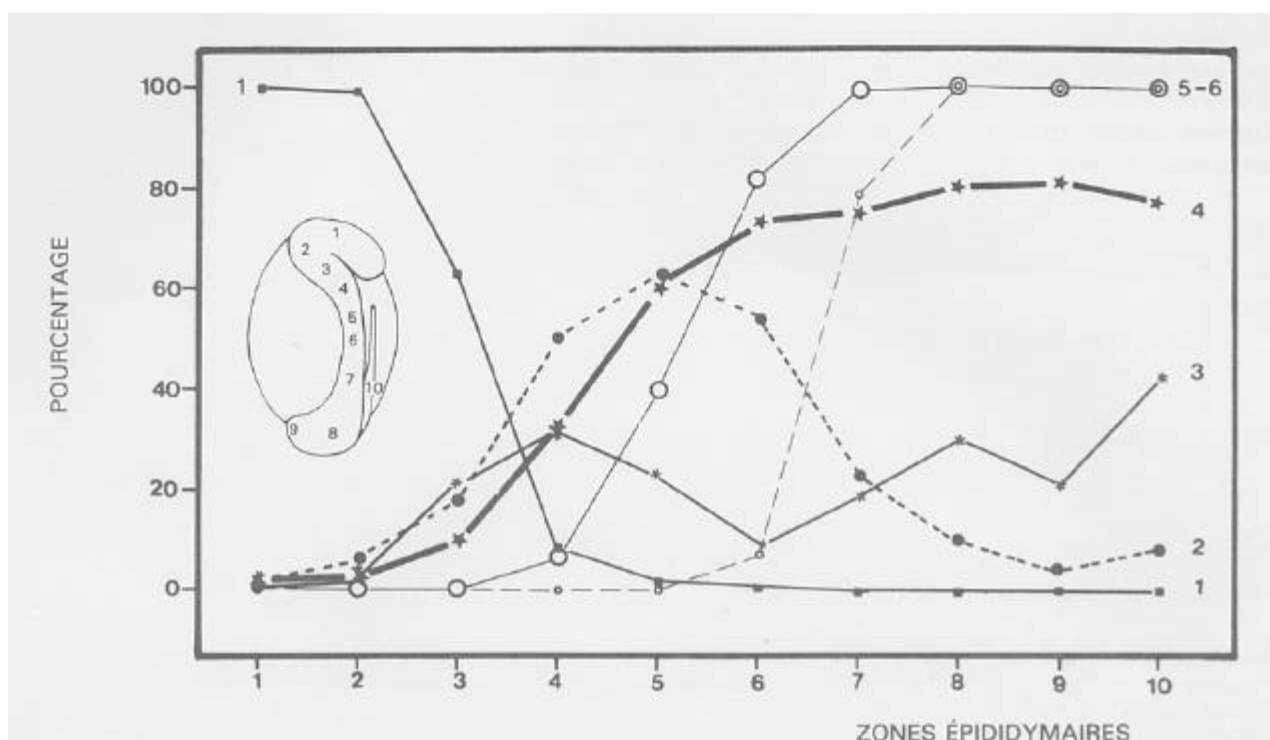


Figure 20 : Profil de maturation des spermatozoïdes de ver rat au cours du transit épидидymaire (DACHEUX et PAQUIGNON, 1980)

- 1=présence de spermatozoïdes avec gouttelettes en position proximale
- 2=pourcentage de spermatozoïdes mobiles
- 3=aptitude des spermatozoïdes à se fixer sur un ovocyte dépellucidé
- 4=pourcentage des ovocytes complètement recouverts de spermatozoïdes
- 5=taux d'agglutination entre spermatozoïdes après incubation en milieu salin

L'analyse biochimique globale des protéines de surface de la membrane des spermatozoïdes révèle trois phases importantes dans la maturation des gamètes mâles :

- une première phase de disparition des protéines testiculaires (de haut poids moléculaire) dans les premières régions épидидymaires
- une phase de transition avec apparition de protéines dans le corps amenées à disparaître dans la queue

- une troisième phase avec apparition de protéines de faible poids moléculaire et fortement sialylées, caractéristiques du spermatozoïde fécondant, dans la queue de l'épididyme
- Certaines protéines apparaissent sur le spermatozoïde testiculaire sous forme de précurseurs inactifs et subissent au cours de leur passage dans l'épididyme une maturation biochimique déclenchée par déglycosylation et/ou clivage protéique.

La membrane du spermatozoïde présente une structure classique de bicouche phospholipidique dans laquelle sont insérées des protéines. Cependant le spermatozoïde est une cellule polarisée et les protéines ne sont pas distribuées de façon homogène. On peut distinguer cinq régions spécialisées ou domaines sur un spermatozoïde mature :

- la région antérieure ou acrosome, impliquée dans l'adhésion à la zone pellucide
- le segment équatorial et la région post-acrosomique, impliquées dans la fusion à la membrane ovocytaire
- la pièce intermédiaire et la pièce principale, assurant la mobilité.

Les domaines commencent à apparaître dans le testicule et se mettent progressivement en place lors de la spermiogenèse mais ceux apparaissant tardivement dans le testicule sont modifiés au cours du transit épididymaire.

Conclusion :

La maturation des gamètes dans l'épididyme est une phase décisive dans l'acquisition du pouvoir fécondant, elle conditionne la fertilité du verrat. Il est donc possible d'estimer l'état de fonctionnement de l'épididyme grâce à des indices de maturation du gamète utilisés en routine pour apprécier la qualité de semence tels que la position de la gouttelette cytoplasmique ou encore le pourcentage de gamètes mobiles et progressifs (33).

3. Les glandes annexes et la production du plasma séminal et du « tapioca »

Les sécrétions des glandes annexes participent à la formation du plasma séminal et représentent 50 à 95% du volume total du plasma séminal. Chez le verrat, les glandes les plus actives sont les vésicules séminales, la prostate et les glandes de Cowper ou glandes bulbo-urétrales, les autres glandes telles que les glandes urétrales et les glandes préputiales ont une activité moindre.

De plus chez le verrat, les glandes annexes au tractus génital sont de grandes dimensions comparativement aux autres espèces et on observe facilement les vésicules séminales situées à la base de la vessie et débordant dans la cavité abdominale (71) ; la prostate est peu développée alors que les glandes bulbo-urétrales sont très visibles avant l'inflexion sigmoïde de l'urètre. Par contre, les glandes de l'ampoule sont peu développées chez le verrat par rapport à l'étalon ou au taureau.

3.1. Les vésicules séminales et la prostate : la production du plasma séminal

3.1.1. Les vésicules séminales

Réduites jusqu'à la puberté, les vésicules séminales sont volumineuses chez le verrat adulte. Elles se développent sous l'effet de la testostérone, plus ou moins tôt selon les races et passent de quelques grammes à la naissance à un poids adulte de 500 à 800 g. Positionnées dorsalement à la vessie, elles s'adossent l'une contre l'autre dans le plan médian. Elles constituent deux glandes compactes symétriques et plurilobées, avec une teinte rosée ou

rougeâtre, une consistance ferme et une forme de pyramide trifacée (42). La structure est lobulée, tubulo-acineuse avec des collecteurs larges et irréguliers et un conduit excréteur unique qui passe latéralement au canal déférent et débouche dans l'urètre juste caudalement à lui.

La paroi des glandes vésiculaires est constituée d'une tunique séreuse ou adventice riche en fibres élastiques, d'une tunique musculuse constituée de deux couches de cellules musculaires lisses (une couche circulaire interne et une couche longitudinale externe) et d'une muqueuse constituée d'un chorion fibro-élastique tapissé d'un épithélium pseudostratifié avec des cellules principales, qui sont des cellules cylindriques hautes à activité sécrétoire, dont la hauteur est fonction de la stimulation androgénique, et des cellules basales, petites et sphériques, non spécialisées (129). Les principaux tubes collecteurs intra-lobulaires sont bordés d'un épithélium simple cubique.

Chez le verrat, les deux glandes possèdent une capsule conjonctive commune et une tunique musculuse fine. Les septa interlobulaires sont constitués essentiellement de tissu conjonctif et de quelques petites cellules musculaires. Les lumières tubulaires sont larges et l'épithélium sécréteur est plissé.

Les cellules principales sécrètent un fluide visqueux et abondant qui constitue 10 à 30% de l'éjaculat (129). Ce fluide est très riche en calcium et en magnésium et contient des substrats énergétiques destinés aux spermatozoïdes comme la glycéryl phosphoryl choline et l'ergothionéine chez le verrat (on sait que l'inositol pourtant en très grande quantité ne peut être utilisé par les spermatozoïdes comme substrat métabolique), ainsi que des protéines en concentration très élevée (100 mg/ml), protéines structurales mais aussi enzymes et inhibiteurs d'enzymes... Le rôle des sécrétions des vésicules séminales est d'activer la capacité de mouvement des spermatozoïdes en même temps que leur fournir les nutriments nécessaires à leur survie (42).

3.1.2. La prostate

La prostate est assez peu développée chez le verrat et se trouve en position crâniale par rapport aux vésicules séminales (42). Elle est constituée d'une partie compacte, appelée corps de la prostate et d'une partie disséminée dans la paroi de l'urètre pelvienne. Le corps est formé de trente à cinquante saccules bordées par un épithélium sécréteur simple cubique ou cylindrique, lui-même entouré par un stroma fibro-musculaire. Ces alvéoles sont groupées par paquets le long de l'urètre dans lequel elles débouchent par de multiples conduits, dans les dernières portions desquels l'épithélium devient transitionnel. Chez le verrat, la partie externe de la prostate est normalement plate et de teinte rouge rosée, elle fait 3 à 4 cm de long et 4 à 5 cm de large et pèse 15 à 20 g. La partie disséminée, bien développée, entoure l'urètre de toute part et la couvre entièrement sous la forme d'une couche glandulaire dans la sous-muqueuse de l'urètre pelvienne (129).

La prostate est une glande bien irriguée et compacte, dont il est difficile de récolter les sécrétions qui constituent 30 à 60% du volume total de l'éjaculat et qui sont riches en calcium, zinc, substances tampons, amines bactériostatiques ainsi qu'en stéroïdes et oestrogènes chez le verrat. La sécrétion prostatique a comme rôle de neutraliser le plasma séminal rendu acide par une accumulation de bicarbonates et de lactates et d'initier les mouvements actifs des spermatozoïdes éjaculés (129).

3.1.3. Le plasma séminal : composition et rôle

Le plasma séminal est la phase liquide de l'éjaculat, il est composé du mélange des sécrétions des glandes annexes lors de l'éjaculation. Selon Mac ENZIE *et al.* (1938) et MANN et GLOVER (1954), la prostate et les glandes urétrales en fournissent 45 à 60%, les vésicules séminales 15 à 20%, les glandes bulbo-urétrales 10 à 15%, et le liquide épидидymaire 2 à 5% (104). On remarque que, même si ces proportions diffèrent légèrement de celles citées précédemment, elles conservent tout de même l'ordre de participation des glandes, soit prostate>vésicules séminales>bulbo-urétrales.

Le plasma séminal est un liquide de pH égal à 7,5 et riche en composés organiques et inorganiques. Parmi les constituants organiques du plasma séminal, on trouve, outre les protéines et les acides aminés libres sécrétés par l'épididyme (93):

- le fructose, source d'énergie pour les spermatozoïdes, produit par les vésicules séminales et en faible concentration par rapport aux autres espèces (13 à 70mg/dL chez le Verrat pour 500mg/dL chez le Taureau)
- de l'inositol et de l'acide citrique en grandes quantités (500mg/dL d'inositol et 130 à 170mg/dL d'acide citrique), qui interviennent tous deux dans la régulation de la pression osmotique de la semence, et qui sont produits par les vésicules séminales
- de l'ergothionéine (15mg/dL), d'origine alimentaire, qui stabilise les groupements sulfhydriles (S-H) membranaires ayant un effet protecteur pour le spermatozoïde

Parmi les constituants inorganiques on trouve du sodium (650mg/dL), du chlore (330mg/dL) et de potassium (240mg/dL). Le sodium et le chlore sont sécrétés par la prostate et les glandes urétrales et le potassium par les vésicules séminales et l'épididyme. Le magnésium produit par les vésicules séminales interviendrait en tant que cofacteur enzymatique dans les processus de capacitation.

3.2. Les autres glandes annexes et leurs sécrétions

3.2.1. Les glandes bulbo-urétrales et le « tapioca »

Aussi appelées **glandes de Cowper**, les glandes **bulbo-urétrales** sont localisées sous la prostate, le long de l'urètre au début du pénis. Ce sont deux glandes tubulaires chez le verrot (tubulo-alvéolaires chez l'étalon, le taureau et le bélier) formant de part et d'autre de l'urètre deux masses de 15 à 18 cm de long et de 5 à 6 cm de large. Comme les vésicules séminales, elles sont de petite taille chez les sujets impubères ou castrés mais très volumineuses chez les adultes puisqu'elles pèsent de 80 à 100g. Elles sont composées d'un réseau de tubules et de saccules entourés de tissu musculaire lisse et strié qui débouche dans des collecteurs larges et irréguliers où s'accumule un liquide épais et blanchâtre, appelé « tapioca » et caractéristique des éjaculats de verrot (42). Le « tapioca » est évacué par le tube excréteur qui passe sous le muscle bulbospongieux et s'abouche dans l'urètre après un ou deux cm de trajet.

L'épithélium est simple cylindrique et composé essentiellement de cellules alvéolaires, à sécrétion muqueuse très abondante, le principal produit de leur sécrétion étant la sialomucine, responsable de la formation du « tapioca » dans l'éjaculat. L'épithélium des tubes collecteurs est simple cylindrique chez le verrot (cubique chez le taureau et le bélier) et celui du tube excréteur est transitionnel (129).

Le « tapioca » est éliminé au début et à la fin de l'éjaculation, il a un aspect gélatineux et une composition mucoprotéique et il représente 15 à 30% du volume total de l'éjaculat (120). Lors

de monte naturelle, le tapioca forme un tampon dans le vagin de la truie qui empêche le reflux du sperme mais lors de récolte de semence il a tendance à provoquer l'agglutination des spermatozoïdes, c'est pourquoi on l'élimine par filtration à travers une gaze stérile lors de la récolte.

3.2.2. les autres glandes annexes et leurs sécrétions

Les autres glandes annexes comprennent les glandes urétrales et les glandes préputiales :

Les **glandes urétrales** ou **glandes de Littré** sont de petites glandes muqueuses débouchant dans l'urètre pénien par un canalicule. Elles sont sécrétrices au moment du coït et leur sécrétion est la première à sortir lors de l'éjaculation, elle est d'un petit volume et d'un aspect séreux clair. Elles auraient aussi une fonction de nettoyage du conduit des restes d'urine avant le passage de l'éjaculat. Les **glandes préputiales** ou **glandes de Tyson** sont situées près de l'orifice préputial, là où s'accumulent les restes d'urine qui se décomposent en donnant la mauvaise odeur caractéristique du verrat. Leur sécrétion est source de phéromones, véhicules de l'effet mâle dans les interactions sexuelles mais elle ne fait pas partie de l'éjaculat.

C. Anomalies et pathologies de l'appareil génital du Verrat

1. Anomalies et pathologies testiculaires

1.1. Anomalies testiculaires

L'**hypoplasie testiculaire** est caractérisée par une diminution de taille du testicule et une modification de sa forme sans changement de sa consistance. Elle est peu fréquente chez le verroat et peut être provoquée sur des verrats impubères par des traitements avec des composés oestrogéniques ou par une carence en Vitamine A, l'hypovitaminose A provoquant une hypoplasie testiculaire par effet direct sur le parenchyme (71)(99). Elle a aussi été décrite sur un verroat avec une constitution anormale au niveau des chromosomes sexuels (39 chromosomes dont un chromosome X supplémentaire), dont l'épithélium séminifère montrait une absence totale de cellules spermatogénétiques (56).

La **spermiostase** est la lésion focale la plus fréquente dans le testicule de verroat, sans modification de la taille de l'organe. Elle se traduit par la présence de foyers pâles, disséminés dans le parenchyme, plus nombreux dans le pôle crânial du testicule ou à côté du mediastinum testis. HEATH *et al.* ont observé de telles lésions sur plus de 20% d'un lot de 228 verrats non sélectionnés et envoyés à l'abattoir, en absence d'autres lésions (59). Ils ont montré que la spermiostase ne semblait pas liée à de la dégénérescence testiculaire mais qu'il s'agissait plutôt d'une lésion focale due à l'atrésie ou l'hypoplasie de segments terminaux de tubes séminifères.

1.2. Infections et tumeur du testicule

L'**orchite** est une inflammation du testicule, caractérisée par une augmentation de taille, une chaleur et une douleur à la palpation du testicule. Elle peut être d'origine traumatique (glissements répétés sur le sol, morsures...) ou d'origine infectieuse spécifique. Ainsi chez le verroat, l'infection à *Brucella suis* est responsable d'orchites (et d'orchi-épididymites) avec tuméfaction et abcédation du testicule, souvent associée à d'autres symptômes reproducteurs. Une abcédation encore plus étendue est rapportée dans les orchites causées par *Pseudomonas pseudomallei* en Malaisie, accompagnées d'atrophie et de dégénérescence testiculaire totale (66). Les autres bactéries isolées à partir d'orchites chez le verroat sont *Corynebacterium pyogenes*, *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* et *Streptococcus equismilis* ainsi que d'autres Streptocoques et Staphylocoques. Donc, même si, face à une orchite ou une épididymite chez un verroat, il faut toujours suspecter l'infection à *Brucella suis*, il ne faut pas confondre avec une asymétrie testiculaire due à une hyperplasie compensatoire d'un testicule en cas de dégénérescence de l'autre testicule ou un œdème post-traumatique unilatéral ou une tumeur, les tumeurs testiculaires étant rares chez le verroat (56).

Une seule tumeur a été décrite sur le testicule de verroat, il s'agissait d'un **leydigome**, c'est-à-dire une tumeur des cellules interstitielles qui apparaissait bigarrée à cause de la congestion et de la nécrose. Le verroat était aspermique (61).

1.3. Dégénérescence testiculaire

La **dégénérescence testiculaire** est une atrophie du testicule associée à une baisse de la fertilité. Elle est caractérisée par une diminution de la taille du testicule et une modification de sa consistance qui est fonction du degré de dégénérescence : dans les stades précoces de

dégénérescence, le testicule est plus petit et plus mou qu'un testicule normal. Puis, en cas d'évolution chronique, il devient plus ferme à cause de la fibrose et des calcifications dans le parenchyme (108). On observe aussi parfois des foyers pâles de spermiostase intratubulaire et peut-être de minéralisation, la spermiostase pouvant entraîner à terme la formation de granulomes spermatiques (84). La dégénérescence peut être modérée à sévère et est plutôt bilatérale car le plus souvent causée par un processus pathologique généralisé. Il faut dire que les processus dégénératifs ne concernent pas forcément tous les tubes séminifères de façon uniforme et encore moins le testicule entier ; aussi la surface de coupe du parenchyme n'est granuleuse à la palpation que si la dégénérescence est étendue. La dégénérescence n'est pas toujours irréversible : suite à des perturbations transitoires, une régénération complète peut avoir lieu mais toujours de façon plus lente, la restauration de la morphologie normale étant plus tardive que la reprise de l'activité normale de production spermatique (84).

Au niveau histo-pathologique, dans les stades précoces, on observe une dégénérescence des spermatides, certaines étant nécrotiques et d'autres formant des cellules géantes multinuclées ; dans les stades plus avancés, on observe des changements dégénératifs sur les précurseurs des spermatides, caractérisés par une vacuolisation des cytoplasmes et une picnose de noyaux, avec évolution vers un dénudement des membranes jusqu'à la perte des cellules sustentaculaires ; à terme, les tubes se collabent et sont remplacés par du tissu conjonctif. Selon la rapidité d'évolution on distingue deux formes de dégénérescence : dans la première forme, la dégénérescence se développe très rapidement, en quelques jours et est succédée par la fibrose alors que dans la seconde forme, elle se développe plus lentement, sur quelques mois et est accompagnée par la fibrose (augmentation du tissu conjonctif interstitiel et épaissement des membranes basales). La cause de cette seconde forme de dégénérescence demeure indéterminée (84).

Hypoplasie et dégénérescence testiculaire sont difficiles à distinguer à l'histologie. C'est pourquoi la distinction doit être basée sur des critères cliniques et des examens de semence : on sait que la dégénérescence est souvent associée à une épидидymite ou à une péri-orchite, ce qui n'est pas le cas de l'hypoplasie et qu'elle est souvent caractérisée par un ratio poids testicule / poids épидидyme plus faible que lors d'hypoplasie (71).

En cas de dégénérescence testiculaire, la moindre qualité de la semence résulte à la fois des altérations de l'épithélium des tubes séminifères et de l'atteinte de la fonction épидидymaire occasionnée soit par l'agent causal de la dégénérescence soit par la dégénérescence elle-même (83). Ainsi les conséquences sur la semence apparaissent dès les stades précoces de dégénérescence avec une augmentation du nombre de spermatozoïdes immatures et anormaux sans atteinte de la motilité des spermatozoïdes normaux. Ces changements sont progressifs avec diminution du pourcentage de spermatozoïdes mobiles puis, à terme, diminution du nombre de spermatozoïdes éjaculés. L'aspect macroscopique de la semence n'est modifié qu'en cas de dégénérescence avancée, la semence est alors claire laiteuse ou translucide comme de l'eau, avec parfois présence de spermatocytes diploïdes ou à noyau pycnotique dans la semence (108).

Les causes de la dégénérescence testiculaire sont multiples ; chez le verrat, elles comprennent les défauts de thermorégulation, les infections locales et systémiques et les toxémies, les carences alimentaires et les déséquilibres hormonaux (56). La spermatogenèse nécessite une température inférieure à la température corporelle, et c'est pourquoi la position intra-abdominale d'un testicule, l'épaississement du scrotum ou une dermatite à l'origine d'un œdème, d'un hydrocoele ou d'une périorchite peuvent être à l'origine de dégénérescence

testiculaire. Elle peut d'ailleurs être induite expérimentalement en faisant augmenter la température du testicule comme l'ont fait MALGREM *et al.* en 1988 afin de mieux décrire les lésions de dégénérescence au niveau de l'épithélium séminifère (89). Les infections locales ou systémiques peuvent aussi provoquer la dégénérescence testiculaire via l'augmentation de la température corporelle due au syndrome fébrile et la libération de toxines. Des carences ou des déséquilibres alimentaires peuvent provoquer de la dégénérescence testiculaire, s'ils concernent des vitamines ou des oligo-éléments importants pour la fonction testiculaire, comme le Zinc qui est un cofacteur de certaines enzymes du métabolisme des androgènes. Cependant, ces voies n'ont pas encore été explorées chez le verrat. Enfin le contrôle de la spermatogenèse par de nombreux facteurs hormonaux notamment de l'axe hypothalamo-hypophysaire, fait que l'administration, le défaut ou l'excès d'un de ces facteurs perturbe le bon déroulement de la spermatogenèse et peut provoquer de la dégénérescence testiculaire. Le plus souvent, c'est la conséquence de tumeurs de l'hypophyse ou de l'hypothalamus ou d'un leydigome.

2. Anomalies et pathologies épидидymaires

2.1. Anomalies épидидymaires

L'absence complète ou **aplasie** de l'épididyme est rarement observée chez le verrat et peut accompagner l'aplasie d'autres structures dérivées du canal mésonéphrique, telles que le canal déférent et les vésicules séminales (83). Par contre, la **persistance de tubules mésonéphriques kystiques** est rapportée sur 20% des jeunes verrats. Ces tubules mesurent approximativement 3 à 16 mm de diamètre ; ils sont transparents et remplis d'un fluide clair séreux et localisés à la jonction entre le testicule et la tête de l'épididyme (71). Bien qu'ils puissent atteindre plusieurs centimètres de diamètre sur des verrats adultes, ils n'ont pas de conséquences sur la semence et la fertilité (108).

2.2. Epididymite

Les pathologies épидидymaires observées chez le verrat sont l'épididymite et les granulomes spermatiques. L'épididymite, ou inflammation de l'épididyme, est occasionnellement observée en tant que lésion acquise dans toutes les espèces animales et est causée par les mêmes facteurs que l'orchite, avec qui elle coexiste souvent. La queue de l'épididyme, zone de stockage des spermatozoïdes, est la région épидидymaire où les infections bactériennes se développent et sont les plus sévères (84). Comme dans le testicule, une dilatation de l'épididyme lors d'épididymite est souvent due à l'abcéssation multiple ainsi qu'au développement de spermatocoeles et de granulomes spermatiques, dont les agents étiologiques les plus fréquents chez le verrat sont *Brucella suis* et *Pseudomonas pseudomallei* (71). Le pronostic d'une épидидymite unilatérale est mauvais, puisque les obstructions empêchent souvent le transit des spermatozoïdes, il est sans espoir pour une épидидymite bilatérale. Pour un animal de valeur atteint d'une épидидymite unilatérale sans atteinte associée des glandes annexes, la castration unilatérale peut être indiquée, suivie d'une longue période de récupération (108).

2.3. Spermatocoeles et granulomes spermatiques

Les spermatocoeles et granulomes spermatiques proviennent d'une spermiostase due à des anomalies du canal épидидymaire. Un spermatocoele est défini comme une dilatation kystique du canal épидидymaire avec accumulation de sperme dans le kyste (84). La majorité des

spermatocoeles évoluent en granulomes spermatiques : l'accumulation et l'impaction des spermatozoïdes dans le kyste entraîne l'atrophie de l'épithélium avec fragmentation de la membrane basale ou parfois rupture spontanée du spermatocoele, ce qui provoque une extravasation du sperme et une réponse granulomateuse du tissu conjonctif en contact avec les spermatozoïdes. Le sperme accumulé dans un spermatocoele ou un granulome est de couleur jaunâtre et de consistance caséuse ; il est semblable à du pus de *Corynebactéries*. Certains granulomes peuvent atteindre plus de 2 cm de diamètre et ressembler à des abcès, ils peuvent être douloureux dans la phase aiguë de l'inflammation et entraîner un refus de monte (83). Les granulomes se développant secondairement à une occlusion congénitale du canal épидидymaire, avec présence d'un ou plusieurs tubes efférents aveugles, sont le plus souvent observés dans la tête de l'épididyme et stériles ; à la différence des granulomes secondaires à une infection, qui sont souvent observés dans la queue de l'épididyme et d'origine traumatique (84).

3. Anomalies et pathologies de glandes annexes

Les pathologies des glandes annexes du verrat ont été très peu étudiées. C'est pourquoi nous ferons quelquefois référence au taureau, animal de rente avec la même utilisation en CIA que le verrat, pour compléter la description des pathologies.

3.1. Anomalies et lésions de la tunique vaginale

La tunique vaginale peut être le site d'une accumulation de fluide ou encore le site d'une inflammation. On parle d'hydrocoele pour décrire une accumulation de fluide séreux clair dans la tunique vaginale ; il peut se former à partir de tumeurs ou d'infections voisines et est fréquent lors d'ascite. On parle de chylocoele pour décrire une accumulation de fluide lymphatique, due à l'obstruction d'une voie de drainage lymphatique provoquée soit par un traumatisme pelvien soit par une lymphangite carcinomateuse ou granulomateuse. Enfin on parle d'hématocoele pour décrire la présence de sang dans la tunique vaginale, sang seul ou mélangé à un fluide séreux, ce qui est peu fréquent et peut être du à un traumatisme localisé ou un hémopéritoine. Enfin l'inflammation de la tunique vaginale peut être observée lors de péritonite ou bien lors d'orchites ou d'épididymites.

3.2. Anomalies et pathologies des vésicules séminales

Des anomalies congénitales des vésicules séminales ont été décrites chez le taureau et le Verrat, dont l'aplasie ou l'hypoplasie d'une vésicule ou encore la présence de kystes congénitaux ; ces anomalies sont le plus souvent unilatérales et associées à l'aplasie d'autres dérivés embryonnaires du canal de Wolff (84).

La pathologie acquise la plus fréquemment observée sur les vésicules séminales est la **vésiculite** ou inflammation des vésicules séminales. Chez le taureau, elle est assez fréquente (incidence approximative 1% pouvant aller jusqu'à 10% sur des taurillons élevés en feed-lots) (84) et affecte des mâles de tout âge avec le plus souvent absence de signes externes de maladie ; elle existe sous deux formes. La forme chronique, souvent unilatérale, est caractérisée par une fibrose marquée avec augmentation de taille et perte de lobulation de l'organe, et communément causée par *Corynebacterium pyogenes*. La forme dégénérative, souvent bilatérale, est caractérisée par une diminution de taille et une perte de consistance de l'organe. La vésiculite a des effets délétères variables sur la qualité de semence, avec une baisse de la mobilité des spermatozoïdes et une augmentation du pH de la semence, sans pour

autant que la fertilité soit systématiquement affectée (108). Chez le verrat, l'atrophie ou la dilatation des vésicules séminales ont été décrites comme des conséquences de vésiculite, le plus souvent causée par *Brucella suis* et *Pseudomonas pseudomallei*, pour lesquels les vésicules séminales et la prostate sont des sites privilégiés d'implantation (108). L'infection des vésicules séminales par *Brucella suis* s'accompagne d'une exsudation dans les canaux et acini, avec obstruction des canaux et formation d'abcès suivie d'une sclérose progressive des vésicules (84) ; de plus l'infection peut s'étendre aux organes voisins provoquant par exemple la formation d'abcès miliaires sur la prostate (89). Cependant, même si cette infection ne se traduit pas toujours par la présence de lésions macroscopiques, on observe systématiquement des lésions microscopiques et il y a sécrétion de *Brucella* dans la semence dans 75% des cas.

Le diagnostic de vésiculite est réalisé par palpation transrectale chez le taureau, examen complémentaire qui ne peut être réalisé chez le verrat. L'échographie des vésicules séminales par voie transrectale n'est recommandée qu'en cas de suspicion diagnostique très forte en raison de la difficulté de manipulation des verrats. D'autre part l'analyse bactériologique de la semence n'est d'aucune utilité pour identifier l'agent étiologique en raison de la forte contamination exogène de la semence. Le pronostic est fonction de l'agent étiologique, de la présence d'un autre foyer d'infection sur le tractus génital, de la durée et de la sévérité de l'infection et enfin de la valeur de l'animal. Ainsi, chez le taureau, la réforme est préconisée lors d'infection à *Brucella*, à *Mycoplasma* ou lors d'infections secondaires sur les testicules et épидидymes. Sinon le traitement est basé sur l'utilisation pendant au moins deux semaines d'un antibiotique à large spectre ou d'un antibiotique auquel l'agent pathogène est sensible (ce qui nécessite l'identification de l'agent étiologique et la réalisation d'un antibiogramme) (108).

Enfin l'**hypertrophie/hyperplasie** des vésicules séminales, avec proéminence de certains lobules, n'est pas rare chez le verrat et est considérée comme associée à une hypersécrétion (71).

3.2. Anomalies et pathologies de la prostate

Comme anomalie congénitale de la prostate chez le verrat, on a rapporté seulement la présence de **kystes congénitaux** de rétention, observée sur des verrats cryptorchides (71).

Les pathologies acquises de la prostate sont très rares chez le verrat et le taureau et peu spécifiques, à l'exception de la **prostatite** causée par *Brucella spp.* Celle-ci se traduit par une inflammation catharrale ou une abcéssation, la seconde étant plus fréquente avec *Brucella suis* qu'avec *Brucella abortus* (84). Cependant, la prostatite clinique reste rare dans ces deux espèces, alors que des infections subcliniques peuvent être plus fréquentes et dues à une variété d'agents microbiens responsables de vésiculite comme les *Chlamydia*, les *Mycoplasmes*, les *Uréaplasmes*, les bacilles tuberculeux (108)... Ainsi, des chercheurs indiens ont isolé des petits corps roses semblables à des corps élémentaires de *Chlamydia* sur des coupes histologiques de prostate présentant des pétéchies et des hémorragies intraluminales à l'autopsie d'un verrat qui éjaculait du sang dans la semence depuis une semaine (114).

D. Application de l'Insémination Artificielle dans l'espèce porcine

1. Description et utilisation de la semence porcine

1.1. Description et caractéristiques quantitatives

Le sperme est un liquide blanchâtre et visqueux émis par le mâle lors de l'éjaculation. Il est constitué de spermatozoïdes en suspension dans le plasma séminal et contient, chez le verrat, de nombreux granules gélatineux, le tapioca. Emis tout au long de l'éjaculation mais en plus grande proportion à la fin, il servirait de « bouchon » au niveau du col utérin pour éviter le reflux de l'éjaculat après la saillie. Ainsi la semence de verrat regroupe trois constituants : les spermatozoïdes, le plasma séminal et le tapioca. L'éjaculation dure en moyenne 8 minutes chez le verrat et peut être divisée en trois phases, différenciées par les proportions relatives des trois constituants (figure 21) (17):

- le pré-sperme, translucide car pauvre en spermatozoïdes, constitue 5 à 20% de l'éjaculat
- la fraction riche, laiteuse car riche en spermatozoïdes, représente 30 à 50% de l'éjaculat
- la fraction post-spermatique, plus claire que la fraction précédente car moins riche en spermatozoïdes, représente 40 à 60% de l'éjaculat

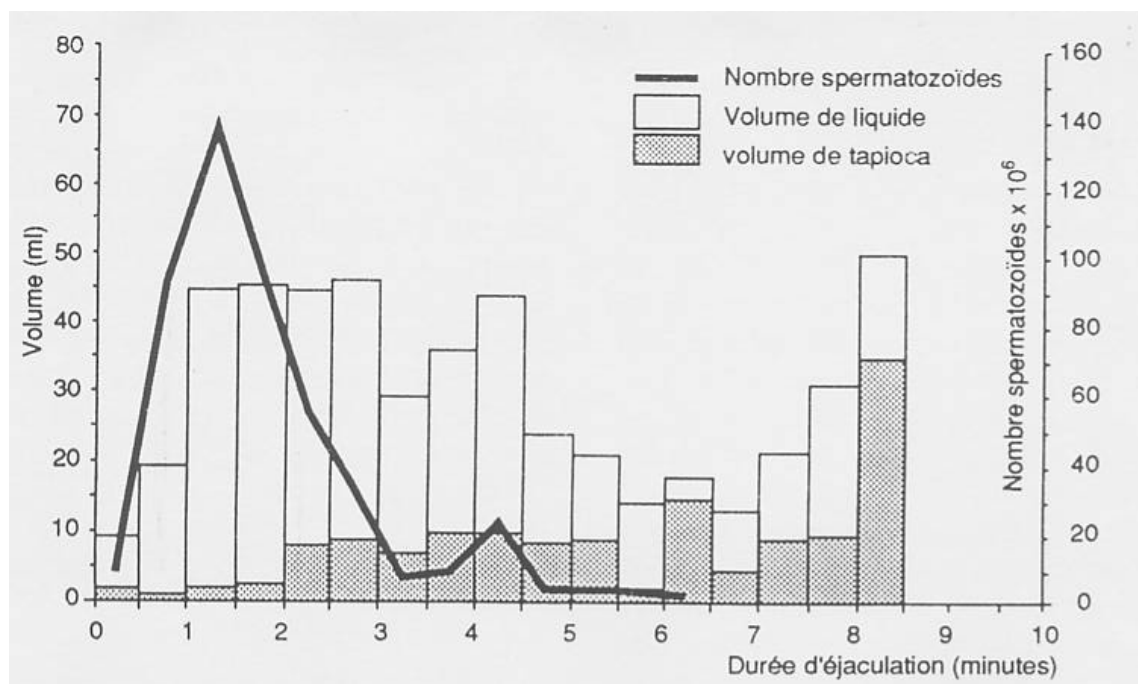


Figure 21 : diagramme des composants de l'éjaculat de verrat (CAMERON, 1989)

L'éjaculat de verrat est caractérisé par un volume important et une concentration spermatique relativement peu élevée (tableau 6). Ceci est en rapport avec le type d'éjaculation puisque le porc, comme le chien et le cheval, a une éjaculation de type utérin alors que le taureau, le bélier et le lapin ont une éjaculation de type vaginal et produisent un sperme peu abondant et très concentré.

Tableau 6 : caractéristiques moyennes et extrêmes de la semence porcine (MARTIN RILLO,1996)

	Moyenne	Valeurs extrêmes
Volume total (mL)	300	100-600
Volume de tapioca (mL)	115	40-200
Concentration (10^6 spz/mL)	250	150-700
Nombre total de spz (10^9 spz)	85	20-160

1.2. Méthodes classiques de récolte de la semence en Centre d'Insémination Artificielle

1.2.1. Principes de la récolte de semence et matériel utilisé chez le verrat

Chez le verrat, le chevauchement d'un simple mannequin suffit à obtenir l'érection alors que, chez l'étalon et le bouc, il est nécessaire d'utiliser un animal boute-en-train (à savoir une femelle en chaleurs ou un mâle castré) ; ainsi l'introduction de femelles est interdite dans les C.I.A. porcins par la législation.

Pour la plupart des espèces domestiques, la méthode la plus couramment utilisée consiste à obtenir l'éjaculation du mâle dans un vagin artificiel ; toutefois, chez le verrat, la technique de récolte vise à reproduire le blocage de l'extrémité en tire-bouchon du pénis dans le col utérin spiralé de la truie en exerçant manuellement une pression sur l'extrémité du pénis (98). Cette méthode, proposée par NIWA *et al.* en 1954, est reconnue comme étant la plus simple dès les années 60 et couramment utilisée depuis (106). Enfin Gènes Diffusion utilise depuis un an le système Collectis, qui assure une contention mécanique du pénis selon le même principe que la technique de la main gantée et qui permet à une personne de collecter plusieurs verrats à la fois.

La récolte de semence est généralement effectuée dans une salle de récolte, isolée des autres verrats et constituée de deux parties distinctes séparées par des barreaux. La partie pour le verrat est équipée d'un mannequin fixe et d'un sol grillagé anti-dérapant ; celle destinée au manipulateur comporte une petite fenêtre lui permettant d'atteindre le verrat tout en restant hors de portée et protégé des éventuels coups de dents, ainsi qu'un sas de liaison (chauffé à 37°C) avec le laboratoire permettant un transfert rapide de la semence récoltée sans variation de température (50). Cependant, il faut savoir que certains verrats ne se laissent collecter que dans leur case, ce qui oblige le préleveur à utiliser un mannequin mobile et à entrer dans la case avec le verrat, ce qui est dangereux. Le matériel nécessaire à la collecte comprend le mannequin fixé au sol ou mobile et une ou deux paires de gants en latex, ainsi qu'un récipient de récolte unique et stérile d'une contenance de 250 mL (c'est-à-dire un pot en plastique recouvert d'une gaze fixée par un élastique), le tout préalablement réchauffé dans une étuve à 37°C et placé dans une bouteille thermos lors de la collecte (91).

1.2.2. Technique et rythme de collecte de la semence de verrat

La collecte de semence nécessite patience, discipline et habitude (50). La technique est sensiblement la même entre les différentes structures spécialisées en I.A. porcine, telles que les C.I.A. privés ou les entreprises privées d'encadrement des élevages pratiquant le prélèvement à la ferme, telles que Synthèse Elevage ou KUBUS,S.A. On décrira donc la technique préconisée par MARTIN RILLO, à savoir la collecte de la fraction riche de l'éjaculat, qui peut être décomposée en plusieurs étapes successives (91):

- introduire le verrat dans la salle de récolte et le laisser faire pendant 2 à 3 minutes jusqu'à ce qu'il saute le mannequin
- une fois le verrat sur le mannequin, vidanger la bourse préputiale et nettoyer le fourreau avec du papier
- une fois la verge bien extériorisée, la saisir fortement par la main au niveau de l'extrémité en tire-bouchon en évitant soigneusement que la pointe de la verge soit en contact avec le gant....serrer fortement mais sans tirer jusqu'à l'érection totale
- éventuellement couper au ciseau les poils du fourreau afin d'éviter toute irritation
- éliminer les premiers jets puis placer le récipient de récolte le plus droit possible sous la verge, elle-même maintenue la plus haute et la plus droite possible
- ne récolter que la fraction riche, repérable par sa couleur blanchâtre et éliminer la fraction pauvre de couleur plus claire ainsi que le tapioca (à priori filtré par la gaze)
- accompagner l'éjaculation jusqu'à son terme afin de ne pas frustrer le verrat

Il faut savoir que chaque structure et chaque préleveur au sein des structures ont leur technique de collecte : c'est ainsi que certains ne vidangent pas le prépuce, que certains accompagnent l'érection par massage du fourreau, que certains collectent à mains nues, et que d'autres utilisent deux paires de gants, l'une sur l'autre, l'une pour vidanger le prépuce et accompagner l'érection, qu'ils ôtent avant de saisir la verge, c'est la technique des deux gants décrite par LE COZ (74). Ainsi, parmi les facteurs de variation de la qualité de semence, il faut considérer l'effet préleveur qui influence surtout la qualité microbiologique de la semence: la semence récoltée est plus ou moins contaminée selon que le préleveur vidange ou non le prépuce, s'il utilise une ou deux paires de gants...

La récolte de la semence est effectuée selon un rythme hebdomadaire à la SEIA de Rouillé mais d'autres structures (KUBUS,S.A. et Gènes Diffusion) se basent sur la quantité de doses produites par un éjaculat et préconisent un rythme bihebdomadaire si plus de 25 doses sont fabriquées à partir d'un éjaculat (91). GLOSSOP recommande un rythme de 3 collectes en deux semaines sur les verrats adultes (50).

Tableau 7 : comparaison des éjaculats et des caractéristiques de la production de semence de différentes espèces utilisées en IA (CHAMOULAUD, 1995)

Caractéristiques	Porcine	Bovine	Caprine	Ovine	Equine
Volume moyen d'éjaculat (mL)	300	3-5	1,2	1	100
Concentration (10^9 spz/mL)	0.25	1-2	3	3,5	0,15
Intervalle entre récoltes	5-7 jours	5-7 jours	2-3 jours	1 jour	2-3 jours
Nombre de spz/dose (10^6 spz)	3000	15 à 20	200	400	400
Nombre de doses par éjaculat	20	200 à 400	15	8	20
Volume d'une dose	100	0.25	0.25	0.25	
T° de conservation de la semence fraîche	+16°C	-	+5°C	+15°C	+4°C
Durée de conservation de la semence fraîche	2 à 4 jours	-	15 heures	10 heures	12 heures
Possibilité de congélation	+/-	++	++	-	+

1.3. Contrôle de routine de la qualité de semence et fabrication des doses d'I.A.

1.3.1. Contrôle de routine de la qualité de semence

Le contrôle de la qualité de semence est effectué immédiatement après la collecte, dans le laboratoire du C.I.A. par une personne autre que le préleveur et cantonnée strictement au laboratoire (aucun contact avec les verrats). Ce contrôle comprend le relevé des caractéristiques quantitatives de l'éjaculat, à savoir le volume, mesuré sur une balance régulièrement étalonnée et préalablement tarée, et la concentration spermatique, mesurée à l'aide d'un photomètre qui évalue la concentration en spermatozoïdes en mesurant la densité optique du sperme. Le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat ainsi que le nombre de doses potentielles sont calculés à partir des deux données précédentes, le nombre total de spermatozoïdes par dose étant fixé à trois milliards.

Cependant le volume et le nombre total de spermatozoïdes ne constituent que des critères secondaires de la qualité de semence puisqu'un ver rat peut produire un éjaculat dont le volume et la concentration en spermatozoïdes sont dans les normes mais avec une telle proportion de spermatozoïdes immobiles, anormaux ou agglutinés que l'éjaculat est inutilisable pour la fabrication de doses commerciales. C'est pourquoi l'analyse de la semence est aussi qualitative et basée sur l'appréciation microscopique de la motilité des spermatozoïdes, elle-même basée sur l'estimation de deux critères subjectifs, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et le type de mouvement observé sur l'ensemble des spermatozoïdes selon l'échelle de Bishop (46) (50) (tableau 8).

Tableau 8 : échelle de Bishop (selon MARTIN RILLO, 1994)

note	motilité individuelle
0	pas de déplacement
1	déplacements très lents, tremblements des spermatozoïdes ou oscillations des queues
2	déplacements lents, tremblements, mouvements inorganisés, quelques spermatozoïdes se déplaçant plus rapidement
3	déplacements curvilinéaires sans tremblements dans le mouvement
4	déplacements rapides, quelques cellules avec une trajectoire rectiligne, d'autres avec une trajectoire courbe
5	déplacements rectilignes et rapides

La motilité des spermatozoïdes est appréciée en posant une petite goutte de l'éjaculat sur une lame porte-objet, ensuite recouverte d'une lamelle, lame et lamelle étant à 37°C, puis en l'examinant au microscope au grossissement 100. Le mouvement général est apprécié par le pourcentage de spermatozoïdes en mouvement et par le type de mouvement observé, noté de 0 à 5 sur l'échelle de Bishop. Les résultats moyens sont de 75 à 85% pour la motilité et de 3 à 4 pour le type de mouvement. Sur cette même lame on observe aussi l'agglutination, qui est une accumulation plus ou moins importante de cellules spermatiques et qui est évaluée par une note de 0 croix à 3 croix (les cellules agglutinées ne sont évidemment pas prises en

compte dans le pourcentage des cellules en mouvement). Il est très important d'effectuer l'évaluation de la motilité des spermatozoïdes avec un microscope équipé d'une platine chauffante, les spermatozoïdes exposés à des températures inférieures à 37°C ayant des mouvements plus lents et plus sinueux, ce qui peut conduire à une mésestimation de la qualité de la semence (74).

Cette appréciation de la motilité des spermatozoïdes est la technique de référence, utilisée par tous les C.I.A. Facile et rapide à mettre en œuvre mais très subjective, elle doit être réalisée par un opérateur expérimenté et, dans la mesure du possible, par le même opérateur dans un C.I.A., afin d'assurer la valeur du suivi des données de production enregistrées. Selon les C.I.A. l'évaluation de la motilité peut être effectuée sur semence pure ou sur semence diluée ou encore avant et après dilution. Cependant M. Bussièrre de l'U.E.I.C.P. de Rouillé confie, avec ses quarante ans d'expérience de contrôle de la qualité de semence, qu'il est possible de surestimer la motilité d'un éjaculat trop concentré, d'où la nécessité de pré-diluer les éjaculats trop concentrés avant de les noter. Toujours selon lui, un opérateur de laboratoire de C.I.A., habitué à des semences avec 80-90% de spermatozoïdes mobiles et 3-4 de motilité, a plus de mal à noter des semences de mauvaise qualité avec moins de 50% de spermatozoïdes mobiles, l'observation au microscope étant gênée par les spermatozoïdes morts flottant au dessus des spermatozoïdes mobiles.

1.3.2. Fabrication des doses commerciales d'I.A.

Tous les éjaculats ne peuvent pas être utilisés pour fabriquer des doses commerciales d'I.A. car ils doivent permettre une conservation correcte et pour cela ils doivent avoir une qualité initiale suffisante. C'est pourquoi il existe des critères d'utilisation, fixés de façon arbitraire et donc variables selon les auteurs et les structures d'I.A.

Les critères d'utilisation de l'éjaculat pour la fabrication de doses commerciales d'I.A. ne sont pas fixés par la législation qui n'impose pas non plus leur déclaration officielle ; aussi sont-ils très variables entre les structures d'I.A. et entre les C.I.A. Par exemple, Cobiporc se base sur la notion originale de spermatozoïdes « utiles ». La plupart des structures d'I.A. se basent avant tout sur les critères de motilité pour juger si un éjaculat est utilisable ou non, avec, comme limites inférieures, 80% de spermatozoïdes mobiles et un type de mouvement de 3, en dessous desquelles la semence est jetée. Outre le pourcentage de spermatozoïdes mobiles, l'opérateur considère aussi le phénomène d'agglutination des spermatozoïdes, à savoir le regroupement des spermatozoïdes en agglutinats, provoqué soit par une filtration insuffisante du tapioca (tapioca visible au microscope) (74) soit par des anomalies de la tête des spermatozoïdes (la réaction acrosomique se produisant avec les autres spermatozoïdes au lieu de se produire avec l'ovule). La présence d'agglutinats n'entraîne pas un rejet systématique de la semence, mais seulement si elle concerne plus de 25% des spermatozoïdes et qu'elle s'accompagne d'une baisse de la motilité et/ou d'une forte proportion de spermatozoïdes anormaux. Enfin, les opérateurs expérimentés sont capables d'évaluer de manière semi-quantitative la présence d'anomalies spermatiques, les types d'anomalies et leurs proportions et de décider ainsi de la non-utilisation d'un éjaculat s'il contient plus de 25% de spermatozoïdes anormaux.

Ainsi, un éjaculat destiné à la fabrication de doses commerciales d'I.A. doit satisfaire à certaines exigences basées sur des critères essentiels pour la survie et le transport des spermatozoïdes jusqu'au gamète femelle, les seuils utilisés à l'U.E.I.C.P. sont les mêmes que ceux préconisés par LE COZ de Synthèse Elevage (90). Ils sont réunis dans le tableau 9.

Tableau 9 : critères d'utilisation d'un éjaculat pour la fabrication de doses commerciales et seuils inférieurs

Critères d'utilisation d'un éjaculat	Seuils
Pourcentage de spermatozoïdes mobiles	≥ 75
Type de mouvement	≥ 3
Pourcentage de spermatozoïdes anormaux	≤ 25
Pourcentage de spermatozoïdes agglutinés	≤ 25

La décision de commercialisation d'un éjaculat entraîne sa dilution immédiate par ajout du dilueur, le mélange semence fraîche – dilueur étant ensuite fractionné en doses individuelles d'I.A. Les recommandations de GLOSSOP concernant le volume et la concentration des doses d'I.A. sont de 2,5 à 3 milliards de spermatozoïdes par dose pour un volume de 75 à 100 mL (50). Le volume de dilueur nécessaire pour obtenir le nombre de doses est obtenu à partir du nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat, en se basant sur un volume de dose de 90 mL et un nombre de spermatozoïdes par dose de 3 milliards (données U.E.I.C.P.) :

$$\text{Volume de dilueur (en mL)} = \left(\frac{\text{nombre total de spz}}{3 \text{ milliards}} * 90 \right) - \text{volume de l'éjaculat (en mL)}$$

La dilution doit être effectuée immédiatement après le contrôle de la qualité de la semence et la décision d'utilisation de l'éjaculat pour la fabrication de doses commerciales pour garantir une bonne conservation de la semence diluée. En effet, on constate une dégradation des spermatozoïdes au delà de 2 heures (74). C'est pour éviter cette dégradation que le stockage de la semence se fait sous forme de semence diluée, ainsi qu'à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 17 et 18°C (50). Le dilueur a donc pour rôle d'empêcher cette dégradation par quatre moyens (73) :

- en protégeant les spermatozoïdes de l'acidification due à l'accumulation d'acide lactique, produit de dégradation anaérobie des sucres, grâce à des substances tampons,
- en maintenant l'intégrité des membranes spermatiques grâce à une pression osmotique et un pH proche de celle de la semence pure
- en luttant contre la prolifération de micro-organismes par ajout d'antibiotiques comme la gentamycine
- en constituant une source d'énergie indispensable aux spermatozoïdes.

Il existe de nombreux dilueurs dont la composition, très souvent confidentielle, est sensiblement la même et qui diffèrent par l'ajout d'un composant original comme un antibiotique par exemple (tableau 10). Parmi les composants standards, on retrouve le glucose, qui est le seul sucre, car mieux assimilé par les gamètes que le fructose, le citrate de sodium, le bicarbonate de sodium et le Tris, qui sont des tampons, l'EDTA qui protège les lipides membranaires de la peroxydation. Le dilueur utilisé à l'U.E.I.C.P. est le B.T.S. (***) alors que Gènes Diffusion a son propre dilueur. La société espagnole KUBUS,S.A., spécialisée en I.A. porcine, a élaboré son propre dilueur, le MR-A ou DP-Sow, qu'elle commercialise dans le monde entier. Sans entrer dans la polémique concernant l'efficacité respective de ces dilueurs en raison de leur composition plus ou moins originale, il faut retenir que le B.T.S., considéré par PAQUIGNON *et al.* en 1987 comme « le meilleur dilueur pour la dilution et la conservation de la semence », est encore aujourd'hui le dilueur le plus utilisé, additionné de gentamycine.

Tableau 10: Compositions et caractéristiques respectives de principaux dilueurs commerciaux d'après :

(1) WABERSKY *et al.*, *Animal Reproduction Science*, 1994, 36: 145-154,

(2) thèse de M. Paquignon, 1989, annexe 1, tableau 2

(3) (93)

composants (g)	IVT (3)	BL1 (3)	INRA ITP	BTS (3)	Kiev (1)	Guelph (2)	Modène (3)	Zorlesco (3)	MR-A
Glucose	3	29	36	37	60	60	27,5	11,5	+
Citrate de Na 2 H ₂ O	19,9	10	2,928	6	3,7	3,7	6,9	11,7	+
Bicarbonate de Na	2,1	2		1,25	1,2	1,2	1	1,8	+
Bicarbonate de K			2,018						
EDTA				1,25	3,7	3,7	2,3	2,1	+
KCl	0,4	0,3	1,136	0,75					
Mg Cl ₂			0,412						
Sulfanilamide	3								
TRIS								6,5	
HEPES									
Acide citrique							2,9	4,1	
Albumine sérique bovine								5	+
Cystéine								0,08	+
Eau distillée	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	+
pH	7,3	8,2		7,1	7,2	6,9			6,6
P.O. (mOsm l ⁻¹)	305	325		317	380	450	240	240	290

La plupart des techniques d'I.A. (toutes espèces confondues) préconisent de préchauffer le dilueur à 37°C et de le verser sur la semence et non l'inverse. Cependant, M. Bussière de l'U.E.I.C.P., chauffe le dilueur à 37°C puis le laisse baisser lentement en température avant de le verser sur la semence elle-même à une température de 35°C, et ce afin de limiter les chocs thermiques.

Ainsi la conservation de la semence de verrat sous forme fraîche est basée sur deux principes, la réduction du métabolisme des spermatozoïdes par le refroidissement et le stockage de la semence à 15°C et la dilution dans un milieu nourricier, le dilueur.

2. Spécificités porcines de la production de semence et avantages et inconvénients

2.1. Spécificités de la production de semence porcine

2.1.1. Adaptation à l'espèce porcine

L'espèce porcine est très adaptée à la production de semence en CIA et à la diffusion en semence fraîche diluée grâce à :

- la facilité de récolte du sperme (sans danger contrairement aux étalons et aux taureaux et sans recours à une femelle en chaleurs contrairement aux étalons et aux boucs) (27)
- la productivité élevée (un éjaculat permet de fabriquer 20 à 40 doses d'I.A. en moyenne)
- l'utilisation de semence fraîche diluée (et non de la semence congelée comme pour les boucs)

- la durée de conservation de la semence fraîche (avec utilisation possible jusqu'à trois à quatre jours après la livraison des doses)
- la conduite en bandes avec groupage des inséminations en début de semaine permettant des envois groupés de doses à un même éleveur (contrairement aux bovins pour lesquels l'inséminateur se déplace souvent pour une vache en chaleurs)

2.1.2. Origine des verrats et introduction en C.I.A.

A l'heure actuelle, les verrats présents en C.I.A. n'appartiennent pas aux C.I.A. eux-mêmes mais à des élevages de sélection dépendants des Organisations de Sélection Porcine ou O.S.P. qui ont créé les schémas génétiques dont les verrats sont issus. Les verrats sont donc en « location » et les C.I.A. doivent reverser une part des revenus réalisés par la vente des doses aux OSP concernés qui en restituent une partie aux éleveurs sélectionneurs (81).

L'organisation actuelle de l'amélioration génétique en France obéit à la procédure de 1995 du Ministère de l'Agriculture, application des directives européennes concernant les organismes intervenant dans la production de reproducteurs porcins de Populations Animales Sélectionnées ou P.A.S. ; ainsi seules les O.S.P. agréées par le Ministère de l'Agriculture sont habilitées à placer des verrats en C.I.A. (74). Actuellement sept O.S.P. ont reçu un agrément pour la tenue du Livre Généalogique de 31 P.A.S. ; on distingue deux types d'organisations des Livres Généalogiques (on peut parler de schémas) (82):

- les **schémas publics** (Nucléus, ADN, Arco, Bretagne Porc Sélection, France Sélection, Porfimad et Gène+), qui forment l'association des L.G.P.C. ou **Livres Généalogiques Porcins Collectifs**. Ils tiennent de façon collective les livres généalogiques des races Large White, Landrace Français et Piétrain. Ils sont encadrés par l'INRA. et l'I.T.P. Ils partagent les mêmes objectifs de sélection, un protocole de mesure unique et une évaluation génétique commune (BLUP-modèle animal), c'est-à-dire que leurs verrats ont leurs index régulièrement calculés par l'I.T.P. selon la méthode BLUP et publiés (74).
- les **schémas privés** (Pen Ar Lan, Scapaag, Topigs, Pig International Corporation et France Hybride). Ils se partagent la tenue des livres de 28 P.A.S. détenues de manière exclusive par une OSP à la fois. On parle alors de **Livres Généalogiques Autonomes**. Contrairement aux schémas publics, ils ne sont pas soumis à l'obligation de publier les index de tous leurs verrats mais seulement à un contrôle obligatoire annuel des verrats terminaux par l'INRA et l'I.T.P.

Schémas publics et privés se partagent assez également le marché du point de vue du nombre de verrats appartenant à chaque schéma, avec tout de même 20% des verrats présents en C.I.A. appartenant à Pen Ar Lan (données I.T.P., 2001). La distribution des verrats d'un schéma dans différents C.I.A. est fonction de la demande des centres, elle-même étant fonction des débouchés de chaque centre. Par exemple, la collaboration avec des élevages de sélection ou de multiplication conditionne le besoin du centre plutôt vers les races pures que vers les verrats terminaux.

L'introduction des verrats dans un C.I.A. et son utilisation en insémination artificielle est conditionnée à l'obtention de deux agréments, l'agrément sanitaire, demandé par le centre qui doit exploiter le verroat et délivré par les Services Vétérinaires et l'agrément zootechnique, demandé par l'OSP et délivré par la DRAF (55).

L'agrément zootechnique est obtenu selon l'index BLUP attribué au verrat selon le principe de supériorité génétique par rapport à ses contemporains : un verrat de C.I.A. doit être améliorateur de sa lignée au point de vue génétique. Le BLUP (Best Linear Unbiased Predictor) présente de nombreux avantages puisqu'il permet d'éviter le passage en station de testage, autrefois obligatoire sur tous les verrats destinés à un C.I.A. afin d'effectuer les contrôles de performance, ce qui posait des problèmes sanitaires de mélange d'animaux d'origines diverses et de statuts sanitaires différents. En effet, le BLUP permet de corriger tous les biais dus aux effets élevage, saison...pour obtenir la valeur génétique de l'animal. L'obtention de la valeur génétique d'un individu relève de calculs complexes, dans lesquels on tient compte de ses propres performances, ainsi que celles de ses ascendants, descendants et collatéraux, avec une pondération adaptée. Les données obtenues sont fournies avec un coefficient de détermination (CD) compris entre 0 et 1, l'index étant d'autant plus fiable que le CD se rapproche de 1 (22). Ainsi les index BLUP sont calculés toutes les trois semaines par l'I.T.P. à partir des données relevées par les éleveurs sélectionneurs ainsi qu'à partir des contrôles de performances effectués en ferme par les techniciens de groupement mandés par les O.S.P. (mesures d'épaisseur de gras dorsal...). En effet, chaque O.S.P. est responsable de la centralisation et de l'envoi à l'I.T.P. des données de ses élevages adhérents. A l'entrée en C.I.A., l'index des verrats de races pures correspond à la moyenne des index de ses parents, avec un Coefficient de Détermination CD de 0.16 (valeur minimale) alors que l'index des verrats terminaux correspond à la moyenne des index de ses parents, à laquelle on ajoute ses propres valeurs et celles de ses collatéraux (les qualités bouchères étant évaluées à l'abattoir sur un frère), ce qui augmente donc le CD. Ainsi, plus un verrat est utilisé en I.A. avec de bons résultats sur la descendance, plus le CD de son index est élevé et donc plus sa valeur amélioratrice est assurée. Par contre, les index des verrats de race pure chutent en général à mesure de leur utilisation en sélection car ils sont rattrapés par leurs descendants qui sont des futurs reproducteurs ; lorsque l'index est trop bas, le verrat est réformé car il n'est plus améliorateur.

L'agrément sanitaire, dont les conditions d'obtention ont été redéfinies par l'Arrêté Ministériel de 16 Novembre 1992, est obtenu après le respect d'une période d'isolement de trente jours, appelée quarantaine, et après l'obtention de résultats négatifs aux contrôles sanitaires obligatoires avant l'entrée en C.I.A., réalisés en deux séries. Une première série de contrôles est effectuée par l'O.S.P. dans les trente jours précédant la quarantaine avec dépistage de la Brucellose par la méthode de fixation du complément et de la maladie d'Aujesky, de la Peste Porcine Classique et du Syndrome Dysgénésique Respiratoire Porcin (SDRP). Pour la Maladie d' Amaigrissement du Porcelet (MAP), l'O.S.P. doit fournir une attestation assurant que le verrat provient d'un élevage dont les animaux n'ont pas manifesté de signes cliniques de MAP depuis 6 mois. Enfin, à l'arrivée en quarantaine, le verrat doit être accompagné d'un certificat clinique attestant la qualité des aplombs et l'intégrité de l'appareil reproducteur. Une deuxième série de contrôles est effectuée par le C.I.A. pendant la période de quarantaine, avec dépistage de la Brucellose par deux méthodes différentes, de la maladie d'Aujesky et un dépistage sérologique ou un traitement contre la Leptospirose, ainsi qu'un examen clinique centré sur l'appareil génital et un examen de la qualité de la semence sur un éjaculat. Le spermogramme est réalisé par le Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs ou LCR avec étude de la qualité bactériologique de la semence pure et de la qualité fonctionnelle de la semence diluée et a pour conséquence l'autorisation ou l'interdiction d'introduction du verrat dans le C.I.A. Enfin, les verrats introduits restent soumis à des contrôles sanitaires obligatoires réguliers pendant toute leur carrière. Un examen annuel de l'appareil génital et de la semence est effectué par un vétérinaire, ainsi qu'un dépistage annuel Brucellose et des

dépistages trimestriels Aujesky et Peste Porcine Classique, ces contrôles doivent bien entendu être négatifs pour que l'autorisation d'utilisation du verrat en I.A. soit maintenue.

Le suivi sanitaire étroit effectué sur les verrats de C.I.A. avant leur introduction en C.I.A. et tout au long de leur carrière est nécessaire face aux risques de transmission d'agents infectieux par les doses d'I.A. qui voyagent dans toute la France mais qui peuvent aussi être exportées dans le monde entier. Ainsi, des agents de maladies à déclaration obligatoire, comme la Brucellose, ont été retrouvés dans la semence de verrat, ainsi que des agents de Maladies Réputées Légalement Contagieuses comme la maladie d'Aujesky, dont la transmission par la semence a été démontrée. C'est pourquoi le suivi du statut sanitaire des C.I.A. et des animaux introduits dans ces C.I.A. concernant ces maladies est nécessaire, ainsi que l'élimination des animaux séropositifs en quarantaine. D'autre part, d'autres agents infectieux comme le virus du SDRP ou encore le parvovirus porcine peuvent être présents dans la semence de verrat et transmis lors de l'insémination (86) (75), ce qui explique que la plupart des C.I.A. réalisent des contrôles supplémentaires concernant ces maladies. En effet les conséquences de la présence d'un seul verrat positif dans un C.I.A. ou encore la confirmation de la contamination d'élevages de truies à partir de doses d'I.A. peuvent être catastrophiques pour un C.I.A. puisque pour la Brucellose ou la maladie d'Aujesky, le C.I.A. est mis en interdit et les verrats font l'objet d'un abattage sélectif ou total après la réalisation de dépistages sérologiques sur tous les verrats. Même sans conséquences légales, l'activité d'un C.I.A. est alors fortement compromise.

2.2. Fonctionnement d'un C.I.A. porcine

2.2.1. Organisation de la production de semence

Pour pouvoir vendre des doses d'I.A. à des élevages privés, un C.I.A. porcine doit être agréé par la Direction Générale de l'Alimentation selon des normes européennes qui exigent que le directeur du C.I.A. soit un ingénieur agronome ou un docteur vétérinaire. Ainsi un éleveur possédant des verrats ne peut en aucun cas vendre à d'autres éleveurs des doses fabriquées par lui à partir de la semence de ses verrats. Par contre, les commandes aux C.I.A. de doses d'I.A. par les éleveurs ne font plus l'objet d'aucune restriction territoriale : il n'existe pas d'attribution géographique et chaque éleveur peut commander des doses au centre de son choix.

Un C.I.A. porcine, même s'il peut prévoir les commandes cycliques des habitués, a sa production journalière conditionnée par la demande du jour. Chaque C.I.A. a des horaires fixes pendant lesquels les éleveurs peuvent passer leurs commandes en précisant le nombre de doses simples ou doubles désirées, le type génétique voire même le numéro du verrat désiré, ainsi que l'adresse de livraison et le moment de la livraison, à savoir l'après-midi même ou le lendemain en fonction de la durée du transport. De plus la règle est de livrer des doses fabriquées le jour même, pour garantir la fraîcheur et donc la qualité de la semence. Cependant, la nécessité d'utiliser des doses du jour provient d'une idée préconçue des éleveurs alors que la qualité de semence, en terme de viabilité des spermatozoïdes, semble être la même voire parfois légèrement supérieure à J1 ou J2 après la collecte. Cependant, beaucoup d'éleveurs commandent une fois des doses qu'ils utilisent ensuite toute la semaine. Ainsi, il est nécessaire d'adapter le plus étroitement possible le nombre et les types génétiques des verrats récoltés au nombre de doses commandées par les éleveurs. Cette adaptation nécessite la maîtrise d'un opérateur expérimenté ou bien le recours à un logiciel informatique de gestion afin d'adapter l'offre à la demande et de limiter les excédents de doses à la fin

d'une journée. Le défi quotidien pour les techniciens de C.I.A. est donc de faire face à de multiples contraintes et d'évaluer justement le nombre de verrats à prélever en fonction de la demande en doses, en plus de la qualité du produit et du service rendu à l'éleveur. Pour faciliter l'organisation du travail en C.I.A. et optimiser le service de livraison, Cobiporc a cherché à fidéliser ses éleveurs dans leur prise de commande. Ainsi, en 1996, les trois quart de leurs adhérents s'approvisionnaient déjà selon un planning de livraison (126).

En général, la production des doses a lieu en début de journée (voire pendant la nuit, ce qui est le cas pour les C.I.A. privés dans la nuit de dimanche à lundi voire du lundi au mardi, pour répondre à la forte demande du lundi matin). Ainsi, à l'U.E.I.C.P. de Rouillé les collectes commencent à partir de 6h30 le lundi matin et 7h30 les autres jours de la semaine et les commandes sont prises jusqu'à 9h30 du matin pour être prêtes lors du passage du transporteur à 10h00 ; il n'y a aucune collecte l'après-midi. Cependant, pour répondre aux commandes intempestives des éleveurs, certains C.I.A. privés prennent les commandes jusqu'à 14h00 et effectuent donc au besoin des collectes l'après-midi pour que les doses soient livrées à l'éleveur le lendemain matin. Enfin, il faut noter que la nouvelle technique de conditionnement et de mise en place de la semence utilisée chez Gènes Diffusion, le Gédis, entraîne une modification de l'organisation du travail dans les C.I.A. puisque le conditionnement est différé d'une heure afin de laisser refroidir la semence ; en effet la dose est fermée par un bouchon de cire spécialement conçu pour fondre lors de la mise en place dans la truie donc à 37°C, ce qui correspond aussi à la température de la semence fraîche après dilution dans un dilueur à 37°C, d'où la nécessité de laisser baisser la température de la semence diluée avant de remplir les doses.

Ainsi, le travail en C.I.A. est intense et concentré à la fois en début de semaine (85% des ventes sont réalisées le lundi et le mardi chez Cobiporc) et en début de journée puisqu'il nécessite une adaptation étroite des récoltes de semence (soumises aux aléas biologiques inévitables tels qu'un verrot qui ne monte pas le mannequin ou un éjaculat de mauvaise qualité...) à la demande des clients qui est conditionnée par la venue en chaleurs des truies (le sevrage ayant lieu le mercredi ou le jeudi, les premiers retours en chaleurs interviennent le lundi, voire même le dimanche). On peut donc comprendre qu'il n'y a pas de place dans ce système de production pour des verrats produisant une semence de mauvaise qualité, sources de perte de temps, inacceptable dans la dynamique de travail que s'imposent les CIA ; dans ce contexte, la réforme pour mauvaise qualité de semence a donc une justification économique et pratique.

2.2.2. Quarantaine et renouvellement des verrats de CIA

Nous prendrons comme exemple le centre Gènes Diffusion de Niort pour décrire le fonctionnement du CIA en terme de gestion du parc de verrats (renouvellement et réforme des verrats).

Le centre de Niort, qui compte en moyenne 190 verrats pour 200 places disponibles, travaille avec trois quarantaines de 10, 11 et 12 places chacune et géographiquement distinctes, dans lesquelles les futurs verrats de CIA restent deux mois avant d'être introduits en CIA. Ces quarantaines sont conduites en tout plein - tout vide et servent à l'observation des jeunes verrats, à la détection d'éventuels signes de maladie qui leur interdirait l'entrée en CIA et à la réalisation des contrôles sérologiques obligatoires avant leur introduction en CIA. Ainsi 15 jours après l'introduction d'un lot de verrats en quarantaine, le vétérinaire effectue un examen clinique et la première prise de sang obligatoire, sur laquelle sont effectués les dépistages de

la maladie d'Aujesky, le SDRP, la Peste Porcine Classique et la Brucellose EAT. Un deuxième contrôle sérologique est effectué trois semaines après le premier, pour les mêmes maladies à l'exception de la Peste Porcine Classique ; ce deuxième contrôle est accompagné d'un traitement anti-parasitaire, d'un traitement contre la leptospirose et d'une vaccination Parvovirose et Rouget. Ainsi chaque verrat doit avoir une sérologie négative pour la PPC, Aujesky, Brucellose et S.D.R.P. avant d'entrer en quarantaine.

La quarantaine a aussi pour but de réaliser une collecte de semence envoyée au Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs afin d'obtenir l'agrément officiel qui fait du verrat un verrat de CIA, apte à produire de la semence commercialisable sous forme de doses d'insémination artificielle.

En quarantaine, les verrats peuvent être réformés pour des problèmes d'aplombs ainsi que pour des contrôles sérologiques positifs avec notamment la problématique des réactions croisées Brucella-Yersinia. Il arrive aussi que des verrats en quarantaine meurent de crises cardiaques.

2.2.3. Conduite et causes de réforme des verrats de CIA

La décision de réforme est prise en accord entre le responsable du centre, le personnel du laboratoire et les animaliers effectuant les collectes. Il faut en général compter une semaine de délai entre la décision de réforme et le départ du verrat pour l'abattoir, cependant ce délai est aussi fonction :

- du besoin en verrats des abattoirs
- de l'urgence de la réforme avec priorité aux réformes pour problèmes locomoteurs et mauvaise semence (qui ne servent plus à rien) par rapport aux réformes pour âge avancé (qui peuvent encore être collectés au besoin)
- de l'arrivage de verrats provenant de quarantaine, dont le nombre est fonction du nombre de réformes planifiées

La date et la cause des réformes sont enregistrées dans le fichier carrière de façon systématique, la date de réforme correspond à la date de départ du verrat du centre et non à la date de la décision de réforme.

Les différentes causes de réforme sont codifiées comme suit :

- la réforme pour **mauvaise qualité de semence** est avant tout basée plutôt sur la présence en grande quantité de spermatozoïdes anormaux ou d'agglutinats ou encore sur le constat d'une azoospermie totale. Elle peut également être la conséquence d'une baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles, avec un délai entre le constat et la décision d'au moins 1 mois, c'est-à-dire 4 collectes successives.
- concernant le centre de Niort, la réforme pour **maladie** correspond essentiellement aux réactions croisées Brucella-Yersinia lors des contrôles sérologiques ; ainsi ce centre semble peu concerné par la réforme pour maladie autre.
- la réforme pour **problèmes locomoteurs** concerne des verrats atteints d'arthrites et de boiteries n'ayant pu être résolus par l'antisepsie des plaies et le traitement antibiotique par voie générale.

- la **mortalité** correspond soit à des bagarres entre verrats sortis de leurs cases, soit à des mortalités subites d'origine cardiaque ou autre (syndrome « entérotoxémie » par exemple).
- la réforme pour **âge avancé** concerne les verrats au-delà de 3 ans d'âge, ce qui correspond à une carrière de 2 ans et demi. Cette catégorie de réforme permet aussi de libérer de la place pour les verrats provenant de quarantaine. Il faut noter que cette réforme concerne à priori peu les verrats de race pure, pour lesquels il y a réforme systématique après 1 an de carrière (sauf de rares exceptions). En effet, la plupart des schémas génétiques souhaitent être représentés dans les CIA par des verrats jeunes. La politique globale de Gènes Diffusion concernant l'âge des verrats est d'avoir une carrière moyenne de 18 mois. Ainsi, compte tenu des réformes anticipées (problèmes locomoteurs, mortalité...), certains verrats font des carrières supérieures à 24 mois. Cependant, le but de Gènes Diffusion est d'avoir le moins possible de verrats considérés "vieux", tout en satisfaisant la demande du terrain grâce à l'ajustement de l'offre du centre.
- la réforme pour cause **génétique** concerne essentiellement les races pures et correspond à deux cas distincts : soit la baisse de l'indice BLUP, qui mesure l'amélioration génétique apportée par l'animal, soit, concernant les Large White Hyper, une mauvaise conformation du verrat, qui le rend peu valorisable.
- la catégorie **divers** correspond pour le centre de Niort, à des refus définitifs de monte (même après injection de prostaglandines) ou encore à des verrats n'étant plus demandés par les éleveurs. Cependant il est possible que cette catégorie de réforme corresponde à autre chose dans les autres centres Gènes Diffusion.

3. Facteurs de variation de la qualité de semence

De nombreux facteurs peuvent faire varier les caractéristiques quantitatives (volume, concentration et nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat) et qualitatives (taux de spermatozoïdes vivants, mobiles ou présentant des anomalies, note de motilité, aptitude à la conservation en semence fraîche ou congelée...) d'un éjaculat. On distingue des facteurs intrinsèques, liés à l'animal tels que sa race, son âge et son état de santé, et des facteurs extrinsèques, subis par l'animal, tels que le rythme de collecte, l'alimentation, les variations saisonnières de température et de photopériode et les conditions d'élevage. Ces facteurs interviennent au stade d'élaboration de la semence dans le tractus génital. Cependant, la qualité de la semence peut aussi être altérée pendant ou après la récolte. En effet, une fois la semence récoltée, elle se trouve dans un milieu non naturel, auquel elle n'est pas adaptée ; c'est pourquoi elle est conditionnée avec un dilueur permettant sa conservation. La manipulation de la semence fraîche est donc assez délicate et de nombreux facteurs peuvent avoir un effet délétère direct sur sa qualité, tels que la lumière solaire directe, un choc thermique, des contaminants biologiques ou des substances chimiques spermicides ou encore des substances iatrogènes. Nous envisageons tout d'abord les facteurs liés à l'animal, puis les facteurs extérieurs agissant sur la spermatogenèse puis les facteurs agissant directement sur la semence.

3.1. Facteurs intrinsèques

3.1.1. Race

L'influence de la race sur les caractéristiques séminales a été mise en évidence par de nombreux auteurs grâce à des travaux de comparaison à différentes échelles et sur des effectifs variables. Cependant les résultats des comparaisons entre races peuvent varier d'une étude à l'autre en raison des différences d'échantillonnage ou à cause d'interactions de l'effet race avec d'autres effets tel que celui de l'âge ou encore la saison... Ainsi pour les races pures, KENNEDY et WILKINS ont montré des effets significatifs de la race sur toutes les caractéristiques séminales. Ils ont mis en évidence l'infériorité globale des Lacombe par rapport aux autres races et pour toutes les caractéristiques séminales (tableau 11) et la supériorité relative des autres races, chacune excellant pour une des caractéristiques séminales : le volume pour les Hampshire, la concentration et le pourcentage de spermatozoïdes vivants pour les Duroc, la note de motilité pour les Yorkshire (68).

Tableau 11 : Effet de la race sur les caractéristiques de la semence de verrat (KENNEDY et WILKINS, 1984)

Breed	Volume (mL)	Concentration (10 ⁶ /mL)	Live sperm (%)	Motility score	Potential doses
Yorkshire	90.8 ± 1.9	806 ± 19	61.36 ± 0.37	11.96 ± 0.09	14.69 ± 0.44
Hampshire	96.1 ± 3.2	674 ± 32	59.68 ± 0.61	11.50 ± 0.15	12.50 ± 0.74
Duroc	79.1 ± 2.7	814 ± 27	61.49 ± 0.52	11.89 ± 0.13	12.85 ± 0.63
Landrace	93.5 ± 3.2	751 ± 32	60.97 ± 0.60	11.85 ± 0.15	13.72 ± 0.74
Lacombe	70.8 ± 6.8	587 ± 68	58.59 ± 1.30	11.40 ± 0.32	7.73 ± 1.59

Ces résultats sont d'autant plus fiables qu'ils ont été obtenus sur un effectif de 166 verrats et sur une période de 9 années, alors que SWIESTRA et RAHNEFELD en 1967 et SWIESTRA en 1968 ont travaillé sur des effectifs respectifs de 20 et 44 verrats de races Yorkshire et Lacombe et sur des périodes courtes. Ils n'ont trouvé aucune différence entre races concernant le volume d'éjaculat avec ou sans tapioca, la concentration, le nombre de spermatozoïdes et le pourcentage de spermatozoïdes mobiles (120)(121). L'explication tient sans doute aux faibles effectifs et durées des études, qui laissent une place trop importante aux variations individuelles ; selon SWIESTRA, les différences entre verrats au sein d'une même race sont significatives pour toutes les caractéristiques séminales. SWIESTRA, dans une autre étude réalisée en 1973 sur 188 verrats de races Yorkshire et Lacombe, a quand même montré sur les moyennes de deux éjaculats des différences entre races au niveau du volume, de la concentration et du nombre de spermatozoïdes, les Yorkshire ayant une meilleure qualité de semence que les Lacombe à l'âge de 8 mois (121). Cependant, ces différences disparaissent vers 9 à 11 mois d'âge, ce qui suggère que les Yorkshire atteignent leur maturité sexuelle plus tôt que les Lacombe. D'autre part COLON et KENNEDY ont comparé en 1978 des verrats croisés Hampshire-Duroc à des verrats de race pure Hampshire, Duroc et Landrace et ont confirmé l'existence de différences significatives entre races pour le volume, la concentration, les taux de spermatozoïdes vivants et normaux ; de plus ils ont montré un important effet d'hétérosis concernant uniquement le volume (le volume d'un éjaculat de verrat croisé étant supérieur au double de celui des verrats des lignées parentales) (27). Enfin, une étude de l'I.N.R.A. menée par GUILLOUET *et al.* en 1999 sur un effectif de 166 verrats de 6 types génétiques étalé sur une période de 9 années a confirmé l'existence d'un effet race sur les caractéristiques de la semence et a permis de classer les races selon le nombre total de spermatozoïdes par ordre croissant : Large White Hyper > Large White - P76 - Piétrain*Large White > Landrace Français > Piétrain (54). Cette étude a mis aussi en évidence l'infériorité globale des Piétrain (figure 22) et la propension (significative de point de vue statistique) des Landrace Français à avoir des notes de motilité plus basses que les autres races et l'infériorité

des Large White Hyper par rapport aux croisés Piétrain*Large White pour le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la note de motilité.

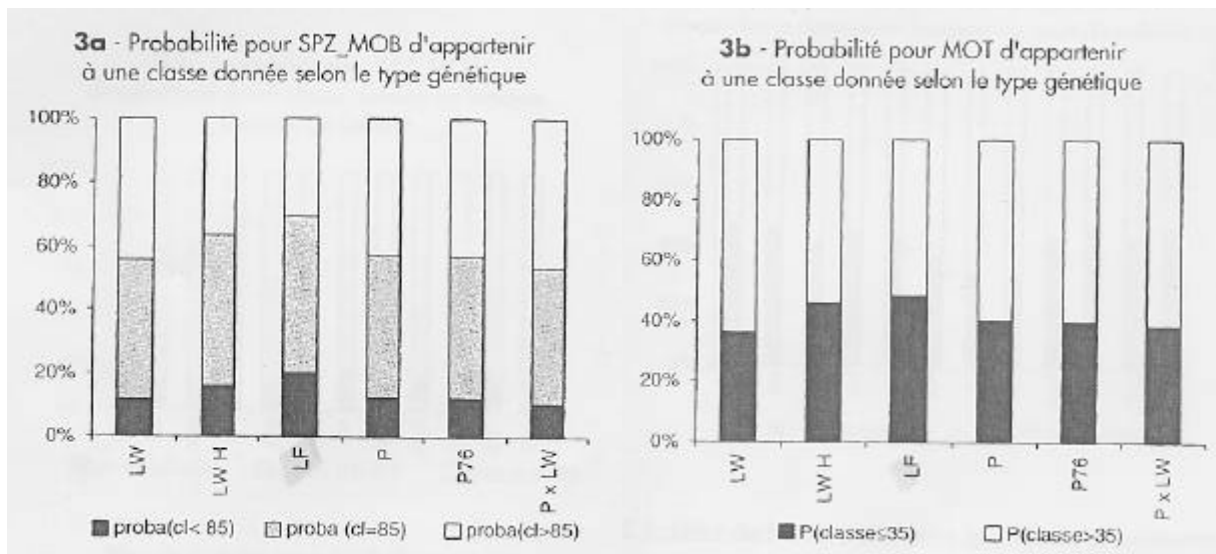


Figure 22 : Effet du type génétique sur les caractéristiques qualitatives de l'éjaculat de verrat (SPZ_MOB correspond au pourcentage de spermatozoïdes mobiles et MOT à la note de motilité selon l'échelle de Bishop, 35 étant la note intermédiaire entre 3 et 4) (GUILLOUET *et al.*, 1999)

3.1.2. Age

De nombreux travaux ont montré que les caractéristiques séminales sont directement liées à l'âge du verrat. SWIESTRA en 1973 a montré que le volume et la concentration et donc le nombre total de spermatozoïdes de l'éjaculat augmentaient avec l'âge du verrat surtout entre 8 mois et 20 mois d'âge (122). En 1984, KENNEDY et WILKINS ont montré que l'influence de l'âge sur les caractéristiques séminales était significative d'un point de vue statistique : les maxima en matière de volume et de concentration, et donc en nombre de doses potentielles, sont obtenus sur des verrats de 24 à 29 mois et les minimums avant 8 mois d'âge (68). Par contre ils ont montré que le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la note de motilité sont plus élevés sur de jeunes verrats et diminuent avec l'âge. CAMERON, en 1985, a confirmé la corrélation significative entre l'âge et la concentration et le nombre total de spermatozoïdes, mais pas celle entre l'âge et le volume de l'éjaculat (16). Cependant, cette étude ne portait que sur 35 verrats avec 6 éjaculats par verrat.

Une étude récente de GUILLOUET *et al.* sur les données de production de 266 verrats étalé sur 10 années a aussi montré l'augmentation du volume avec l'âge jusqu'à l'âge de 15 mois et de la concentration jusqu'à 12 mois, les variations de concentration et de volume ne semblant plus liées à l'âge après 15 mois (figure 23) (54). Elle a aussi confirmé que le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et la motilité sont influencés par l'âge, la probabilité d'un verrat d'avoir une note de motilité faible augmentant avec l'âge. Enfin l'âge semble aussi avoir une influence sur le taux de spermatozoïdes anormaux dans l'éjaculat, qui diminue pendant le développement pubertaire, et qui augmente avec l'âge sur les verrats adultes (26).

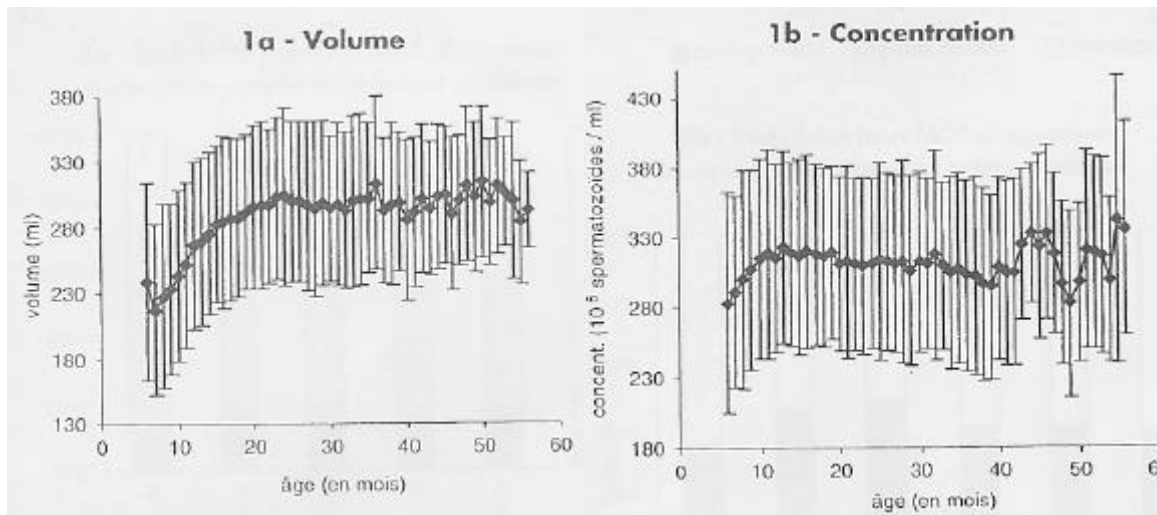


Figure 23 : Effet de l'âge sur le volume et la concentration de l'éjaculat (GUILLOUET *et al.*, 1999)

3.1.3. Etat de santé : maladies et parasitisme

La santé du verrat a une influence sur la qualité de la semence produite par ce verrat. En effet, un verrat doit être en bonne santé pour produire de la bonne semence. Toute infestation parasitaire et tout processus pathologique peuvent avoir des conséquences plus ou moins marquées sur la semence (75). Ainsi, les conséquences d'une infestation parasitaire sur le fonctionnement de l'appareil reproducteur sont dues à l'effet de spoliation, à la modification de comportement du verrat (prurit intense lors de gale sarcoptique ou de pulicose) ou encore par la production de toxines par le parasite. Cependant, il n'est pas fréquent de rencontrer actuellement et dans les pays développés des verrats parasités au point de voir leur semence altérée, cela grâce à l'utilisation d'antiparasitaires par les éleveurs pour les verrats en ferme et grâce à la conduite sanitaire stricte imposée aux CIA par la législation. Tout processus pathologique peut aussi avoir des conséquences sur la semence produite, que ce soit une pathologie génitale soit d'origine traumatique (coups ou blessures sur les testicules et épидидymes) soit d'origine infectieuse ascendante (germes de la flore environnementale) soit d'origine infectieuse systémique (orchites à *Brucella suis*) ou que ce soit une pathologie générale provoquant un syndrome fébrile ou encore une pathologie digestive avec résorption de toxines. C'est l'hyperthermie qui a des effets délétères sur la semence, cette hyperthermie pouvant être induite par un passage viral (Grippe, Aujesky, Coronavirose, SDRP), par une atteinte bactérienne respiratoire (Pasteurellose, Actinobacillose), une pathologie systémique (Rouget), une atteinte de l'appareil locomoteur postérieur avec réaction ganglionnaire inguinale donc élévation locale de température près du testicule (panaris, arthrite...) ou encore par une réaction à la vaccination ou la vermifugation (90). Il faut souligner que les effets sur la semence sont observés quarante jours après la perturbation originelle puisque la spermatogenèse dure 34 jours chez le verrat et le transit épидidymaire une dizaine de jours.

3.1.4. Malformations congénitales

Des malformations congénitales des testicules, des épидидymes ou des glandes annexes sont des causes, rares mais possibles, de baisse de la production et de la qualité de semence. Ainsi l'hypoplasie testiculaire se traduit par une azoospermie (absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat) si elle est bilatérale et l'atrophie testiculaire est associée à une diminution de la concentration spermatique et une augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux dans

l'éjaculat. Une aplasie de l'épididyme, du canal déférent et des vésicules séminales a été décrite comme anomalie congénitale chez le verrat, unilatérale, donc sans conséquences sur la semence. Enfin les anomalies des glandes annexes ont été peu décrites chez le verrat.

3.2. Facteurs extrinsèques

3.2.1. Rythme de collecte

Le rythme de collecte a un effet certain sur les caractéristiques séminales, d'un point de vue quantitatif et qualitatif. Ainsi toute augmentation de la fréquence des collectes entraîne une chute du volume et du nombre de spermatozoïdes totaux dans l'éjaculat. En fait, le verrat épuise rapidement ses réserves spermatiques épидидymaires car le nombre de spermatozoïdes dans un éjaculat est très élevé par rapport aux réserves épидидymaires mobilisables, c'est pourquoi l'augmentation du rythme de collecte entraîne un épuisement des réserves épидидymaires, ce qui donne un faible nombre de spermatozoïdes totaux dans l'éjaculat. Il faut donc que l'intervalle entre deux collectes permette la reconstitution des réserves spermatiques épидидymaires pour garantir un nombre correct de spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Ainsi, SWIESTRA a montré, en 1973, que le passage d'un rythme d'une collecte tous les trois jours à un rythme quotidien entraînait des baisses significatives du volume, de la concentration et du nombre total des spermatozoïdes (122); de son côté, CAMERON a montré, en 1982, qu'on obtenait un éjaculat supérieur en matière de volume et de nombre de spermatozoïdes avec un intervalle entre collecte de 3 jours par rapport à des intervalles de 48 ou 24 heures (17). Enfin BUSSIERE et BARITEAU ont mis en évidence en 1992 l'effet négatif d'une augmentation de fréquence des collectes sur la production spermatique du verrat (figure 24).

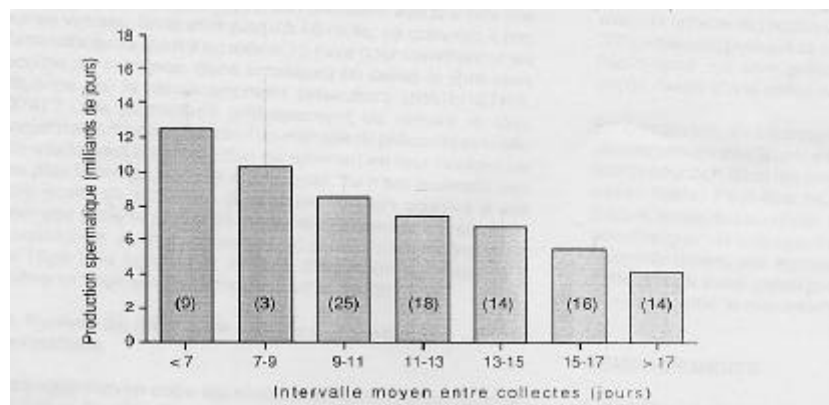


Figure 24 : Effet de l'intervalle entre collectes sur le nombre de spermatozoïdes produits par jour (BUSSIERE et BARITEAU, 1992)

REED a déterminé le rythme permettant d'obtenir le nombre maximal de spermatozoïdes dans un éjaculat à une collecte tous les 5 jours. D'autre part, le rythme de collecte a aussi une influence sur la qualité des spermatozoïdes, puisque AAMDAL en 1957 et NIWA en 1958 ont montré qu'une diminution de l'intervalle entre collectes provoquait une augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux, accompagnée d'une baisse de la motilité et de la viabilité des spermatozoïdes (105). En effet, l'augmentation du rythme de collecte engendre une mobilisation des réserves de la queue, du corps et de la tête de l'épididyme, ce qui permet d'expliquer la présence de spermatozoïdes immatures (avec des gouttelettes cytoplasmiques

proximales ou distales) dans les éjaculats récoltés trop fréquemment. Enfin il faut aussi éviter d'avoir des intervalles entre collectes trop importants, qui correspondraient à des périodes de repos sexuel, et qui ont aussi des effets délétères sur la semence. CAMERON en 1985 et LEWIS en 1986 ont mis en évidence la mauvaise qualité en terme de spermatozoïdes mobiles lors de la reprise d'un rythme régulier de collecte après une période de repos sexuel de plus d'une semaine (15). Ainsi, en C.I.A., il est recommandé de collecter tous les verrats selon un rythme de collecte régulier et systématique, qui est de 3 fois en deux semaines chez Gènes Diffusion et de une fois par semaine à l'U.E.I.C.P. de Rouillé, chaque verroat devant être collecté au moins une fois par semaine même si l'éjaculat ne sert pas à la fabrication de doses commerciales.

3.2.2. Conditions d'élevage et stress

Les conditions d'élevage, à savoir le logement et l'environnement social, doivent être les meilleures possibles afin qu'aucun stress ne vienne perturber la fonction de reproduction du verroat, à savoir la fabrication des gamètes mâles mais aussi l'érection et l'éjaculation. Les normes acceptées jusqu'ici et encore en application jusqu'à l'harmonisation européenne sont pour un verroat:

- une case de 5 m² par verroat avec un sol en paille ou en caillebottis et un barreaudage métallique vertical ou,
- bloqué dans un cage de 2.6m sur 0.8m pour un verroat adulte avec un sol en caillebottis partiel ou total et un barreaudage métallique vertical.

Les deux types de logement doivent permettre une bonne hygiène pour la propreté du fourreau (caillebottis > paille) et une préservation des aplombs (paille > caillebottis). CORCUERA *et al.* (2002) ont montré que le type de sol et le type de litière des verrats ont un effet significatif sur la qualité de semence mais seulement en été (28) : la qualité de semence est meilleure avec un sol en béton et une litière de paille par rapport à un sol en caillebottis et sans litière.

L'environnement social du verroat a aussi son importance à la fois pendant la puberté et la vie adulte, et des conséquences sur la semence. En effet, TRUDEAU et SANFORD (1986) ont comparé deux groupes de verrats, un groupe sans contact et l'autre en contact avec des truies. Ils ont montré que les verrats avec un environnement riche ont des éjaculats de volume supérieurs et des nombres totaux de spermatozoïdes supérieurs par rapport aux verrats en environnement restreint (figure 25), ce qui peut être relié à la différence d'aptitude à l'éjaculation (123). Ainsi, pour un élevage pratiquant le prélèvement à la ferme, il peut paraître intéressant de loger ses verrats à proximité des truies, ce qui peut aussi faciliter les venues en chaleurs après sevrage... Par contre l'introduction de truies en CIA porcine étant interdite, le problème ne se pose pas.

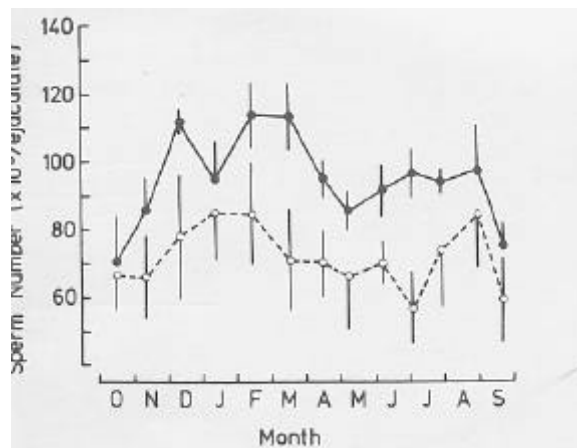


Figure 25 : Variations annuelles du nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat pour un groupe de verrats avec un environnement social riche (●) et un groupe avec un environnement restreint (○) : les verrats en contact avec des truies ont une production spermatique supérieure aux autres en terme de nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat (TRUDEAU et SANFORD, 1986)

Le stress est défini comme un symptôme résultant de l'exposition d'un animal à un environnement hostile (45), c'est-à-dire un ensemble de réactions organiques à des agressions multiples et variées à des niveaux peu élevés mais répétées. En élevage intensif, le stress est souvent généré par l'Homme et subi par les animaux. Cependant, certains stress sont dus aux interactions des animaux entre eux telles que les relations dominants-dominés par exemple. Le stress est donc lié à un phénomène externe qui bouleverse la perception que le porc a de la normalité. Appliqué aux verrats, il s'agit d'un changement de bâtiment, de case, de salle de collecte ou bien de préleveur ou d'animalier, par exemple. La tension est le bouleversement interne produit par le stress, qui peut se manifester, chez le verrat, lors de la collecte, par un refus de monte ou une monte difficile avec une semence de mauvaise qualité (90). Selon GADD (45), les différents facteurs de stress pouvant causer des tensions chez le verrat sont :

- le froid ou le chaud
- la faim ou la soif
- un sol glissant, inconfortable
- une pathologie locomotrice (arthrite, panaris...)
- une pathologie génitale (blessures du pénis, œdème du fourreau...)
- un changement de préleveur (concerne la réalisation de la collecte de semence : l'adresse et la rapidité du préleveur)
- un animalier désagréable (concerne la conduite d'élevage en général : le verrat ne doit pas être maltraité)
- la découverte du mannequin par les jeunes verrats (GADD considère que cet « effet nouveauté » affecte les performances des jeunes verrats par le stress qu'il engendre, d'où l'importance de l'entraînement en douceur des jeunes verrats à la monte du mannequin, certains verrats étant réformés car ils ne sautent jamais le mannequin et d'autres verrats ne sautant que dans leur case, ce qui est dangereux pour le préleveur).

Un refus de monte n'altère pas directement la qualité de semence. Cependant, il entraîne un stockage des gamètes dans l'épididyme et l'augmentation du taux de spermatozoïdes anormaux à la prochaine éjaculation. De plus, le refus de monte peut être révélateur d'une douleur à l'érection à cause d'une blessure au pénis ou au fourreau, qui peuvent avoir des effets sur la qualité de semence, le sang ayant un effet spermicide (48).

3.2.3. Saison : température et photopériode

La reproduction du sanglier est saisonnière puisqu'il y a inactivité sexuelle en été et début d'automne et que la période d'accouplement se situe à la fin de l'automne et au début de l'hiver ; chez le porc domestique, l'influence saisonnière existe mais est moins évidente. Ainsi selon CAMERON (16), une détérioration des performances de reproduction associée à une baisse de la qualité de semence pendant et après un été chaud ont été reportées de différentes régions de production porcine dans le monde. Les changements saisonniers de la production et de la qualité de semence peuvent être dus à une combinaison des variations de la température ambiante et de la longueur du jour entre les saisons. Les influences respectives de ces deux paramètres du milieu sont envisagées séparément après avoir décrit globalement les effets saisonniers sur la production de semence.

KENNEDY et WILKINS (68) ont ainsi mis en évidence, sur des verrats adultes, un effet significatif de la saison sur toutes les caractéristiques séminales : le volume est minimal en avril et augmente jusqu'à un pic en novembre pour diminuer ensuite, les taux de spermatozoïdes vivants et de spermatozoïdes mobiles sont maximaux en janvier et diminuent jusqu'à être minimaux en août et le nombre de doses potentielles est maximal de novembre à janvier et minimal d'avril à juin. De la même façon TRUDEAU et SANFORD (123) ont mis en évidence des variations saisonnières des caractéristiques séminales semblables à celles démontrées par KENNEDY et WILKINS avec, en plus, une influence de la saison sur le taux de spermatozoïdes anormaux, qui est minimal en septembre et maximal en mars, ainsi que sur le type d'anomalie prédominant : entre septembre et mars, le taux de spermatozoïdes avec un flagelle enroulé passe de 38% à 80% alors que le taux de spermatozoïdes avec une gouttelette cytoplasmique passe de 40% à 12%. Par contre, ce taux ne semble pas varier avec la saison, alors que la motilité des spermatozoïdes varie selon le moment de l'année. Elle est élevée d'octobre à janvier et faible en juin et juillet. Enfin ils ont mis en évidence des variations significatives dans la composition du plasma séminal puisque le taux d'acide citrique et de protéines est inversement relié à la lumière du jour, ce qui peut signifier que l'activité des vésicules séminales est influencé par la saison chez le verrot. Cependant CAMERON (15) n'a trouvé soit aucune différence significative entre l'hiver et l'été pour toutes les caractéristiques séminales soit une amélioration de la qualité de semence en été, mais ces résultats ont été obtenus dans un environnement subtropical. Enfin, une étude espagnole récente menée par CORCUERA *et al.* (28) a montré que la qualité de la semence est supérieure en termes de motilité et d'acrosomes normaux dans les CIA avec contrôle de la température ambiante ($P < 0.001$), alors qu'on observe une baisse significative de la motilité en été dans les CIA sans contrôle de la température ambiante. Cependant, même avec contrôle de la température ambiante, la qualité de semence reste soumise à l'influence de la saison, ce qui suggère que d'autres facteurs climatiques internes au bâtiment interviennent, tels que la vitesse et l'humidité de l'air.

L'effet des programmes lumineux a été étudié par de nombreux auteurs à la fois sur les verrats et les truies, avant la puberté et à l'âge adulte, et leurs résultats ont parfois contradictoires. Les travaux de BERGER *et al.* et HOAGLAND et DIEKMAN (1992) ont montré qu'un éclairage supplémentaire (15 heures par jour) sur des verrats prépubères pouvait accélérer la survenue du comportement d'accouplement et avancer l'âge de la première collecte réussie (tableau 12) (8) (60).

Tableau 12 : Comparaison du comportement sexuel et de l'âge à la première collecte réussie entre des verrats exposés à une photopériode naturelle ou allongée (BERGER et al., 1980)

Age, weeks	% animals collected		Libido score ^a		Estimated volume, cm ^{3b}	
	Natural photoperiod	Extended photoperiod	Natural photoperiod	Extended photoperiod	Natural photoperiod	Extended photoperiod
20	10	31	.9	2.0	551	502
22	15	21	1.4	2.4	674	712
24	21	52 ^c	1.8	3.5 ^e	750	728
26	26	73 ^d	2.1	4.0 ^e	884	904
28	47	63	2.7	4.0	1,091	954
30	57	78	3.4	4.3	1,117	1,091
32	68	73	3.5	3.9	1,330	1,198

Cependant HOAGLAND et DIEKMAN (1992) n'ont pu mettre en évidence un effet sur les concentrations sériques en hormones gonadotropes et en testostérone. Enfin MINTON et WETTERMANN (94) n'ont trouvé aucune influence positive de l'éclairage supplémentaire en période prépubertaire sur la croissance testiculaire, le volume relatif des tubes séminifères, les concentrations hormonales et la qualité de semence.

Les données de l'effet d'un éclairage supplémentaire sur la fonction de reproduction des verrats adultes sont contradictoires : MAZZARI *et al.* (94) ont montré que la photopériode a un effet sur la production spermatique, la comparaison de deux photopériodes, de 10 heures et de 16 heures, a montré de façon significative qu'en jours longs le volume d'éjaculat était supérieur mais que le nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat était inférieur et que la note de motilité est inférieure ; les jours longs auraient donc un effet négatif sur la production spermatique (tableau 13). CLAUS *et al.* (24) ont constaté une augmentation de la production spermatique sur des verrats exposés à un programme lumineux inversé (jours de plus en plus longs en automne et de plus en plus courts au printemps). Par contre, BRANDT et DIEKMAN (11) n'ont pas pu démontré un effet de l'éclairage supplémentaire ni sur la production spermatique ni sur les concentrations sériques hormonales (LH et testostérone). Il est donc difficile de conclure sur l'effet de la photopériode sur la semence chez le verroat.

Tableau 13 : Production et pouvoir fécondant du sperme de verrats soumis à des températures ambiantes et des durées d'éclairage différentes (MAZZARI *et al.*, 1968)

Période		Volume	Nb. spz (x 10 ⁹)	Motilité	% M.B.
Préexp. (1)	1	298 ± 20	70,3 ± 4,5	4,8 ± 0,1	58,6
	2	220 ± 8	65,7 ± 3,4	4,7 ± 0,1	63,8
15° C	10 h	290 ± 11	67,7 ± 2,8	4,9 ± 0,1	57,0
	16 h	339 ± 13 †	47,8 ± 2,6 †	4,1 ± 0,1 †	51,4 †
35° C	10 h	265 ± 10	59,9 ± 2,5 †	4,5 ± 0,1 †	49,4 †
	16 h	325 ± 23 †	46,9 ± 2,9 †	3,6 ± 0,3 † †	29,4 † †
Post-exp. (1)	1	294 ± 22	66,5 ± 4,5	4,5 ± 0,1 †	61,9
	2	389 ± 21 †	45,2 ± 2,7 †	4,3 ± 0,2 †	59,6

Les mécanismes de régulation de la température interne du testicule comprennent la facilitation des échanges thermiques par la peau fine du scrotum, la mobilité relative du testicule par rapport à l'abdomen grâce aux contractions du muscle crémaster et la diminution de la température du sang artériel par le plexus pampiniforme. Ils permettent le maintien de la température idéale pour la spermatogenèse face à de faibles variations de température ambiante (90). Si l'amplitude thermique est élevée, ces mécanismes physiques sont dépassés, la température interne du testicule s'élève au-dessus de 34°C et la spermatogenèse est perturbée, ce qui se traduit par une baisse de la qualité de la semence en 10 à 15 jours. STONE (119) a montré qu'on constate une baisse de la qualité de semence dès que la température externe dépasse 29°C. Par contre des températures de -10°C ne provoquent pas d'altérations de la qualité de semence. De nombreux auteurs ont fait subir des stress thermiques à des verrats producteurs de semence et ont obtenu des résultats similaires : MAZZARI *et al.* (94) ont constaté une baisse du nombre total de spermatozoïdes et du taux de spermatozoïdes mobiles, décalée de 15 jours par rapport à l'élévation de température testiculaire (tableau 14). WETTERMAN *et al.* (127) ont montré une baisse du nombre de spermatozoïdes normaux et du taux de spermatozoïdes mobiles (figure 26) ainsi qu'une augmentation du taux de spermatozoïdes avec un acrosome abîmé et ce dès la deuxième semaine d'exposition à une température élevée, sans altération du volume de l'éjaculat et de la libido du vertrat.

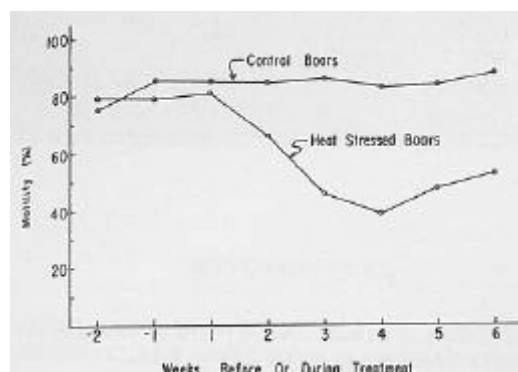


Figure 26 : Motilité des spermatozoïdes de verrats témoins ou exposés à un stress thermique (WETTERMAN *et al.*, 1976)

MALGREM et LARSSON (88) ont précisé les anomalies dont le taux est augmenté après un stress thermique, à savoir les têtes anormales, les acrosomes anormaux, les gouttelettes cytoplasmiques proximales. Ils ont aussi souligné l'existence de différences individuelles de résistance à la chaleur entre verrats de même race. LARSSON et EINARSSON (73) ont constaté que le taux de spermatozoïdes anormaux augmentait dès le 8^{ème} jour après le stress thermique, ce qui peut suggérer que la spermatogenèse n'est pas la seule fonction perturbée mais aussi la fonction épидидymaire, d'autant plus que les anomalies secondaires sont majoritaires. Cependant le taux de spermatozoïdes enroulés, marqueur de la fonction épидидymaire, n'est pas augmenté par l'effet du stress thermique ; on peut donc penser que la fonction épидидymaire n'est pas directement altérée par la chaleur comme l'est la spermatogenèse mais qu'elle est peut-être affectée par l'intermédiaire des changements hormonaux consécutifs au stress thermique. Enfin, 8 semaines après le stress thermique, toutes les caractéristiques séminales sont redevenues « normales » et aucune lésion n'a été observée sur le parenchyme testiculaire prélevé en fin d'expérimentation, ce qui indique qu'une régénération complète a eu lieu. Ainsi si les effets d'une température ambiante élevée semblent réversibles, ils sont en tout cas prolongés dans le temps par rapport au stress originel puisqu'un stress de 100 heures a des conséquences sur la semence pendant 4 semaines. Il faut

donc éviter toute élévation de température dans la case du verrat ; en CIA, la plupart des bâtiments de verrats sont aujourd'hui climatisés, ce qui résout le problème alors qu'en élevage pratiquant le prélèvement à la ferme le problème reste entier, surtout dans les régions chaudes.

3.2.4. Alimentation

La fonction de reproduction étant, selon LOGUE et GREIG (83), une fonction de « luxe », elle est la première touchée par un déficit alimentaire du point de vue de la libido et de la qualité de semence. Cependant KEMP et DEN HARTOG (67) considèrent, eux, qu'une altération de la libido et de la qualité de semence se produit uniquement en cas de sous-alimentation prolongée avec atteinte de l'état général. En effet l'étude de STEVERMER *et al.* (118) sur les niveaux énergétiques des rations, qui date de 1961, n'a pas montré d'effet significatif sur la qualité de semence si les besoins sont couverts ; une étude semblable a montré l'absence d'effet significatif de l'apport protéique sur la qualité de semence. C'est probablement une des raisons qui ont fait que l'alimentation du verrat n'a pas été la préoccupation des chercheurs pendant plusieurs années. Cependant un regain d'intérêt se produit depuis quelques temps, peut-être à cause des résultats obtenus dans d'autres espèces permettant d'améliorer, via l'alimentation du mâle, les résultats de reproduction. Nous rappelons donc seulement les principes d'alimentation du verrat (20)(76)(37):

- **ne pas engraisser** le verrat pour éviter la baisse de libido par empâtement ou la survenue de problèmes locomoteurs dus à l'excès de poids et entraînant à terme la réforme du verrat : ce principe trouve son application dans le contrôle de l'apport d'énergie par l'aliment, les besoins alimentaires du verrat étant fonction du poids vif et de sa croissance, ainsi que de son activité sexuelle, même si celle-ci ne représente que 5% des besoins (29),
- **éviter toute constipation**, dont le risque est augmenté sur des verrats en case bloquée donc sans exercice. Or, la constipation étant source de fermentations digestives, on suspecte une possibilité de résorption de toxines par voie sanguine jusqu'à l'appareil reproducteur et surtout l'épididyme. Un apport suffisant en cellulose (6 à 7%) dans l'aliment permet d'éviter la constipation.
- **ajuster régulièrement la quantité d'aliment** à l'état d'entretien du verrat : la quantité moyenne est comprise entre 3.5 et 4 kg par jour, en sachant qu'un verrat de 250 kg a des besoins journaliers en Energie Digestible supérieurs de 1100 kcal par rapport à un verrat de 200 kg, ce qui correspond à 350-400g d'aliment.
- ajuster la quantité d'aliment à la température ambiante, en sachant qu'au-dessous de 18°C les besoins augmentent de 150 à 200 kcal par jour et par degré.

A ces principes peuvent s'ajouter les règles de base de l'alimentation des porcs telles que la propreté des auges, la qualité microbiologique des matières premières, le nettoyage désinfection régulier de la machine à soupe et des circuits de distribution de la soupe.

En pratique, on peut utiliser un aliment « truie allaitante » enrichi en cellulose ou un aliment « truie gestante » avec des compléments minéraux et vitaminiques (29). En effet il faut assurer l'apport en vitamines et oligo-éléments connus pour intervenir dans l'activité sexuelle mâle, tels que :

- la méthionine, acide aminé soufré intervenant dans la maturation épидидymaire,
- la vitamine A, l'hypovitaminose A provoquant une atrophie testiculaire,
- le zinc, oligo-élément des systèmes hormonaux, dont la carence entraîne une chute de la testostéronémie,
- la carnitine, en forte concentration dans l'épididyme ; une carence peut entraîner la présence de spermatozoïdes immatures,
- le sélénium, la vitamine E, la biotine et l'acide folique, qui auraient un rôle dans la spermatogénèse...

3.3. Facteurs agissant directement sur la semence

La semence n'est pas destinée à être exposée au milieu extérieur dans les conditions naturelles d'accouplement. C'est pourquoi la lumière du jour et les variations brutales de température altèrent la qualité de la semence, en terme de viabilité des spermatozoïdes. Les travaux de ITO *et al.*, datant de 1948, ont montré que l'effet nocif de la lumière solaire directe sur les spermatozoïdes était du aux rayons infrarouge et se traduisait par une diminution du métabolisme, de la motilité et du pouvoir fécondant du sperme. C'est pourquoi il faut réaliser la récolte et la manipulation de la semence dans un local éclairé en lumière artificielle. D'autre part, une variation brutale de la température ambiante ou « choc thermique » peut provoquer la mort des gamètes et donc altérer de façon irréversible la qualité de semence. C'est pourquoi il faut transférer l'éjaculat de la salle de collecte au laboratoire par un sas maintenu à 37°C puis manipuler la semence fraîche pure avec des objets entre 35°C et 37°C et enfin la diluer avec un dilueur également à 37°C. Le refroidissement jusqu'à la température de stockage de 17°C doit être lent pour conduire à l'anabiose.

La qualité de la semence peut aussi être altérée suite à la mauvaise réalisation de la collecte, par exemple :

- une mauvaise filtration entraîne la présence de grains de tapioca ou de poussières, avec formation d'agglutinats de spermatozoïdes
- l'utilisation de gaze non stérile pour la filtration réduirait considérablement la motilité selon MARTIN (90)
- un non respect des règles d'hygiène lors de la collecte entraîne la présence de contaminants bactériens à l'origine d'une conservation moins durable de la semence
- une mise en contact de la semence avec le gant de récolte lors de l'éjaculation, le latex ayant un effet spermicide (103).

Enfin, la qualité de la semence peut être altérée par la présence dans la semence ou la mise en contact avec des substances spermicides :

- naturelles, comme le sang, dont l'origine la plus courante est une blessure au pénis parfois superficielle, parfois profonde, motif de réforme du verrat si le corps caverneux est touché selon GLOSSOP (48).
- chimiques comme l'alcool, le sulfate de cuivre, les antiseptiques au permanganate de potassium, ou encore certaines eaux minérales et l'eau du robinet qui, pour la plupart, provoquent un choc osmotique qui fait éclater les spermatozoïdes.

Deuxième partie : étude expérimentale

A. Protocole expérimental

1. Intérêts, principes et objectifs de l'étude

1.1. Intérêts de l'étude

Afin d'objectiver le constat à l'origine de notre étude, à savoir que la qualité de semence est à l'origine d'un grand nombre de réformes, on a choisi de travailler sur les données de Gènes Diffusion plutôt que de l'U.E.I.C.P., qui est un centre de production et d'expérimentation à la fois. On s'est penché sur les fichiers recensant les données de carrière des verrats pour les années 2000 et 2001 et sur la répartition des différentes causes de réforme dans la population des verrats réformés. Selon D'ALLAIRE *et al.* (1990), l'analyse de la réforme des verrats passe d'abord par la détermination du taux annuel de réforme toutes causes confondues puis par la détermination pour chaque cause de deux taux : le taux proportionnel, qui est le pourcentage de réformes attribuable à une cause spécifique, et le Annual Culling Rate (A.C.R.) spécifique, qui mesure la probabilité annuelle qu'un verroat soit réformé pour une cause spécifique (39).

En sachant que l'ensemble des centres Gènes Diffusion offre 1710 places avec un taux d'occupation proche de 90% et que les réformes (hors quarantaine) concernaient 1037 verrats en l'an 2000 et 1129 verrats en 2001, le taux de réforme est de 67.4% pour l'année 2000 et de 73.4% pour l'année 2001. Ainsi, plus de deux tiers des verrats sont réformés au cours d'une année dans les centres Gènes Diffusion ; ce constat n'est pas surprenant puisque le taux de réforme global peut aller jusqu'à 100% dans certains centres.

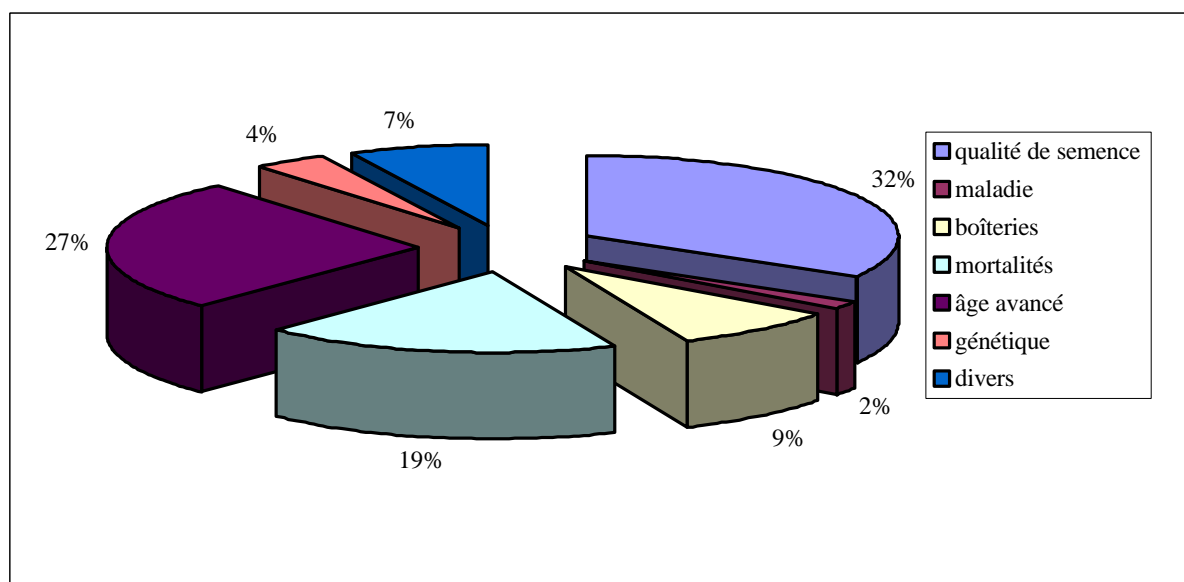


Figure 27 : Répartition des causes de réforme dans l'effectif des verrats réformés de Gènes Diffusion en 2000 et 2001 – taux proportionnels - hors réformes en quarantaine (source Gènes Diffusion)

L'analyse des taux proportionnels confirme que la principale cause de réforme des verrats de CIA est bien la baisse de qualité de semence. D'autre part l'A.C.R. spécifique est de 20% pour la qualité de semence en 2000 (337 verrats réformés pour qualité de semence sur 1710 verrats présents) et de 24% en 2001 (398 verrats réformés pour qualité de semence sur 1710 verrats présents). Ces taux signifient qu'un verrat réformé en 2000 avait une chance sur 5 de l'être pour baisse de qualité de semence et une chance sur 4 en 2001. Ceci montre l'importance de ce problème et son extension ; la réforme pour qualité de semence constitue donc une préoccupation légitime en CIA et justifie la réalisation d'une étude expérimentale dans un domaine peu exploré auparavant.

Bien que quelques auteurs se soient penchés sur les causes de réforme des verrats dans les élevages de production dans les années 80 (LE DENMAT et RUNAVOT, 1980 ; D'ALLAIRE, LEMAN et DROLET, 1992), le stade de développement de l'I.A. ne justifiait pas à cette époque des recherches dans cette voie pour les verrats de CIA (40)(80). Mais à l'heure actuelle, en relation avec l'évolution du marché de l'I.A., la recherche de la productivité est un impératif en CIA et il semble intéressant de se pencher sur la principale cause de réforme des verrats, qui peut sanctionner des carrières plus ou moins rentabilisées et qui constitue donc un facteur important de diminution de la rentabilité du centre.

L'idée est donc de réaliser une étude préliminaire comparative sur deux groupes de verrats réformés provenant de la SEIA de Rouillé, les uns pour mauvaise qualité de semence, les autres verrats pour une raison autre (problèmes locomoteurs, âge trop avancé ...) ; le but étant de mettre en évidence d'éventuelles différences entre les deux groupes de verrats, tant au niveau des profils de carrière et de production qu'au niveau anatomie et histologie du tractus génital, qui constitueront des pistes d'investigation pour des travaux plus approfondis.

1.2. Travail initiateur de l'étude

Ce travail de thèse vétérinaire a été inspiré par une étude réalisée sur 11 verrats réformés pour baisse de qualité de semence sur 2 ans (98-99) par M. Guillouet, directeur de l'Unité Expérimentale en Insémination Caprine et Porcine de l'I.N.R.A. de Rouillé et Me Hochereaux De Revières, chercheur à l'I.N.R.A. de Tours. Il est donc intéressant de se pencher sur la méthodologie utilisée et les résultats obtenus. Ces verrats, de races différentes (5 Piétrain, 2 LWH, 2 croisés LWP, 1 LW et 1LD), étaient tous des verrats dits « en panne », c'est-à-dire réformés pour baisse de qualité de semence, motivée par baisse du % de spz mobiles (<75%) depuis 3 collectes successives.

Les résultats ont montré que tous les tractus présentaient une ou plusieurs lésions macroscopiques, avec présence d'un liquide semblable à de la lymphe entre les testicules et la capsule testiculaire ainsi qu'une dilatation des vaisseaux lymphatiques du cordon spermatique (7 verrats sur 11) ; de plus, sur 1 tractus des poches de lymphe symétriques entre le T et la tête de l'épididyme ont été observées. Des lésions épидидymaires ont été observées sur plus de la moitié des tractus (un abcès, une queue indurée, des œdèmes). Des atteintes des glandes annexes ont été observées : une hypertrophie de la prostate sur 4 tractus, en association à d'autres lésions; ainsi qu'une atrophie d'une vésicule séminale sur 1 tractus et une modification du contenu des glandes bulbo-urétrales sur un autre tractus. Des infections urinaires sont probables sur 3 tractus (urine troublée par du pus ou des particules en suspension).

Ce travail n'a pu être valorisé par une publication du fait de l'absence de cadre expérimental strict et complet, cependant il a permis de mettre en évidence la présence de lésions sur les tractus de verrats « en panne » et a ainsi justifié la mise en route d'un travail de thèse vétérinaire sur le sujet avec l'élaboration d'un protocole expérimental complet s'inspirant des techniques mises en œuvre dans l'étude préliminaire.

1.3. Principes et objectifs de l'étude

Le principe de l'étude expérimentale est la comparaison de deux lots de verrats de CIA réformés :

- un lot témoin constitué de verrats réformés pour des causes diverses, autres que la qualité de semence
- un lot expérimental de verrats réformés pour baisse de qualité de semence en cours de carrière.

Cette étude ne concerne que des verrats ayant eu une carrière, c'est-à-dire ayant produit des doses qui ont été commercialisées. Elle exclut donc les verrats réformés en quarantaine ou à l'entrée en CIA.

La comparaison entre ces deux lots est faite selon trois niveaux d'approche, qui sont :

- les profils de carrière des verrats (données de production)
- l'analyse approfondie de la qualité de semence
- l'examen anatomo-histo-pathologique des tractus génitaux

Le principe de l'expérimentation et les trois niveaux d'approche doivent permettre de réaliser les objectifs suivants:

- l'analyse approfondie de la semence de verrats réformés pour cause de baisse de la mobilité des spermatozoïdes, afin de tenter de préciser l'origine de la baisse du taux de spermatozoïdes mobiles
- l'étude morphologique comparative des tractus génitaux des deux groupes de verrats d'un point de vue anatomique et histologique
- l'identification d'hypothèses pouvant expliquer la baisse de qualité séminale, à savoir soit un problème d'infection uro-génitale, soit un problème de maturation épидidymaire, soit un problème de dégénérescence testiculaire.

Il ne s'agit donc que d'une étude préliminaire dont le but n'est pas de chercher l'explication au défaut de semence à l'origine de la réforme des verrats mais seulement de rechercher une direction pour des recherches ultérieures, les différences morphologiques ou histologiques constatées entre les deux groupes de verrats constituant autant de pistes à explorer.

L'étude a été réalisée dans deux centres de production de semence, l'un privé, le centre Gènes Diffusion de Niort et l'autre public, le centre porcin de l'Unité Expérimentale d'Insémination Caprine et Porcine, qui tous deux commercialisent des doses dans la France entière. La réalisation d'une étude expérimentale en centre de production est aussi édifiante que difficile à mettre en place puisqu'il faut concevoir le protocole expérimental en respectant les impératifs de la production commerciale de semence. Ainsi il semblait difficile d'effectuer la comparaison aux trois niveaux sur les deux lots de verrats de façon stricte

puisque l'analyse approfondie de la semence prévue sur trois semaines avec une collecte par semaine risquait de ne pas être systématiquement réalisable sur les verrats du lot témoin, parmi lesquels on risquait d'avoir des verrats réformés pour problèmes locomoteurs, sur lesquels il était impossible d'effectuer des collectes de semence ou encore pour accident, que l'on n'aurait pas pu décentement garder trois semaines avant de les abattre. La solution choisie pour résoudre ce problème est de réaliser la comparaison stricte entre les deux lots seulement pour l'étude morphologique des tractus génitaux et de comparer la semence des verrats du lot expérimental avec la semence de verrats de la même race et du même âge produisant des doses commercialisables et collectés le même jour. Il y a donc deux types de témoins dans cette étude, les témoins pour la semence qui ne sont pas abattus et poursuivent leur carrière et les témoins pour les tractus génitaux qui ne sont pas concernés par l'analyse de la qualité de semence mais sont simplement abattus.

2. Choix des animaux et collecte des données

2.1. Nombre et choix des animaux

Comme il s'agit seulement d'une étude préliminaire, limitée dans le temps et avec plusieurs niveaux d'approche, on se propose de travailler sur un nombre restreint à dix animaux, soit 5 verrats dans le groupe expérimental et 5 verrats dans le groupe témoin.

A mesure que l'opportunité se présentera, c'est-à-dire à chaque fois qu'un verroat sera réformé, il sera inclus dans l'étude et placé soit dans le **groupe expérimental** (ou **groupe VDQS+** pour Verrats avec Défaut de Qualité de Semence +) soit dans le **groupe témoin** (ou **groupe VDQS-** pour Verrats sans Défaut de Qualité de Semence) selon les critères suivants :

◆ **critères d'inclusion dans l'étude :**

- verroat en production depuis au moins 2 mois
- verroat en bon état général

◆ **critères d'exclusion de l'étude :**

- atteinte de l'état général due à une pathologie

◆ **critères d'exclusion en cours d'essai :**

- maladie ou décès

◆ **critères d'inclusion dans le groupe expérimental (VDQS+):**

- réforme motivée par une baisse de qualité séminale, c'est-à-dire trois collectes successives avec moins de 75% de spermatozoïdes mobiles

◆ **critères d'inclusion dans le groupe témoin (VDQS-):**

- réforme motivée par un critère autre qu'une mauvaise qualité de semence

2.2. Vérification du premier critère d'exclusion : la bonne santé des animaux

La fonction de reproduction étant une fonction de luxe (non vitale), il faut savoir qu'une maladie générale peut expliquer des baisses de la quantité et de la qualité de la semence sans que l'origine soit génitale. C'est pourquoi nous avons choisi d'écarter les individus présentant des signes d'atteinte de l'état général.

Un examen clinique général sera donc réalisé sur chaque animal candidat à l'étude (température corporelle, couleur des muqueuses, fréquence respiratoire) afin de détecter une pathologie générale éventuelle (qui l'exclurait de l'étude) ou une pathologie locomotrice.

2.3. Collecte des données

Pour l'ensemble des animaux, un fichier sera établi, comportant les données suivantes :

- identification (numéro EDE et numéro de travail)
- code race (avec les codes classiques LW, LR, P, P76...)
- date de naissance
- origine (OSP)
- date d'arrivée au centre et date de réforme
- poids carcasse
- données de production de toute la carrière, à savoir :
 - dates de récolte
 - volume de l'éjaculat, nombre total de spermatozoïdes, concentration de l'éjaculat en spermatozoïdes
 - mobilité et motilité dans la semence fraîche et diluée.

3. Techniques mises en œuvre

3.1. Principes des tests effectués sur la semence

3.1.1. Analyse de routine de la qualité de semence

3.1.1.1. Conditions de réalisation de l'analyse de routine

Le contrôle de routine est effectué au laboratoire du CIA de façon systématique après chaque récolte de semence et les résultats sont consignés dans le fichier de production, ce qui permet de visualiser l'évolution de la quantité et de la qualité de la semence produite par un verrat et ainsi de détecter toute baisse de qualité et /ou de quantité et ce tout au long de sa carrière. Ce contrôle est effectué par un technicien de laboratoire dans un laboratoire équipé de petit matériel de laboratoire tel que des pipettes, des lames et des lamelles, une platine chauffante, et d'un matériel spécialisé comme une étuve pour conserver les pots de collecte à 37°C, un microscope équipé d'une platine chauffante pour les examens à proprement parler et encore un réfrigérateur à une température de 15°C pour conserver les doses non utilisées le jour même. De plus il faut souligner que la température ambiante du laboratoire doit être contrôlée grâce à un système de climatisation afin de travailler à une température stable.

Selon MARTIN RILLO (1996), les examens de routine doivent remplir trois conditions pour pouvoir être effectués de façon habituelle et stricte: ils doivent être sensibles, rapides et économiques (92), ceci afin de permettre l'identification rapide des verrats à semence de mauvaise qualité et leur élimination de la production de doses commerciales. Ainsi le contrôle de la qualité de la semence comprend des méthodes macroscopiques et des méthodes microscopiques.

3.1.1.2. Examen macroscopique de la semence

L'examen macroscopique de la semence comprend la mesure du volume de l'éjaculat par pesée ou avec une éprouvette graduée, ainsi que l'examen de l'aspect de la semence : la couleur est normalement blanche laiteuse et l'odeur normalement assez discrète, si le prépuce a bien été vidangé avant la collecte. Une odeur nauséabonde, une couleur jaunâtre ou rosée ou encore une séparation visible des deux phases de la semence (spermatozoïdes et plasma séminal) sont des indications d'une semence de mauvaise qualité, qu'il faut observer plus attentivement au microscope (92).

3.1.1.3. Examen microscopique de la semence

L'examen microscopique de la semence comprend la mesure de la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat par mesure de la densité optique au photomètre ainsi que la notation de la semence en matière de mobilité des spermatozoïdes. Cette notation est basée sur l'estimation visuelle du pourcentage de spermatozoïdes mobiles lors de l'examen au microscope d'une goutte de semence entre lame et lamelle, ainsi que sur l'évaluation subjective du type de mouvement sur l'ensemble des spermatozoïdes observés, évaluation basée sur les critères de l'échelle de Bishop.

Les seuils d'utilisation d'une semence pour la fabrication de doses commerciales d'I.A. ne sont pas fixés par la réglementation pour les CIA, ils sont laissés à l'appréciation du chef de centre ou de la structure. Cependant, à partir de différentes publications, on peut avancer, pour la fabrication de doses à 3 milliards de spermatozoïdes, que le seuil limite de pourcentage de spermatozoïdes mobiles se situe autour de 75% de spermatozoïdes mobiles et le seuil limite de motilité est à 3 (2)(92).

3.1.2 Analyse approfondie de la qualité de semence

Pour compléter l'analyse de routine de la semence, beaucoup de tests sont disponibles pour aider le clinicien à évaluer de façon plus fine la qualité de la semence de verrat. Ces tests ont été mis au point pour mesurer des attributs spécifiques essentiels à la fertilité ; cependant ces tests ont une valeur prédictive individuelle de la fertilité limitée car ils n'évaluent pas tous les attributs qu'un spermatozoïde doit avoir pour être fertile. Cependant la réalisation de plusieurs de ces tests peut permettre de décrire précisément la qualité d'un éjaculat en évaluant la proportion de spermatozoïdes vivants et normaux, la proportion de spermatozoïdes avec une membrane spermatique fonctionnelle ou encore la proportion de spermatozoïdes avec un acrosome intact...et ainsi d'identifier catégoriquement des éjaculats de mauvaise qualité (2).

3.1.2.1. Coloration vitale à l'éosine-négrosine

La coloration à l'éosine-négrosine est la méthode de référence utilisée depuis les années 50 pour estimer la viabilité des spermatozoïdes, c'est-à-dire les proportions de spermatozoïdes

vivants et morts. Il s'agit d'une coloration « d'exclusion », car les membranes des spermatozoïdes vivants ne laissent pas pénétrer le colorant alors que celles des spermatozoïdes morts laissent entrer le colorant. On parle aussi de coloration « vitale » car elle différencie les spermatozoïdes vivants, qui restent blancs et les spermatozoïdes morts, qui deviennent roses. Cependant, cette coloration nécessite des concentrations de colorant relativement élevées pour permettre l'observation au microscope ; or l'éosine est extrêmement toxique à ces concentrations, ce qui peut entraîner une augmentation artéfactuelle du nombre de spermatozoïdes morts et donc une sous-estimation de la proportion de spermatozoïdes vivants (128).

C'est un test simple, peu coûteux, facile à réaliser puisqu'il suffit de mélanger une goutte de semence pure ou diluée à une goutte de mélange colorant préparé à l'avance, le tout à 37°C, puis de réaliser un frottis à partir du mélange obtenu ; une fois la lame sèche, il suffit de dénombrer les spermatozoïdes blancs et roses parmi 200 spermatozoïdes. Ainsi, malgré l'effet spermicide potentiel de l'éosine, cette coloration demeure encore actuellement la coloration vitale de référence, à laquelle on se reporte pour évaluer la qualité des colorations avec les sondes fluorescentes, qui ne sont pas encore tout à fait au point selon les espèces et les types de sondes, mais qui pourraient à terme remplacer cette « vieille » méthode.

3.1.2.2. Test de résistance en milieu hypo-osmotique

DEVRIUS et ERIKSSON (1966) furent les premiers à rapporter que des spermatozoïdes placés dans une solution hypotonique se distinguent par leur flagelle qui s'enroule dans la membrane plasmique. Cette observation a permis de développer un test de contrôle de l'intégrité des membranes à partir du postulat que seuls les spermatozoïdes avec une membrane spermatique intacte peuvent compenser le gradient de pression osmotique en « gonflant » d'eau leur cytoplasme et en enroulant leur flagelle. Ce test, appelé test HOS pour Hypo Osmotic Swelling, permet donc d'estimer l'intégrité fonctionnelle des membranes des spermatozoïdes. Il a été appliqué en premier en médecine humaine en 1984 par JEYENDRAN *et al.* (63) et a été récemment appliqué à des espèces d'animaux domestiques, dont les bovins par COREA et ZAVOS en 1994 et sur les porcins par VASQUEZ *et al.* en 1997 (124).

Ce test est basé sur le principe physiologique de la perméabilité sélective de la membrane cellulaire : si une cellule intacte est exposée à un environnement hypo-osmotique, la concentration intracellulaire en solutés est alors supérieure à la concentration extracellulaire et ce gradient de concentration provoque un flux passif d'eau du milieu extracellulaire jusque dans la cellule, ce qui rétablit l'équilibre osmotique de part et d'autre de la membrane (128). L'entrée d'eau entraîne une dilatation de la cellule qui se gonfle d'eau, dilatation qui apparaît en premier dans la partie de la cellule spermatique ayant la surface la plus étendue, c'est-à-dire le flagelle. Ainsi lorsque la membrane plasmique se ballonne, les fibres du complexe axonémal, normalement entourées étroitement par la membrane, s'enroulent sur elles-mêmes à partir de l'extrémité du flagelle, ce qui modifie l'apparence microscopique du spermatozoïde. Si la membrane cellulaire est rompue ou non fonctionnelle, l'enroulement du flagelle n'a pas lieu et l'apparence microscopique du spermatozoïde reste la même. Ainsi il y a corrélation entre l'enroulement du flagelle et la fonctionnalité de la membrane du spermatozoïde : un spermatozoïde avec une membrane intacte et fonctionnelle a son flagelle enroulé et est dit « gonflé » alors qu'un spermatozoïde avec une membrane non fonctionnelle a un flagelle droit, non enroulé.

Ce test est simple, peu coûteux et rapide à réaliser : 0.1 mL d'un éjaculat (300 mOsm/mL) est mélangé à 1 mL de solution hypoosmotique (150 mOsm/mL), le mélange est incubé pendant 30 minutes et 100 à 200 spermatozoïdes sont comptés au microscope optique pour déterminer la proportion de spermatozoïdes avec un flagelle enroulé, c'est-à-dire la proportion de spermatozoïdes avec une membrane spermatique fonctionnelle (2).

Même si l'utilisation du test HOS en médecine vétérinaire n'en est qu'à ses premiers balbutiements, ALTHOUSE a montré en 1997 que les spermatozoïdes de verrats réagissent de façon similaire aux spermatozoïdes des autres espèces quand ils sont exposés à un milieu hypoosmotique (2). La relation entre la réponse au test HOS et la fertilité a été étudiée par PEREZ-LLANO *et al.* en 2001 (101) (corrélation significative $r=0.43$ et $p>0.01$). En effet l'intégrité biochimique de la membrane est essentielle à la fonction spermatique, non seulement pour les processus métaboliques impliqués dans les déplacements des spermatozoïdes mais aussi pour les événements survenant lors de la fécondation, à savoir la capacitation, la réaction acrosomiale et la liaison du spermatozoïde à la surface de l'ovocyte. On peut donc avancer qu'une membrane ne réagissant pas au test HOS, donc non fonctionnelle, constitue une sérieuse atteinte de la fertilité (64). Enfin DRUART (1999) a souligné la très grande variabilité existant entre les verrats (confirmée en 2001 par PEREZ-LLANO *et al.* (101)) ainsi qu'entre les éjaculats d'un même verroat quand à la réponse au test HOS (38).

La réalisation du test HOS dans le cadre de notre étude a pour objectif de comparer des réactions des spermatozoïdes de verrats VDQS+ et de verrats VDQS- (témoins) en milieu hypo-osmotique et donc de comparer l'état et la fonctionnalité des membranes des spermatozoïdes entre le lot expérimental et le lot témoin, celle-ci pouvant être à l'origine de la baisse de mobilité des spermatozoïdes.

3.1.2.3. Double coloration vitale avec deux sondes fluorescentes : CFDA et IP

A la place de la coloration vitale à l'éosine-négrosine, il est possible d'utiliser des marqueurs fluorescents qui nécessitent un microscope à épifluorescence pour la lecture des lames mais qui éliminent les problèmes posés par l'éosine, problèmes de toxicité pour les spermatozoïdes et de subjectivité pour la lecture des lames (128). GARNER *et al.* en 1986 puis HARRISON et VICKERS en 1988 (57) ont décrit l'utilisation simultanée de deux sondes fluorescentes émettant dans le visible, le DiAcétate de Carboxy Fluorescine (ou CFDA) et l'iodure de propidium (ou IP) pour évaluer l'intégrité des membranes des spermatozoïdes et par là la vitalité des spermatozoïdes, et ceci sur la semence de taureaux, de béliers et de verrats. Cependant GARNER *et al.* a décrit l'utilisation simultanée des deux sondes pour la cytométrie en flux alors que HARRISON et VICKERS ont adapté en 1990 cette première méthode à l'utilisation en laboratoire de routine avec utilisation de faibles concentrations de formaldéhyde pour immobiliser les spermatozoïdes vivants et permettre l'estimation de la proportion de cellules avec des membranes plasmiques intactes par comptage au microscope à épifluorescence (58).

Il est intéressant de rappeler les principes de la fluorescence pour mieux comprendre le principe de ce test: lorsqu'on irradie une substance fluorescente avec une lumière de faible longueur d'onde, elle émet une radiation électromagnétique dans le visible : on parle de fluorescence primaire ou auto-fluorescence. L'objectif de la microscopie en fluorescence étant de rendre visible des structures ou de mettre en évidence des détails intéressants, on marque

les préparations avec un colorant fluorescent appelé fluorochrome. La lumière émise par le fluorochrome est appelée fluorescence secondaire. On utilise, pour la lecture des lames, un microscope équipé en fluorescence en lumière réfléchi (préférée à la technique d'excitation en lumière transmise utilisée autrefois mais qui donne une intensité fluorescente plus faible), avec un bloc de filtres contenant :

- le filtre d'excitation, qui sélectionne parmi les différentes longueurs d'onde de la source lumineuse uniquement celle qui sert à l'excitation de la fluorescence
- le miroir dichromique, qui réfléchit le rayon d'excitation de courte longueur d'onde vers la préparation mais qui laisse passer les rayons de longueur d'onde plus longue
- le filtre d'arrêt, qui arrête la lumière d'excitation que la préparation réfléchit et renvoie vers l'objectif.

L'interaction des trois filtres fait apparaître une image fluorescente brillante et contrastée.

Le CFDA, non fluorescent, traverse facilement les membranes puis est déestérifié à l'intérieur des cellules par des estérases non spécifiques (enzymes présentes dans tous les types cellulaires) et donne la carboxyfluorescéine libre, de fluorescence verte qui s'accumule dans le cytoplasme des cellules intactes. L'IP est un agent intercalant des bases de l'ADN (ou de l'ARN double brin), de fluorescence rouge, qui ne peut traverser les membranes cellulaires intactes, il ne colore donc que les cellules avec des membranes abîmées, dont il peut atteindre l'ADN. Ainsi un spermatozoïde avec une membrane spermatique intacte ne laisse pas entrer l'IP et accumule de la carboxyfluorescéine verte, il est donc coloré en vert. Un spermatozoïde avec une membrane spermatique abîmée laisse entrer l'IP et le CFDA mais n'accumule pas de carboxyfluorescéine car l'estérase n'est pas opérationnelle, il est donc coloré en rouge. De plus, concernant les spermatozoïdes avec une membrane spermatique abîmée, les deux sondes ont accès aux membranes intracellulaires telles que la membrane acrosomique et les membranes mitochondriales, ce qui peut entraîner la coloration des structures intracellulaires comme l'acrosome et l'hélice mitochondriale, selon le même principe que pour la membrane spermatique : ainsi, si la membrane acrosomique est intacte, l'acrosome est coloré en vert par accumulation de carboxyfluorescéine alors que le reste de la cellule est coloré en rouge par l'IP ; de la même façon, si les membranes mitochondriales sont intactes, l'hélice mitochondriale est colorée en vert.

Ainsi, dans la coloration vitale CFDA-IP, on utilise à la fois les propriétés des deux molécules relativement aux membranes cellulaires et aux cellules et leurs propriétés de fluorochromes qui permettent de visualiser les premières.

Il faut noter que la coloration à l'Iodure de Propidium apparaît en une minute alors que la coloration due au Diacétate de CarboxyFluorescéine nécessite 5 à 10 minutes pour un développement optimal. D'autre part, l'inclusion de faibles concentrations de formaldéhyde immobilise les cellules intactes pour faciliter le comptage mais n'affecte pas l'accumulation de carboxyfluorescéine dans le cytoplasme ou les organites cellulaires. Par contre l'utilisation de formaldéhyde en concentration plus élevée serait préjudiciable (58).

3.1.3. Analyse de la qualité bactériologique de la semence

En cas de problèmes de qualité de semence dans un CIA ou dans un élevage, il est intéressant de se pencher sur la contamination microbienne de la semence, car la présence de bactéries dans la semence est souvent associée à une diminution de la viabilité des spermatozoïdes et de la fertilité de la semence. Aux Etats-Unis, ALTHOUSE *et al.* ont mis en la présence de genres

bactériens spermicides dans de la semence montrant une baisse de mobilité et une agglutination des spermatozoïdes avec mort des spermatozoïdes après deux jours de conservation (4). La contamination bactérienne de la semence est cependant inévitable et systématique et les conséquences sur la qualité de la semence dépendent du type de bactérie dominante et de la charge bactérienne de l'éjaculat (86). La survenue de problèmes reproducteurs sur les truies inséminées avec de la semence contaminée est rare et peut dépendre de nombreux facteurs tels que :

- le genre bactérien dominant et la charge bactérienne des doses d'I.A.
- la température et la durée de conservation de ces doses
- le stade physiologique de l'utérus (imprégnation progestéronémique en métoestrus)
- la qualité du geste d'insémination.

La **charge bactérienne** de la semence est très variable, elle dépend du niveau de contamination du milieu (cases des verrats, salle de monte et mannequin, laboratoire...) ainsi que de l'état de propreté des verrats et du niveau d'hygiène lors de la collecte. Ainsi des valeurs allant de 0 à 10^7 - 10^8 UFC/mL de semence ont été rapportées sur de la semence pure (86) (102). L'addition d'antibiotiques lors de la dilution doit normalement permettre de contrôler la multiplication bactérienne dans les doses d'I.A.. Cependant MADEC a montré en 1987 que la charge bactérienne des doses d'I.A. est en moyenne de 3000 UFC/mL avec de fortes variations autour de la moyenne, mais qu'on assiste à une prolifération bactérienne au bout de 48 heures de conservation à 15°C avec pullulation dans 15% des cas ($>10^6$ UFC/mL). Ainsi selon la charge bactérienne initiale dans la semence pure, l'adjonction d'antibiotique lors de la dilution ne semble pas toujours empêcher la multiplication bactérienne dans les doses (85), cependant cette étude date déjà de 15 ans.

Les **genres bactériens** présents dans un éjaculat avant dilution varient selon les travaux, car la flore microbienne présente dans le milieu diffère d'un élevage ou d'un CIA à l'autre mais aussi en raison des méthodes d'isolation des germes, qui varient d'une étude à l'autre (102). La flore bactérienne présente dans la semence de verdat en bonne santé est très variée avec, selon MADEC (86), en majorité des bactéries Gram négatif comme *Micrococcus* et *E. Coli*, puis dans l'ordre décroissant *Proteus vulgaris*, *Streptococcus fecalis*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium (pyogenes et suis)* et *Citrobacter*. PANDEY et SINGH en Inde (100) ont isolé sept genres bactériens de la semence de 5 verrats, le plus représenté étant *Bacillus*, suivi de *Staphylococcus* et *Streptococcus*, de *Micococcus* et *Corynebacterium* et enfin de *Klebsiella*, tous étant très sensibles à la gentamycine. Par contre, aux Etats-Unis, ALTHOUSE (4) a mis en évidence des genres bactériens différents dont *Alcaligenes xylosoxydans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens* et *Stenotrophomonas maltophilia*, tous étant résistants à la gentamycine, antibiotique courant utilisé en prévention dans les dilueurs de semence aux USA. D'autre part le profil qualitatif des différentes espèces isolées de la semence diluée à 48 heures est assez voisin de celui sur la semence diluée juste après la collecte (85) et de celui de la semence fraîche (102).

Les **sources de contamination bactérienne** de la semence sont d'origine animale et non animale puisque, sur un verdat en bonne santé, les bactéries présentes dans la semence proviennent de la flore commensale du tractus uro-génital (source animale) et du milieu extérieur lors de la collecte (source non animale) (4) (86). On peut aussi penser qu'en cas d'infection du tractus uro-génital on puisse retrouver dans la semence des bactéries provenant d'une flore pathogène ayant colonisé le tractus uro-génital. Cependant la plupart des germes isolés ont pour caractéristique d'être à pouvoir pathogène facultatif et sont des hôtes habituels des voies génitales mâles et femelles, ainsi que de l'environnement des animaux (85).

Plusieurs auteurs ont mis en évidence une similitude entre la microflore de la semence et celle de certains sites anatomiques comme le diverticule préputial, ce qui fait suspecter plutôt une relation entre le niveau de contamination de la semence et le niveau d'hygiène de la collecte de semence et l'état de propreté des verrats, d'autant plus que la flore mise en évidence est une flore composite peu compatible avec une infection vraie des voies génitales du verroat. Ainsi *Enterobacter*, *E. Coli* et *Streptococcus fecalis* proviennent d'une contamination du prépuce par des fécès, *Corynebacterium* colonise le sac préputial chez les porcelets et y demeure jusqu'à l'âge adulte et enfin *Serratia*, *Pseudomonas* et *Citrobacter* proviennent du milieu extérieur.

Le principe de l'analyse microbiologique sur la semence pure des verrats VDQS+ ainsi que sur les verrats VDQS- et ce sur trois collectes successives est de comparer les charges bactériennes de la semence de mauvaise qualité des VDQS+ à celles de la semence commercialisable des VDQS-. Le but est de savoir si les éjaculats de mauvaise qualité en matière de pourcentage de spermatozoïdes mobiles sont globalement plus contaminée que les éjaculats de bonne qualité.

3.2. Intérêts et objectifs des examens clinique et échographique des organes génitaux externes de verroat

3.2.1. Intérêt et objectifs de l'examen clinique génital

Dès 1969, REED pose que l'examen clinique de l'appareil génital du verroat fait partie intégrante de l'évaluation de sa capacité de production de semence, avec la connaissance de sa carrière et l'examen approfondi de sa semence (44)(106). Cet examen a pour objectif de vérifier l'intégrité apparente des organes génitaux externes (testicules et épидидymes) par l'inspection et la palpation, afin d'évaluer la consistance et la mobilité des organes dans les enveloppes testiculaires et de relever toute anomalie de taille ou de symétrie et de déceler toute plaie ou cicatrice grâce à un examen rapproché du scrotum, du fourreau et du prépuce. Les remarques et anomalies relevées lors de cet examen devront être mises en relation avec les constatations faites sur le tractus génital complet après abattage du verroat.

3.2.2. Intérêt et objectifs de l'examen échographique

L'échographie, utilisée en routine sur les truies pour le diagnostic de gestation par voie trans-abdominale, est très peu utilisée sur les verrats. Cependant, elle pourrait constituer un examen complémentaire intéressant sur des verrats présentant des problèmes de production de semence puisque, associée aux commémoratifs, à l'inspection visuelle et à la palpation des organes génitaux externes, ainsi qu'à l'analyse approfondie de la qualité de la semence, elle pourrait permettre d'orienter le diagnostic vers certaines pathologies (1) et ce du vivant de l'animal, tout du moins concernant les testicules et épидидymes, seuls organes sexuels accessibles à l'échographie par voie externe. De plus, même si le verroat n'est pas un animal facile à contenir et à manipuler, l'examen échographique des testicules et épидидymes est réalisable dans d'assez bonnes conditions s'il ne dure pas plus d'une demi-heure (durée au-delà de laquelle le verroat devient difficile à contenir).

Par contre l'examen échographique des glandes annexes par voie transrectale est beaucoup plus délicat et nécessite une contention parfaite du verroat, une tranquillisation médicamenteuse de l'animal et l'utilisation d'une sonde échographique rigide pouvant être manipulée « du dehors » de l'animal (car la présence des glandes bulbo-urétrales dans la

cavité pelvienne interdit le passage d'une main et par conséquent toute velléité de palpation transrectale des glandes annexes comme dans d'autres espèces). L'échographie des glandes annexes est décrite pour la première fois par CLARK et ALTHOUSE en 2001, qui indiquent qu'elle ne doit être réalisée qu'en cas de suspicion d'atteinte des glandes annexes et qu'elle doit être réalisée avec beaucoup de précaution (23). Aussi, dans le cadre de notre étude, n'avons-nous pas jugé nécessaire et indiqué de procéder à l'examen échographique systématique des glandes annexes, d'autant plus que nous souhaitons demeurer dans un cadre de faisabilité en routine.

3.2.3. Appréciation des images échographique normales et anormales

Il est impératif que l'opérateur ait une idée précise des images normales d'échographie testiculaire et épидидymaire afin de pouvoir reconnaître les anomalies d'échogénicité pouvant exister lors de pathologies (1).

Le parenchyme testiculaire a une apparence hypo-échogène et assez homogène avec une bande hyperéchogène en position centrale correspondant au rete testis. En coupe transversale, des petites tâches hyperéchogènes peuvent être observées dans le parenchyme, elles sont normales si elles ne produisent pas d'« ombre » (c'est-à-dire une queue hypoéchogène derrière une tâche hyperéchogène) et correspondent à des extensions du mediastinum testis (sinon il peut s'agir de calcifications, assez fréquentes chez les vieux verrats) (18). En cas d'évolutions pathologiques l'apparence échographique du parenchyme testiculaire devient hétérogène avec des régions d'échogénicité différentes séparées par des limites plus ou moins distinctes (1).

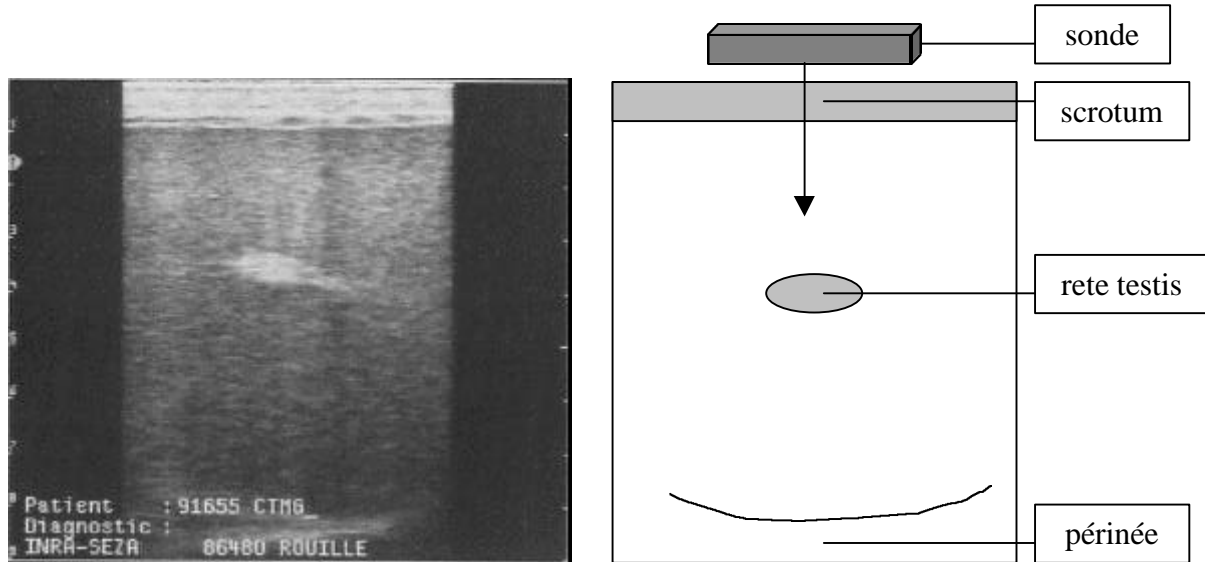


Photo 1 : apparence échographique normale du parenchyme testiculaire, au centre la zone hyperéchogène correspond au rete testis (coupe transversale)

L'épididyme apparaît à l'échographie comme une structure plus échogène et plus hétérogène que le testicule, hétérogénéité qui rend l'interprétation des images échographiques épидидymaires peu évidente. La queue de l'épididyme, de par sa position dorsale par rapport au testicule, est plus accessible et plus facile à distinguer à l'échographie ; c'est la structure

épididymaire à la localisation la plus constante. Cependant, elle est parfois difficile à distinguer si le verrat a été collecté dans les 48 heures précédentes car les réserves spermatiques épидидymaires (essentiellement stockées dans la queue de l'épididyme) ont été vidées. Elle apparaît moins homogène et plus hyperéchogène que le testicule et présente des régions anéchogènes entre le parenchyme épидидymaire qui correspondent sans doute à des tubes épидидymaires remplis de sperme stocké avant éjaculation (18).

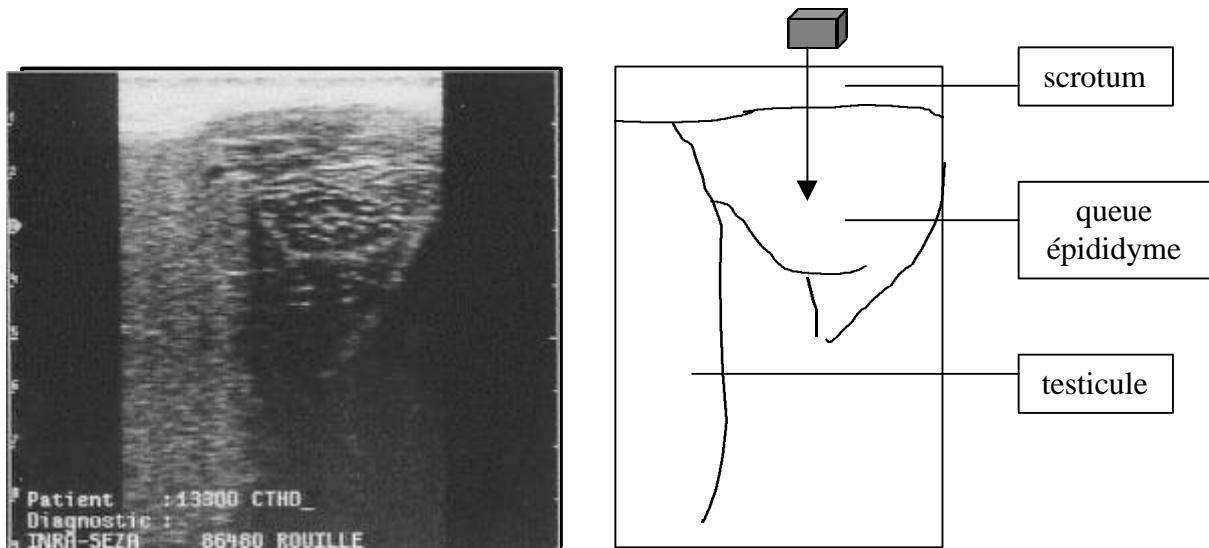
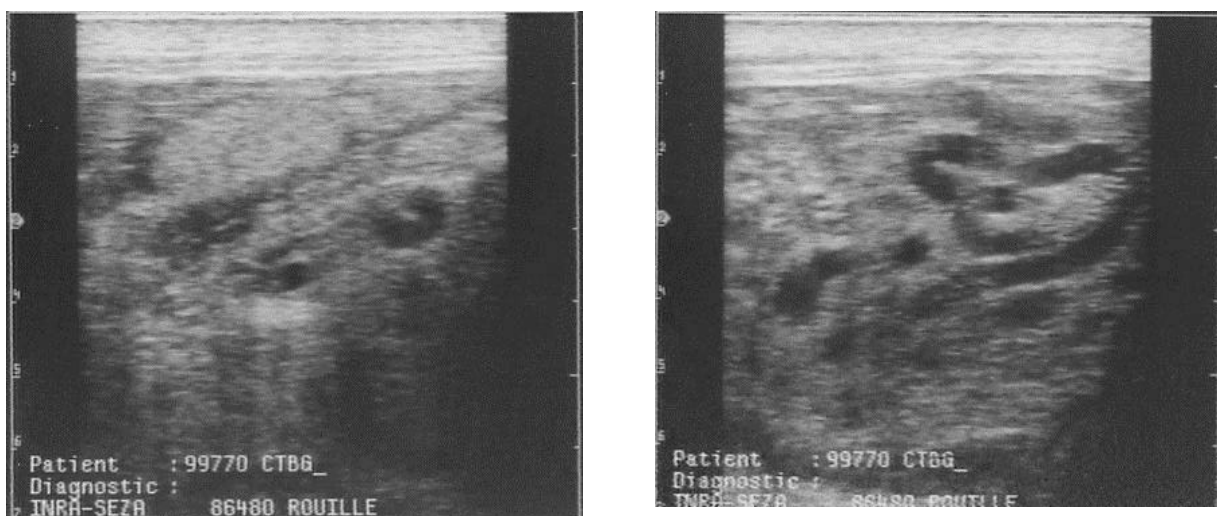


Photo 2 : apparence échographique normale du tissu épидидymaire, queue de l'épididyme (coupe transversale)

La tête de l'épididyme, située ventralement au testicule, est plus difficilement observable ; elle présente la même apparence échographique que la queue de l'épididyme avec des régions anéchogènes qui correspondent sans doute à des canaux efférents (19). Cependant, elle ne doit pas être confondue avec le plexus pampiniforme qui a une localisation voisine et qui montre une échogénicité mixte avec de multiples foyers anéchogènes qui correspondent à des vaisseaux sanguins anastomosés (19).



Photos 3 et 4 : apparence échographique normale du tissu épидидymaire, tête de l'épididyme à gauche et plexus pampiniforme à droite (coupe transversale)

Le corps de l'épididyme est difficilement observable du fait de sa position crâniale par rapport au testicule. Cependant, si les testicules sont très pendulaires, il est possible d'observer le corps de l'épididyme comme une structure parallèle au testicule et d'échogénicité hétérogène. Les kystes épидидymaires apparaissent anéchogènes et ont tendance à être de plus grande taille que les régions anéchogènes normalement visualisées dans l'épididyme. Les granulomes spermatiques épидидymaires apparaissent, eux, hyperéchogènes. Un épидидyme inflammé apparaît large et hypoéchogène alors qu'un épидидyme non fonctionnel, de petite taille par rapport à un épидидyme normal, peut présenter une apparence homogène à l'échographie (1).

3.3. Principes de l'étude anatomo-pathologique du tractus génital de verrat

La dissection du tractus génital des verrats produisant de la mauvaise semence a pour objectif de relier la qualité de semence à l'état des organes génitaux internes et externes, aux niveaux macroscopique et microscopique. De plus, la dissection de tractus de verrats témoins, qui produisent donc de la semence de bonne qualité, doit permettre de disposer d'organes sains qui peuvent servir de références pour les éventuels organes lésés en terme de couleur, de texture et de taille. Enfin, un autre intérêt réside dans la mise en relation de l'état et de la taille des organes génitaux avec l'âge du verrat et son appartenance au lot expérimental ou au lot témoin. Ainsi l'objectif de l'étude anatomo-pathologique réside dans la comparaison des tractus de verrats produisant de la semence de mauvaise qualité avec ceux de verrats produisant de la semence de bonne qualité et aussi dans la comparaison des tractus entre eux selon l'âge des verrats ; les principes de cette étude découlent directement de cet objectif. Pour effectuer une comparaison objective, il faut donc standardiser la méthode de dissection des tractus génitaux, ainsi que la méthode de relevé des dimensions des organes génitaux et la technique de prélèvement de tissus pour l'analyse histologique, ce qui est décrit en détail dans la partie Matériels et Méthodes.

B. Matériels et méthodes

1. Analyse de la qualité de semence

1.1. Evaluation de routine de la qualité de la semence pure

1.1.1. Evaluation des paramètres quantitatifs : volume et concentration

Le **volume** de l'éjaculat est évalué par pesée sur une balance de marque METTLER et de type BD 6000, préalablement tarée avec le récipient de collecte. On obtient le volume en mL après rectification avec la valeur de densité de la semence de verrat.

La **concentration en spermatozoïdes** de l'éjaculat, exprimée en nombre de spermatozoïdes par mL peut être obtenue soit à l'aide d'un photomètre, qui évalue la concentration en spermatozoïdes à partir de la densité optique d'un échantillon de l'éjaculat, soit par comptage à l'hématimètre. Pour notre étude nous travaillerons avec un photomètre régulièrement vérifié par des comptages à l'hématimètre.

Le calcul du nombre de spermatozoïdes est basé sur la connaissance du volume d'un petit carré de la cellule de Thoma (la surface d'un petit carré est de 0.0025 mm^2 et la profondeur de 0.1 mm , d'un volume de $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$).

Soit N le nombre de spz comptés dans cinq grands carrés, c'est-à-dire dans 80 petits carrés ($5 \cdot 16$), le volume correspondant est donc de $80 \cdot 2,5 \cdot 10^{-4} = 200 \cdot 10^{-4} \text{ mm}^3$. Donc il y a N spermatozoïdes dans 0.02 mm^3 de semence soit 50 N dans 1 mm^3 de semence. La dilution étant au quarantième, la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat est égale à $40 \cdot 50 \cdot N$ soit $2 \cdot 10^3 \cdot N \text{ spz/mL}$

Le nombre total de spermatozoïdes présents dans l'éjaculat est obtenu en multipliant le volume mesuré, noté V et la concentration en spermatozoïdes obtenue après comptage sur les deux cellules de Thoma, tel que : $\text{Nombre de spz} = 2 \cdot 10^3 \cdot N \cdot V$

1.1.2. Evaluation des paramètres qualitatifs : % de spermatozoïdes mobiles et motilité

L'examen au microscope au grossissement *10 ou *20 d'une goutte de semence pure entre lame et lamelle et sur platine chauffante à 37°C permet d'évaluer :

- le **pourcentage de spermatozoïdes mobiles**, qui se situe entre 80 et 90% pour une semence de bonne qualité
- la **motilité des spermatozoïdes** (c'est-à-dire le mode de déplacement observé pour l'ensemble des spermatozoïdes) qui est appréciée de façon qualitative et notée de 0 à 5 selon l'échelle de Bishop

L'échelle de Bishop détermine la note de motilité individuelle selon la grille présenté au tableau 10 de la première partie. La figure 28 illustre les notes de l'échelle de Bishop :

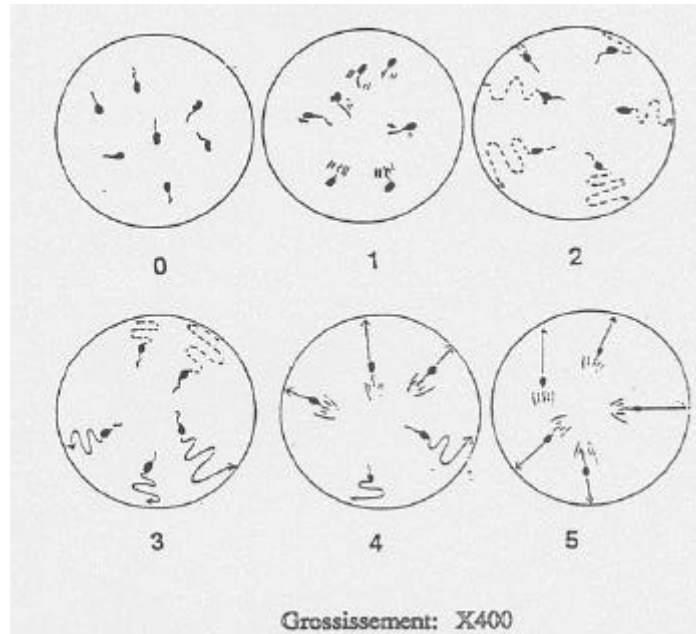


Figure 28 : Notes de motilité des spermatozoïdes (selon Synthèse Elevage)

1.2. Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique de la semence pure

1.2.1. Mesure du pH et de la pression osmotique de la semence pure

Le **pH** de l'éjaculat est mesuré au moyen d'un pH-mètre, modèle WTW InoLab pH level 1, préalablement étalonné avec deux solutions de pH différents (pH=7 et pH=14). Avant la mesure du pH de la semence pure, on vérifie le pH-mètre avec une solution tamponnée à pH 7 et on ajuste le pH-mètre à la température de l'éjaculat (entre 25 et 30°C). On utilise le mode de mesure automatique et, après stabilisation de la mesure, on obtient la valeur de pH de l'éjaculat. La mesure de pH a été effectuée le plus rapidement possible après la collecte, soit environ une demi-heure après, de façon systématique afin de ne pas fausser les résultats à cause de l'évolution rapide du pH de la semence après la collecte.

La **pression osmotique** de l'éjaculat est mesurée au moyen d'un osmomètre de type 13/13DR-AutoCal de marque Roebbling sur un échantillon de 100µL de semence pure placé dans un tube Eppendorf. Avant la mesure il est impératif de vérifier l'osmomètre en mesurant la pression osmotique de l'eau distillée (normalement égale à 0). Puis on place 100µL de semence pure dans un tube Eppendorf, que l'on fixe sur la tête de mesure de l'osmomètre et on abaisse la tête de mesure pour introduire le tube dans l'enceinte réfrigérante. Puis on attend que la température de surfusion soit atteinte, ce qui déclenche l'aiguille de mesure. Après stabilisation de la valeur affichée, l'osmomètre nous fournit la valeur de pression osmotique de l'éjaculat.

Après avoir vérifié la répétabilité des mesures de l'appareil, il a été décidé de n'effectuer qu'une mesure de pression osmotique sur un éjaculat. Contrairement au pH, la pression osmotique de la semence n'évolue pas dans le temps après la collecte, les mesures ont donc été effectuées à peu près une heure après la collecte.

1.2.2. Evaluation de la qualité bactériologique de la semence pure

En vue de l'analyse bactériologique de la semence, il est impératif d'effectuer la récolte de semence dans les conditions les plus aseptiques possibles afin d'éviter une contamination du prélèvement par des germes de l'environnement, différents des contaminants systématiques provenant du tractus uro-génital bas (prépuce et glandes préputiales). Cependant, il ne peut y avoir de récolte de semence totalement aseptique puisque cette récolte se fait à la main, gantée certes mais en contact avec la peau du verrat tout de même ; de plus, l'intérêt de cette étude est de se placer dans les conditions normales de production de doses d'I.A. Ainsi, la collecte est effectuée dans les mêmes conditions qu'en routine, avec un pot de collecte et des gants propres, à usage unique mais non stérilisés. Le seul matériel stérile utilisé est le pot de prélèvement pour analyse bactériologique fourni par le laboratoire effectuant les analyses et la pipette Stérilin de 25 mL utilisée pour prélever l'échantillon de sperme destiné à l'analyse bactériologique.

Immédiatement après la collecte, on prélève 25 mL de semence pure avec une pipette stérile, que l'on place dans un tube adapté au prélèvement pour analyse bactériologique. Puis on conserve le prélèvement dans une glacière à une température de 4 °C pour limiter la prolifération bactérienne pendant le transport jusqu'au laboratoire. Ce transport dure une demi-heure et est effectué dans un délai de une à trois heures après la collecte.

Le dénombrement de la flore totale est effectué par le LASA, Laboratoire d'Analyses et de Sécurité Alimentaire selon le mode opératoire fourni en annexe et le résultat est exprimé en UFC/mL (Unité Formant Colonie). La méthode des dénombrements est la technique classique de référence pour l'appréciation quantitative de la contamination bactérienne. Elle permet de rapporter la numération des colonies à une quantité donnée d'inoculum. Après homogénéisation, la semence est diluée (plusieurs dilutions décimales successives) et un aliquot de chaque dilution est ensemencé sur boîtes de Pétri. Le milieu de culture utilisé est la gélose PCA. Les boîtes sont placées à l'étuve à 30°C pendant 72 heures. L'inoculum ayant un volume connu, le résultat final s'exprime en nombre de colonies par mL de semence.

1.3. Evaluation de la qualité fonctionnelle de la semence diluée

1.3.1. Vitalité des spermatozoïdes (% de spermatozoïdes vivants)

1.3.1.1. Coloration éosine-nigrosine

La coloration éosine-négrosine consiste à placer deux gouttes de semence diluée (une goutte=20 µL) et une goutte d'éosine-négrosine sur une lame chauffée à 37°C et à les mélanger doucement et à réaliser un frottis sur une autre lame propre et identifiée (date+n°verrat) après avoir laissé 50 secondes la lame sur la platine. L'observation se fait au microscope à contraste de phase au grossissement 1000 en immersion, la platine du microscope maintenue à 37°C. Le test consiste à dénombrer parmi 200 spermatozoïdes les spermatozoïdes vivants et les spermatozoïdes morts (photo 5) et, parmi eux, ceux présentant des anomalies de flagelles (flagelles retournés) ainsi que les spermatozoïdes immatures (présentant des gouttelettes cytoplasmiques). Le comptage est effectué deux fois sur deux lames différentes et le résultat correspond à la moyenne des deux comptages. Le comptage des spermatozoïdes à flagelle retourné sera utilisé pour corriger le résultat du HOS Test. Les lames sont ensuite conservées dans une étuve à 37°C afin de pouvoir vérifier les comptages au besoin.

Le colorant éosine-négrosine est fabriqué en mélangeant 4.5 g de négrosine dans 150 mL d'eau dans un erlen-mayer de 500 mL, qu'on fait réduire à 75 mL d'eau au bain-marie à 80°C pendant 4 heures en agitant puis en ajoutant 1.25 g d'éosine. Il faut ramener le pH à 6,7 – 6,8 avec du HCl molaire et après avoir laisser refroidir et conserver 24 heures à 4°C puis filtrer avec un filtre Watman 41 diamètre 5.5 cm.

Le colorant doit être conservé à 4°C dans un flacon portant la date de fabrication, il doit être filtré tous les 2 ou 3 mois. Le pH doit être vérifié régulièrement et réajusté si besoin. On ne sort que la quantité nécessaire à chaque utilisation.

1.3.1.2. Test CFDA-IP

Pour le test CFDA-IP, il faut préparer le mélange colorant moins d'une heure avant utilisation. Afin de permettre la lecture, on a pris l'option d'éliminer le dilueur en centrifugeant 1 mL de semence diluée à 1800 g pendant 10 minutes, afin d'obtenir un culot de spermatozoïdes et de le resuspendre directement dans 1 mL de mélange colorant. Le test consiste ensuite à laisser incuber le mélange 8 minutes à 30°C puis à prélever 20 µL de la suspension colorée et le monter entre lame et lamelle. L'observation se fait au microscope à épi fluorescence au grossissement *1000 en immersion avec un filtre adapté pour visualiser les spermatozoïdes marqués en vert par le CFDA et les spermatozoïdes marqués en rouge par l'IP. Le comptage doit être effectué rapidement, sur 200 spermatozoïdes avant que les sondes ne s'éteignent (2 minutes par comptage). On dénombre les spermatozoïdes colorés entièrement en vert (membrane plasmique externe intacte), les spermatozoïdes colorés entièrement en rouge (membrane plasmique externe abîmée) et ceux avec la tête et le flagelle colorés en rouge et la pièce intermédiaire colorée en verte et les spermatozoïdes colorés en rouge mais avec l'acrosome coloré en vert (membrane acrosomique intacte) et la pièce intermédiaire colorée soit en vert soit en rouge (membranes mitochondriales intactes ou abîmées).

Le mélange colorant est constitué, pour 1 mL de sérum physiologique, 1 µL d'une solution de formaldéhyde à 5%, 20 µL d'une solution de CFDA, de concentration 0.46 mg/mL, et 10 µL de la solution d'IP de concentration 0.5 mg/mL.

Il faut souligner que le mélange colorant doit être préparé extemporanément à cause du formaldéhyde alors que la solution de CFDA et la solution d'IP peuvent être préparées à l'avance et conservées pendant plusieurs semaines, la solution de CFDA étant conservée à l'abri de la lumière et à une température de -20°C et la solution d'IP à l'abri de la lumière et à une température comprise entre 0 et 4°C.

1.3.2. Intégrité fonctionnelle des membranes – HOS Test

Le test ne pouvant pas toujours être réalisé immédiatement sur le lieu de collecte à J0 et devant être effectué à J3 et J7 après la collecte, il a été nécessaire de l'adapter à la semence diluée puisqu'il est décrit sur de la semence pure. Cette adaptation du mode opératoire a été adoptée après avoir obtenu des résultats similaires avec ceux obtenus avec le mode opératoire classique malgré la variation de pression osmotique occasionnée. Ce mode opératoire semble même présenter un avantage par la diminution des agglutinats, ce qui facilite la lecture des lames.

Le test HOS est préparé en mélangeant 200µL de semence diluée et 800 µL de la solution hypo-osmotique et en les laissant incuber dans un bain-marie à 37°C pendant 30 minutes. L'observation d'une goutte placée sur une lame préalablement chauffée à 37°C et recouverte d'une lamelle se fait au microscope au grossissement *40. Le test consiste à dénombrer, parmi 200 spermatozoïdes, les spermatozoïdes « gonflés », c'est-à-dire ceux avec une queue enroulée et les spermatozoïdes n'ayant pas réagi (photo 6) et déterminer ainsi le % de spermatozoïdes ayant une membrane fonctionnelle. Le comptage est effectué deux fois et sur deux lames différentes et le résultat correspond à la moyenne des deux comptages. Les flagelles seuls ne sont pas comptés alors que les têtes seules sont classées dans la catégorie des spermatozoïdes n'ayant pas réagi. Les lames luttées (c'est-à-dire avec une fine couche de vernis autour de la lamelle qui empêche l'évaporation de la goutte) sont stockées à 4°C pour être relues ultérieurement.

La solution hypo-osmotique utilisée dans le HOS Test est obtenue en mélangeant 0.735g de sodium citrate dihydrate et 1.351 g de D-fructose dans 100 mL d'eau distillée . La pression osmotique de la solution ainsi obtenue doit être vérifiée à l'osmomètre (PO = 150 mOsm/L). La solution, répartie en volumes de 800 µL dans des tubes Crystal de 5 mL identifiés HOS est conservée à une température de congélation (-20°C) après avoir clairement identifié le support -HOS Test - date de préparation-.

2. Examen clinique et échographique des organes génitaux externes du verrat

2.1. Examen clinique général et génital

L'examen clinique commence par un examen clinique général du verrat, qui comprend la prise de température rectale, la prise de la fréquence respiratoire, l'observation de la muqueuse oculaire et l'observation du comportement général et de l'appétit.

Puis l'examen des organes génitaux externes débute par un examen à distance (à quelques mètres) pour évaluer la symétrie des deux testicules en matière de volume testiculaire et d'insertion scrotale. L'examen rapproché comprend l'observation du scrotum, du fourreau et du prépuce pour relever d'éventuelles lésions ou cicatrices, puis la palpation des testicules pour contrôler la mobilité des bourses testiculaires et l'absence d'adhérences entre le testicule et le scrotum et pour vérifier la consistance des testicules et l'absence de chaleur et de sensibilité à la palpation et, enfin, de la même façon, la palpation des structures épидидymaires, tête et queue, et ce à droite et à gauche.

2.2. Examen échographique des organes génitaux externes du verrat

Le matériel nécessaire à la réalisation de l'examen échographique des organes génitaux externes de verrat comprend un échographe de marque Pie Medical Scanner 100LCV, équipé d'une sonde linéaire de fréquence 6 MHz, le tout protégé des souillures par un plastique de protection. Cet examen nécessite aussi la contention du verrat dans une cage de contention, ce qui permet seulement de limiter les mouvements du verrat sans l'immobiliser entièrement. Ainsi, face à la difficulté de manipulation d'un verrat et donc la difficulté d'obtenir des images échographiques de bonne qualité sur place, on utilise un magnétoscope pour enregistrer toutes les images et pour pouvoir trier ensuite, au lieu de les imprimer immédiatement

Le verrat est donc placé dans une cage de contention afin de permettre à l'opérateur de réaliser l'examen échographique en toute sécurité (photo 7). Le verrat doit être debout et tranquille. Pour cela, on lui propose de l'aliment pour essayer de minimiser ses mouvements pendant l'examen. Enfin, il est préférable d'effectuer cet examen quelques jours après la dernière collecte afin de mieux visualiser les structures épидидymaires.



Photo 7 : la contention est indispensable mais ne facilite pas toujours l'examen échographique

Le testicule à examiner doit être stabilisé en imprimant une pression à la base du scrotum pour pousser le testicule vers le haut : ainsi pour examiner le testicule droit, l'opérateur utilise sa main gauche pour stabiliser le testicule et sa main droite pour tenir la sonde. La sonde est initialement placée au milieu de la surface latérale puis de la surface caudale du scrotum afin de rechercher le repère hyperéchogène constitué par le mediastinum testis et de explorer le parenchyme testiculaire pour détecter d'éventuelles variations d'échogénicité tissulaire. La sonde est ensuite déplacée dorsalement et ventralement pour visualiser respectivement la queue et la tête de l'épididyme. La totalité de l'examen échographique est enregistrée sur cassette vidéo puis les images sont ensuite étudiées une à une et celles correspondant aux coupes obligatoires sont imprimées, ainsi que les images montrant des images échographiques anormales.

Le tableau échographique complet d'un verrat, repris dans la figure 29, comprend pour chaque testicule :

- une coupe longitudinale de côté CL
- une coupe transversale « moyenne », c'est-à-dire à mi-hauteur du testicule CTM
- une coupe transversale « haute » pour visualiser la queue de l'épididyme CTH
- une coupe transversale « basse » pour visualiser la tête de l'épididyme et le plexus pampiniforme CTB
- d'éventuelles coupes supplémentaires en cas d'anomalies d'échogénicité.

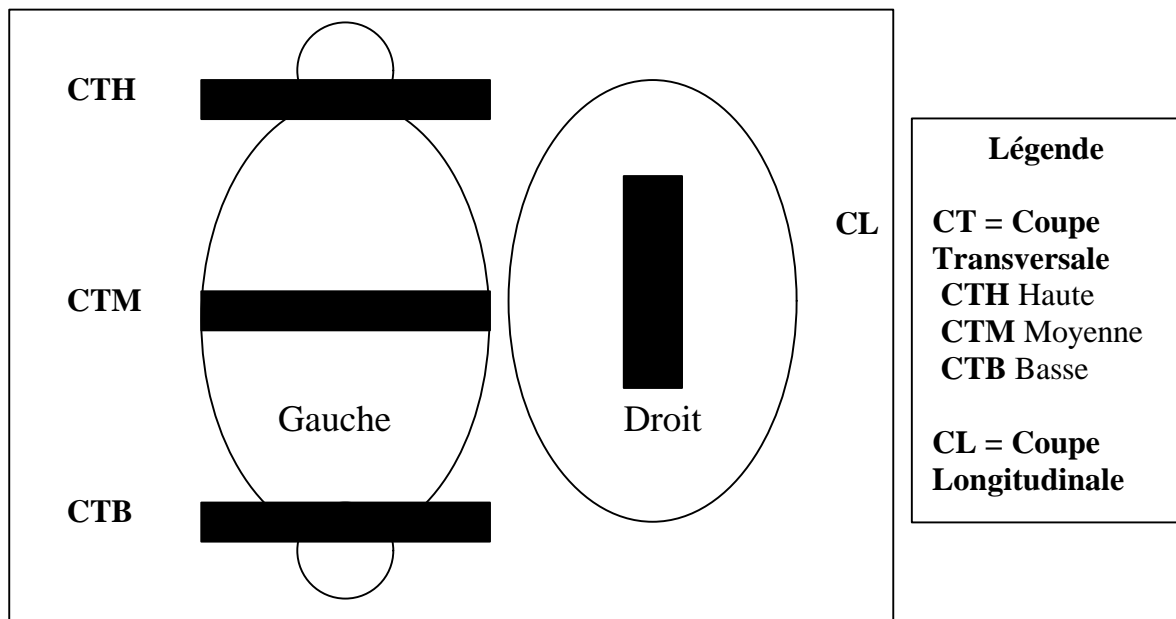


Figure 29 : schéma récapitulatif des coupes échographiques effectuées sur les deux testicules de chaque verrat (vue arrière)

3. Etude morphologique et histologique du tractus génital de verrat

3.1. Procédure de dissection du tractus génital de verrat

3.1.1. Préparation du matériel

L'observation du tractus génital est réalisée dans une salle de dissection située en dehors de la zone d'abattage. Avant l'abattage du verrat, le matériel nécessaire à la dissection est installé sur la paille, il comprend :

- un grand et un petit plateau à dissection
- une boîte à dissection contenant un manche de bistouri et des lames neuves, une paire de ciseaux avec un bout rond et un bout pointu et une pince à dents de souris
- une balance Sartorius L2200S
- une barquette en aluminium pour la pesée
- plusieurs paires de gants
- un pied à coulisse
- sept pots de prélèvement pour histologie
- 150 mL d'une solution fixatrice de formaldéhyde à 10% tamponnée à la neutralité
- une pipette de 10 mL
- des bandelettes urinaires
- une fiche individuelle de dissection

La balance branchée et placée à l'endroit où seront effectuées les pesées, doit être équilibrée à l'aide des pieds de réglage en centrant la bulle d'air du niveau à bulle.

Les pots de prélèvement pour histologie préalablement identifiés sont remplis avec l'aide d'une pipette de 10 mL chacun de la solution de formaldéhyde avant le début de la dissection et les bouchons sont remis en place pour éviter les émanations de formol.

L'identification des pots doit être simple mais univoque. Elle comprend le numéro du verrat, la date de prélèvement et la première lettre de l'organe prélevé, c'est-à-dire **T** pour Testicule, **TE** pour Tête de l'Epididyme, **CE** pour Corps de l'Epididyme, **QE** pour Queue de l'Epididyme, **VS** pour Vésicule Séminale, **BU** pour Bulbo-Urétrale et **P** pour Prostate.

3.1.2. Abattage et récupération du tractus génital sur la carcasse

Le verrat est transporté de l'U.E.I.C.P. de Rouillé au centre INRA de Nouzilly et abattu dans l'abattoir agréé CEE de l'INRA-PRC (Physiologie Reproduction Comportement).

Le verrat est débarqué dans une case d'attente puis amené dans un piège pour y être étourdi par électronarcose (une pince porte-électrodes est appliquée derrière les oreilles pour délivrer un courant de narcose). Le verrat est immédiatement enchaîné à une patte arrière et suspendu en réseau aérien. Il est ensuite saigné par section de la veine jugulaire et de l'artère carotide. La carcasse n'est pas commercialisée, il n'y a donc pas d'échouage ni d'éviscération et la carcasse est destinée à l'équarrissage après récupération du tractus génital.

Le tractus génital complet, accompagné de la vessie, est désolidarisé de la carcasse à partir des testicules dégagés du scrotum (photo 8) puis en suivant les canaux déférents jusqu'à la prostate. Il est alors nécessaire de scier la symphyse pubienne pour suivre la partie pelvienne de l'urètre.

La partie pelvienne de l'urètre est prélevée avec les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales. Puis, après incision des muscles ischio-caverneux, le pénis est prélevé, accompagné du diverticule préputial.



Photo 8 : incision du scrotum et désolidarisation des testicules de la carcasse

Si la vessie est pleine lors de la récupération du tractus, on prélève par ponction à l'aiguille un échantillon d'urine dans une seringue de 10 mL (photo 9) puis on la vidange immédiatement tout en observant la couleur et la qualité de l'urine (toute anomalie est signalée, telle que la présence de pus ou de « sable » ou encore une odeur et une couleur anormale de l'urine).



Photo 9 : prélèvement d'urine post-mortem

3.1.3. Latéralisation et dissection du tractus

Il est très important de repérer dès le début de la dissection et de façon nette et durable le testicule droit par rapport au gauche, car ces organes pairs sont difficiles à distinguer l'un de l'autre une fois séparés du reste du tractus. C'est pourquoi le testicule gauche est marqué par une épingle à nourrice plantée dans les enveloppes testiculaires immédiatement après la récupération du tractus puis replantée dans le parenchyme testiculaire après exérèse des enveloppes. L'identification des testicules permet d'identifier aussi les épидидymes jusqu'à ce qu'ils soient désolidarisés des testicules ; il faut donc être rigoureux lors de la séparation testicule - épидидyme en commençant toujours par les testicule et épидидyme gauches et en pesant l'épididyme gauche immédiatement après l'avoir désolidarisé du testicule. Cela n'est pas nécessaire pour les vésicules séminales et les glandes bulbo-urétrales qui demeurent liées à l'urètre et à la vessie et donc conservent leur orientation. Le tractus latéralisé est disposé dans un plateau à dissection avec le testicule gauche à la gauche de l'opérateur et la vessie et l'urètre en position centrale.

Par convention, on commence systématiquement la dissection par le côté gauche du tractus. En effet, la dissection doit toujours être faite dans le même ordre, à gauche puis à droite, afin d'éviter toute erreur lors de la transcription des poids.

La dissection débute par les blocs testicules - épидидymes que l'on extrait des capsules testiculaires en incisant le long du bord libre du testicule.

On dégage ensuite au ciseau le cordon spermatique de ses enveloppes et on individualise d'un côté les artères et veines testiculaires et, de l'autre, le conduit déférent que l'on dégage en écartant les vésicules séminales et jusqu'à ce qu'il disparaisse sous la prostate.

On dissèque ensuite la fine enveloppe des vésicules séminales en prenant garde à ne pas les léser ainsi que le corps de la prostate en partie enfoui sous les vésicules.

On dégage le S pénien et la partie libre du pénis jusqu'à son extrémité hélicoïdale puis on dissèque la cavité préputiale en incisant à partir de l'ostium préputial et on dégage les glandes préputiales.

3.1.4. Observation du tractus entier et relevés des dimensions des testicules et des glandes annexes

Une fois dégagés de leurs enveloppes respectives et débarrassés du tissu conjonctif et graisseux, les organes génitaux sont étalés sur un tapis plastique de couleur jaune afin de réaliser des clichés du tractus génital complet. Les organes sont disposés de la même façon à chaque fois, à savoir les testicules et épидидymes vers le haut, la vessie et l'urètre en position centrale et le pénis sur le côté droit.

Les dimensions des glandes annexes (longueur et largeur) sont relevées sur le tractus étalé à l'aide d'un pied à coulisse. Les dimensions sont exprimées en millimètre.

Les dimensions relevées sont (en s'appliquant à relever les dimensions maximales) :

- pour les vésicules séminales : la longueur et la largeur
- pour les glandes de Cowper : la longueur, la largeur et l'épaisseur
- pour la prostate : la largeur (mesure latérale), la longueur (mesure crânio-caudale) et l'épaisseur.

Les épидidymes sont ensuite désolidarisés des testicules à l'aide d'un bistouri en commençant systématiquement par le testicule gauche puis l'épididyme gauche. Pour éviter toute confusion, on ne désolidarise l'épididyme droit du testicule droit seulement une fois que le testicule et l'épididyme gauches ont été pesés. Les épидidymes sont séparés du plexus pampiniforme avant d'être pesés. La pesée des testicules et des épидidymes est effectuée sur une balance de marque Sartorius et de type L2200S. Les poids sont exprimés au gramme près.

Enfin les testicules sont scindés en deux en incisant sur le bord épидidymaire selon l'axe longitudinal défini par le rete testis afin de :

- examiner l'aspect du parenchyme testiculaire
- déceler d'éventuelles lésions macroscopiques
- réaliser, en cas de lésions macroscopiques, un cliché numérique de testicule ouvert
- mesurer la longueur et la largeur de chaque testicule avec le triple décimètre

Toute anomalie observée fait l'objet d'un commentaire sur la fiche individuelle de dissection et d'une incision dans le parenchyme afin de préciser sa nature et son étendue ainsi que d'un prélèvement pour analyse histologique accompagné d'un schéma indiquant sa localisation exacte.

3.2. Réalisation des prélèvements et préparation des lames d'histologie

3.2.1. Fabrication du milieu fixateur : formaldéhyde à 10% tamponné à la neutralité

Les échantillons tissulaires prélevés lors de l'examen anatomo-pathologique du tractus génital d'un verrat sont fixés dans une solution de formaldéhyde à 10% tamponnée à la neutralité pendant 48 h puis conservés dans cette même solution pendant une quinzaine de jours jusqu'à l'inclusion dans la paraffine. On respecte un rapport de 1/10 pour le rapport des volumes du prélèvement et de la solution fixatrice, donc 10 mL de solution fixatrice pour un prélèvement de 1 cm³. Sur un tractus on effectue systématiquement 7 prélèvements de 1 cm³ environ auxquels peuvent s'ajouter des prélèvements supplémentaires en cas de lésions macroscopiques. Ainsi il faut préparer 150 mL de solution fixatrice pour effectuer des prélèvements sur un tractus.

Avant chaque abattage, on prépare 150 mL de solution fixatrice en mélangeant 40 mL de la solution de formaldéhyde à 37% et 108 mL de sérum physiologique dans un bécher de 200 mL pour obtenir une solution de formaldéhyde à 10%. Pour neutraliser le pH de cette solution, on en mesure tout d'abord le pH au pH-mètre (pH~3.8), puis on calcule le volume de la solution de NaOH de pH 14 pour ramener le pH à 7 (volume NaOH=98 µL), que l'on ajoute au goutte à goutte en gardant le pH-mètre dans la solution pour suivre l'évolution du pH et en utilisant l'agitateur électromagnétique pour homogénéiser rapidement le mélange. Enfin on transfère la solution dans un flacon en verre fumé et on la sature au carbonate de calcium, c'est-à-dire que l'on ajoute du carbonate de calcium dans la solution jusqu'à ce qu'une couche de carbonate de calcium se forme au fond du flacon

Le formol se conserve peu de temps même dans des conditions particulières (à l'abri de la lumière et du froid) ; il est donc nécessaire de préparer la solution quelques jours ou quelques heures seulement avant la dissection du tractus et la réalisation des prélèvements de tissus.

3.2.2. Technique de prélèvement et localisation des prélèvements systématiques

Sur un tractus on effectue au minimum sept prélèvements, à savoir (figure 30):

- un cube de 1 cm de côté de parenchyme testiculaire (à égale distance du rete testis et du bord épидидymaire
- trois cubes de 1 cm de côté de tissu épидидymaire (un cube prélevé dans la tête, un dans le corps et un dans la queue)
- trois cubes de 1 cm de côté de tissu glandulaire (un cube prélevé dans la vésicule séminale, un dans la glande bulbo-urétrale et un dans la prostate).

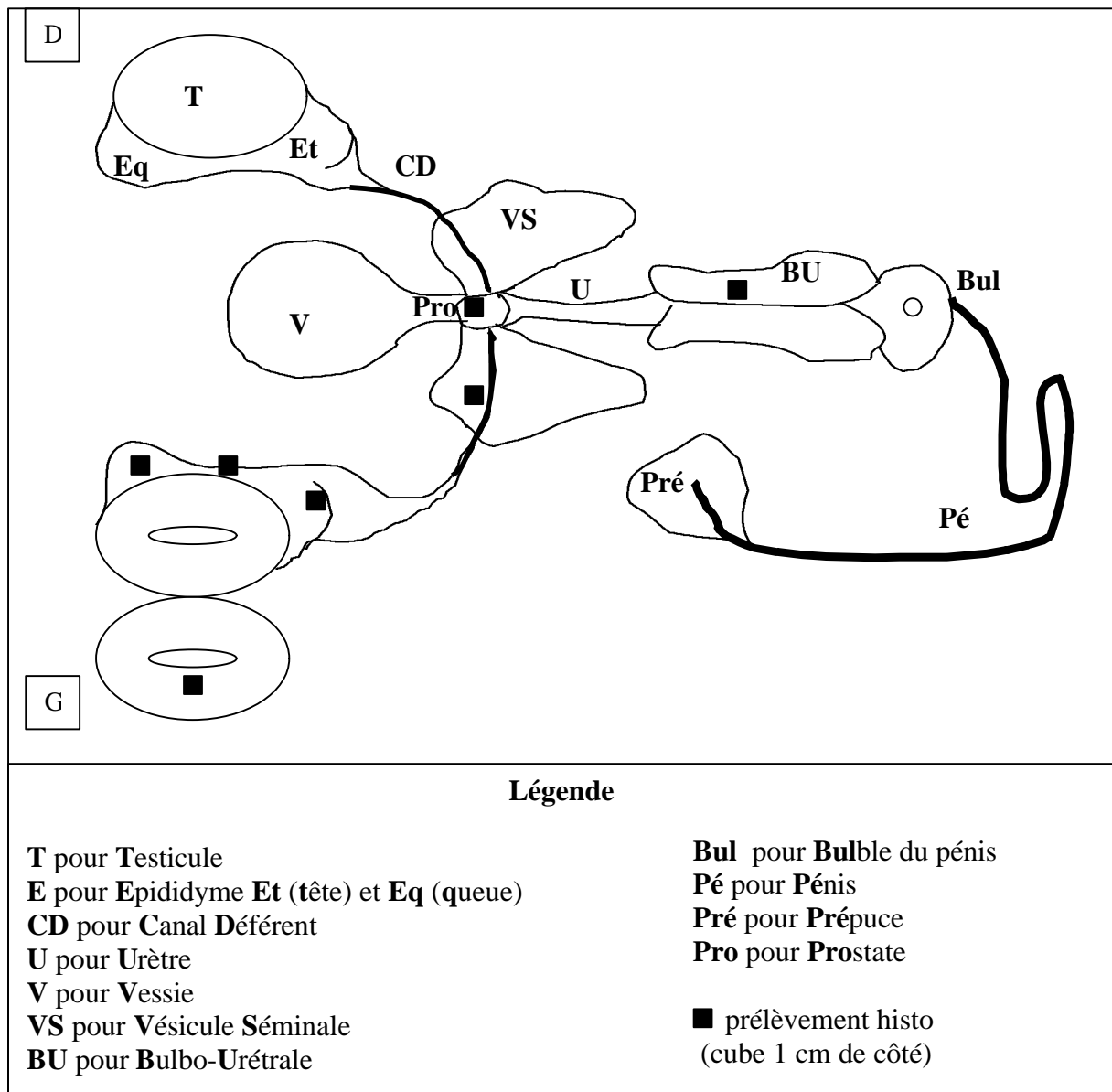


Figure 30 : représentation schématique d'un tractus génital de verrat étalé avec localisation des prélèvements pour histologie – le testicule gauche a été incisé selon le plan longitudinal afin de visualiser le rete testis et la zone de prélèvement

Si des lésions macroscopiques sont visibles sur le tractus on effectue des prélèvements supplémentaires sur ces lésions et on précise leur localisation à l'aide d'un schéma clair.

Les prélèvements sont effectués soigneusement, en découpant des tranches longitudinales puis transversales de 1 cm de côté et en individualisant ensuite un cube compris entre deux coupes longitudinales et deux coupes transversales. Chaque prélèvement est immédiatement placé dans un pot préparé et identifié à l'avance et qui contient initialement 10 mL de la solution fixatrice de formaldéhyde. Au cas où les prélèvements effectués sont de taille supérieure à 1 cm de côté, on augmente le volume de solution fixatrice afin qu'il soit adapté à la taille de l'échantillon en sachant qu'il faut respecter un rapport de 1/10 entre le volume du prélèvement et le volume de solution fixatrice. La durée de fixation doit être au moins de 48 heures mais le séjour de l'échantillon dans la solution de formaldéhyde neutre à 10% peut se prolonger sur quelques mois. Cependant, on limite, pour notre étude, la durée de fixation à un mois maximum afin de standardiser les conditions de réalisation de l'analyse histologique. Après fixation, les prélèvements sont stockés à température ambiante pour être analysés au laboratoire d'anatomopathologie de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse à la fin de l'étude.

En parallèle, on examine de façon approfondie les organes génitaux ainsi découpés. Ainsi, on peut apprécier la couleur et la consistance du liquide vésiculaire, normalement grisâtre et visqueux ainsi que celles du tapioca contenu dans les glandes bulbo-urétrales, normalement épais et blanchâtre. Toute anomalie de couleur ou de texture est notée sur la fiche individuelle de dissection.

3.2.3. Préparation des lames d'histologie après fixation dans le formol

Après fixation dans la solution de formaldéhyde à 10%, les prélèvements sont inclus en paraffine (7 à 10 blocs pour chaque animal selon la présence ou non de lésions). Pour chaque bloc, des coupes sériées de 3 à 5 μm d'épaisseur sont réalisées au microtome. Après récupération des coupes en milieu liquide (bain-marie à 40°C), elles sont étalées sur des lames de verre puis séchées à l'étuve à 56°C pendant 12 heures.

Avant coloration, les lames subissent des étapes de déparaffinage et de réhydratation : les lames sont déparaffinées dans du toluène (1 bain de 5 minutes), puis réhydratées dans des bains successifs d'éthanol de concentration décroissante (1 bain de 5 minutes dans l'éthanol absolu puis 1 bain de 5 minutes dans de l'éthanol à 95°C), avant d'être rincées 5 minutes à l'eau courante.

Les lames sont ensuite colorées à l'hémalum-éosine afin d'observer les lésions, leur nombre et leur répartition selon des critères histologiques conventionnels. Pour la coloration, les lames déparaffinées et réhydratées sont plongées 20 secondes dans une solution d'hémalum de Mayer (Merck, France), rincées et placées 12 secondes dans une solution aqueuse d'éosine-érythrosine à 1% (Merck, France).

Après coloration, les lames sont déshydratées par des bains successifs d'éthanol de concentration croissante, puis placées dans du toluène. Des lamelles sont montées sur les lames à l'aide d'un baume synthétique (Micromount mounting medium, Labonord, France).

Les lames d'histologie sont ensuite observées au laboratoire d'anatomopathologie de l'école Nationale Vétérinaire de Toulouse. La lame est observée dans sa totalité au grossissement (10, puis certains champs sont examinés à plus fort grossissement en cas de lésion. Les lésions

observées seront décrites de façon qualitative en précisant leur localisation, leur intensité (légère, moyenne ou marquée) et leur extension (focale, multifocale, diffuse, extensive...).

C. Résultats et Discussion

Les résultats obtenus dans cette étude sont de trois ordres, à savoir les profils de carrière, la qualité de semence sur trois éjaculats successifs et la morphologie du tractus génital, qui correspondent aux trois niveaux de comparaison entre les verrats VDQS+ et les verrats VDQS- envisagés dans le protocole expérimental. Cependant, il faut rappeler que, pour des raisons économiques, les verrats témoins pour la semence ne sont pas les témoins pour les tractus. En effet, tous les témoins sont des bons producteurs de semence, c'est-à-dire des producteurs de semence commercialisable ; la différence tient à ce que les témoins pour la semence poursuivent leur carrière dans le CIA après l'expérimentation alors que les témoins pour les tractus sont des verrats réformés par le CIA pour des raisons autres que la qualité de semence.

Ainsi il faut deux tableaux récapitulatifs pour avoir une vue globale de l'expérimentation, un premier tableau avec les verrats VDQS+ et leurs témoins respectifs pour la semence et un tableau avec les VDQS+ et les témoins pour l'examen morphologique des tractus génitaux. Le tableau 14 récapitule les données de carrière des VDQS+ , auxquels on a attribué les codes E1 à E5 (E pour lot Expérimental) et de leurs témoins pour la semence, auxquels on a attribué les codes Ts1 à Ts5 (Ts pour Témoin semence) ; il correspond aux parties « résultats obtenus sur les profils de carrière et sur la semence ». Le tableau 15 récapitule les données de carrière des verrats VDQS+ et des témoins pour les tractus, auxquels on a attribué les codes Tt1 à Tt5 (Tt pour Témoin tractus). ; il correspond à la partie « résultats obtenus sur les tractus génitaux ».

Tableau 14 : tableau récapitulatif des VDQS+ (en gras) et de leurs témoins respectifs pour la semence (E1 est associé à Ts1, E2 à Ts2...)

N° EDE	N° travail	Race	Date naissance	Date réforme	Age réforme	Cause réforme	Code verrat
79KCT98234	P803	P*<i>LW</i>	05/06/99	24/04/02	1054	semence	E1
79KCT97020	TT3	P* <i>LW</i>	25/02/99	06/05/02	1166	âge	Ts1
79NFL02223	2223	P*<i>LW</i>	18/08/00	24/05/02	644	semence	E2
79NFL14654	14654	P* <i>LW</i>	28/03/01	*	*	*	Ts2
79NFL02667	2667	P*<i>LW</i>	14/10/00	25/06/02	619	semence	E3
79NFL12266	Ts3	P* <i>LW</i>	07/08/01	*	*	*	Ts3
49QHN04316	W109	P*<i>LW</i>	02/11/00	11/07/02	616	semence	E4
49QHN04319	W110	P* <i>LW</i>	02/11/00	*	*	*	Ts4
79NFL02346	2346	P*<i>LW</i>	06/06/00	11/07/02	765	semence	E5
49QHN14614	14614	P* <i>LW</i>	09/03/01	*	*	*	Ts5

Tableau 15: tableau récapitulatif des VDQS+ (en gras) et des VDQS-, témoins pour les tractus, dans l'ordre chronologique d'abattage

N° EDE	N° travail	Race	Date naissance	Date réforme	Age réforme	Cause réforme	Code Verrat
79KCT98234	P803	P*<i>LW</i>	05/06/99	24/04/02	1054	semence	E1
79NFL02223	2223	P*<i>LW</i>	18/08/00	24/05/02	644	semence	E2
79NFL02667	2667	P*<i>LW</i>	14/10/00	25/06/02	619	semence	E3
49QHN04316	W109	P*<i>LW</i>	02/11/00	11/07/02	616	semence	E4
79NFL02346	2346	P*<i>LW</i>	06/06/00	11/07/02	765	semence	E5
79NFLTt1	Tt1	P* <i>LW</i>	15/09/99	25/03/02	922	âge	Tt1
49JNWTt2	Tt2	LW mâle	26/04/01	03/04/02	342	génétique	Tt2
79KCT97020	Tt3	P* <i>LW</i>	25/02/99	06/05/02	1166	âge	Tt3
79CNR91655	Tt4	P* <i>LW</i>	23/06/99	17/06/02	1090	arthrite	Tt4
79MXY9Tt5	Tt5	Piétrain	24/09/99	25/06/02	1005	ardeur monte	Tt5

1. Résultats obtenus sur les profils de carrière

L'étude des profils de carrière est basée sur la comparaison des profils de carrière par « couples » de verrats, formés par le verroat réformé pour baisse de qualité de semence et son témoin pour la semence. On appelle profil de carrière, l'évolution des données de production de semence tout au long de la carrière du verroat, donc pour chaque collecte, pour l'aspect quantitatif, le volume (fraction riche uniquement) et la concentration de l'éjaculat en fonction de l'âge à la collecte et pour l'aspect qualitatif, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Seules les carrières des verrats réformés pour baisse de qualité de semence sont achevées, celles des verrats témoins sont encore en cours puisqu'il s'agit des témoins pour la semence. Les profils de production de semence sont donnés en annexe sous forme de graphiques parallèles entre chaque verroat du lot expérimental et son témoin respectif.

- verroat E1 et son témoin Ts1

Le verroat E1 a été le premier verroat inclus dans l'étude, en sachant que la baisse de qualité de semence datait déjà de plus de deux mois lors du début de l'expérimentation.

Le volume des éjaculats du verroat E1 était proche de 200mL jusqu'à 550 jours d'âge, puis était situé entre 200 et 400 mL, avec une tendance à la baisse pour les quinze dernières collectes. La concentration des éjaculats était comprise entre 600 millions et 1 milliard de spermatozoïdes par mL jusqu'à 550 jours d'âge, puis a subi une baisse parallèle à l'augmentation du volume, avant de remonter pour les quinze dernières collectes (annexe 1).

Le volume des éjaculats du verrat témoin Ts1 s'est stabilisé vers 500 jours d'âge pour être compris entre 200 et 450 mL. Par contre, il a nettement diminué pour les quinze dernières collectes. La concentration était assez stable jusqu'à 800 jours d'âge, entre 200 et 600 millions de spermatozoïdes par mL, elle était ensuite plus variable, allant de 200 jusqu'à 800 millions de spermatozoïdes par mL, avec une augmentation importante pour les quinze dernières collectes allant jusqu'à 1.2 milliard de spermatozoïdes par mL, en parallèle à la baisse de volume.

La comparaison des pourcentages de spermatozoïdes mobiles des éjaculats du E1 et de son témoin sur toute leur carrière a montré que le E1 avait des pourcentages allant de 75% , ce qui est moyen, à 90% jusqu'à la centième collecte à partir de laquelle les pourcentages de spermatozoïdes mobiles ont été inférieurs à 75% une collecte sur deux avec des pourcentages entre 40 et 60% et ce pendant trois mois (12 collectes). Par contre, le témoin avait des pourcentages de spermatozoïdes mobiles compris entre 75% et 95% assez constants. Cependant, parmi les dix dernières collectes, deux collectes sont mauvaises en terme de pourcentage spermatozoïdes mobiles (60 et 70%) (annexe 2).

Globalement les deux verrats avaient des profils de production de semence assez proches du point de vue quantitatif, par contre pour la qualité de semence le E1 n'avait pas une qualité exceptionnelle de semence à l'origine et a montré une baisse prolongée de qualité de semence sur trois mois avec une collecte sur deux de mauvaise qualité en terme de pourcentage de spermatozoïdes mobiles alors que la qualité de semence du témoin restait bonne, cependant elle a légèrement baissé pour les dernières collectes, avec deux éjaculats non commercialisés. Enfin, on a observé une baisse du volume au cours des dernières collectes sur le verrat E1 et non sur son témoin.

- **verrat E2 et son témoin Ts2**

Le volume et la concentration des éjaculats du verrat E2 étaient stabilisés à partir de 400 jours d'âge, entre 300 et 400mL pour le volume et 200 et 500 millions de spermatozoïdes par mL pour la concentration (annexe 3).

Pour le témoin, le volume et la concentration des éjaculats étaient stabilisés dès la dixième collecte entre 300 et 400mL pour le volume et 250 et 400 millions de spermatozoïdes par mL pour la concentration. Ainsi même s'il a une carrière plus courte que le E2 (6 mois de différence), le Ts2 est un témoin intéressant car il a une production de semence très constante (annexe 3). Ceci illustre la difficulté d'attribuer un témoin proche en terme de race et d'âge à un autre verrat avec le même intervalle par rapport à la collecte précédente, dans le cadre d'un système de production où le choix des verrats à collecter est fait le jour même et en fonction de la demande des éleveurs ; ainsi ce verrat témoin était le verrat disponible le plus proche en terme de race et d'âge du E2 le jour où on a inclus ce verrat dans l'étude.

Le verrat E2 a produit des éjaculats avec un pourcentage de spermatozoïdes mobiles compris entre 75 et 90% pendant les quarante premières collectes, avec seulement un éjaculat à 70%, jusqu'à ce qu'on observe une baisse progressive sur les six dernières collectes, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles passant de 70 à 40 puis à 20%. Le verrat témoin a produit des éjaculats avec entre 80 et 95% de spermatozoïdes mobiles, plutôt 85-90% (annexe 4).

Globalement, les deux verrats avaient des profils de production de semence assez proches du point de vue quantitatif, avec un léger avantage pour le E2. Par contre, du point de vue qualitatif, la semence du témoin était globalement de meilleure qualité que celle du E2, même

avant la baisse de qualité de semence. D'autre part, on a observé une baisse du volume au cours des dernières collectes sur le verrat E2 et non sur son témoin.

- **verrat E3 et son témoin Ts3**

Le verrat E3 a produit des éjaculats de volume assez constant, entre 150 et 250mL, sauf pour les quatre dernières collectes pour lesquelles on a observé une légère baisse du volume. Par contre, la concentration spermatique était très variable entre les éjaculats, allant de 240 à 750 millions de spermatozoïdes par mL, avec une tendance à la hausse pour les quatre dernières collectes, tendance parallèle à la baisse du volume (annexe 5).

En comparaison, le témoin a une production spermatique assez stable, avec un volume légèrement croissant et une concentration légèrement décroissante. Cependant, ce verrat n'est qu'au début de sa carrière, contrairement au E3, la comparaison des profils de carrière est donc limitée.

Alors que le verrat témoin semble débiter une carrière prometteuse avec des pourcentages de spermatozoïdes mobiles compris entre 85 et 90%, la production du E3 était d'assez bonne qualité avec tout de même deux baisses à 70 et 75% de spermatozoïdes mobiles jusqu'à la baisse nette observée sur les sept dernières collectes allant jusqu'à 30% de spermatozoïdes mobiles seulement (annexe 6). Ainsi les carrières des deux verrats sont difficilement comparables puisqu'il y a 9 mois de différence. Le E3 avait une production variable surtout pour la concentration mais plus abondante que le témoin, témoin caractérisé par sa production assez constante pour un début de carrière. D'autre part, on a observé une baisse du volume au cours des dernières collectes sur le verrat E3 et non sur son témoin.

- **verrat E4 et son témoin Ts4**

Le verrat E4 a produit des éjaculats de volume assez constant, entre 150 et 350mL, sauf pour les dix dernières collectes où on a observé une légère baisse du volume. La concentration de ses éjaculats était comprise entre 400 et 800 millions de spermatozoïdes par mL, à l'exception des dix dernières collectes où les concentrations spermatiques ont atteint des valeurs extrêmes (plus d'1 milliard de spermatozoïdes par mL) (annexe 7).

Le témoin Ts4 (frère du E4) a produit des éjaculats de volume assez faible, inférieur à 200mL et de concentration variable autour de 600 millions de spermatozoïdes par mL, avec des variations parallèles observées entre 450 et 550 jours d'âge, à savoir une légère baisse du volume en dessous de 150mL et une augmentation de la concentration jusqu'à 980 millions de spermatozoïdes par mL.

Le verrat E4 a produit dans sa carrière des éjaculats de qualité moyenne en terme de pourcentage de spermatozoïdes mobiles, puisque compris entre 75 et 80%, avec une baisse nette sur les sept dernières collectes avec des pourcentages de 50 et 30%. Au contraire, le témoin a produit des éjaculats de bonne qualité en terme de pourcentage de spermatozoïdes mobiles, puisque compris entre 85 et 90% (annexe 8).

Globalement, le verrat E4 produisait des éjaculats plus volumineux et de concentration plus élevée que son témoin, mais de qualité inférieure en terme de pourcentage de spermatozoïdes mobiles. De plus, on a observé une baisse du volume au cours des dernières collectes sur le verrat E4 et non sur son témoin.

- **verrat E5 et son témoin Ts5**

La production du verrat E5 s'est stabilisée en terme de volume et de concentration à partir de 350 jours d'âge, avec un volume compris entre 250 et 400mL et une concentration entre 250 et 500 millions de spermatozoïdes par mL, avec une tendance à la baisse du volume et à l'augmentation de la concentration pour les cinq dernières collectes (annexe 9).

Le verrat témoin a eu une production spermatique assez stable avec un volume compris entre 200 et 300 mL et une concentration comprise entre 300 et 500 millions de spermatozoïdes par mL.

Du point de vue qualité de semence, le verrat E5 a produit des éjaculats de bonne qualité (85 à 90% de spermatozoïdes mobiles) jusqu'à la trentième collecte avec une première baisse du taux de spermatozoïdes mobiles sur deux collectes successives (60%). Il a ensuite récupéré sa qualité avec tout de même plusieurs collectes à 80%, pour enfin chuter nettement avec jusqu'à 20% de spermatozoïdes mobiles (annexe 10). Le témoin a, quant à lui, conservé sa production de qualité (85 à 90% de spermatozoïdes mobiles) sur toute sa carrière, certes plus courte que celle du E5.

Globalement, même si les durées de carrière sont différentes, on peut tout de même dire que le verrat E5 était légèrement meilleur producteur que son témoin du point de vue quantitatif mais pas qualitatif. En effet ce verrat a connu une première baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles, suivie d'une récupération partielle. En effet, il n'a jamais retrouvé sa qualité initiale en terme de mobilité des spermatozoïdes.

La comparaison des profils de carrière des verrats du lot expérimental avec ceux de leurs témoins respectifs a permis de mettre en évidence des points communs à ces verrats, tels que :

- le fait d'être des plus gros producteurs de semence que leurs témoins (4 verrats),
- le fait de produire de la semence de moins bonne qualité (avant la baisse de qualité motivant la réforme) (4 verrats)
- le fait d'avoir subi au moins une baisse transitoire du taux de spermatozoïdes mobiles en dessous du seuil acceptable pour la commercialisation des doses au cours de leur carrière avant la baisse qui a motivé leur réforme (5 verrats).

2. Résultats obtenus sur la semence

L'analyse des résultats obtenus sur la semence concerne uniquement les verrats du lot expérimental, et ce sur trois éjaculats successifs prélevés à une semaine d'intervalle chacun, à partir du moment où le VDQS+ a été inclus dans l'étude. Le verrat témoin pour la semence a été prélevé le même jour que le VDQS+ afin d'annuler le plus possible les facteurs de variation de la qualité de semence et de servir de référence de qualité, l'analyse des éjaculats étant effectuée simultanément pour les deux verrats. Cette analyse nécessite, pour chaque verrat et pour chaque éjaculat, la description des caractéristiques quantitatives et qualitatives des éjaculats obtenues en routine ainsi que des résultats de l'analyse physico-chimique et microbiologique de la semence et enfin des résultats de l'analyse approfondie de la qualité fonctionnelle des spermatozoïdes, et ce par rapport aux références fournies par le verrat témoin sur tous ces critères de qualité. Ainsi la description des résultats est d'abord individuelle, avec référence au verrat témoin de chaque VDQS+ puis globale, concernant tout le lot expérimental. Les tableaux des annexes 11, 12, 13 et 14 récapitulent tous les résultats obtenus sur la semence, à l'exception de ceux du test CFDA-IP, qui ne sont pas exploitables, le test n'étant pas au point au début de l'expérimentation. Les tableaux des annexes 11 et 12 concerne les résultats des VDQS+ et ceux des annexes 13 et 14 ceux des VDQS- ou Ts. Pour la comparaison par couple de verrats, il faut donc lire ces quatre tableaux en parallèle, E1 avec Ts1, E2 avec Ts2...

2.1.Résultats de l'analyse de routine de la qualité de semence

2.1.1. Résultats pour chaque verrat – comparaison avec le témoin

Le E1 a produit des éjaculats de volume faible mais supérieur à ceux du témoin, le Ts1, lors des première et troisième collectes. Par contre, l'éjaculat du E1 était de concentration nettement inférieure lors de la première collecte, nettement supérieure lors de la deuxième collecte et quasiment égale lors de la troisième collecte à celui du témoin. Le nombre total de spermatozoïdes dans les trois éjaculats du E1 était nettement supérieur au nombre total de spermatozoïdes dans ceux du témoin (annexes 11 et 13).

Lors de la première collecte, les éjaculats du E1 et du Ts1 étaient équivalents pour la mobilité des spermatozoïdes, tous deux étant de qualité moyenne (80% de spermatozoïdes mobiles et 3 de motilité). Par contre, lors des deux collectes suivantes, la qualité des éjaculats du E1 a nettement chuté, avec 30 et 40% de spermatozoïdes mobiles, pour 85% de spermatozoïdes mobiles dans les éjaculats du témoin, la note de motilité étant descendue à 2,5 lors de la deuxième collecte puis remontée à 3 lors de la troisième collecte (annexes 12 et 14).

Le verrat E2 a produit des éjaculats de volume et de concentration correctes mais le volume était inférieur à celui des éjaculats de son témoin, le Ts2, pour les trois collectes et la concentration nettement supérieure pour la deuxième collecte et égale pour les première et troisième collectes. Ainsi le nombre total de spermatozoïdes dans les éjaculats du E2 était inférieur à celui du témoin pour les première et troisième collectes et nettement supérieur pour la deuxième collecte (annexes 11 et 13).

Concernant la mobilité des spermatozoïdes, les éjaculats du E2 étaient nettement inférieurs en pourcentage de spermatozoïdes mobiles à ceux du témoin, qui étaient d'ailleurs d'excellente qualité (90 à 95% de spermatozoïdes mobiles) alors qu'ils étaient équivalents pour la note de motilité (annexes 12 et 14) .

Le verrat E3 a produit des éjaculats de volume faible et décroissant et de concentration élevée et globalement décroissante entre la première et la troisième collecte alors que son témoin, le Ts3, a produit des éjaculats assez semblables en termes de volume et de concentration lors des trois collectes successives. Les trois éjaculats du E3 sont de volume inférieur et de concentration supérieure à ceux du témoin . Le nombre total de spermatozoïdes dans les éjaculats du E3 est assez faible, sauf pour le second éjaculat, pour lequel le nombre total de spermatozoïdes est supérieur à celui du témoin (annexes 11 et 13).

Concernant la mobilité des spermatozoïdes, le E3 a des proportions de spermatozoïdes mobiles acceptables pour les deux premières collectes (80%) et seulement légèrement inférieure au seuil limite pour la troisième collecte (70%), elles sont cependant inférieures à celles des éjaculats du verrat témoin (85% à 90%) (annexes 12 et 14) .

Le verrat E4 a produit des éjaculats de volume assez faible et décroissant et de concentration croissante entre les trois collectes, avec un nombre total de spermatozoïdes croissant, alors que son témoin, le TS4, a montré moins de variabilité en concentration et en volume dans les trois éjaculats successifs. Les trois éjaculats du E4 étaient de volume inférieur à ceux du témoin alors que le premier éjaculat était de concentration inférieure, le second de concentration égale et le troisième de concentration supérieure aux éjaculats correspondants du témoin (annexes 11 et 13).

En terme de mobilité des spermatozoïdes, les deux premiers éjaculats du E4 étaient équivalents avec 50% de spermatozoïdes mobiles et 4 de motilité, et inférieurs à ceux du témoin pour le pourcentage de spermatozoïdes mobiles mais supérieurs pour la note de motilité, qui est seulement de 3 pour le témoin. Enfin la troisième collecte a montré une augmentation du taux de spermatozoïdes mobiles pour les deux verrats, la mobilité restant tout de même inférieure pour le verrat en panne par rapport à son témoin (annexes 12 et 14).

Le verrat E5 a produit des éjaculats de volume et de concentration assez semblables pour les trois collectes, avec une légère augmentation de la concentration se traduisant par une augmentation du nombre total de spermatozoïdes entre les trois éjaculats, nombre qui était d'ailleurs assez élevé. Au contraire son témoin, le Ts5, a produit trois éjaculats assez variables en termes de concentration et de volume, avec une baisse de la concentration entre la première et la troisième collecte et une baisse de volume entre la seconde et la troisième collectes, ce qui se traduit par une baisse du nombre total de spermatozoïdes au cours des trois collectes. Les trois éjaculats du E5 étaient de volume inférieur mais de concentration supérieure à ceux du témoin (annexes 11 et 13).

En terme de pourcentage de spermatozoïdes mobiles, les éjaculats du E5 étaient de piètre qualité, avec tout de même une légère amélioration lors des deux dernières collectes passant de 20% à 40% de spermatozoïdes mobiles alors que les éjaculats du témoin étaient de qualité constante avec 85% de spermatozoïdes mobiles et 3,5 de motilité (annexes 12 et 14).

2.1.2. Résultats globaux du lot expérimental

Si on considère le lot des 5 verrats produisant de la semence de mauvaise qualité, on peut identifier des points communs selon des critères quantitatifs et qualitatifs de la qualité de semence.

Ainsi, parmi les 5 verrats, trois produisaient des éjaculats de volume plutôt faible, inférieur à 200 mL, alors que les deux autres produisaient des éjaculats de volume normal, entre 200 et 400 mL. Le volume semble globalement diminuer entre les trois éjaculats successifs pour les VDQS+ et non pour les témoins. Quatre verrats produisaient des éjaculats avec une concentration en spermatozoïdes élevée, supérieure à $500 \cdot 10^6$ spz/mL. Quatre verrats produisaient des éjaculats avec un nombre total de spermatozoïdes élevé, supérieur à 1,2 milliard de spermatozoïdes.

Par définition, la baisse de qualité de semence étant fondée sur la baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles, les cinq verrats produisaient globalement des éjaculats avec une faible proportion de spermatozoïdes mobiles mais une note de motilité correcte (à l'exception du E1 pour lequel la note est descendue à 2.5 pour le second éjaculat), ce qui confirme que le problème de mobilité des spermatozoïdes concerne le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et non le type de mouvement des spermatozoïdes. Cependant, deux verrats ont produit des éjaculats avec une mobilité correcte, le E3 pour les deux premiers éjaculats et le E1 pour le premier éjaculat. Pour le E3, la mobilité des spermatozoïdes était correcte à la première et à la deuxième collecte puis a chuté légèrement en-dessous du seuil limite d'utilisation de la semence pour la fabrication de doses commerciales. Ceci s'explique par la grande variabilité des caractéristiques de la semence produite par un même verrat selon les éjaculats. Ainsi, ce verrat qui faisait l'objet d'une décision de réforme pour mauvaise semence suite à trois collectes successives de mauvaise qualité a produit pour notre étude un premier éjaculat de bonne qualité, qui aurait pu être utilisé et commercialisé. Cependant, dès la seconde collecte, la qualité a chuté, plus en terme de spermatozoïdes anormaux qu'en terme de spermatozoïdes mobiles, ce qui justifiait la décision de réforme et l'inclusion de ce verrat dans notre étude. De la même façon, le E1 a produit un premier éjaculat de qualité correcte pour la mobilité des spermatozoïdes, permettant presque de l'utiliser pour la fabrication des doses. Or la proportion importante de spermatozoïdes anormaux, suspectée lors de l'observation directe au microscope d'une goutte de semence et confirmée par les comptages sur frottis colorés à l'éosine-négrosine, justifiait déjà la décision de réforme et d'inclusion dans l'étude.

2.2. Résultats de l'analyse physico-chimique et microbiologique de semence

2.2.1. Résultats de l'analyse physico-chimique de la semence pure

Le pH des éjaculats du E1 est supérieur ou égal à celui des éjaculats de son témoin. Les six éjaculats de ces deux verrats sont légèrement basiques, de pH compris entre 7,4 et 7,6, décroissant entre la première et la troisième collecte. La pression osmotique de la semence était élevée pour les deux verrats lors de la première collecte (315 et 313 mOsm/L). Pour les deux autres collectes, la pression osmotique de la semence du verrat en panne a chuté (304 et 307 mOsm/L) et est inférieure à celle de la semence du témoin qui est restée assez stable (310 et 314 mOsm/L).

Le pH des éjaculats du E2 est supérieur ou égal à celui des éjaculats du témoin, les trois éjaculats de ce verrat sont donc légèrement basiques et leur pH décroît entre les collectes (7,5–7,3–7,2). La pression osmotique des quatre premiers éjaculats (deux premières collectes)

était faible puisque comprise entre 299 et 303 mOsm/L, alors que celle des deux derniers éjaculats était plus élevée et nettement supérieure pour le témoin (307 mOsm/L contre 319).

Le pH des éjaculats du E3 est légèrement inférieur à celui des éjaculats du témoin, il est globalement neutre alors qu'il est légèrement basique pour le témoin. La pression osmotique des éjaculats du E3 est faible, proche de 300 mOsm/L et légèrement inférieure à celle des éjaculats du témoin.

Le pH des éjaculats du E4 est inférieur à celui des éjaculats du témoin pour les trois collectes, il est globalement neutre alors qu'il est légèrement basique pour le témoin. La pression osmotique des éjaculats du E4 est faible, allant de 287 mOsm/L à 303 mOsm/L, alors que celle des éjaculats du témoin est plutôt élevée pour les deux premières collectes (329 et 311 mOsm/L).

Le pH des éjaculats du E5 est inférieur à celui des éjaculats du témoin pour les trois collectes, il est neutre ou légèrement basique. La pression osmotique des éjaculats du E5 est assez faible allant de 298 à 303 mOsm/L, alors que celle des éjaculats du témoin est plus élevée (320 et 311 mOsm/L). Pour les deux verrats elle a diminué entre les collectes.

Globalement parmi les cinq verrats du lot expérimental, trois verrats ont produit des éjaculats de pH neutre ou légèrement basique, inférieur à celui des éjaculats de leurs témoins respectifs alors que les deux autres verrats ont produit des éjaculats de pH supérieur à celui des éjaculats de leurs témoins et supérieur au pH des éjaculats des trois autres verrats (de 7,3 à 7,6 contre de 6,9 à 7,2). La pression osmotique des éjaculats des verrats du lot expérimental était toujours supérieure à celle des éjaculats de leurs témoins, à deux éjaculats près, le premier éjaculat du E1 et le second éjaculat du E2 pour lesquels la différence est minime.

2.2.2. Résultats de l'analyse microbiologique de la semence pure

Le premier et le troisième éjaculat du E1 étaient de bonne qualité microbiologique, nettement supérieure à ceux du témoin, le premier étant vingt fois moins contaminé et le troisième huit fois moins que ceux du témoin. Le second éjaculat était, lui, de qualité correcte, équivalente à celui du témoin.

Les deux premiers éjaculats du E2 étaient de mauvaise qualité microbiologique, nettement inférieure à ceux du témoin. Les éjaculats de la dernière collecte étaient de qualité microbiologique correcte et équivalente, même si la charge bactérienne était légèrement supérieure pour le témoin.

Les trois éjaculats du E3 étaient de qualité microbiologique mauvaise à médiocre, inférieure à celle des éjaculats du témoin. En effet la charge bactérienne est passée de 30 000 UFC/mL à 120 000 UFC/mL puis à 550 000 UFC/mL entre les trois éjaculats du E3 alors que les éjaculats du témoin étaient de qualité correcte pour le second éjaculat (5 600 UFC/mL) et mauvaise pour les premiers et troisième éjaculats (environ 40 000 UFC/mL).

Le premier éjaculat de E4 était de mauvaise qualité microbiologique alors que celui du témoin était de bonne qualité. Le second éjaculat était de qualité microbiologique correcte et équivalente pour les deux verrats. Enfin, le troisième éjaculat du E4 était de qualité microbiologique correcte, nettement supérieure à celui du témoin qui était de mauvaise qualité microbiologique.

La qualité microbiologique des éjaculats du E5 et de son témoin était correcte pour la première collecte, mauvaise pour la seconde et médiocre pour la troisième, la charge microbienne des éjaculats du témoin étant double par rapport à celle des éjaculats du E5.

Globalement, les verrats du lot expérimental ont produit des éjaculats de qualité microbiologique très variable mais plutôt mauvaise puisque parmi les quinze éjaculats, huit étaient de mauvaise qualité et un de qualité médiocre alors que cinq étaient de qualité correcte, un de qualité excellente et un autre de bonne qualité ; par contre, les témoins ont produit des éjaculats de qualité globalement correcte puisque neuf éjaculats sur quinze étaient de qualité microbiologique correcte. Les verrats E1 et E5 ont produit des éjaculats de qualité microbiologique soit supérieure soit égale à ceux de leurs témoins respectifs alors que E2 et le E3 ont produit des éjaculats de qualité microbiologique égale ou nettement inférieure à ceux de leurs témoins. Ainsi, le lot expérimental ne se différencie pas de façon nette du lot de verrats témoins en terme de contamination bactérienne de la semence pure du point de vue quantitatif (dénombrement de la flore totale).

2.3.Résultats de l'analyse de la qualité fonctionnelle de la semence

2.3.1. Résultats du test de viabilité des spermatozoïdes et morphologie des spermatozoïdes (éosine-négrosine)

Pour les trois collectes, les éjaculats du E1 et de son témoin étaient équivalents pour le pourcentage de spermatozoïdes vivants (seulement 5 à 10% en faveur du témoin). Par contre les éjaculats du E1 présentaient une proportion plus importante de spermatozoïdes anormaux et immatures par rapport à ceux du témoin, même si celui-ci présentait un taux de spermatozoïdes anormaux non négligeable dans les premier et troisième éjaculat. Deux anomalies étaient représentées en proportions assez importantes dans les éjaculats du E1 : les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en lasso (entre 27% et 39% des spermatozoïdes totaux) et les spermatozoïdes avec le flagelle coudé (entre 10% et 13%). Le taux de spermatozoïdes immatures a diminué entre les trois éjaculats du verrat en panne passant de 13,5% à 8% puis à 5% alors qu'il est resté très faible ou nul dans ceux du témoin. Ainsi, la semence du E1 est assez équivalente en terme de vitalité des spermatozoïdes à celle du témoin mais nettement inférieure en terme d'anomalies spermatiques, bien que la semence du témoin ne soit pas non plus d'excellente qualité selon ce critère.

Les éjaculats du E2 étaient inférieurs en pourcentage de spermatozoïdes vivants à ceux du témoin, surtout pour la seconde et la troisième collecte (63% et 34% de spermatozoïdes vivants contre 89% et 92% pour le témoin). Ils présentaient des proportions très importantes de spermatozoïdes anormaux, nettement supérieures à celles dans les éjaculats du témoin (de 41% à 50% contre 1% à 3% pour le témoin). Un type d'anomalie spermatique était majoritairement représenté dans les éjaculats du E2, en proportions élevées et constantes : les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en lasso. De plus, la proportion de spermatozoïdes immatures dans les éjaculats du E2 a augmenté de 7% à 26% entre les trois collectes alors qu'elle est demeurée faible et constante dans les éjaculats du témoin (entre 1% et 3%).

Les deux premiers éjaculats du verrat E3 présentaient des pourcentages de spermatozoïdes vivants élevés (88% et 86%), seulement légèrement inférieurs à ceux du témoin. Le troisième éjaculat était, lui, nettement inférieur à celui du témoin avec 65% de spermatozoïdes vivants contre 90%. Par contre les proportions de spermatozoïdes anormaux et immatures dans les

éjaculats du E3 étaient plus élevées que dans ceux du témoin, qui étaient d'ailleurs de grande qualité sur ce critère (1,5 à 3% de spermatozoïdes anormaux et 1 à 3% de spermatozoïdes immatures). Une anomalie spermatique était représentée en proportions croissantes (8% puis 25% puis 62%) : les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en lasso. La présence en faible proportion de spermatozoïdes avec une tête piriforme a aussi été rapportée dans les deux premiers éjaculats du E3 (2 à 3%).

Les trois éjaculats du E4 étaient nettement inférieurs à ceux du témoin pour le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et présentaient des proportions importantes de spermatozoïdes anormaux et immatures, supérieures à celles des éjaculats du témoin. Un type d'anomalie spermatique prédominait dans les éjaculats du E4, les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en lasso, avec des proportions moyennes respectives de 27%, 17% et 24% contre 5 à 6% dans les éjaculats du témoin. Ainsi la proportion de cette anomalie semblait assez constante dans les éjaculats du Ts4 alors qu'elle était plutôt variable dans les éjaculats du E4. Enfin on a constaté une augmentation du taux de spermatozoïdes immatures lors de la seconde collecte dans les éjaculats des deux verrats.

Les éjaculats du E5 étaient nettement inférieurs en terme de vitalité des spermatozoïdes à ceux du témoin lors de la première et de la troisième collecte. Pour les trois collectes, les éjaculats du E5 présentaient des proportions très importantes de spermatozoïdes anormaux, nettement supérieures à celles dans les éjaculats du témoin. Cependant, ces proportions ont diminué entre la première et la troisième collecte passant de 82% à 77% puis à 71%. Deux anomalies spermatiques étaient représentées en proportions importantes dans les éjaculats du E5: les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en lasso (respectivement 52%, 65% et 50% dans les trois éjaculats) et les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en chignon (respectivement 29%, 10% et 13% dans les trois éjaculats). Par contre les éjaculats du E5 présentaient des proportions de spermatozoïdes immatures constantes, inférieures à celles dans les éjaculats du Ts5 pour les deux premières collectes et presque égales pour la troisième collecte, étant donné l'évolution décroissante de cette proportion au cours des trois collectes du verrot témoin.

Globalement parmi les cinq verrats du lot expérimental, trois verrats (E2-E4-E5) ont des résultats de viabilité des spermatozoïdes médiocres, nettement inférieurs à ceux de leurs témoins et ce pour au moins deux collectes sur trois; un verrot (E1) a des résultats moyens, légèrement inférieurs à ceux de son témoin et le cinquième (E3) a de bons résultats, équivalents à ceux de son témoin. Ainsi, la baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles observées sur la semence des verrats du lot expérimental s'accompagne donc d'une baisse du pourcentage de spermatozoïdes vivants dans trois cas sur cinq.

2.3.2. Résultats du test de fonctionnalité des membranes (HOS Test)

Pour le verrot E1, les résultats du test HOS étaient inférieurs à ceux du témoin, de façon plus marquée pour les deux premières collectes (12 et 14% de spermatozoïdes avec une membrane spermatique fonctionnelle contre 26 et 30% dans les éjaculats du témoin). L'amélioration des résultats du test HOS pour le E1 à la troisième collecte pourrait être liée à l'augmentation de la vitalité des spermatozoïdes dans l'éjaculat.

Pour le E2, les résultats du test HOS étaient supérieurs à ceux du témoin pour la première collecte (23% contre 14% pour le témoin) mais nettement inférieurs pour la seconde collecte (8% contre 36%) et nuls pour la troisième collecte donc nettement inférieurs à ceux du

témoin. Cette diminution progressive des résultats du test HOS pour le E2 pourrait être liée à la diminution de la mobilité et de la viabilité des spermatozoïdes entre les trois collectes.

Pour le E3, les résultats du test HOS étaient nettement supérieurs à ceux du témoin Ts3 pour les deux premières collectes (32 et 36% de spermatozoïdes avec une membrane spermatique fonctionnelle contre 22 et 27% pour le témoin). Cependant, ils ont chuté de façon très nette pour la troisième collecte avec seulement 7% de spermatozoïdes réagissant au test alors que les résultats du témoin se sont nettement améliorés (35,5%). Cette chute brutale des résultats pourrait être liée à la baisse de mobilité et de vitalité des spermatozoïdes dans le troisième éjaculat du E3.

Pour le E4, les résultats du test HOS étaient nettement inférieurs à ceux du témoin Ts4 pour les trois collectes, ils étaient mauvais pour la première et la troisième collecte et légèrement meilleurs pour la deuxième collecte, ce qui pourrait être lié à l'amélioration transitoire observée pour la seconde collecte en termes de vitalité des spermatozoïdes et d'anomalies spermatiques.

Pour le E5, les résultats du test HOS sont nuls pour les première et troisième collectes et médiocres pour la seconde, ils sont très nettement inférieurs à ceux du témoin Ts5 qui sont excellents pour les première et troisième collectes et moyens pour la seconde. Le léger sursaut des résultats du E5 à la seconde collecte pourrait être lié à l'augmentation de la vitalité des spermatozoïdes dans le second éjaculat.

2.3.3. Résultats du test CFDA-IP

Le test CFDA-IP a été mis en place d'après des publications appliquées à différentes espèces, dont une sur le verrat. Cependant, il n'était pas tout à fait au point au début de l'expérimentation. En effet le mode opératoire a été modifié en cours d'expérimentation, ce qui a permis d'obtenir des résultats plus cohérents. Ainsi, les résultats obtenues sur le premier verrat, le E1, et ceux de la première collecte du second verrat, le E2, ne sont pas exploitables car ils ont été faussés par une mauvaise manipulation (incubation à 37°C au lieu de 30°C et utilisation de lames préalablement chauffées à 37°C). Cette manipulation incorrecte a été à l'origine d'une sous-estimation du pourcentage de spermatozoïdes vivants lors des comptages (l'IP, très sensible à la température, a du pénétrer les cellules vivantes exposées à une température de 37°C). La rectification de ces deux erreurs de manipulation a permis d'obtenir des résultats plus cohérents avec les résultats obtenus par comptages de frottis colorés à l'éosine-négrosine. Elle est intervenue entre la première et la deuxième collecte des verrats E2 et Ts2.

Tableau 16 : Résultats du test CFDA-IP avant modification du mode opératoire (en %)

N° verrat	N° collecte	spz verts	acrosomes	spz rouges
E1	1	30	10	60
	2	37	7	56
	3	40	7	53
Ts1	1	33	9	58
	2	25	11	64
	3	27	10	63

Tableau 17 : Résultats du test CFDA-IP après modification du mode opératoire (en %)

N° verrat	N° collecte	spz verts	acrosomes	spz rouges
E2	1	17	16	67
	2	58	10	32
	3	35	3	62
Ts2	1	28	14	58
	2	80	2	18
	3	60	2	38
E3	1	49	5	46
	2	48	6	48
	3	51	17	32
Ts3	1	69	1	30
	2	72	3	25
	3	70	29	1
E4	1	56	3	41
	2	65	9	26
	3	48	5	47
Ts4	1	89	0	11
	2	91	2	7
	3	89	1	10
E5	1	43	9	48
	2	31	16	53
	3	60,5	9,5	30
Ts5	1	73	6	21
	2	81	6	13
	3	85	2	13

Il est possible de distinguer trois catégories de spermatozoïdes, selon s'ils étaient colorés par le CFDA (ils avaient alors une membrane spermatique externe intacte) ou par l'IP (ils avaient alors une membrane spermatique externe lésée), ou s'ils avaient l'acrosome coloré par le CFDA, afin de faciliter les comptages. Cependant ces comptages ne sont pas très fiables pour plusieurs raisons : tout d'abord l'obligation de compter rapidement (les sondes s'éteignent rapidement à l'observation au microscope à épifluorescence) et l'impossibilité de réaliser plusieurs comptages sur une même lame (une lame exposée à l'épifluorescence est envahie par un fond vert du au CFDA et qui gêne le comptage). On a donc décidé de ne pas détailler les différentes catégories de spermatozoïdes mais de se baser seulement sur le pourcentage de spermatozoïdes verts afin de comparer les résultats CFDA-IP aux résultats éosine, puisque ces deux tests sont des tests de vitalité (tableau 18). Cependant, il faut garder en tête que les

spermatozoïdes colorés en vert ne sont pas dits « vivants » mais ont des membranes spermatiques externes intactes.

Tableau 18 : Comparaison des résultats du test CFDA-IP et des comptages éosine (notés EOS)

N° verrat	N° collecte	CFDA	EOS
E1	1	30	68
	2	37	69
	3	40	77
TS1	1	33	74
	2	25	71
	3	27	86
E2	1	17	76
	2	58	63
	3	35	34
Ts2	1	28	92
	2	80	89
	3	60	92
E3	1	49	88
	2	48	86
	3	51	65
Ts3	1	69	89
	2	72	93
	3	70	90

N° verrat	N° collecte	CFDA	EOS
E4	1	56	56
	2	65	64
	3	48	56
TS4	1	89	88
	2	91	82
	3	89	88
E5	1	43	59
	2	31	73
	3	60,5	41
Ts5	1	73	90
	2	81	80
	3	85	84

Pour le premier verrat, les différences CFDA-éosine allaient du double au triple voire au quintuple en faveur de l'éosine, il y avait donc une sous estimation marquée du nombre de spermatozoïdes vivants avec le test CFDA-IP et ce pour le verrat témoin comme pour le verrat produisant de la semence de mauvaise qualité (1^{ère} collecte : pour le E1, 68% de spermatozoïdes vivants contre 30% au CFDA-IP et pour le Ts1, 74% de spermatozoïdes vivants contre 33% au CFDA-IP).

Pour le second verrat, on constate que la rectification du mode opératoire est accompagnée d'une modification des résultats puisqu'à la seconde collecte, il y a seulement une faible différence entre les résultats CFDA-IP et éosine, et ce pour le verrat témoin et le E2.

Pour le troisième verrat, les différences entre les résultats CFDA- IP et les résultats éosine sont moins importantes pour le verrat témoin (écarts de 20%) que pour le E3 pour lequel les différences sont de l'ordre de 40% pour les deux premières collectes.

Pour le quatrième verrat, les résultats CFDA-IP et éosine coïncident à la fois pour le verrat témoin et pour le E4, les résultats CFDA-IP étant même supérieurs aux résultats éosine pour le verrat témoin.

Pour le dernier verrat, les résultats CFDA-IP ne correspondent pas aux résultats éosine pour le E5 avec des résultats CFDA-IP inférieurs aux résultats éosine pour les deux premières collectes et supérieurs pour la troisième collecte, par contre les résultats du témoin coïncident.

Ces résultats confirment que le test n'était pas au point pour le premier verrat et la première collecte du second verrat. De plus, ce test a été délicat à mettre au point en raison de l'utilisation simultanée de deux sondes fluorescentes, le CFDA et l'IP, délicates à manipuler car sensibles à la température (surtout l'IP). D'autre part, les comptages sont assez difficiles à effectuer et non vérifiables. Ce test n'est donc pas encore adapté à l'utilisation en routine, comme l'est la coloration éosine-négrosine, c'est pourquoi les résultats obtenus ne peuvent être exploités pour comparer nos deux lots de verrats. On s'en tient donc aux résultats obtenus avec l'analyse de routine de la qualité de semence, l'analyse physico-chimique et microbiologique ainsi que l'analyse approfondie avec la coloration éosine-négrosine et le test HOS.

3. Résultats obtenus sur les tractus génitaux

L'analyse des résultats obtenus sur les tractus génitaux des verrats est basée sur la synthèse des résultats de l'examen clinique et échographique des organes génitaux externes ainsi que de l'examen anatomo-histo-pathologique des tractus complets pour chaque lot de verrats ainsi que sur la comparaison globale des observations relevées sur les tractus des verrats du lot expérimental et sur ceux des verrats du lot témoin. Concernant l'examen anatomo-histo-pathologique, le tableau 19 récapitule les lésions observées sur les tractus génitaux des VDQS+ et des VDQS-, en sachant que les témoins pour les tractus sont différents des témoins pour la semence cités dans la partie précédente. Les VDQS+ sont codés E1 à E5 de la même façon que pour les résultats obtenus sur la semence et les VDQS- sont codés Tt1 à Tt5, comme indiqué dans le tableau 15. La synthèse des examens effectués ante-mortem (examens clinique et échographique) et post-mortem est effectuée de façon individuelle au sein de chaque lot de verrats.

Tableau 19 : Récapitulatif des lésions observées sur les tractus génitaux des VDQS+ et VDQS-

Code vertrat	Lésions testiculaires	Lésions sur autres organes génitaux	Lésions sur nœuds lymphatiques
E1		minéralisations dans prostate	lymphadénopathie
E2	dégénérescence marquée		
E3	dégénérescence précoce	hamartome vasculaire	
E4	dégénérescence précoce		lymphadénopathie MAP
E5	dégénérescence précoce	kystes épидидymaires + minéralisations dans prostate	lymphadénopathie MAP
Tt1			
Tt2		vésiculite + prostatite	
Tt3	dégénérescence précoce		
Tt4	fibrose rete testis		lymphadénopathie
Tt5	atrophie unilatérale	œdème épидидymaire + prostatite	

3.1. Synthèse examen clinique, échographique et anatomopathologique

3.1.1. Résultats des verrats du lot témoin

Le lot témoin est constitué de cinq verrats réformés pour des causes autres que la baisse de qualité de semence, parmi lesquels deux ont été réformés pour âge avancé, le Tt1 et le Tt3, un pour cause génétique, le Tt2, un pour un problème d'arthrite, le Tt4 et un autre, le Tt5, pour manque d'ardeur sexuelle. Ils produisaient tous de la semence de bonne qualité, commercialisée sous forme de doses d'I.A.

Le Tt2 ne présentait aucune anomalie aux examens clinique et échographique de l'appareil génital externe, ainsi qu'aucune lésion macroscopique et microscopique à l'examen anatomopathologique. Il s'agit d'un témoin parfait.

Photo 10 : tractus du Tt2 (aucune lésion)

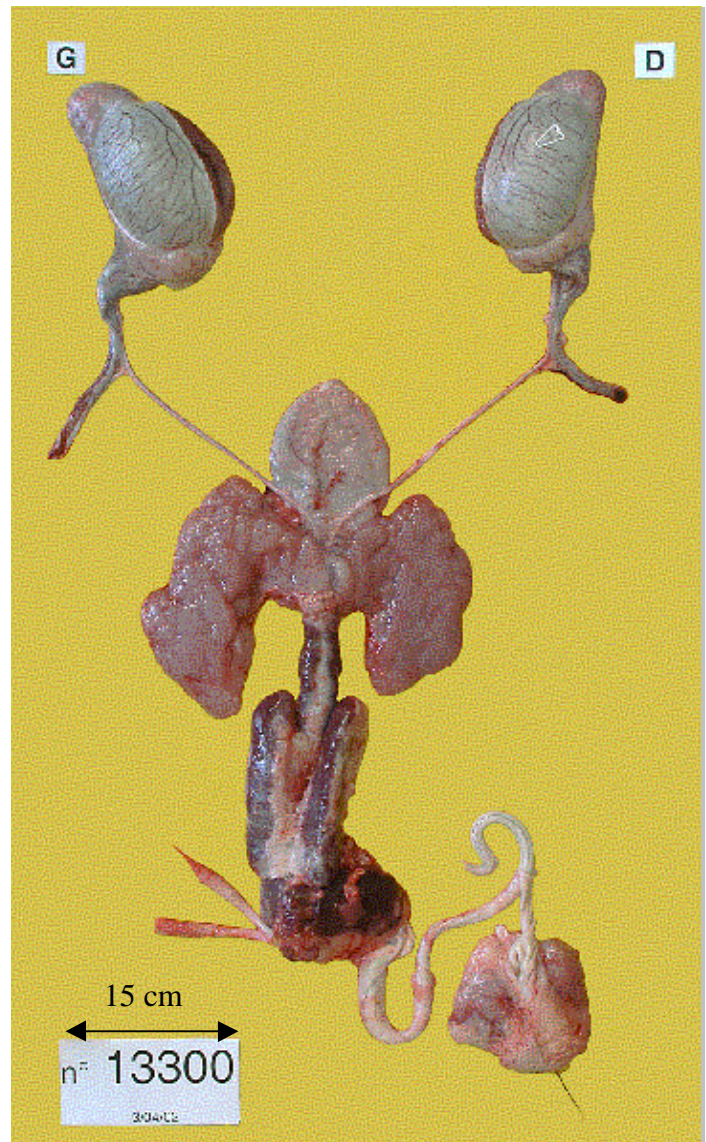


Tableau 20 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du Tt1

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Vésicule séminale droite	Consistance augmentée et taille diminuée	Fibrose interglandulaire diffuse d'intensité légère avec infiltration inflammatoire lympho-plasmocytaire d'intensité légère
Prostate	Hypertrophie légère	Fibrose interglandulaire diffuse d'intensité moyenne avec infiltration inflammatoire lympho-plasmocytaire d'intensité moyenne

Le verrat Tt1 présentait des lésions macroscopiques et microscopiques de vésiculite d'intensité légère et de prostatite d'intensité marquée, ainsi que des vésicules kystiques situées entre le testicule et la tête de l'épididyme à droite et à gauche de façon symétrique, ces vésicules ayant été visualisées lors de l'examen échographique.

Photo 11 : tractus du Tt1 – noter l'atrophie de la vésicule séminale droite

Photo 12 : visualisation d'une des vésicules kystiques à l'échographie

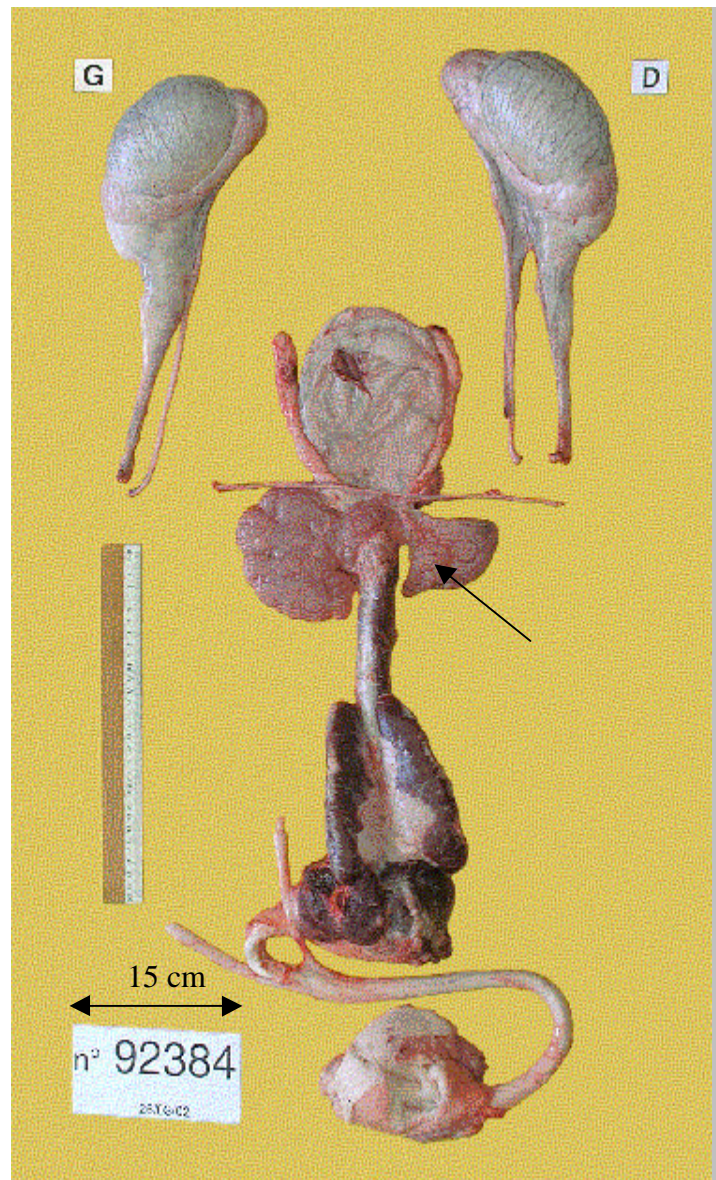


Tableau 21 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat Tt3

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Parenchyme grisâtre à droite et à gauche	quelques figures de dégénérescence et diminution du nombre de cellules de Leydig

Le verrat Tt3 ne présentait aucune anomalie aux examens clinique et échographique de l'appareil génital externe. Après l'abattage, l'urine ponctionnée était trouble avec des dépôts verdâtres et présentait une odeur marquée, ce qui fait suspecter une infection urinaire. Aucune lésion macroscopique n'était visible sur les organes génitaux, mais l'examen histopathologique du parenchyme testiculaire montrait quelques figures de dégénérescence testiculaire, dégénérescence soupçonnée à la dissection par la couleur grisâtre du parenchyme qui présentait aussi des infiltrations blanchâtres.

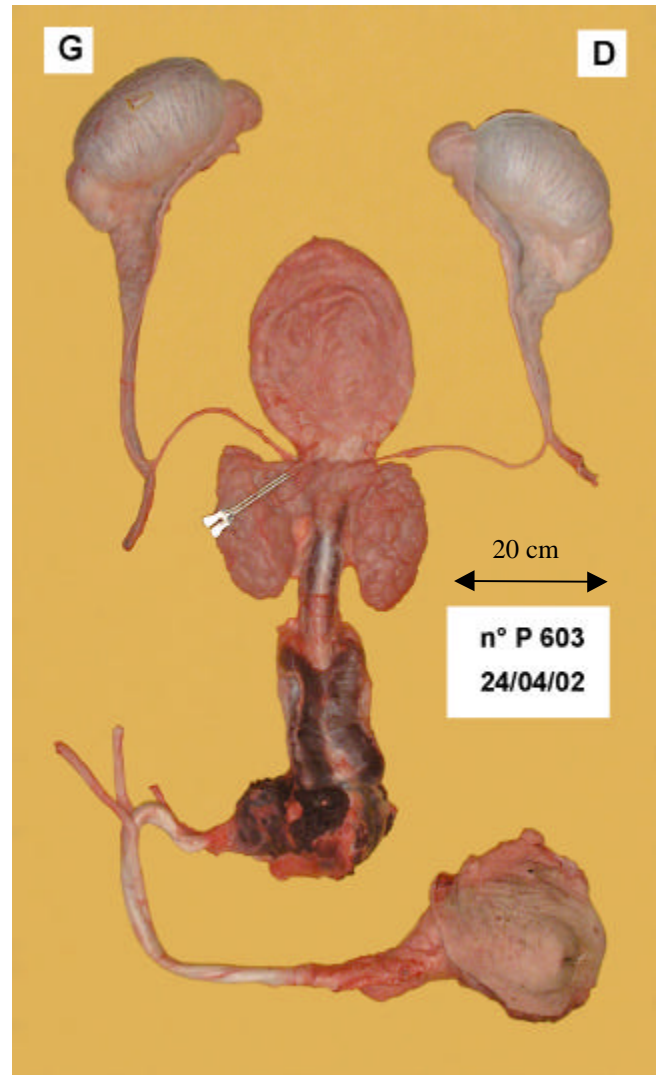


Photo 13 : tractus du verrat Tt3 (aucune lésion macroscopique)

Tableau 22 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du Tt4

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Rete testis élargi	Fibrose focale péricanalaire
Cordon spermatique	Renflement blanchâtre d'aspect fibreux à la coupe	Fibrose focale péricanalaire
nœuds lymphatiques	Hypertrophie	Lymphadénopathie réactionnelle avec histiocytose sinusale et parenchymateuse multifocale et extensive

Le Tt4 ne présentait aucune anomalie aux examens clinique et échographique de l'appareil génital externe. Toutefois, il présentait deux lésions de fibrose, une au niveau du rete testis et une autre au niveau du cordon spermatique, sans doute d'origine malformative car dépourvues d'infiltration inflammatoire, ainsi qu'une hypertrophie bilatérale des nœuds lymphatiques testiculaires et du nœud lymphatique au niveau du fourreau.

Photo 14 : tractus du Tt4 – noter la zone fibrosée et le nœud lymphatique hypertrophié au niveau du fourreau



Tableau 23 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat Tt5

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Diminution de la taille du testicule G par rapport à l'épididyme	Atrophie testiculaire avec augmentation du nombre de cellules de Leydig
Epididyme	Augmentation de taille relative au testicule G	Œdème diffus du tissu conjonctif interstitiel d'intensité variable
Prostate	Hypertrophie légère	Infiltration inflammatoire lymphoplasmocytaire périglandulaire et multifocale d'intensité légère

Le verrat Tt5 présentait à l'examen clinique de l'appareil génital externe une plaque cutanée cicatricielle à droite en regard de la queue de l'épididyme de 3 cm de diamètre ainsi qu'un testicule gauche de petite taille . L'urine ponctionnée après l'abattage présentait une odeur nauséabonde et une couleur jus de raisin avec des particules de grande taille en suspension, ce qui fait suspecter une infection urinaire. La dissection et l'analyse histologique ont montré une atrophie testiculaire unilatérale accompagnée d'un œdème épидидymaire diffus. L'hypothèse la plus probable est une origine traumatique, ayant entraîné une réaction vasculaire au niveau de l'épididyme et, comme réaction du testicule, une atrophie transitoire et légère.

Photo 15 : tractus du verrat Tt5 – noter l'atrophie du testicule gauche



3.1.2. Résultats des verrats du lot expérimental

Tableau 24 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat E1

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Parenchyme grisâtre à consistance molle à D et G	Diminution du nombre de cellules de Leydig et du nombre de spermatozoïdes matures dans les tubes séminifères
Epididyme	kyste	kyste + hypoplasie
Prostate	Aspect très lobulé et hétérogène	Figures de dégénérescence + minéralisations multifocales de petite taille
Nœud lymphatique	hypertrophie	Lymphadénopathie réactionnelle avec histiocytose canalaire

Le verrat E1 ne présentait aucune anomalie à l'examen clinique de l'appareil génital externe. L'examen échographique n'a révélé que la présence d'une vésicule liquidienne entre le testicule et la queue de l'épididyme. L'examen anatomo-histo-pathologique a confirmé la présence d'un kyste rempli d'un liquide séreux et clair entre le testicule et la queue de l'épididyme. Il a, par contre, révélé un parenchyme testiculaire de couleur grisâtre et de consistance molle et au niveau microscopique, une diminution du nombre de cellules de Leydig et du nombre de spermatozoïdes matures dans les tubes séminifères, ainsi que la présence de nœuds lymphatiques réactionnels le long du cordon spermatique.

Photo 16 : tractus du E1 – noter la présence de nœuds lymphatiques hypertrophiés et du kyste épидидymaire



Tableau 25 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat E2

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Infiltrations blanchâtres dans le parenchyme	Dégénérescence d'intensité marquée (vacuolisation des spermatides et cellules géantes multinuclées)
Epididyme	Adhérences fibreuses à la capsule	Traduction de la dégénérescence testiculaire : présence de cellules géantes multinuclées dans la lumière du canal épидидymaire

Le verrat E2 présentait une anomalie de consistance à la palpation de la queue de l'épididyme droit, qui était augmentée, sans qu'aucune anomalie correspondante ne soit décelée à l'échographie. L'examen anatomo-histo-pathologique a révélé la présence d'adhérences fibreuses entre la capsule testiculaire, la queue de l'épididyme et le testicule ainsi qu'une lésion épидидymaire semblable à un abcès à la coupe de la queue de l'épididyme droit. Une dégénérescence testiculaire d'intensité marquée a également été notée à l'histologie sur le testicule droit, testicule qui montrait des infiltrations blanchâtres à la dissection.

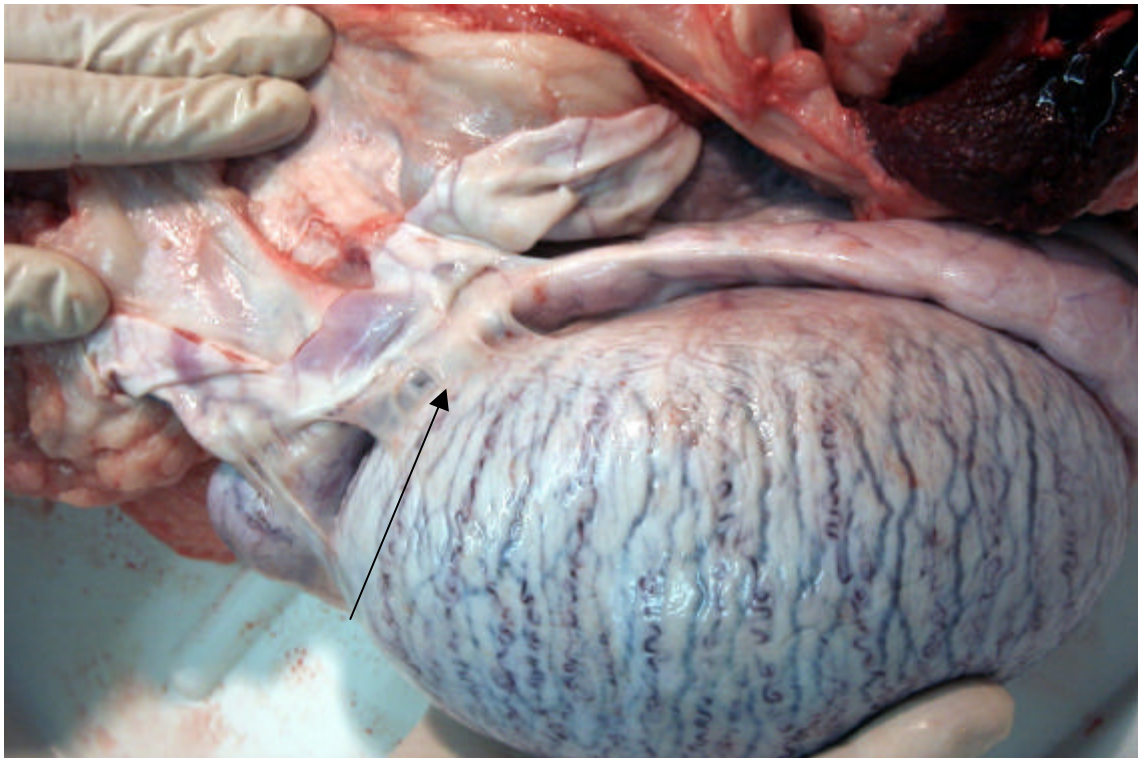


Photo 17 : visualisation des adhérence fibreuses à l'ouverture de la capsule du testicule droit du verrat E2

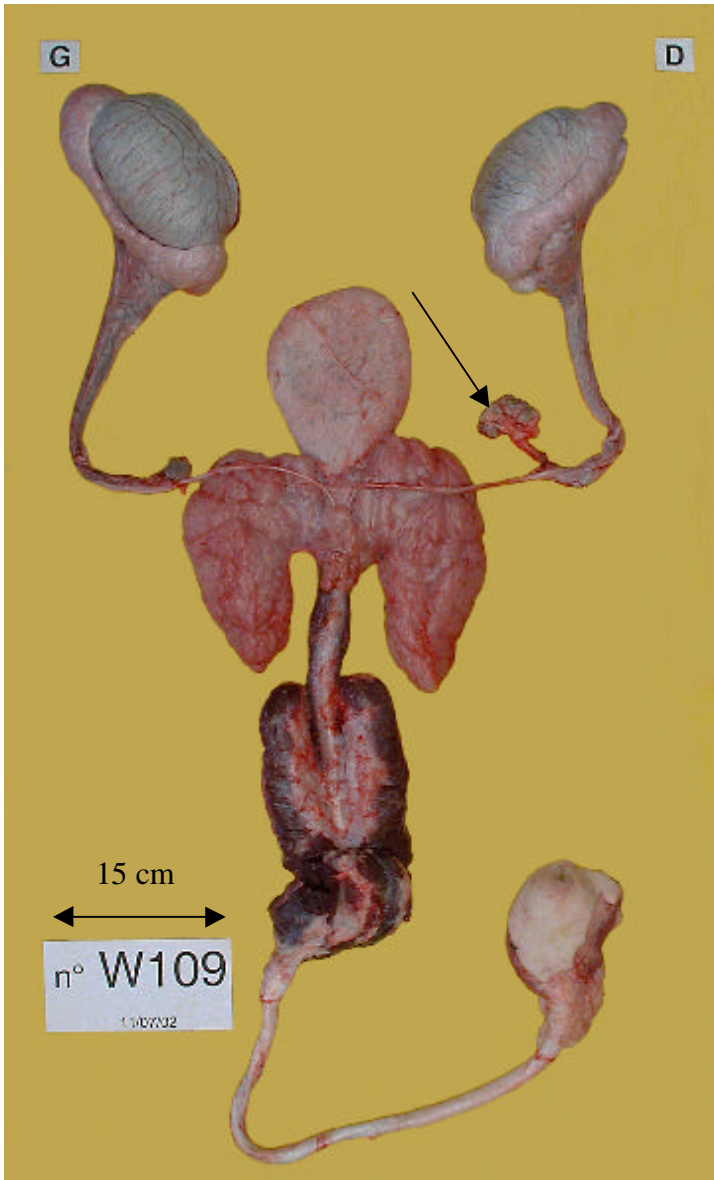
Tableau 26 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat E3

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Infiltrations blanchâtres dans le parenchyme	qq figures de dégénérescence (cellules multinuclées) et diminution du nombre de spz dans les tubes séminifères
Epididyme	Renflement blanchâtre d'aspect fibreux à la coupe	Petit hamartome vasculaire (néoformation d'origine vasculaire constituée de tissu conjonctif avec des vaisseaux de petit calibre parfois comprimés et d'autres de plus gros calibre disposés anarchiquement)

Le verrat E3 ne présentait aucune anomalie à l'examen clinique de l'appareil génital externe. L'examen échographique a montré des images anormales au niveau de la tête de l'épididyme droit et du plexus pampiniforme du même côté. L'examen anatomo-histo-pathologique a montré la présence d'un hamartome vasculaire entre la tête de l'épididyme droit et le plexus et, surtout, des figures de dégénérescence testiculaire à l'histologie. Suite à une erreur de manipulation informatique, la photo du tractus de ce verrat a été égarée.

Tableau 27 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat E4

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Infiltrations blanchâtres dans le parenchyme	qq figures de dégénérescence (cellules multinuclées) et diminution du nombre de spz dans les tubes séminifères
nœud lymphatique cordon	Hypertrophie	Lymphadénopathie réactionnelle avec histiocytose sinusale et parenchymateuse multifocale et extensive d'intensité marquée avec présence de nombreuses cellules géantes multinuclées au sein de la population histiocytaire + déplétion lymphoïde d'intensité légère + petits amas de granulocytes éosinophiles (>30cellules) Absence d'éléments figurés et en particulier de corps d'inclusion sur le plan de section



Le verrat E4 ne présentait aucune anomalie aux examens clinique et échographique de l'appareil génital externe, sauf un aspect échogène légèrement hétérogène du parenchyme testiculaire. L'examen anatomo-histo-pathologique a révélé la présence de nœuds lymphatiques réactionnels, avec des images histologiques évocatrices de M.A.P. ainsi que quelques figures de dégénérescence testiculaire.

Photo 18 : tractus du verrat E4 – noter la présence d'un noeud testiculaire hypertrophié à droite

Tableau 28 : résultats de l'examen anatomo-histo-pathologique du tractus génital du verrat E5

Organe concerné	Lésions macroscopiques	Lésions microscopiques
Testicule	Parenchyme de consistance molle avec des infiltrations blanchâtres	qq figures de dégénérescence (cellules multinuclées) et diminution du nombre de spz dans les tubes séminifères
Epididyme	Kystes de couleur foncée	Origine vasculaire congénitale possible
Prostate	Hypertrophie légère et couleur hétérogène	quelques précipités calciques

Nœud lymphatique	Hypertrophie	Lymphadénopathie réactionnelle avec histiocytose sinusale et parenchymateuse multifocale et extensive d'intensité marquée avec présence de nombreuses cellules géantes multinuclées au sein de la population histiocytaire + déplétion lymphoïde d'intensité légère + petits amas de granulocytes éosinophiles (>30cellules) Absence d'éléments figurés et en particulier de corps d'inclusion sur le plan de section
------------------	--------------	--

Le verrat E5 présentait à l'examen clinique une zone ronde indurée et légèrement inflammée sur la face latérale du testicule droit, semblable à une piqûre d'insecte. L'examen échographique a montré de nombreuses tâches anéchogènes au niveau des épидидymes droit et gauche, dont l'une au centre de la tête de l'épididyme droit, bordée par une ligne hyperéchogène, était semblable à une vésicule liquidienne. L'examen anatomo-histopathologique a confirmé la présence de deux kystes, l'un dans l'albuginée et l'autre situé au centre de la tête de l'épididyme, les deux de couleur sombre et d'origine vasculaire et congénitale probable. Il a aussi révélé une anomalie de consistance des testicules avec des infiltrations blanchâtres dans le parenchyme, et quelques figures de dégénérescence à l'histologie et la présence de précipités calciques dans la prostate, apparue légèrement hypertrophiée et de couleur hétérogène à la dissection.

Photo 19 : kyste congénital situé dans la tête de l'épididyme droit



Photo 20 : visualisation du kyste à l'échographie



2.1.3. Comparaison des résultats des deux lots

Ainsi parmi les cinq verrats du lot témoin, un seul présentait un appareil génital sans aucune lésion et deux verrats présentaient des lésions congénitales d'incidence probablement nulle sur la semence. Un verroat présentait des séquelles de vésiculite unilatérale et de prostatite. Deux verrats présentaient des lésions testiculaires, l'un d'atrophie unilatérale et l'autre de dégénérescence testiculaire très peu marquée.

Parmi les cinq verrats produisant une semence de mauvaise qualité, quatre présentent des lésions microscopiques de dégénérescence testiculaire à des stades précoces pour trois verrats et d'intensité marquée pour un verroat ; le cinquième verroat ne présente qu'une diminution du nombre de cellules de Leydig et du nombre de spermatozoïdes matures dans les tubes séminifères sans figures de dégénérescence. La dégénérescence testiculaire constatée à l'histologie semble à chaque fois liée à l'observation d'infiltrations blanchâtres dans le parenchyme testiculaire. Cependant, un verroat témoin présentait ces infiltrations blanchâtres dans le parenchyme sans images de dégénérescence à l'histologie ni d'infiltrations graisseuses. La visualisation et l'appréciation de ces infiltrations semble donc être personnelle et subjective. Sur deux verrats il a été possible d'observer la présence de kystes sur l'épididyme ou entre le testicule et l'épididyme, d'origine congénitale probable. Sur un verroat on a trouvé une lésion néoplasique unilatérale, appelée hamartome vasculaire, sur l'épididyme. Deux verrats présentaient une prostate hypertrophiée, d'aspect hétérogène avec des précipités calciques à l'histologie. Enfin, sur trois verrats, on a observé des réactions ganglionnaires avec pour un ces verrats des lésions histologiques évocatrices de M.A.P.

Pour finir, il faut parler d'une constatation faite sur les tractus de 4 verrats du lot expérimental et un verroat du lot témoin, à savoir la présence d'un liquide semblable à de la lymphe en petite quantité entre le testicule et la capsule testiculaire et/ou la dilatation des vaisseaux lymphatiques du cordon spermatique. Cependant cette observation était très subjective et peut-être due à l'abattage. Cependant, sur le dernier verroat, la quantité de « lymphe » présente dans la capsule était plus importante (environ ½ L) et s'accompagnait de la présence de tâches jaunes dures au toucher, semblables à des cristallisations de lymphe (cf. photo). Cependant, à part pour le verroat E5, il est difficile de certifier la réalité de ces lésions avant la mort de l'animal.

Photo 21 : tâches jaunes indurées sur un plexus pampiniforme du verroat E5 (cristallisations de lymphe ?)



2.2. Synthèse poids et dimensions des organes génitaux

Le relevé du poids et des dimensions des testicules et des épидидymes ainsi que des dimensions des glandes annexes des verrats étudiés permet, en plus des observations, de décrire précisément leur anatomie et, surtout, de comparer les verrats entre eux, selon leur âge ou leur appartenance au lot témoin ou au lot expérimental, afin de mettre en évidence des tendances.

2.2.1. Comparaison aux valeurs usuelles

Il est intéressant de comparer les relevés de poids et de dimensions effectués dans cette étude avec les valeurs usuelles disponibles dans la littérature. Les valeurs transcrites dans le tableau ci-dessous sont issues du BARONE ainsi que de l'ouvrage Le Porc et ses maladies.

Tableau 29 : Valeurs moyennes et extrêmes des poids et des dimensions des organes génitaux du verroat (Anatomie comparée des Mammifères Domestiques, BARONE, Paris : éd. Vigot, 2000 et Le Porc et ses maladies, MORNET P., TOURNUT J., TOMA B. et al., Paris : éd. Maloine, S.A., 1982)

Organes génitaux	Mesures	Valeurs moyennes	Valeurs usuelles
Testicules	Dimensions (cm)	13 × 7 × 7	200-800
	Poids (g)	350-400	
Epididymes	Poids (g)	80	46-110
Vésicules séminales	Dimensions (cm)	18 × 6	15-20 × 4-8
Bulbo-urétrales	Dimensions (cm)	17 × 5 × 5	15-18 × 3-6 × 3-6
Prostate	Dimensions (cm)	4 × 4 × 1	3-5 × 2-5 × 1,5

A ces valeurs usuelles on peut confronter les valeurs relevées sur les tractus des dix verrats étudiés, qui sont reprises dans les deux tableaux ci-dessous. Le tableau 30 reprend les poids et dimensions testiculaires et les poids épидидymaires et le tableau 31 les dimensions des glandes annexes.

Tableau 30 : Relevés de poids et des dimensions des testicules et des épидидymes des verrats étudiés

Code verrat	TG poids (g)	TG L (cm)	TG l (cm)	TD poids (g)	TD L (cm)	TD l (cm)	EG poids (g)	ED poids (g)
Tt1	500	14	9	487	13,5	9	147	153
Tt2	515	14,5	8,5	548	14	9,5	108	121
Tt3	564	15	9,4	514	14	10	134	135
Tt4	811	16,5	11	885	17	10,5	194	215
Tt5	609	13,6	10	493	12,8	8,5	191	183
E1	467	15	9,1	473	14	9	101	96,4
E2	438	13,4	8,6	541	15	9,4	140	143
E3	870	16	10	774	15	9	262	253
E4	564	15,1	9	510	14	8	202	135
E5	772	16,5	9,5	804	16	9	170	182
moyennes	611	15	9,4	602,9	14,5	9,19	164,9	161,64
minimales	438	13,4	8,5	473	12,8	8	101	96,4
maximales	870	16,5	11	885	17	10,5	262	253

On constate tout d'abord que tous les testicules sauf trois pesaient plus de 500 grammes, ce qui remet en question les valeurs moyennes disponibles dans la littérature (poids testiculaire moyen 400g). De même, les poids des épидидymes relevés sont tous nettement supérieurs au poids moyen dans la littérature (poids épидидymaire moyen 80g), pourtant les épидидymes étaient pesés séparément des plexus pampiniformes (le contraire aurait pu expliquer la différence).

De plus les valeurs minimales et maximales relevées sur les testicules et les épидидymes ne coïncident pas avec les valeurs extrêmes usuelles. Elles sont, en effet, supérieures aux valeurs de la littérature :

- les poids testiculaires minimaux 438 et 473 g contre 200 g dans la littérature,
- les poids testiculaires maximaux 870 et 885 g contre 800 g dans la littérature,
- les poids épидидymaires minimaux 101 et 96g et maximaux 262 et 253g contre respectivement 46g et 110g dans la littérature.

Tableau 31 : Relevés des dimensions des glandes annexes des verrats étudiés (les données des verrats du lot expérimental sont en gras)

Code verrat	VSG L (cm)	VSG I (cm)	VSD L (cm)	VSD I (cm)	BUG L (cm)	BUG I (cm)	BUD L (cm)	BUD I (cm)	P L (cm)	P I (cm)
Tt1	10,5	5,7	14	12	15,2	4	15,5	4,1	4,3	3,4
Tt2	19	11,5	20	13	16,5	4,5	16,5	5	3	2
Tt3	15	7,1	14	7,1	15,2	3,6	15,5	4,2	3,6	3,2
Tt4	19	9,5	15	8,5	20	6,5	21	6,5	4,5	4,5
Tt5	20	11,7	21	12	22	5	21	4,5	4,5	3,5
E1	14	7	13	7,8	15,5	4	15,5	3,5	3	3
E2	18,5	5,5	18	6,6	14,5	4	14,5	4,4	3,4	3,4
E3	22	9,5	23	7	22	6,5	23	7	8	6,5
E4	18	10	20	11	16	5,5	17	4,5	3	3
E5	21	9	18	13	21	7,5	23,5	7	5,5	3,5
moyennes	17,7	8,65	18	9,8	17,8	5,11	18,3	5,07	4,28	3,6
minimales	10,5	5,5	13	6,6	14,5	3,6	14,5	3,5	3	2
maximales	22	11,7	23	13	22	7,5	23,5	7	8	6,5

Pour les vésicules séminales, les valeurs moyennes sur les dix verrats étudiés coïncident avec les valeurs moyennes usuelles, au moins pour la longueur alors que, pour la largeur, elles sont supérieures à la valeur usuelle rapportée dans la littérature. Les valeurs minimales et maximales de longueur et largeur des vésicules séminales sur les dix verrats étudiés ne correspondent pas aux valeurs extrêmes usuelles. Les valeurs minimales sont plus faibles pour la longueur (10,5 et 13 cm contre 15 dans la littérature) en sachant que la vésicule avec 10,5 cm de longueur était atrophiée. Les valeurs maximales sont supérieures aux valeurs de la littérature pour la longueur (22 et 23cm contre 20cm dans la littérature) et la largeur (11,7 et 13cm contre 8cm). Cependant ces différences sont sans doute dues à la réalisation des mesures ainsi qu'aux variations de forme des vésicules séminales, qui posent des problèmes de continuité dans la réalisation des mesures.

Pour les glandes bulbo-urétrales, les valeurs moyennes sur les dix verrats étudiés correspondent globalement aux valeurs moyennes usuelles pour la longueur et la largeur (l'épaisseur n'ayant pas été mesurée dans notre étude). Les valeurs minimales des longueurs et largeurs correspondent aux valeurs minimales usuelles (14,5cm de longueur et 3,5cm de largeur pour 15cm et 3cm dans la littérature) alors que les valeurs maximales sont supérieures aux valeurs usuelles (22 et 23,5cm de longueur contre 18cm et 7 et 7,5cm de largeur contre 6cm dans la littérature).

Pour la prostate, les valeurs moyennes sur les dix verrats étudiés correspondent à peu près aux valeurs moyennes usuelles (4,3cm de longueur et 3,6cm de largeur contre 4 et 4cm dans la littérature). Par contre, les valeurs maximales sont supérieures aux valeurs extrêmes de la littérature avec 8 et 6,5cm pour les longueur et largeur maximales contre 4 et 5 cm dans la littérature.

Globalement, pour les testicules et les épидидymes, ainsi que pour les glandes annexes, les mesures effectuées sur les verrats de l'étude correspondent aux valeurs relevées dans la littérature (même ordre de grandeur) mais toutes les valeurs relevées ne coïncident pas avec les valeurs extrêmes minimales ou maximales.

2.2.2. Relation âge - poids et dimensions des organes génitaux

Les dix verrats étudiés étant d'âges différents, entre 1 et 3 ans ; il est donc intéressant de se demander si il y a des différences, voire une évolution, des poids et des dimensions des organes génitaux entre les jeunes et les vieux verrats. Pour cela on a distingué le plus jeune verroat, âgé de un an, qui est le Tt2 et le plus vieux verroat, âgé de plus de trois ans, qui est le Tt3, ainsi que les trois verrats âgés de un an et demi à deux ans (E2, E3 et E4), les deux verrats âgés de deux ans à deux ans et demi (E5 et Tt1) et enfin les trois verrats âgés de deux ans et demi à trois ans (Tt5, E1 et TT4). Le tableau 33 reprend les quatre groupes d'âge ainsi définis.

Tableau 32 : Répartition des dix verrats de l'étude selon leur âge

1 an	1 an ½ à 2 ans	2 ans à 2 ans ½	2 ans ½ à 3 ans	>3 ans
Tt2	E2 E3 E4	E5 Tt1	Tt4 Tt5 E1	Tt3

On envisage la comparaison avec l'âge en commençant par les testicules et les épидидymes, puis les vésicules séminales, les bulbo-urétrales et enfin la prostate.

Pour le poids testiculaire, on décide de se baser sur le poids des deux testicules en raison de la faible différence entre les deux testicules pour le poids. On distingue trois groupes de verrats selon que le poids testiculaire est inférieur à 1 kg, compris entre 1 et 1,5 kg ou supérieur à 1,5 kg, comme le montre le tableau 34.

Tableau 33 : Répartition des dix verrats de l'étude dans trois groupes de poids testiculaire

< 1 kg	1 kg < < 1,5 kg	> 1,5 kg
Tt1 E1 E2	Tt2 Tt3 Tt5 E4	Tt4 E3 E5

Il est intéressant de constater que les groupes de poids de testicules ne correspondent pas aux groupes d'âge. En effet le plus jeune et le plus vieux verrat ont des poids testiculaires très proches, entre 1 kg et 1,5 kg. Les trois verrats âgés de un an à un an et demi sont chacun dans un groupe de poids testiculaire différent, de même pour les verrats des autres groupes d'âge (deux ans à deux ans et demi et deux ans et demi à trois ans). Ainsi le poids testiculaire ne semble pas être lié à l'âge sur les verrats adultes, comme permet de le visualiser la figure 31.

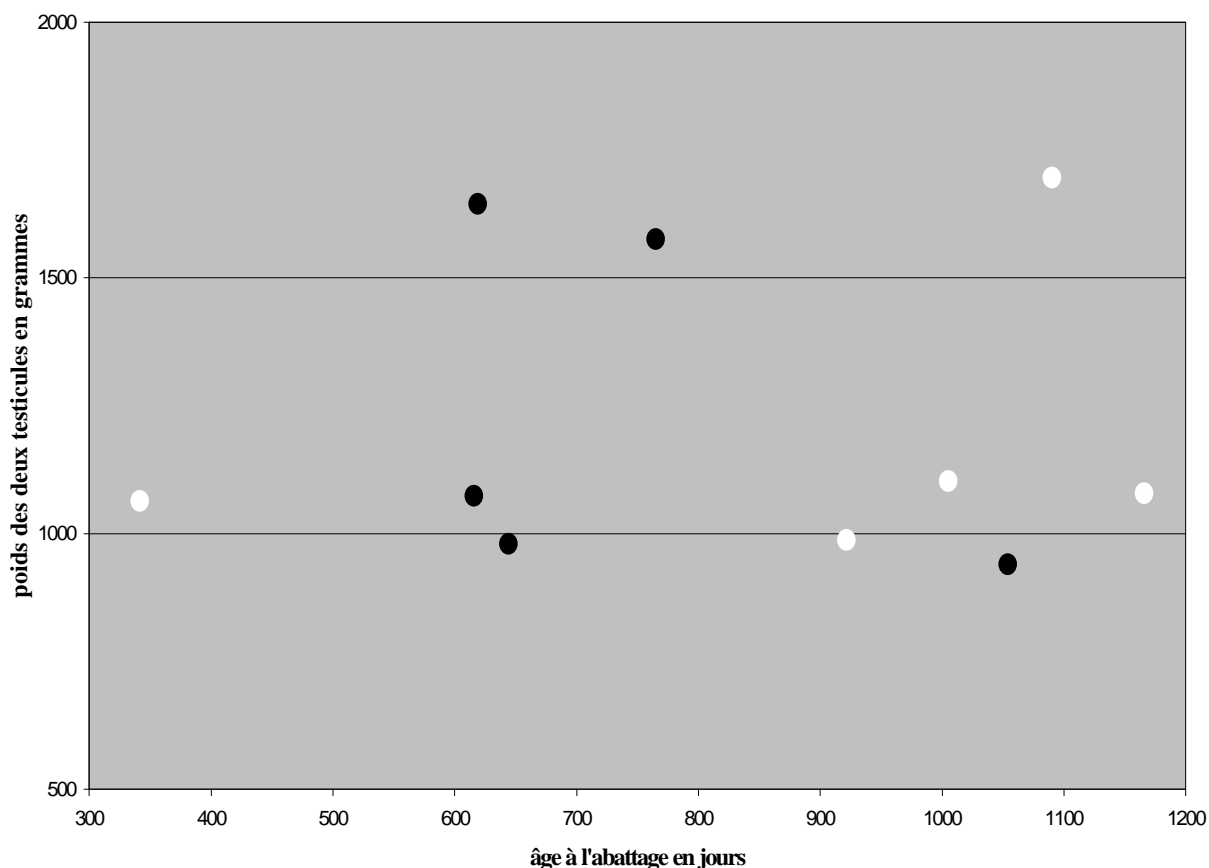


Figure 31 : relation entre l'âge des verrats et le poids des deux testicules

Pour le poids des épидидymes, on se base sur la moyenne des poids des deux épидидymes et on distingue également trois groupes de verrats, comme le montre le tableau 34.

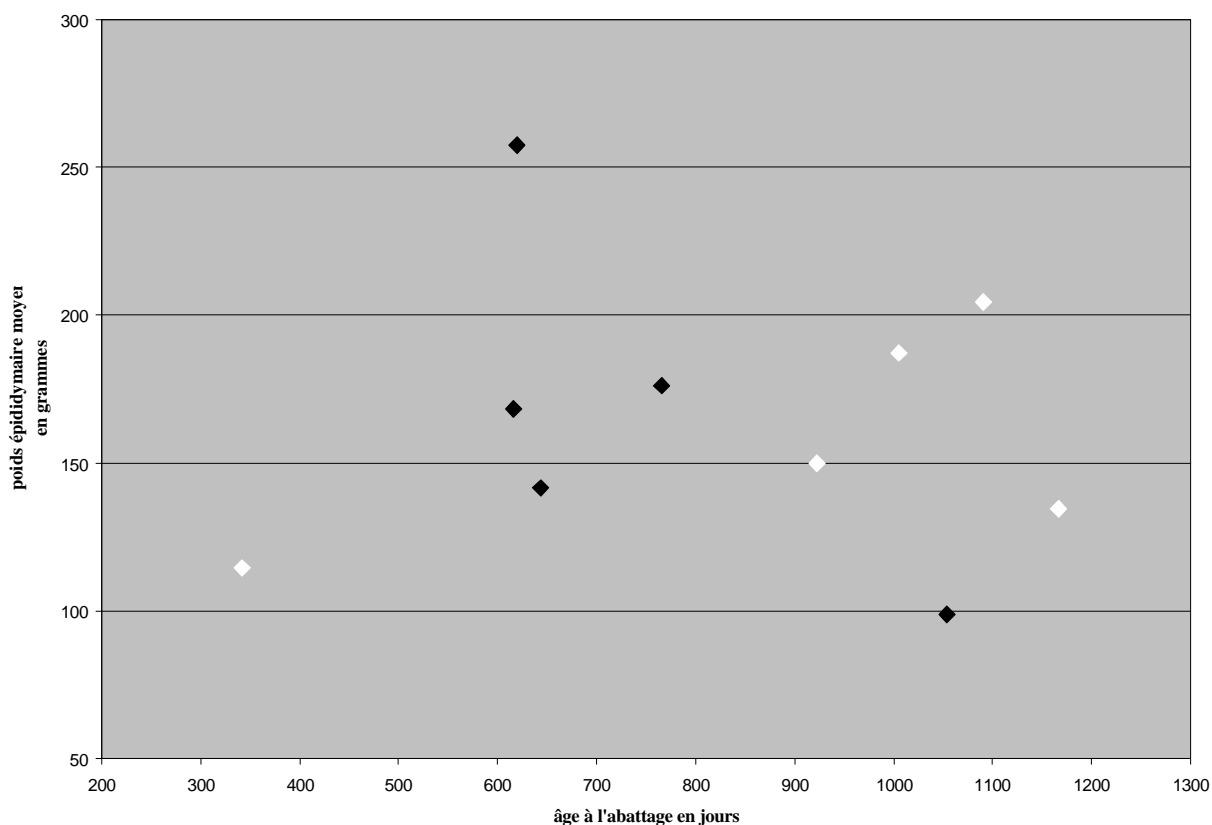
Tableau 34 : Répartition des dix verrats de l'étude dans trois groupes de poids épидидymaire

Epididymes légers (<150g)	Epididymes moyens	Epididymes lourds (>200g)
Tt2	Tt1	Tt4
Tt3	Tt5	E3
E1	E4	
E2	E5	

Tout d'abord, on retrouve le fait que le plus jeune et le plus vieux verrats, qui font partie du même groupe de poids testiculaire, ont tous deux des épидидymes légers. Les trois verrats âgés de 1 an ½ à 2 ans sont chacun dans un groupe différent de poids épидидymaire, de même pour les verrats âgés de 2 ans ½ à 3 ans. Ainsi comme pour le poids testiculaire, l'âge ne

semble pas influencer le poids épидидymaire sur les verrats adultes, ce que confirme la figure 32.

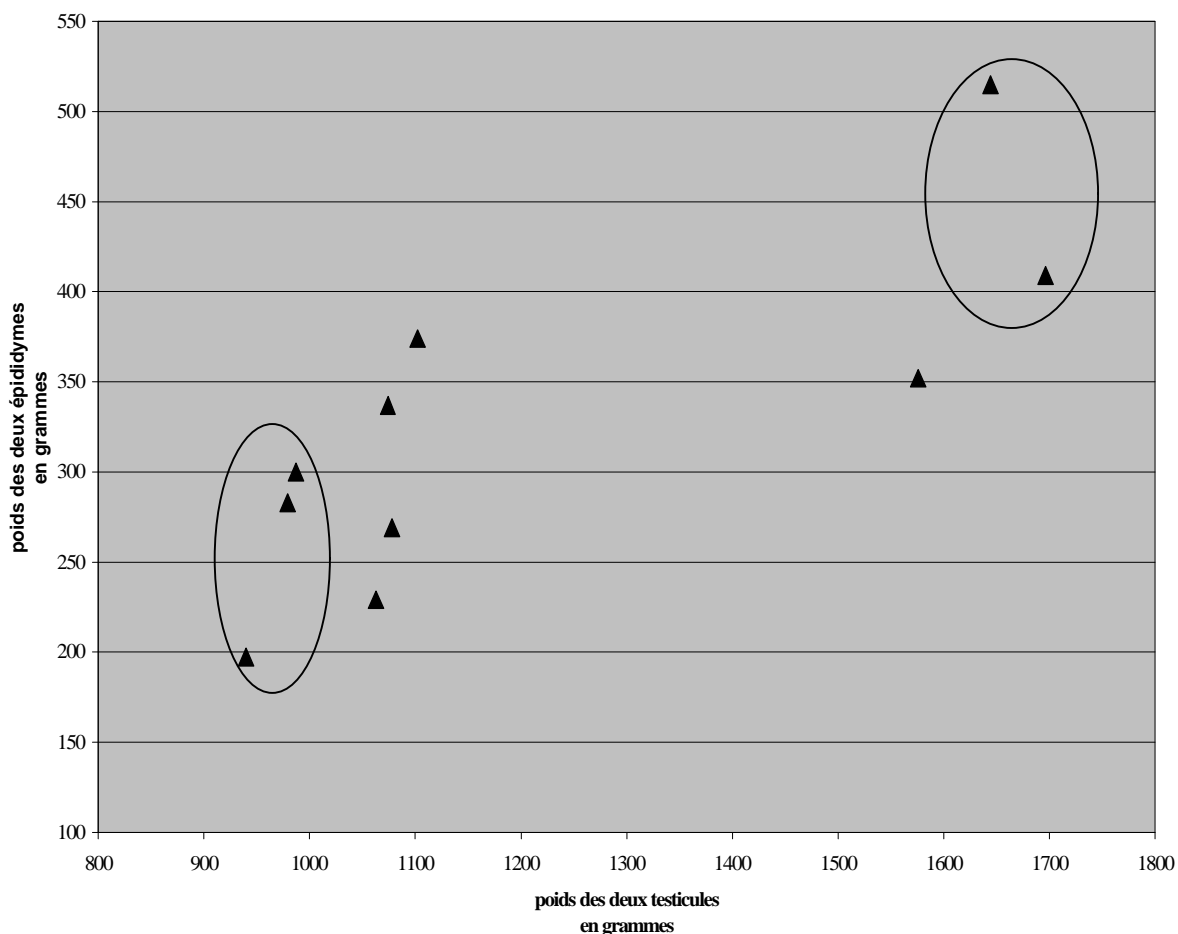
Figure 32 : relation entre l'âge et le poids épидидymaire moyen



D'autre part, on constate que l'on retrouve presque les mêmes verrats dans les groupes de poids testiculaire et dans les groupes de poids épидидymaire. Ainsi le E2 et le E1, qui ont des testicules de moins de 1kg, ont tous deux des épидидymes légers, alors que le E3 et TT4, qui ont des testicules de plus d'1,5kg, ont des épидидymes lourds. Ainsi, même s'il n'y a pas de corrélation stricte entre le poids testiculaire et le poids épидидymaire, il y a tout de même une relation : un verrat avec de gros testicules a plutôt des gros épидидymes.

Pour vérifier cela, on peut comparer le poids des deux testicules avec celui des deux épидидymes. La figure 33 montre que les trois verrats avec les testicules légers ont des épидидymes d'un poids inférieur à 300g et deux des trois verrats avec les testicules lourds ont des épидидymes d'un poids supérieur à 400g.

Figure 33 : relation entre le poids des deux testicules et celui des deux épидидymes pour les dix verrats étudiés



Pour les vésicules séminales, on décide de se baser sur la taille moyenne des deux vésicules séminales du fait des faibles variations de dimensions entre ces organes pairs ; en se basant sur la longueur et la largeur, on distingue encore trois groupes dans lesquels les verrats sont répartis comme le montre le tableau 34.

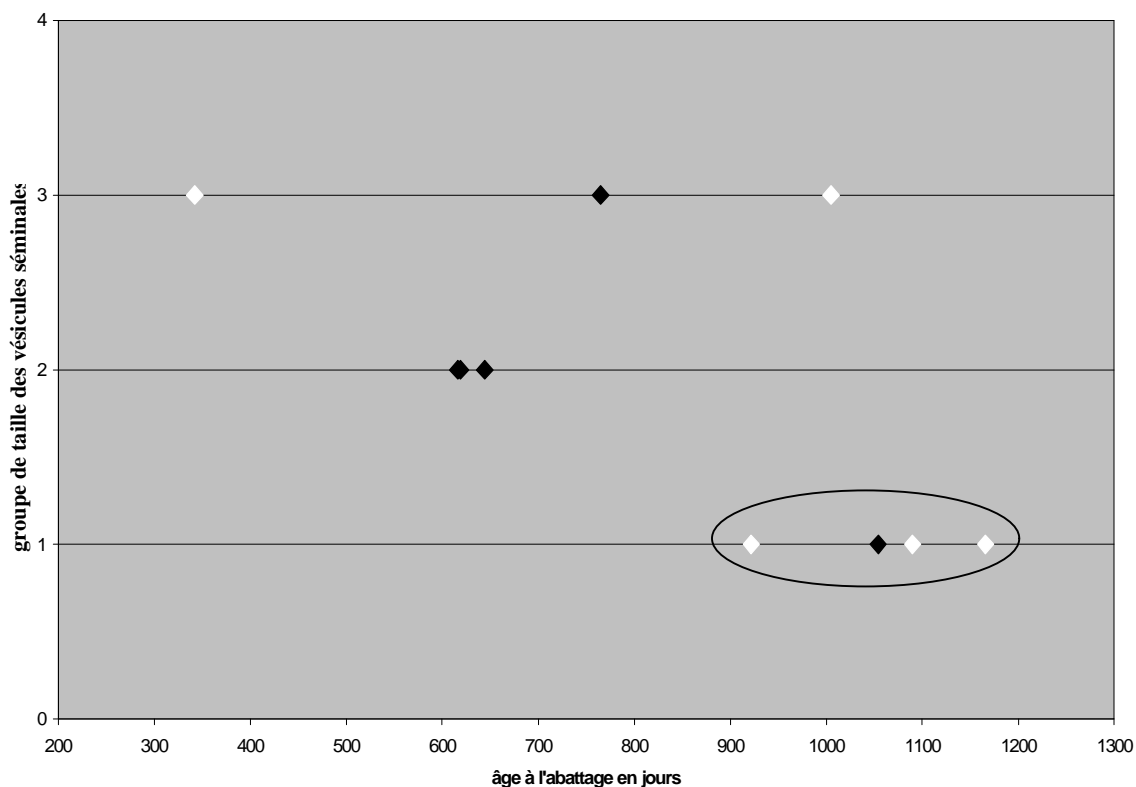
Tableau 34 : Répartition des dix verrats dans trois groupes de taille de vésicules séminales

Vésicules de petite taille (L<18cm et l<8cm)	Vésicules de taille moyenne	Vésicules de grande taille (L>20cm et l>10cm)
Tt1	E4	Tt2
E1	E2	E5
Tt3	E3	Tt5
Tt4		

On constate que le verrot le plus jeune a des vésicules séminales de grande taille alors que le verrot le plus vieux a des vésicules de petite taille. Les trois verrats âgés de un an et demi à deux ans ont tous trois des vésicules de taille moyenne. Par contre, parmi les trois verrats âgés de deux ans à deux ans et demi, deux ont des vésicules de grande taille alors que Tt1 a des vésicules de petite taille. Cependant, ce même verrot avait une vésicule atrophiée, ce qui explique la petite taille (moyenne des longueurs des deux vésicules). On peut donc noter la

tendance légère des verrats âgés à avoir des vésicules de taille plus petite que les verrats plus jeunes (quatre verrats de plus de deux ans ont des vésicules de petite taille alors que les verrats de moins de deux ans ont des vésicules de taille soit moyenne soit grande), tendance visualisée dans la figure 34.

Figure 34 : relation entre l'âge des verrats et la taille des vésicules séminales



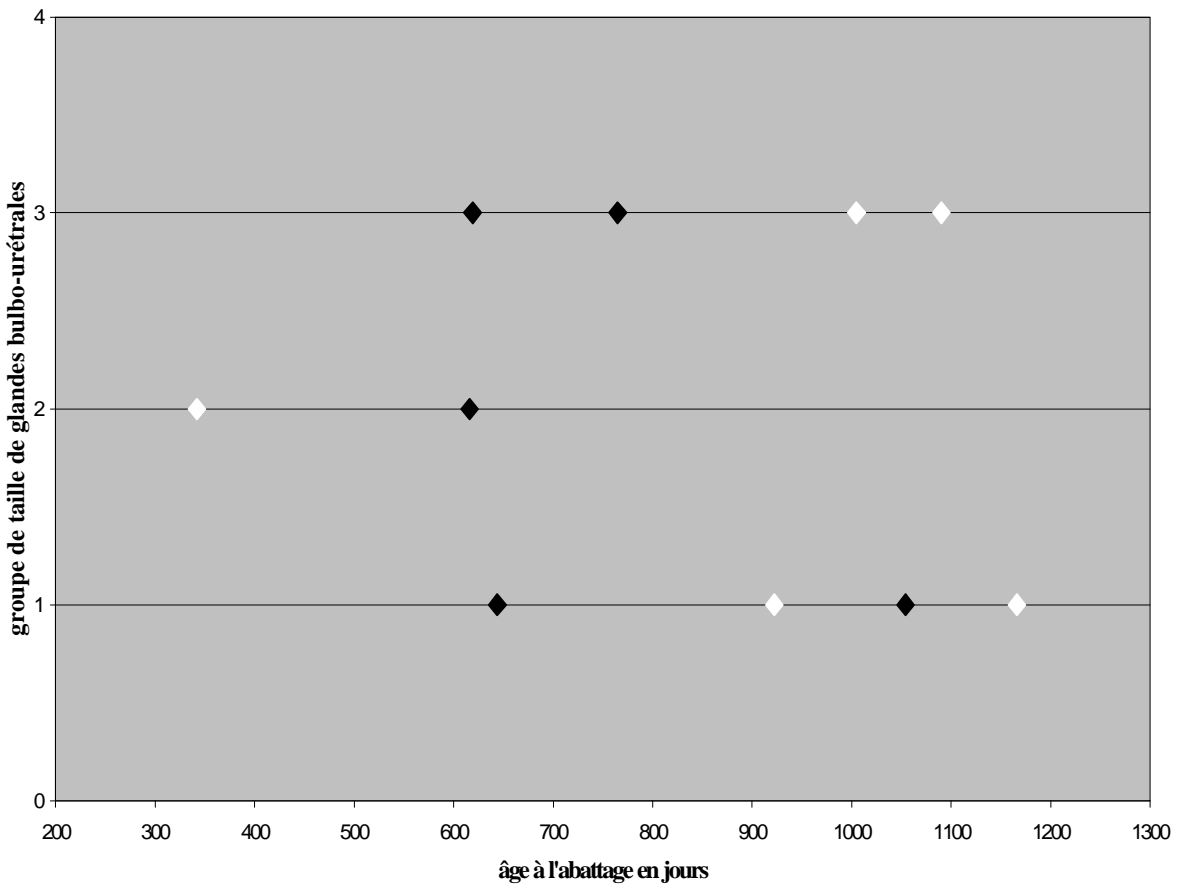
Pour la taille des glandes bulbo-urétrales, on se base sur la taille moyenne des deux glandes en terme de longueur et largeur du fait des faibles variations entre ces organes pairs, et on distingue toujours trois groupes, dans lesquels les verrats sont répartis comme dans le tableau 36.

Tableau 36 : Répartition des dix verrats dans trois groupes de taille de glandes bulbo-urétrales

Bulbo-urétrales de petite taille (L<16cm et l<4,5 cm)	Bulbo-urétrales de taille moyenne	Bulbo-urétrales de grande taille (L>17cm et l>5cm)
E2	Tt2	E3
Tt1	E4	E5
E1		Tt5
Tt3		Tt4

Le plus jeune verrat a des glandes bulbo-urétrales de taille moyenne alors que celles du verrat le plus vieux sont de petite taille. De plus les verrats d'un même groupe d'âge n'appartiennent pas au même groupe de taille de glandes bulbo-urétrales. Il semble donc n'y avoir aucune correspondance entre l'âge et la taille de ces glandes, ceci est visible sur la figure 35.

Figure 35 : relation entre l'âge des verrats et la taille des glandes bulbo-urétrales



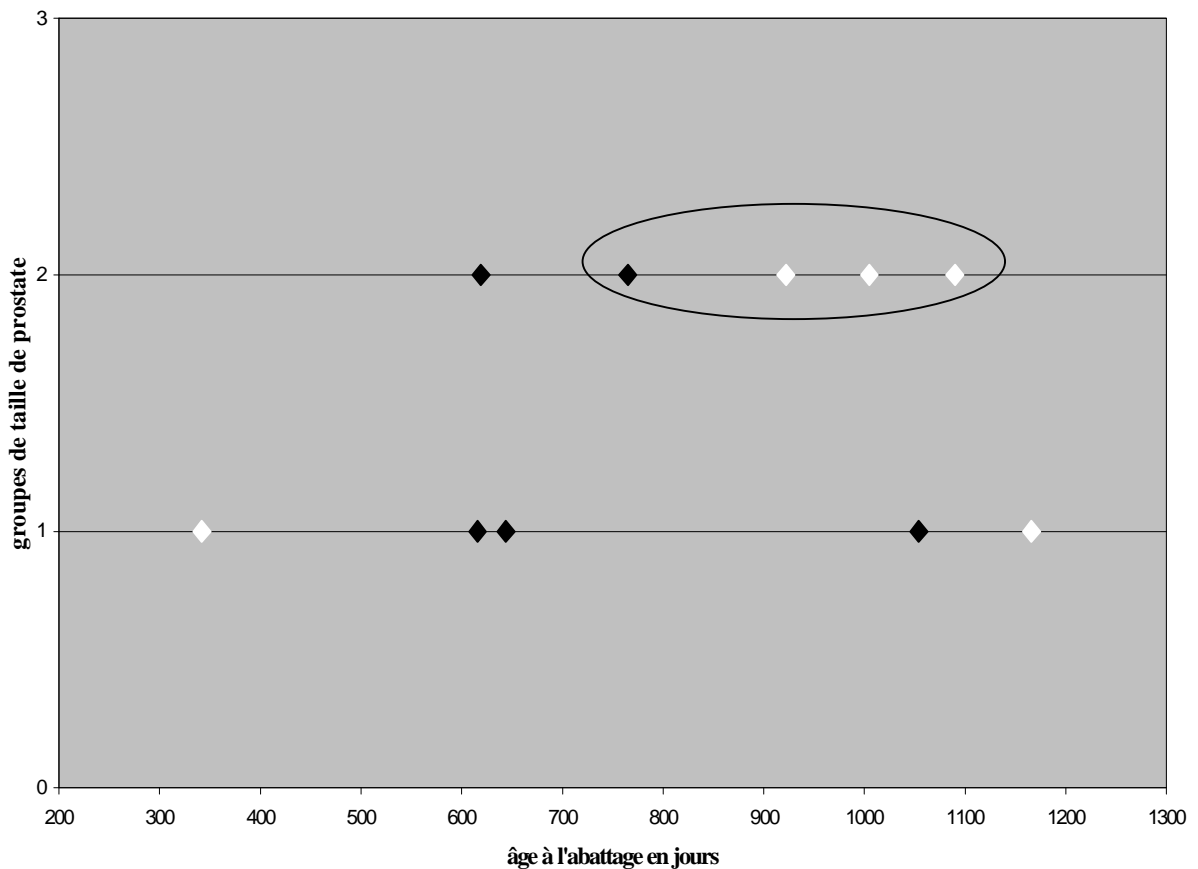
Pour la taille de la prostate, on se base sur la longueur et la largeur du corps de la prostate et on distingue cette fois-ci deux groupes de verrats, comme le montre le tableau 37.

Tableau 37 : Répartition des dix verrats dans deux groupes de taille de prostate

Prostate de petite taille (< 4 cm)	Prostate de grande taille (> 4 cm)
Tt2	Tt1
Tt3	Tt4
E1	Tt5
E2	E3
E4	E5

Le plus jeune et le plus vieux verrat ont tous deux des prostates de petite taille, celle du verrat de trois ans étant légèrement plus grande. Deux verrats âgés de un an et demi à deux ans ont des prostates de petite taille alors que le troisième verrat a la plus grande prostate de l'échantillon. Les trois verrats âgés de deux ans à deux ans et demi ont tous trois des prostates de grande taille. On peut dire qu'il y a une légère tendance des verrats à avoir une prostate de plus grande taille avec l'âge, tendance mise en évidence par la figure 36.

Figure 36 : relation entre l'âge des verrats et la taille de la prostate



2.2.3. Relation lot - poids et dimensions des organes génitaux

Pour le poids testiculaire, le lot expérimental compte deux verrats dans le groupe $< 1\text{kg}$, un verrot dans le groupe $1\text{kg} << 1,5\text{kg}$ et deux verrats dans le groupe $> 1,5\text{kg}$. Le lot témoin compte un verrot dans le groupe $< 1\text{kg}$, trois verrats dans le groupe $1\text{kg} << 1,5\text{kg}$ et un verrot dans le groupe $> 1,5\text{kg}$. Ainsi la comparaison des deux lots sur le poids des deux testicules ne met pas en évidence de différence nette, mais seulement une tendance des verrats témoins à avoir des testicules de poids moyen et une tendance des verrats produisant de la mauvaise semence à avoir des poids testiculaires extrêmes, soit faibles, soit importants. Cette tendance est visualisée dans la figure 30, dans laquelle les points blancs correspondent aux verrats témoins et les points noirs aux VDQS+.

Pour le poids des épидидymes, la répartition des verrats du lot expérimental et du lot témoin est la même entre les trois groupes de poids épидидymaire, à savoir que parmi les quatre verrats avec des épидидymes légers, deux sont du lot expérimental et deux du lot témoin, de même pour les quatre verrats avec des épидидymes moyens ; enfin parmi les deux verrats avec des épидидymes lourds, un est du lot expérimental et l'autre du lot témoin. On peut donc dire que les deux lots de verrats ne se différencient pas au niveau du poids des épидидymes et ce constat est mis en évidence par la figure 31.

Pour la taille des vésicules séminales, les verrats du lot expérimental ont plutôt tendance à avoir des vésicules séminales de taille moyenne, cependant cette tendance est convergente

avec la tendance liée à l'âge, puisque le groupe d'âge un an et demi à deux ans est constitué de trois verrats appartenant au lot expérimental. De plus pour les deux autres verrats du lot, l'un a des vésicules de petite taille et l'autre de grande taille. Pour le lot témoin, trois verrats ont des vésicules de petite taille (dont l'un avait une vésicule atrophiée) et deux des vésicules de grande taille. Ainsi il est difficile de parler de tendance, les deux lots ne se différencient pas de façon nette sur la taille des vésicules séminales, comme le montre la figure 33.

Pour la taille des glandes bulbo-urétrales, les répartitions des verrats du lot expérimental et du lot témoin dans le groupe de taille de glandes sont symétriques et égales, c'est-à-dire que parmi les quatre verrats avec des glandes de grande taille, deux sont du lot expérimental et deux du lot témoin, de même pour les quatre verrats avec des glandes de petite taille, et enfin pour les deux verrats avec des glandes de taille moyenne, un est du lot expérimental et un du lot témoin. On peut donc dire que les deux lots de verrats ne sont pas différents sur la taille des glandes bulbo-urétrales, comme le montre la figure 34.

Pour la taille de la prostate, trois verrats du lot expérimental ont des prostates de petite taille, les deux autres verrats ont des prostates de grande taille, alors que, dans le lot témoin, deux verrats ont des prostates de petite taille et trois verrats des prostates de grande taille. Cependant ces tendances sont parallèles aux tendances liées à l'âge, ce qui est visible sur la figure 35.

La mise en relation de l'appartenance d'un verroat à un des lots et du poids et des dimensions de ses organes génitaux a permis de montrer qu'il n'y avait pas de différence nette entre les deux lots pour les poids et dimensions des organes génitaux. Cependant cette mise en relation a pu être biaisée par le fait que trois verrats du lot expérimental avaient le même âge.

3. Synthèse et discussion des résultats

Les résultats de cette étude expérimentale, obtenus sur la semence et les tractus génitaux de cinq verrats réformés pour baisse de qualité de semence ont permis de mettre en relation les caractéristiques de la semence et celles du tractus génital. Les principales lésions observées sur les tractus des verrats du lot expérimental sont les figures de dégénérescence testiculaire mises en évidence par l'analyse histologique sur les testicules de quatre verrats ; elles correspondent à des stades précoces de dégénérescence testiculaire pour trois verrats et à de la dégénérescence d'intensité marquée pour un verroat. Le cinquième verroat présentait seulement une diminution du nombre de spermatozoaires matures dans les tubes séminifères. Ces figures de dégénérescence testiculaire sont caractérisées par la présence de cellules géantes multinuclées dans l'épithélium séminifère ou dans la lumière des tubes séminifères ainsi que par la vacuolisation des spermatozoaires pour la dégénérescence testiculaire d'intensité marquée.

Ces résultats sont cohérents avec les connaissances sur la dégénérescence testiculaire chez les animaux domestiques. Ainsi Mac ENTEE (1970) décrit les stades précoces de la dégénérescence testiculaire par la présence de spermatozoaires nécrotiques et de cellules géantes multinuclées d'origine spermatozoaire, puis les stades plus avancés par la vacuolisation et la pycnose des noyaux des spermatozoaires et de leurs précurseurs et enfin les stades ultimes avec disparition des cellules sustentaculaires et fibrose des tubes séminifères (84). De plus, la présence de cellules géantes multinuclées a été décrite dans différentes espèces en plus du verroat : l'Homme, le rat et le lapin; elle est considérée, par MORTON *et al.* (1986) comme un changement dégénératif modéré en réponse à l'exposition à certains agents chimiques, à la chaleur ou aux rayons X, ou à des carences alimentaires qualitatives (protéines, vitamines) ou

quantitatives (96). Nos résultats sont aussi cohérents avec ceux d'une étude suédoise de 1949 menée par HOLST (1949) sur la stérilité des verrats, selon laquelle 16 verrats adultes « stériles » sur 20 présentaient des lésions de dégénérescence testiculaire à l'histologie, avec présence de cellules géantes multinuclées pour les stades précoces et desquamation des couches de cellules germinales pour les stades plus avancés, jusqu'à destruction totale de l'épithélium séminifère (61). Outre la dégénérescence testiculaire, HOLST avait observé des lésions inflammatoires sur les testicules de trois verrats stériles, ainsi qu'un séminome sur un verroat de 7 ans. Notre étude n'a révélé, elle, aucune atteinte inflammatoire des testicules et des épидидymes pour les verrats du lot expérimental, ce qui n'est pas surprenant, d'autant plus sur un échantillon de cette taille, puisque, selon LAGERLOF et d'autres auteurs, la dégénérescence testiculaire constitue 75 à 80% des pathologies testiculaires (108). Les autres lésions observées sur les tractus des verrats du lot expérimental sont des lésions congénitales telles que des kystes situées entre le testicule et l'épididyme, observées chez deux verrats et un hamartome vasculaire situé entre la tête de l'épididyme droit et le plexus pampiniforme chez un verroat. Il ne semble pas que ces lésions, isolées et d'origine congénitale, soient responsables de la baisse de qualité de la semence, d'autant plus que des lésions semblables ont été observées sur deux verrats témoins.

Les conséquences de la dégénérescence testiculaire sur la qualité de semence sont certaines et pour notre étude, on peut avancer une relation de cause à effet entre les figures de dégénérescence plus ou moins avancée et les baisses de qualité de semence, puisqu'elles sont présentes sur les testicules de quatre des verrats du lot expérimental contre seulement un des verrats du lot témoin. La synthèse des résultats obtenus sur la semence a permis de souligner certains points communs aux cinq verrats du lot expérimental : ils produisent tous des éjaculats de volume plutôt faible par rapport à leurs témoins respectifs, avec une concentration spermatique plutôt élevée et un nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat important par rapport à leurs témoins. Deux verrats font exception, l'un avec une concentration spermatique plutôt basse et l'autre un nombre total de spermatozoïdes plutôt faible. Le constat fait sur le volume n'est pas cohérent avec les résultats de HOLST selon lesquels le volume demeure dans les valeurs usuelles, cependant notre étude est surtout basée sur la comparaison avec les témoins plus que sur la référence aux valeurs usuelles, alors que l'étude HOLST ne comportait pas de lot témoin. Pour la concentration spermatique, on pourrait penser, d'après les résultats de notre étude, que les verrats concernés par la réforme pour qualité de semence produisent des éjaculats de concentration plutôt élevée, concentration qui reste stable dans les stades précoces de dégénérescence et qui diminue dans les stades plus avancés et dans la dégénérescence d'intensité marquée. En effet, trois verrats avec de la dégénérescence à des stades précoces produisaient des éjaculats avec une concentration et un nombre total de spermatozoïdes importants alors que le verroat avec de la dégénérescence marquée produisait des éjaculats de faible concentration et avec un nombre total de spermatozoïdes faible. Dans la littérature, une baisse du nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat est décrite en cas de dégénérescence testiculaire, surtout dans les stades avancés (84)(108).

Les quatre verrats atteints de dégénérescence à des stades précoces présentaient tous des taux de spermatozoïdes anormaux nettement supérieurs à la norme admise et à ceux de leurs témoins respectifs, avec des taux pouvant aller jusqu'à 82% des spermatozoïdes totaux. Cette constatation est conforme aux connaissances sur la dégénérescence testiculaire : selon Mac ENTEE (1970), les modifications des caractéristiques qualitatives de la semence suivent de très près les changements testiculaires, avec une augmentation du taux d'anomalies spermatiques et de spermatozoïdes immatures pour les stades précoces, suivie d'une

diminution de la mobilité des spermatozoïdes et une baisse importante du nombre de spermatozoïdes dans les stades ultimes de dégénérescence (84). D'autre part, ces quatre verrats présentaient tous la même anomalie spermatique, à savoir les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé, dans des proportions plus ou moins importantes, mais toujours supérieures aux normes admises. Cette anomalie du flagelle est assez courante dans les éjaculats de verrat, la proportion admise dans un éjaculat de verrat est de 10%, étant donné que le flagelle enroulé en fouet est une anomalie mineure alors que le flagelle enroulé en chignon est une anomalie majeure et surtout que la présence de cette anomalie en proportions importantes s'accompagne presque systématiquement d'une baisse de la mobilité des spermatozoïdes, comme toute anomalie du flagelle. HOLST a aussi rapporté la présence de cette anomalie dans les éjaculats de six verrats sur les seize présentant des lésions de dégénérescence testiculaire.

Le fait de retrouver cette anomalie spermatique dans les éjaculats des cinq verrats du lot expérimental doit conduire à identifier à son origine. Pour cela trois hypothèses peuvent être avancées : une origine primaire, à savoir un défaut de spermatogenèse au niveau du testicule ou une origine secondaire, à savoir un défaut de maturation des spermatozoïdes soit d'origine épидидymaire soit du aux sécrétions des glandes annexes. Il peut donc s'agir d'une anomalie d'origine primaire, surtout les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en chignon, ou secondaire ; dans ce cas, la présence de cette anomalie en grandes proportions dans un éjaculat est due à un choc au froid ou un choc osmotique provoqué par la présence d'eau ou d'urine dans l'éjaculat (108). En effet, cette anomalie a un aspect proche de celui des spermatozoïdes ayant réagi au test HOS et repliés sur eux-mêmes pour résister au choc osmotique. On peut donc penser qu'une perturbation de l'environnement des spermatozoïdes dans l'épididyme (et plus particulièrement dans la queue de l'épididyme, là où les spermatozoïdes sont stockés), avec une baisse de la pression osmotique du fluide épидидymaire, peut être à l'origine de la présence dans l'éjaculat de spermatozoïdes avec le flagelle enroulé. Cependant, aucune lésion n'a été observée sur les épидидymes, à part des kystes congénitaux de petite taille, contrairement aux testicules, ce qui pourrait indiquer que l'origine de l'anomalie est plutôt primaire. Or, seul un verrat présentait des éjaculats avec des proportions importantes de spermatozoïdes avec un flagelle enroulé en chignon, mais tout de même plus faibles que les proportions de spermatozoïdes avec un flagelle enroulé en fouet. Enfin la troisième explication possible découle du constat fait sur les pressions osmotiques des éjaculats des verrats produisant de la semence de mauvaise qualité, toutes inférieures à celles des éjaculats des témoins. Cette différence ne peut être attribuée au fluide épидидymaire, qui constitue seulement 2% du volume de l'éjaculat, mais plutôt aux sécrétions des glandes annexes. En effet, une modification de la composition en protéines du plasma séminal pourrait expliquer la présence en proportions importantes de flagelles enroulés, qui seraient alors d'origine secondaire. La confirmation de cette hypothèse nécessite l'identification par électrophorèse des protéines présentes dans le plasma séminal et éventuellement leur dosage ; pour cela, un échantillon de plasma séminal obtenu par centrifugation a été conservé pour chaque verrat du lot expérimental afin de pouvoir réaliser cette manipulation ultérieurement. D'autre part, le verrat qui ne présentait pas de figures de dégénérescence testiculaire mais seulement une diminution du nombre de spermatides matures, présentait deux types d'anomalies dans ses trois éjaculats, les spermatozoïdes avec le flagelle enroulé en fouet, comme les autres verrats, mais aussi des spermatozoïdes avec le flagelle coudé, anomalie spermatique dont l'origine secondaire est à peu près certaine selon ROBERTS (1971). La présence de ces deux anomalies peut expliquer la baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles pour ce verrat, mais il est difficile de les relier aux variations observées à l'histologie sur les testicules. Cependant, il faut garder à l'esprit que l'analyse histologique portait sur un

échantillon de 1cm³ de parenchyme testiculaire et sur un seul testicule. Il est donc possible que ce verrat ait été atteint de dégénérescence testiculaire à un stade précoce et que cela nous ait échappé à l'histologie à cause du prélèvement, d'autant plus que l'aspect macroscopique du parenchyme testiculaire était modifié.

D'autre part quatre verrats présentaient des taux de spermatozoïdes immatures importants et très nettement supérieurs à ceux de leurs témoins ; le cinquième verrat avait, lui, des taux acceptables et surtout inférieurs à ceux de son témoin. Comme spermatozoïdes immatures, il s'agit essentiellement de spermatozoïdes portant une gouttelette cytoplasmique distale. Ainsi cela correspond bien à l'augmentation marquée du taux de spermatozoïdes immatures rapportée dans la littérature pour les stades précoces de dégénérescence testiculaire. HOLST, dans son étude, a d'ailleurs confirmé que cette augmentation constituait le premier signe et le plus évident de désordres de la spermatogenèse (61). D'autre part, ces taux étaient stables entre les trois éjaculats pour deux verrats, alors qu'ils étaient croissants pour les deux autres verrats. Or on sait que la dégénérescence testiculaire peut être réversible si les couches basales de l'épithélium séminifère (avec les spermatogonies et les cellules sustentaculaires) n'ont pas été touchées par le processus dégénératif, elle est alors suivie d'une régénération, beaucoup plus lente que le processus de dégénérescence puisqu'elle peut prendre des mois (84). Ainsi, on pourrait penser que les trois verrats atteints de dégénérescence testiculaire à des stades précoces auraient pu récupérer une fonction testiculaire normale, au terme d'une longue période de régénération de l'épithélium séminifère, d'autant plus que deux d'entre eux montraient une amélioration de la qualité de leur semence entre les trois collectes, avec des taux de spermatozoïdes anormaux et immatures décroissants et des pourcentages de spermatozoïdes mobiles croissants. Cependant, les impératifs économiques en CIA ne permettent pas de conserver ces verrats en attente d'une régénération longue et incertaine. Ils ne sont gardés en centre que pendant trois à quatre semaines puis réformés, ce laps de temps ne permettant pas en général de voir une amélioration durable de la qualité de semence. D'autre part, l'intégrité des tubes séminifères est restaurée bien après que la qualité de semence se soit améliorée en termes de morphologie et de mobilité des spermatozoïdes. Ainsi on pourrait envisager la présence de figures de dégénérescence observée sur les testicules d'un des verrats témoins comme les séquelles d'un processus dégénératif transitoire ; la régénération en cours expliquant que ce verrat produisait de la semence de bonne qualité avec quand même présence de lésions sur les testicules. D'autre part, les dernières collectes de semence sur ce verrat ont montré une légère baisse de qualité, ce qui pourrait peut-être constituer l'amorce d'une rechute après une phase de régénération...

D'autre part il faut parler des lésions observées sur les nœuds lymphatiques testiculaires de deux verrats du lot expérimental, concordantes avec les lésions décrites sur les nœuds lymphatiques de porcs atteints de Maladie d'Amaigrissement du Porcelet (MAP) (41) ou infectés expérimentalement par le Circovirus porcine de type 2 (69). La MAP est une nouvelle maladie décrite pour la première fois en France en 1996, très proche du PMWS décrit au Canada. Elle est caractérisée par un dépérissement marqué des animaux, avec comme symptômes de l'hyperthermie, de l'anorexie, de la dyspnée et de la tachypnée sur des porcs « blancs » (87). Les lésions décrites à l'autopsie de porcs atteints sont variables et concernent surtout les organes lymphoïdes (ganglions, thymus, plaques de Peyer dans l'iléon) ainsi que les poumons et les reins. La lymphadénopathie est caractéristique avec, à l'histologie, une déplétion lymphoïde parfois très prononcée avec une infiltration multifocale à diffuse de cellules histiocytiques et parfois présence de cellules multinuclées. La présence de corps d'inclusion cytoplasmiques basophiles et de forme sphériques, qui sont des agrégats de particules virales, a été rapportée par plusieurs auteurs. Comme référence, ROSELL *et al.* ont

trouvé sur les nœuds lymphatiques de 15 porcs présentant des signes de MAP, une déplétion lymphoïde sur 15 d'entre eux, une infiltration histiocytique sur 14 d'entre eux et la présence de corps d'inclusion sur 8 d'entre eux (109). Dans notre étude, les deux verrats concernés ne présentaient pas de signes cliniques de MAP et provenaient de CIA considérés indemnes de MAP puisque peuplés de verrats provenant d'élevages n'ayant jamais eu de signes cliniques de la maladie. Cependant, les lésions observées n'étaient qu'évocatrices de MAP étant donné l'absence de corps d'inclusion. Pour tenter d'éclaircir cela, il faut se pencher sur l'épidémiologie et la pathogénie de la maladie, ou plutôt sur les hypothèses actuelles. En effet, la semence est depuis longtemps suspectée d'être responsable de la contamination d'élevages auparavant indemnes ; MUIRHEAD (2002) propose d'ailleurs un modèle hypothétique selon lequel le PCV2 excrété dans la semence et introduit dans la truie lors de l'I.A. se serait adapté au porcelet in utero avec pour conséquence la naissance de porcelets porteurs (97), exprimant la maladie lors de l'intervention d'autres facteurs, zootechniques par exemple (sevrage). LAROCHELLE et al. (2000) ont d'ailleurs fourni la preuve de l'excrétion du virus dans la semence de verrats infectés expérimentalement par le PCV2, par mise en évidence de l'ADN du PCV2 dans la semence (72). Enfin KENNEDY et al. (2000) ont rapporté la présence de PCV2 dans les macrophages présents dans les testicules et épидидymes de porcelets infectés (69). Cependant qu'en est-il de verrats sans symptômes de MAP ? L'observation des lésions de MAP sur les nœuds drainant les testicules de verrats réformés pour baisse de qualité de la semence ne permet pas de dire que ces verrats sont infectés par le PCV2 et encore moins s'ils sont excréteurs de virus dans leur semence et enfin elle ne permet pas de conclure sur une relation avec la baisse de qualité de semence, d'autant plus qu'un verroat du lot témoin présentait des lésions proches mais moins caractéristiques.

Enfin il est intéressant de se pencher sur les lésions observées sur les tractus des verrats témoins, puisqu'elles sont associées à la production de semence de bonne qualité. Outre les lésions congénitales et les figures de dégénérescence mises en évidence sur un tractus et envisagées précédemment, on a décelé deux types de lésions sur deux tractus. Un verroat présentait des séquelles de vésiculite unilatérale et de prostatite d'intensité légère à moyenne, avec atrophie de la vésicule séminale, or ce verroat produisait une semence normale en quantité et en qualité. Ces constats sont conformes aux connaissances actuelles puisque l'atrophie des vésicules séminales est décrite chez le verroat comme une conséquence de vésiculite et puisque les conséquences d'une atteinte inflammatoire des vésicules séminales sur la qualité de semence sont très variables, selon, par exemple, si l'atteinte est uni ou bilatérale. L'agent étiologique majeur de vésiculite chez le verroat est *Brucella suis*. Cependant, les verrats de CIA sont soumis à des contrôles sérologiques stricts et réguliers pour la Brucellose, ce qui permet d'écarter cette hypothèse étiologique, d'autant plus qu'il n'y avait pas d'abcédation, ni sur la vésicule séminale, ni sur la prostate. Un autre verroat témoin présentait une atrophie testiculaire unilatérale, associée à un œdème épидидymaire diffus, pour laquelle l'hypothèse d'une origine traumatique était corroborée par la présence d'une plaque cutanée cicatricielle sur le scrotum, en regard de la queue de l'épididyme du côté lésé. En effet, un traumatisme (un coup donné par un animalier lors d'un déplacement du verroat par exemple) aurait pu entraîner une réaction vasculaire de l'épididyme et une atrophie réactionnelle du testicule, atrophie légère et sans doute transitoire. Il est cependant difficile de situer dans le temps la survenue de ce traumatisme et d'affirmer l'absence de conséquences de telles lésions sur la qualité de semence, d'autant plus que ce verroat a été réformé pour des problèmes d'ardeur sexuelle (il mettait trop de temps à monter le mannequin).

Concernant la qualité microbiologique de la semence, sur les trente dénombrements de flore mésophile aérobie effectués au cours de notre étude, on constate tout d'abord que la charge bactérienne présente dans un éjaculat de verrat est très variable d'un individu à l'autre puisqu'elle varie entre 9.10^1 UFC/mL et $5,5.10^5$ UFC/mL et, pour le même individu, d'un éjaculat à un autre, avec des différences d'un facteur 100 entre deux éjaculats récoltés sur le même verrat à une semaine d'intervalle. De telles variations sont conformes avec celles rapportées dans la littérature (86)(102). Cependant, les bactéries présentes dans l'éjaculat du verrat proviennent surtout du milieu extérieur et contaminent la semence pendant et après l'éjaculation (85) ; on peut donc penser qu'une part certaine des variations observées entre les éjaculats d'un même verrat est due à la modification des conditions de collecte des éjaculats telle qu'un changement de préleveur, un changement dans l'état de propreté du verrat ou de la salle de monte, voire un changement de salle de monte, etc...L'absence de différence entre les deux lots de verrats en terme de charge bactérienne de la semence pourrait permettre d'écarter l'hypothèse selon laquelle une contamination massive de la semence aurait été à l'origine de la baisse de mobilité des spermatozoïdes. Cependant, pour de nombreuses raisons, cette analyse microbiologique est critiquable : tout d'abord il n'y a pas eu de standardisation de la méthode de collecte entre les préleveurs et il n'y a pas eu de continuité dans les préleveurs pour un même verrat ; ces deux erreurs ont participé aux variations interindividuelles et intra-individuelles entre éjaculats. Ensuite, l'analyse uniquement quantitative ne permet pas de conclure définitivement sur les différences entre les deux lots de verrats, puisqu'on peut isoler, dans des semence ayant la même charge bactérienne, des types bactériens différents, avec des conséquences différentes sur la qualité de semence. Enfin selon MADEC (1987), la contamination de la semence n'est pas le juste reflet de la contamination du tractus génital, puisqu'elle provient essentiellement du milieu extérieur.

CONCLUSION

Malgré l'inconvénient du faible effectif de verrats étudiés, cette étude expérimentale a tout de même atteint son objectif puisqu'elle a mis en évidence des différences entre le lot expérimental et les lots témoins, tant au niveau des caractéristiques de la semence que de celles des tractus génitaux. L'examen de la semence a permis de relier la diminution du pourcentage de spermatozoïdes mobiles avec l'augmentation des pourcentages de spermatozoïdes immatures et de spermatozoïdes anormaux dans les éjaculats des verrats du lot expérimental et a mis en évidence la présence d'une anomalie spermatique particulière, le flagelle enroulé « en lasso », présente en grande quantité dans ces mêmes éjaculats. L'examen des tractus génitaux a mis en évidence des lésions plus ou moins marquées de dégénérescence testiculaire sur les testicules de ces mêmes verrats. Ainsi la dégénérescence testiculaire apparaît comme la cause probable de la baisse de qualité de semence ayant motivé la réforme des verrats, et ce sur des verrats provenant de deux centres d'insémination artificielle différents, dont la conduite est différente. La réalisation de cette étude dans ces deux structures a d'ailleurs constitué à la fois un handicap pour la mise en œuvre et la rigueur du protocole expérimental, mais aussi un intérêt en terme de conclusions et de perspectives grâce à l'étude simultanée d'un même problème dans deux structures différentes.

Concernant les perspectives de recherche ouvertes par cette étude, il serait souhaitable, dans un premier temps, de réaliser une étude anatomo-pathologique centrée sur les testicules et réalisée sur un effectif plus important de verrats réformés pour qualité de semence. En effet, une étude plus vaste permettrait de confirmer que la dégénérescence testiculaire est bien à l'origine de la baisse de qualité de semence et de la réforme des verrats. Dans ce même temps, il serait intéressant de poursuivre l'analyse approfondie de la qualité de semence avec d'autres techniques telles que le système CASA, pour analyser la mobilité des spermatozoïdes, ou encore la microscopie électronique, pour étudier de plus près les anomalies spermatiques présentes dans les semences de mauvaise qualité.

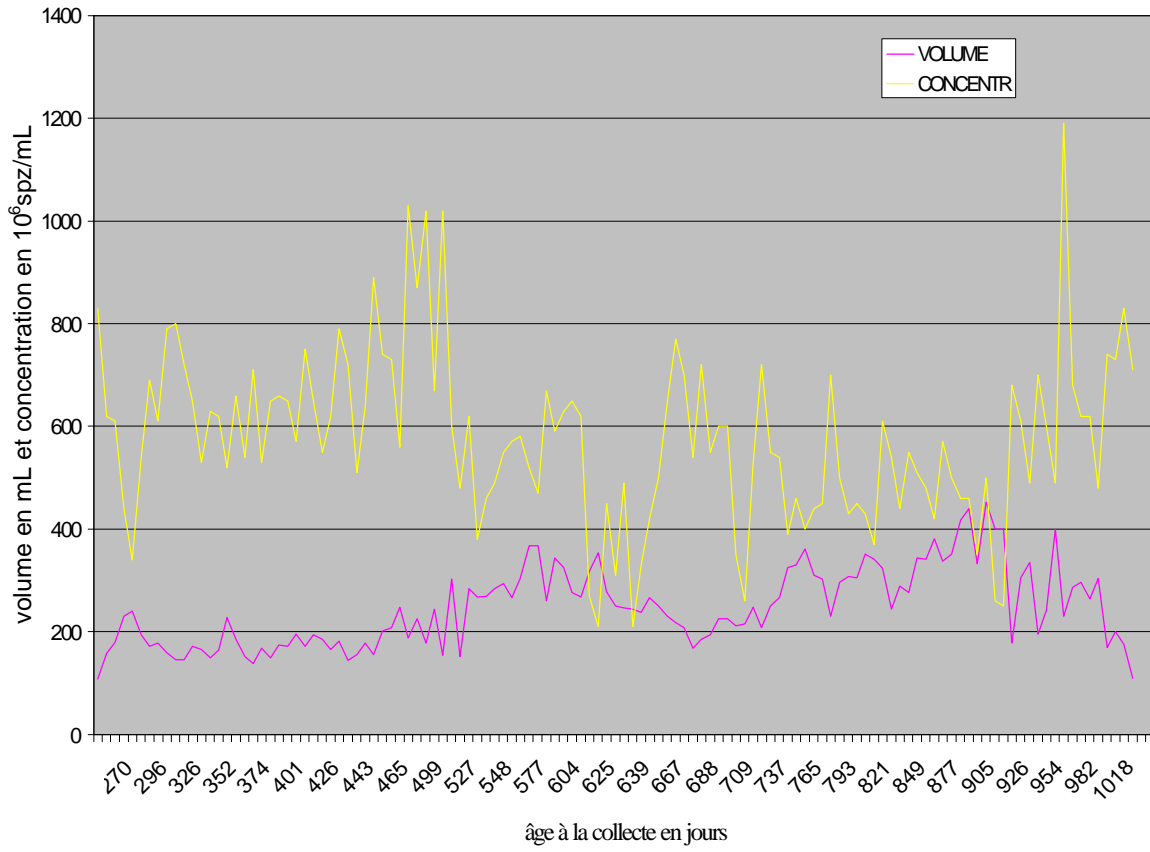
Après confirmation, dans un deuxième temps, il serait intéressant de se pencher sur les causes de cette dégénérescence et de vérifier si elles sont communes à tous les verrats ou bien diverses. Parmi les nombreuses causes de dégénérescence testiculaire, certaines pistes semblent être à explorer en priorité, telles que les déséquilibres hormonaux, la fonction hormonale peut être explorée par des dosages de testostérone sur prises de sang sériées, et les carences alimentaires, avec par exemple des mesures de la zincémie.

Dans un troisième temps, l'identification d'une cause particulière commune pourrait ouvrir des perspectives en terme de prévention grâce à la maîtrise des facteurs de risque. Les possibilités de dépistage précoce des verrats concernés semblent pour l'instant limitées, étant donné que les échographies testiculaires effectuées sur les verrats de l'étude n'ont pas permis de déceler des modifications de l'échogénicité du parenchyme testiculaire associées aux lésions observées ensuite sur les testicules. Cependant ces possibilités restent conditionnées aux causes identifiées au préalable. Enfin les possibilités de traitement seront, elles aussi, fonction des causes identifiées, même si cette perspective semble difficile à mettre en place dans le contexte de production de la semence en CIA.

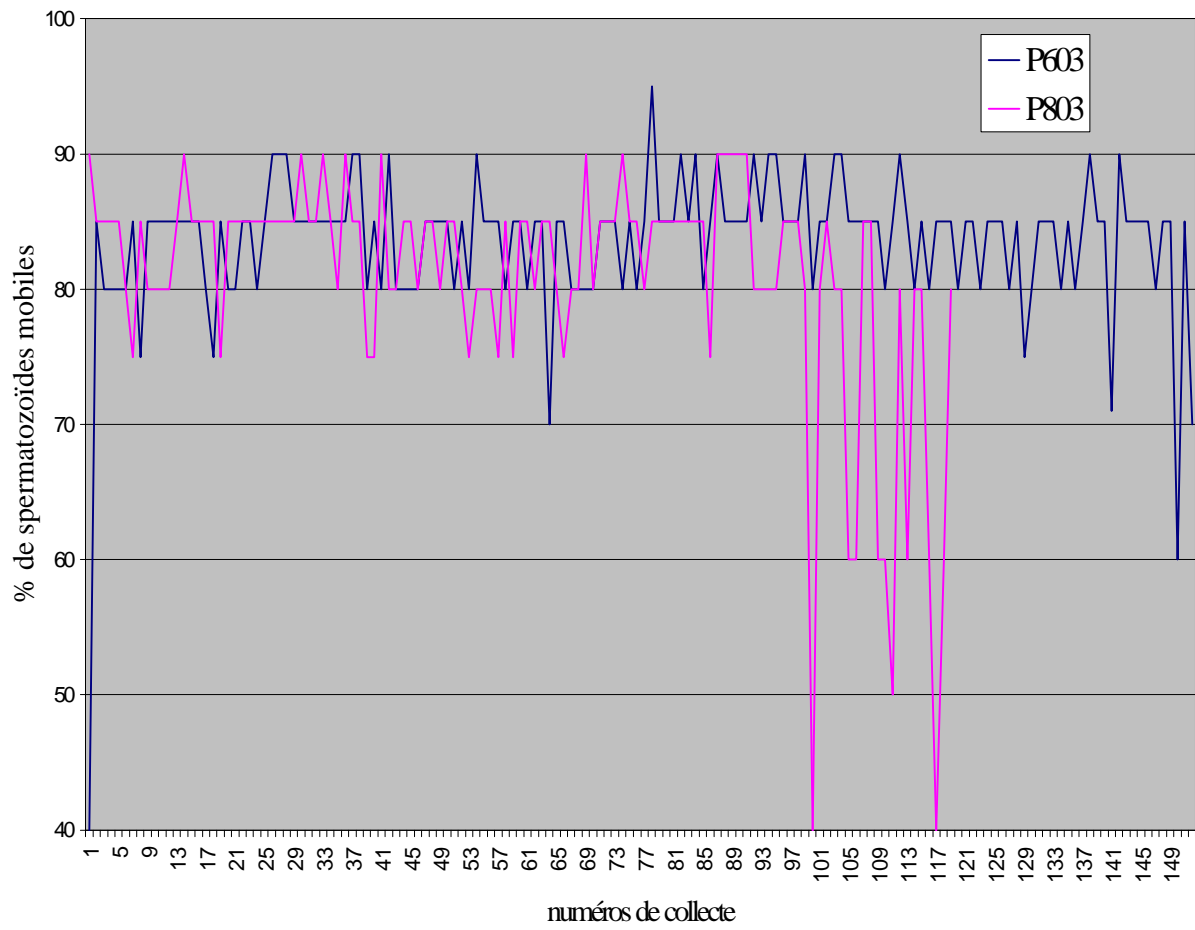
ANNEXES

Annexe 1 : profil de carrière du verrat E1

Profil de carrière du verrat E1

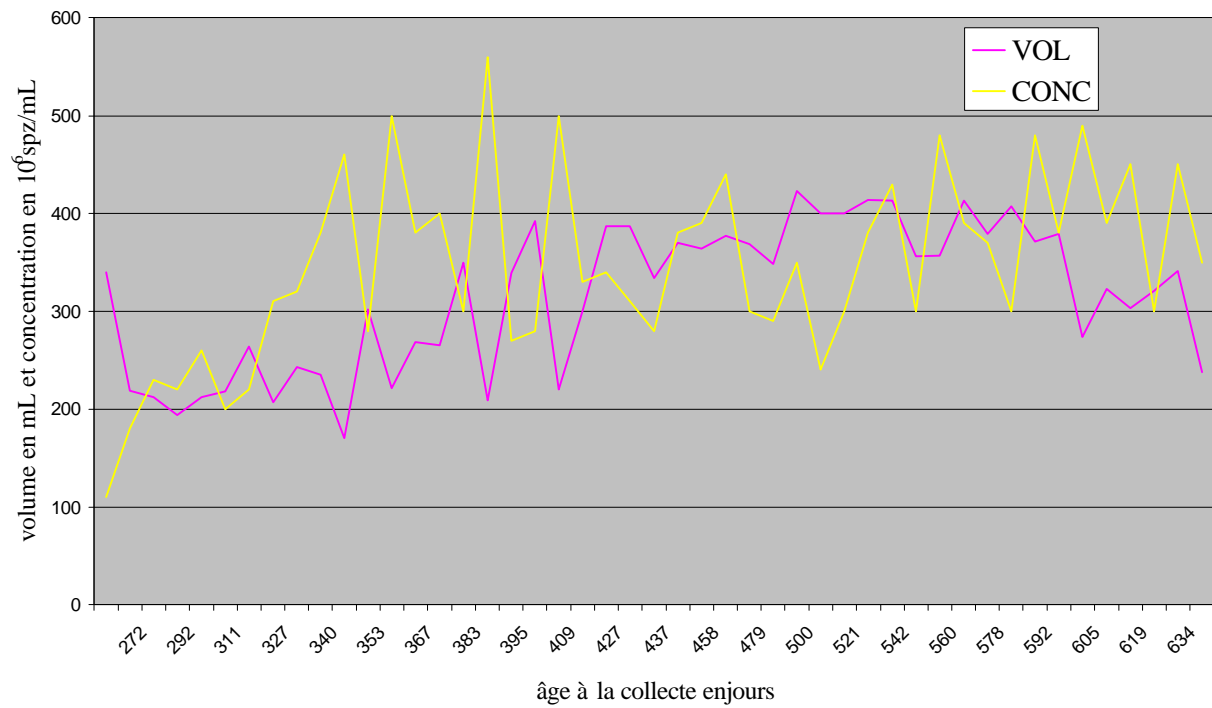


Annexe 2 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E1 (P803) et de son témoin Ts1 (P603)

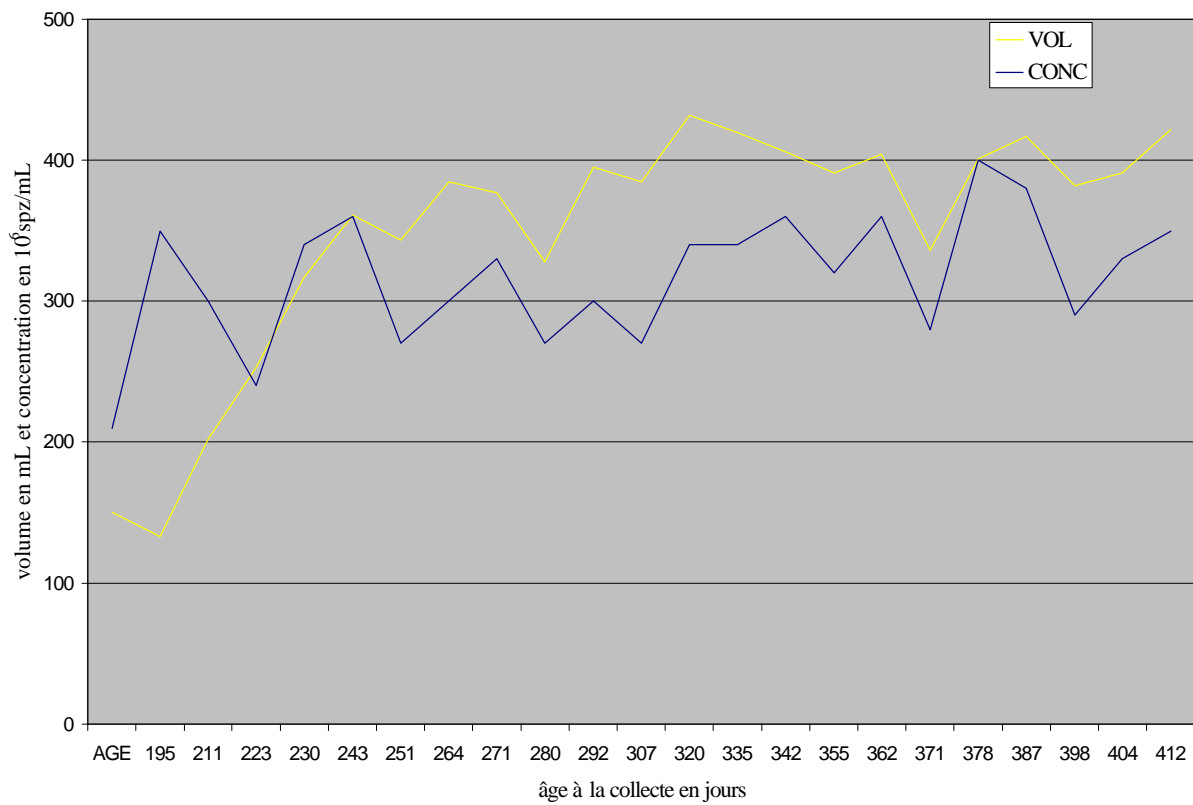


Annexe 3 : comparaison des profils de carrière du verrat E2 et de son témoin pour la semence

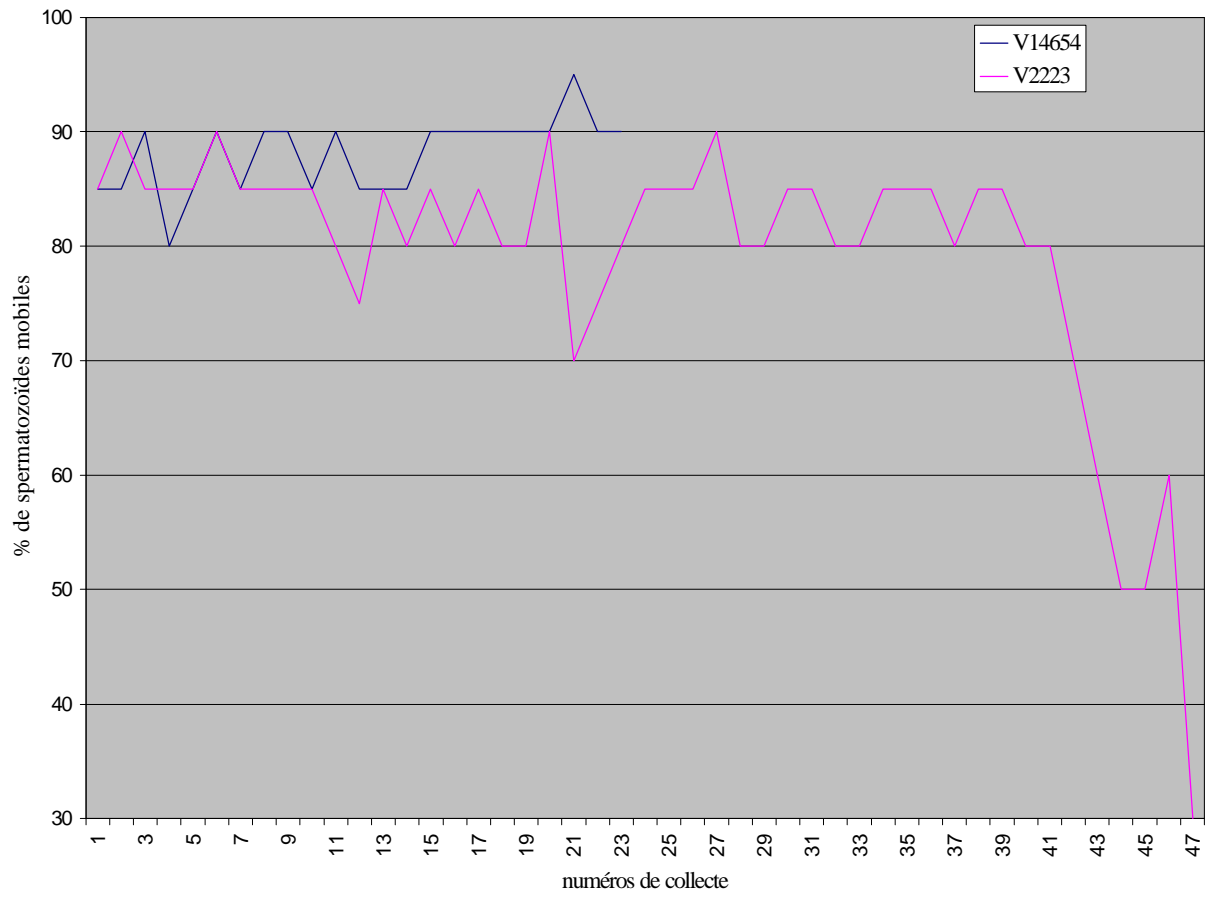
Profil de carrière du verrat E2



Profil de carrière du verrat témoin Ts2

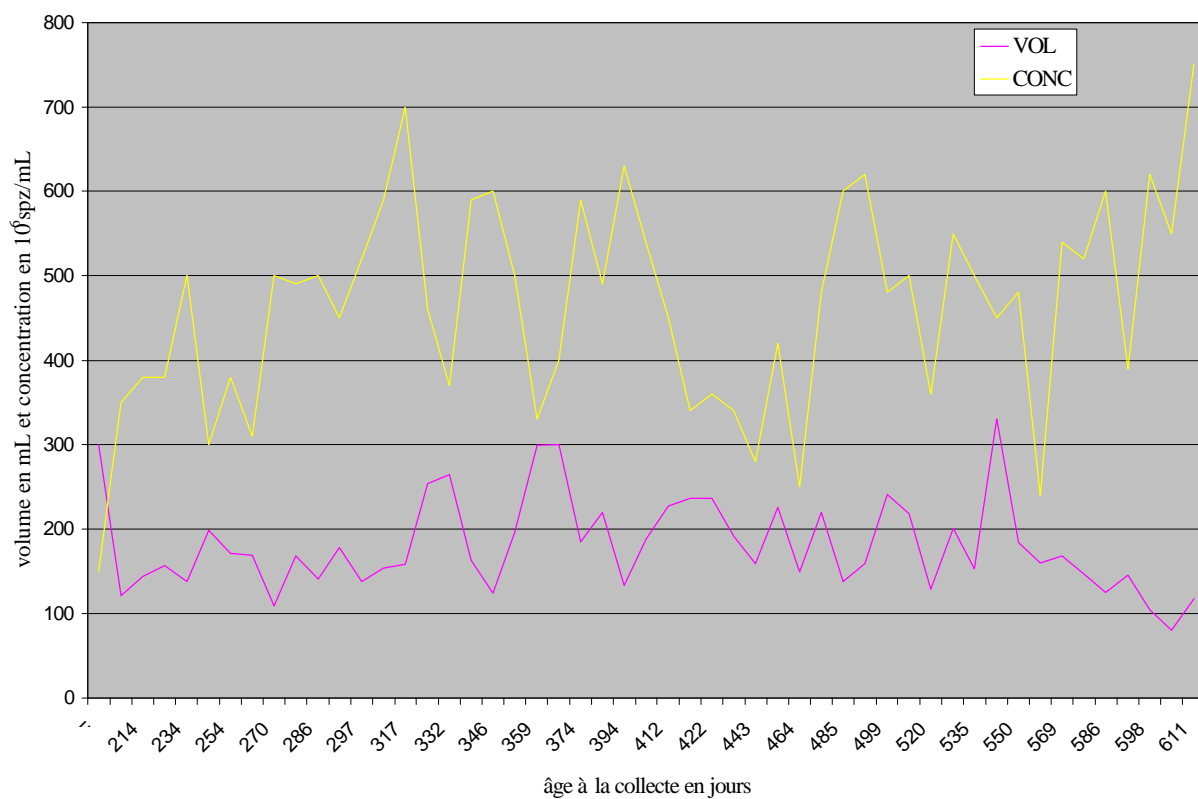


Annexe 4 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E2 (V2223) et de son témoin pour la semence (V14654)

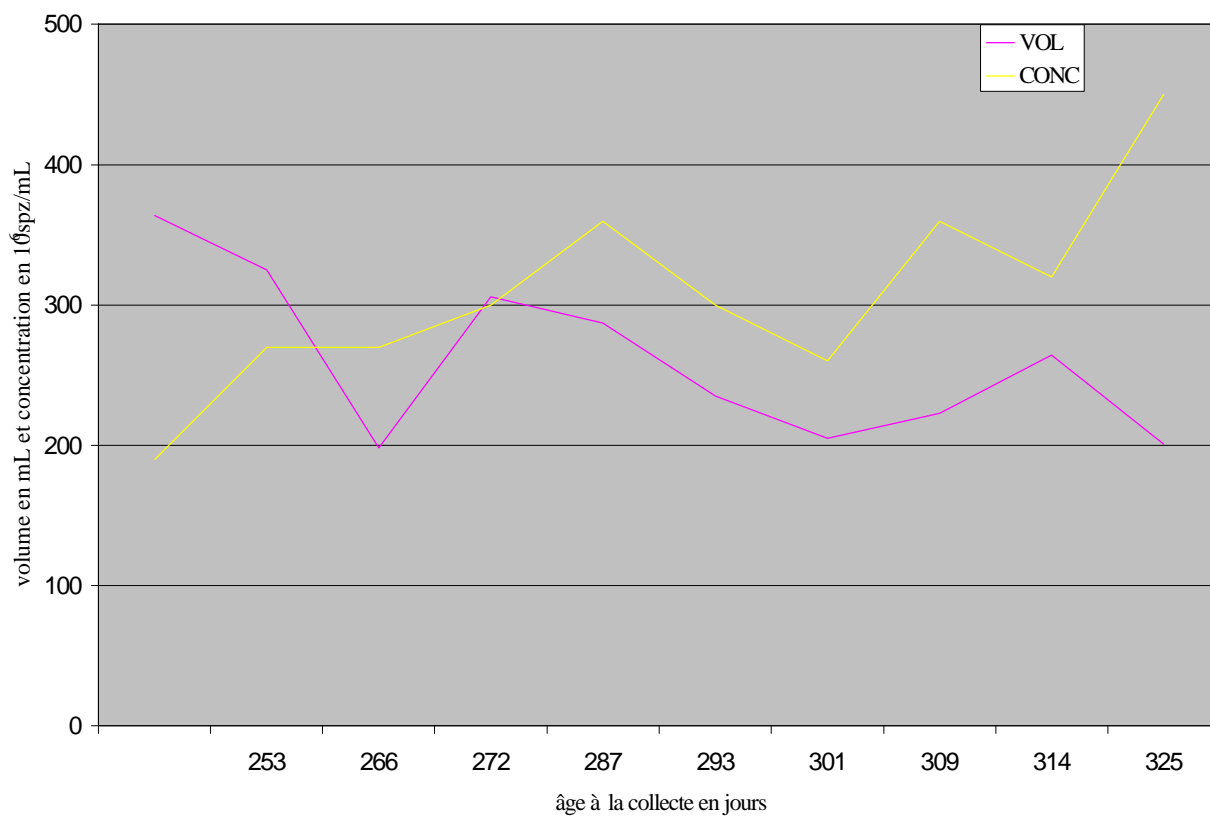


Annexe 5 : profils de production de semence du verrat E3 et de son témoin pour la semence

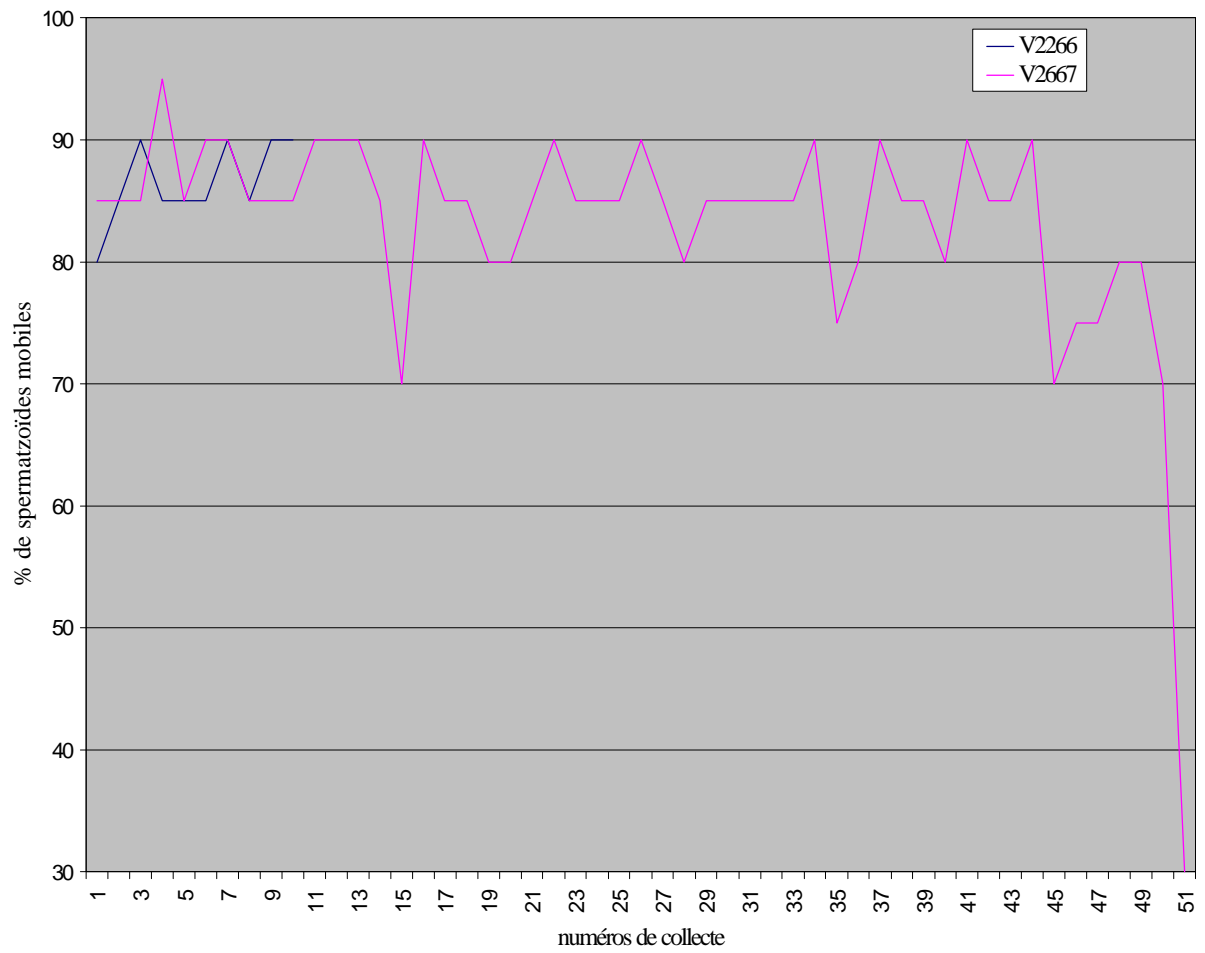
Profil de carrière du verrat E3



Profil de carrière du verrat témoin Ts3

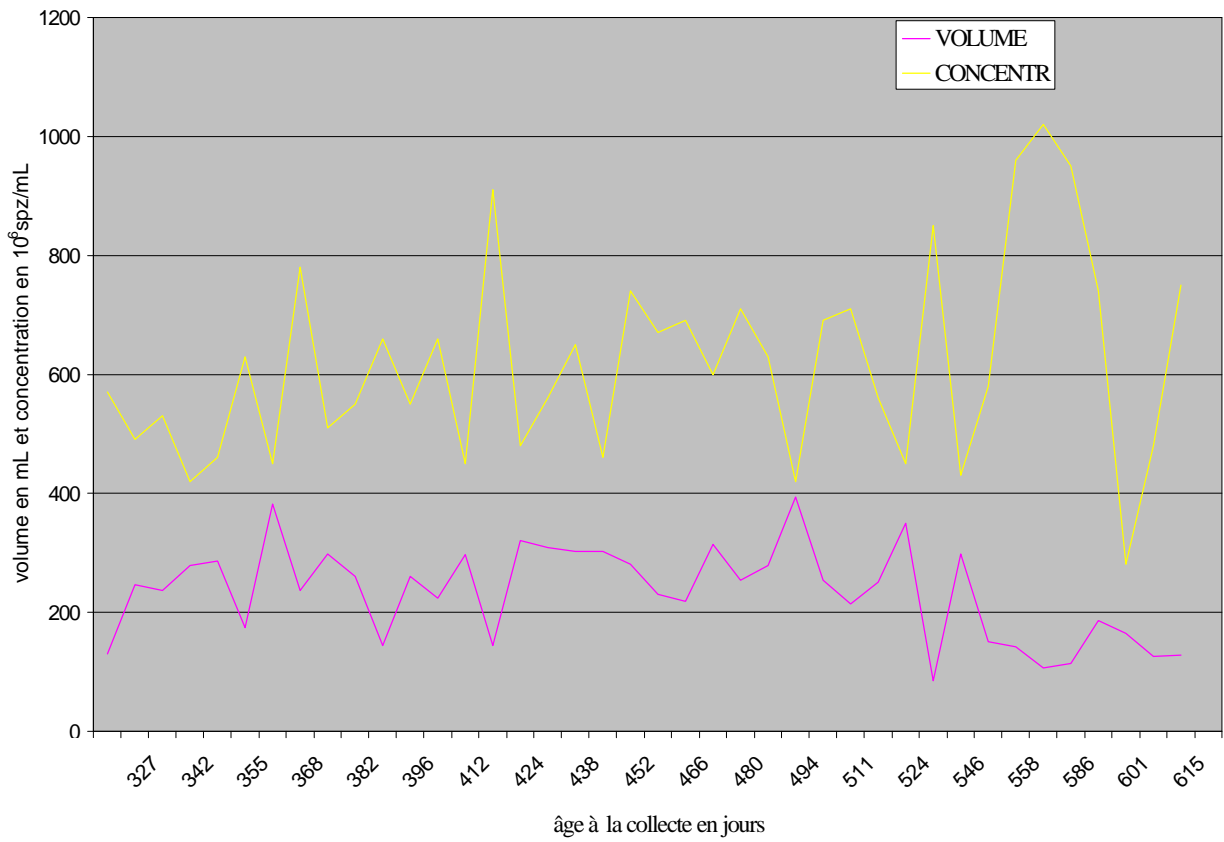


Annexe 6 : comparaison des profils de carrière du verrat E3 (V2667) et de son témoin pour la semence Ts3 (V2266)

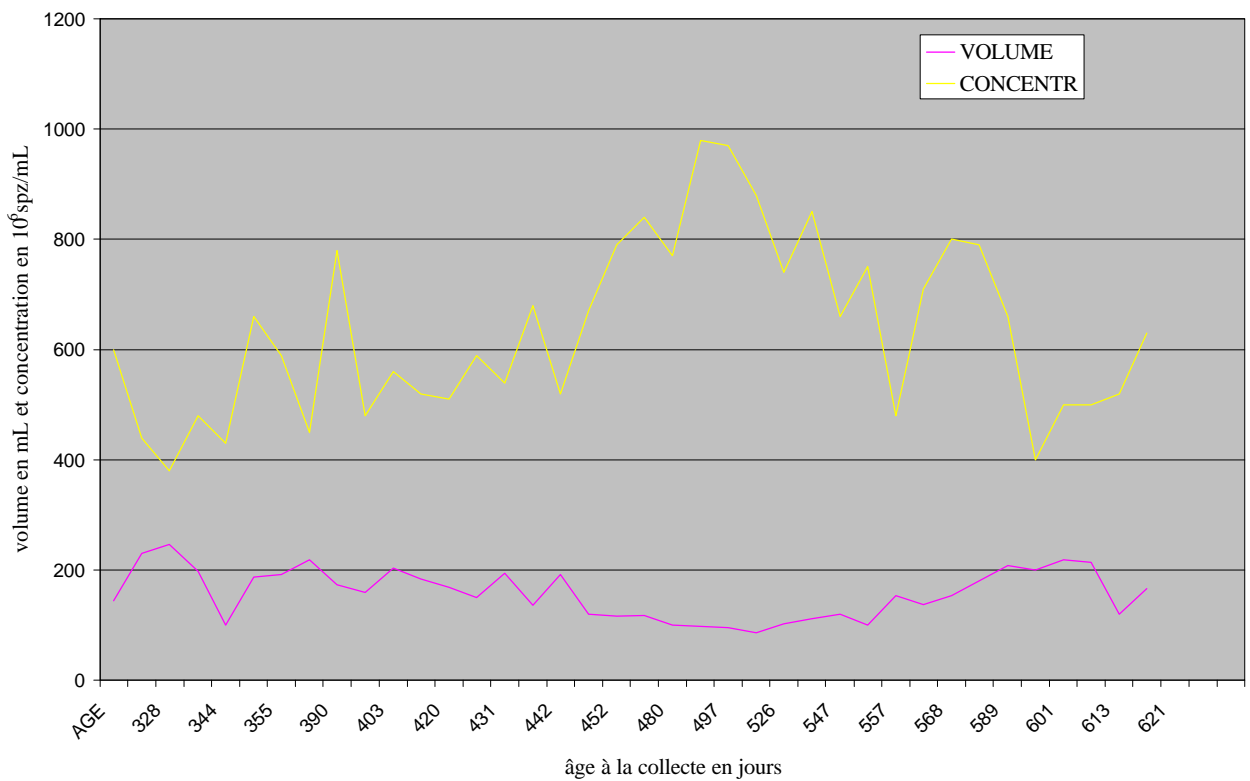


Annexe 7 : comparaison des profils de carrière du verrat E4 et de son témoin pour la semence

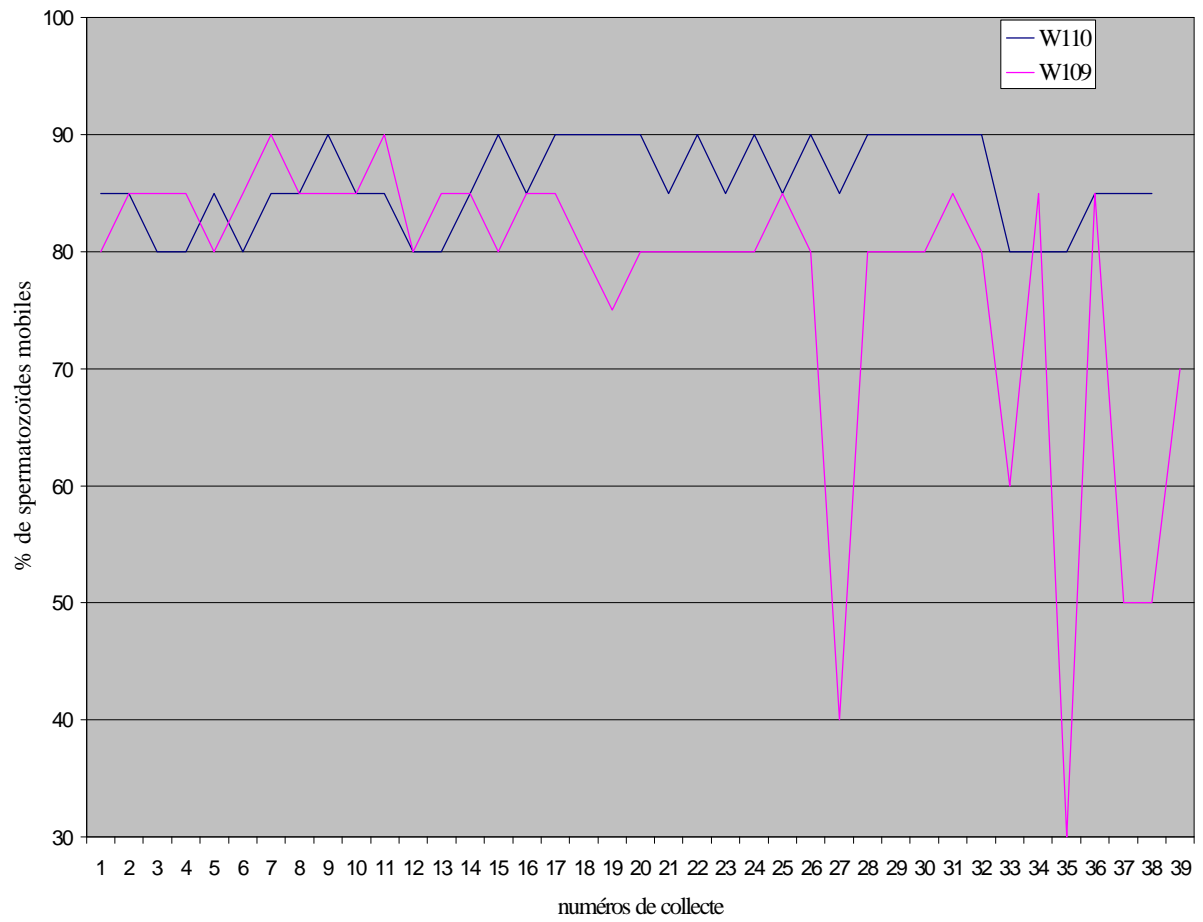
Profil de carrière du verrat E4



Profil de carrière du verrat témoin Ts4

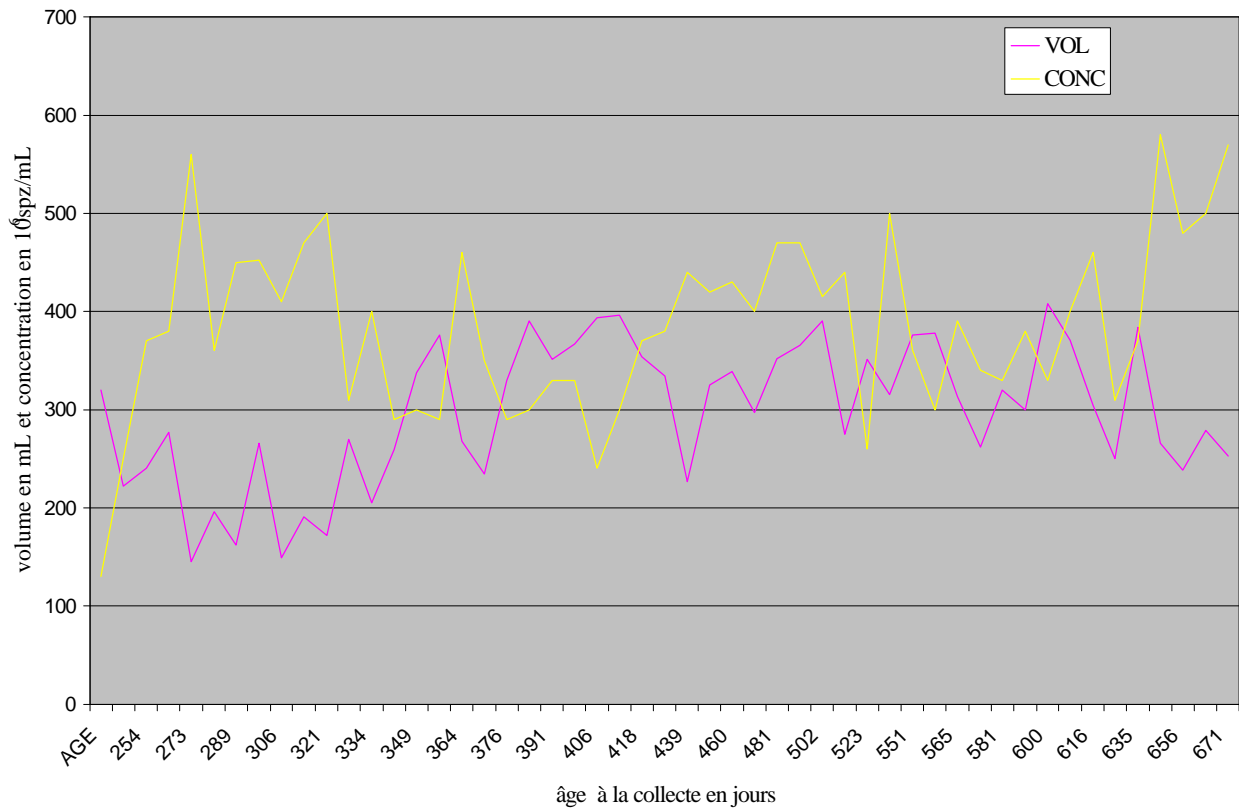


Annexe 8 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E4 (W109) et de son témoin Ts4 (W110)

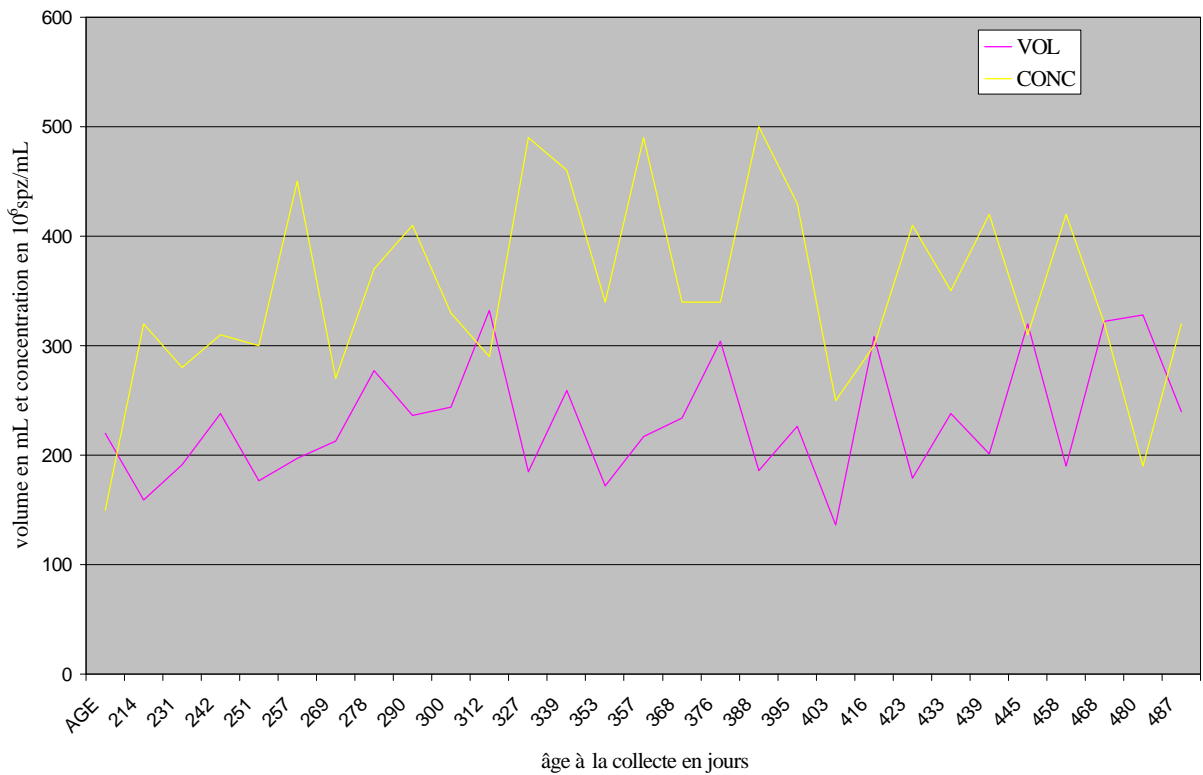


Annexe 9 : comparaison des profils de carrière du verrat E5 et de son témoin pour la semence

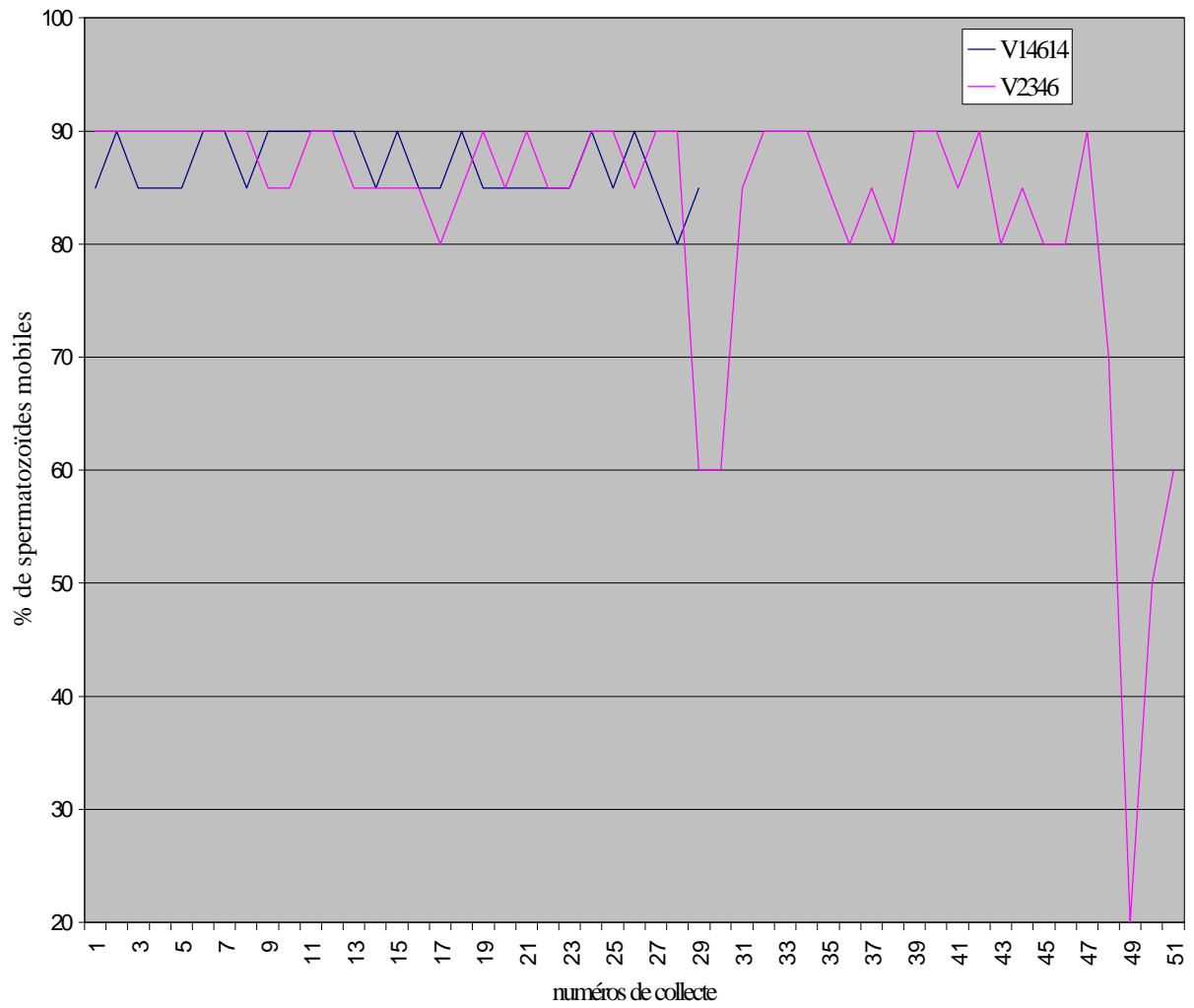
Profil de carrière du verrat E5



Profil de carrière du verrat témoin Ts5



Annexe 10 : comparaison des profils de qualité de semence du verrat E5 (V2346) et de son témoin Ts5 (V14614)



Annexe 11 : Résultats de l'analyse de routine de la qualité de semence des verrats VDQS+

Code verrat	N° collecte	Volume	C°	Nb spz	% spz mobiles	Motilité	pH	PO
E1	1	190	710	135	80	3	7,6	315
	2	164	880	144	30	2,5	7,5	304
	3	89	1280	114	40	3	7,4	307
E2	1	350	300	105	50	4	7,5	299
	2	341	450	153,5	60	3,5	7,3	303
	3	279	350	97,65	30	3	7,2	307
E3	1	146	390	56,94	80	3	7,1	300
	2	105	620	65,1	80	3,5	6,9	301
	3	80	550	44	70	3	6,9	298
E4	1	194	280	54,32	50	4	6,9	303
	2	202	500	101	50	4	7,1	287
	3	158	740	116,9	70	3	7,1	299
E5	1	267	480	128,2	20	3	7,2	303
	2	279	500	139,5	40	3	7,1	303
	3	253	570	144,2	50	3,5	7	298

Légende :

C° : concentration spermatique en 10^6 spermatozoïdes/mL

Nb spz : nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat en 10^9 spz/mL

Motilité : note selon l'échelle de Bishop

PO : Pression Osmotique en mOsm/L

Annexe 12 : Résultats de l'analyse approfondie de la qualité de semence des verrats VDQS+

Code verrat	N° collecte	Bactério	Eosine	Anomalies	HOS
E1	1	380	68	32% enr 13,5% GP 10% FC	12
	2	1700	69	37% enr 8% GP 10% FC	14
	3	90	77	27% enr 5% GP 13% FC	20
E2	1	13000	76	42% enr 7% GP	23
	2	21000	63	41% enr 8% GP 3% FC	8
	3	6100	34	50% enr 26% GP	0
E3	1	30000	88	8% enr 12% GP	32
	2	120000	86	17% enr 23% GPD +3% têtes piri	36
	3	550000	65	53% enr 32% GP	7
E4	1	14000	56	30% enr 18% GP	8
	2	5400	64	18% enr 25% GP	18
	3	4300	56	30% enr 18% GP	8
E5	1	2700	59	84% enr 11% GP 32% chignons	0
	2	12000	73	75% enr 12% GP 10% chignons	5
	3	150000	41	62% enr 12,5% GP	0

Légende :

Bactério : charge bactérienne dans la semence pure en UFC/mL

Eosine : pourcentage de spermatozoïdes vivants dans la semence diluée

Anomalies : pourcentage des différentes anomalies spermatiques

enr : spermatozoïde a vec flagelle enroulé en lasso

GP : spermatozoïde portant une gouttelette protoplasmique

FC : spermatozoïde avec flagelle coudé

têtes piri : spermatozoïde avec une tête piriforme

HOS : pourcentage de spermatozoïdes ayant réagi au test HypoOsmotique

Annexe 13 : Résultats de l'analyse de routine de la qualité de semence des verrats VDQS-

Code verrat	N° collecte	Volume	Co	Nb spz	% spz mobiles	Motilité	pH	PO
Ts1	1	106	1210	12,8	80	3	7,5	313
	2	204	560	11,4	85	3,5	7,4	310
	3	75	1210	9,1	85	3	7,4	314
Ts2	1	410	290	11,89	95	4	7	303
	2	391	330	12,9	90	3,5	7,3	300
	3	422	350	14,77	90	3,5	7	319
Ts3	1	235	300	7,05	85	3,5	7,2	303
	2	205	260	5,33	90	3,5	7,2	306
	3	223	360	8,028	85	4	7,3	300
Ts4	1	228	400	9,12	80	3	7,1	329
	2	244	500	12,2	80	3	7,4	311
	3	150	520	7,8	85	3,5	7,3	300
Ts5	1	322	320	10,3	85	3,5	7,4	320
	2	328	190	6,232	85	3,5	7,3	315
	3	240	320	7,68	85	3,5	7,3	309

Légende :

C° : concentration spermatique en 10^6 spermatozoïdes/mL

Nb spz : nombre total de spermatozoïdes dans l'éjaculat en 10^9 spz/mL

Motilité : note selon l'échelle de Bishop

PO : Pression Osmotique en mOsm/L

Annexe 14 : Résultats de l'analyse approfondie de la qualité de semence des verrats VDQS-

Code verrat	N° collecte	Bactério	Eosine	Anomalies	HOS
Ts1	1	10000	74	12% enr 1% GP	26
	2	1600	71	1% enr	30
	3	730	86	12% enr 1% GP 1% FC	25
Ts2	1	7200	92	1% enr 1% GP	14
	2	2800	89	2,5% enr 1% GP	36
	3	9100	92	2% enr 3% GPD	28
Ts3	1	39000	89	2% enr 1% GP	22
	2	5600	93	2% enr 3% GP	27
	3	40000	90	2% enr 1,5% GP	35,5
Ts4	1	1300	88	6% enr 3% GP	30
	2	3600	82	8% enr 6,5% GP	40
	3	68000	88	6% enr 3% GP	30
Ts5	1	4600	90	9% enr 18% GP	38
	2	27000	80	11% enr 12% GP	19
	3	470000	84	7,5% enr 8% GP	32

Légende :

Bactério : charge bactérienne dans la semence pure en UFC/mL

Eosine : pourcentage de spermatozoïdes vivants dans la semence diluée

Anomalies : pourcentage des différentes anomalies spermatiques

enr : spermatozoïde avec flagelle enroulé en lasso

GP : spermatozoïde portant une gouttelette protoplasmique

FC : spermatozoïde avec flagelle coudé

HOS : pourcentage de spermatozoïdes ayant réagi au test HypoOsmotique

Annexe 15 : réponses au test de vitalité (coloration éosine) et au test de résistance en milieu hypo-osmotique (HOS Test)

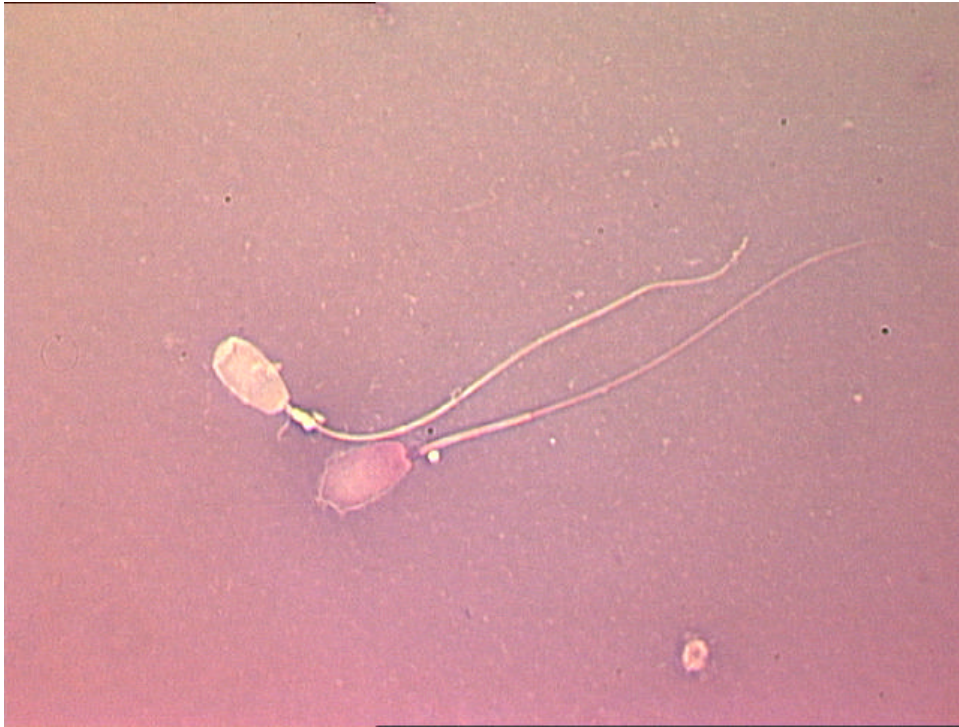


Photo 5 : réponse au test de vitalité à l'éosine-négrosine, un spermatozoïde est vivant car non coloré, l'autre est mort car coloré en rose (source : INRA, U.E.I.C.P.)



Photo 6 : réponse au test HOS : un spermatozoïde est « gonflé », l'autre non. (source : INRA, U.E.I.C.P.)

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ALTHOUSE G.C.**
Application of Real Time Ultrasonography on Boar Reproduction. Proc. 29th Am. Meet. Of Association of Swine Reproduction, Desmoines, Iowa, 1996, 12-16.
- 2- ALTHOUSE G.C.,**
Evaluating Porcine Semen for A.I. PartII Assesment of Sperm membranes and viability.
The Compendium, Mars 1997, 400-405.
- 3- ALTHOUSE G.C.,**
Cytoplasmic droplets on boar sperm cells.
Swine Health and production, 1998 (5), p 128.
- 4- ALTHOUSE G.C., KUSTER C.E., CLARK S.G., WEISIGER R.M.,**
Field investigation of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen.
Theriogenology, 2000, **53** (5), 1167-1176.
- 5- BACHA W.J., WOOD L.M. :**
Color Atlas of Veterinary Histology. Malvern USA : Lea and Febiger, 1990, 203-204.
- 6- BARITEAU F., BUSSIERE J., COUROT M., PAQUIGNON M.,**
Insémination Artificielle porcine : Mise en place par l'éleveur ou l'inséminateur.
J.R.P. en France, 1984, **16**, 173-180.
- 7- BARONE :**
Anatomie comparée des Mammifères Domestiques. éd. Vigot, 2000, 4, 238-247.
- 8- BERGER T., MAHONE J.P., SVOBODA G.S., METZ K.W., CLEGG E.D.,**
Sexual Maturation of Boars and Growth of Swine Exposed to Extended Photoperiod during decreasing natural photoperiod.
J. Anim. Sci., 1980, **51** (3), 672-677.
- 9- BONET S.,**
Immature and Aberrant Spermatozoa in the Ejaculate of *Sus domesticus*.
Anim. Reprod. Sci., 1990, **22**, 67-80.
- 10- BONET S., BRIZ M.D., PINART S., SANCHO S., GARCIA-GIL N., BADIA E.,**
Morfología Espermática en Porcino.
Arxius de les seccions de ciències, CXXVI. Institut d'estudis catalans, 44-64.
- 11- BRANDT K.E., DIEKMAN M.A.,**
Influence of Supplemental Lighting on Serum LH, Testostérone and Semen Quality in Prepubertal and Postpubertal Boars.
Anim. Reprod. Sci., 1985, **8**, 287-294.
- 12- BRIZ M.D., BONET S., PINART B., CAMPS R.,**
Sperm malformations throughout the boar epididymal duct.
Anim. Reprod. Sci., 1996, **43**, 221-239.

- 13- BUSSIERE J.F., BARITEAU F.,**
Production spermatique de jeunes verrats Large-White dans un centre d'insémination artificielle.
J.R.P. en France, 1992, **24**, 357-362.
- 14- BUSSIERE J.F., BERTAUD G., GUILLOUET P.,**
Conservation de la semence congelée de verrat. Résultats in vitro et après insémination.
J. R. P. en France, 2000, **32**, 429-432.
- 15- CAMERON R.D.A.,**
Measurement of semen production rates of boars.
Aus. Vet. J., 1985, **62**, 301-304.
- 16- CAMERON R.D.A.,**
Factors influencing semen characteristics in boars.
Australian Veterinary Journal, 1985, **62**, 293-297.
- 17- CAMERON R.D.A.,**
Sexual Development and semen production in boars.
Pig News and Information, 1987, **8** (4), 387-396.
- 18- CARTEE R.E., POWE T.A., GRAY B.W. and HUDSON R.S.**
Ultrasonographic evaluation of normal boar testicles.
Am. J. Vet. Res., 1986, **47**(12), 2543-2548
- 19- CARTEE R.E., RUMPH P.F., ABUZOID S., CARSON R.**
Ultrasonographic Examination and Measurement of Ram Testicles.
Theriogenology, 1990, **33**(4), 867-875.
- 20- CHAMOULAUD V.O.,**
La quantité des spermatozoïdes dans la semence de verrat et dans les doses d'insémination artificielle : causes de variations et effets . Etude d'une méthode de comptage photométrique.
Th : Med.Vet. : Toulouse : 95-TOU 3-4078.
- 21- CHATELIER C. :**
Insémination artificielle avec prélèvement à l'élevage. Résultats du réseau de référence
Techni-porc, 1986, **9**, p 5.
- 22- CHAUVIN P.,**
Amélioration génétique : des index précis pour sélectionner.
Paysan Breton, 2001, Suppl. **2433**, p 8.
- 23- CLARK S.G., ALTHOUSE G.C.**
B-mode Ultrasonographic Examination of the accessory sex glands of boars.
Theriogenology, 2002, **57**, 2003-2013.
- 24- CLAUS R., SCHOPPER D., WAGNER H.G., WEILER U.,**
Photoperiodic Influences on Reproduction of Domestic Boars.
Zbl. Vet. Med. A., 1985, **32**, 86-98.

- 25- COLENBRANDER B., FEITSMA H., GROOTEN H.J.,**
Optimizing Semen for A.I. in Swine.
J. Reprod. Fert., 1993, suppl **48**, 207-215.
- 26- COLENBRANDER B., KEMP B.,**
Factors influencing semen quality in pigs.
J. Reprod. Fert., 1990, suppl **40**, 105-115.
- 27- CONLON P.D., KENNEDY B.W.,**
A comparison of crossbred and purebred boars for semen and reproductive characteristics.
Can. J. Anim. Sci., 1978, **58**, 63-70.
- 28- CORCUERA B.D., HERNANDEZ-GILA R., DE ALBA ROMERO C., MARTIN RILLO S.,**
Relationship of environment temperature and boar facilities with seminal quality.
Livestock Production Science, 2002, **74** (1), 55-62.
- 29- COUPEL A. :**
N'oubliez pas le verrat.
Porc Magazine, 1993, **259**, 147-150
- 30- CRABO B.G., DIAL G.D.,**
Artificial Insemination in Swine.
Vet. Clin. North Amer. Food Animal Practice, 1992, **8** (3), 533-544.
- 31- DACHEUX F., DACHEUX J.L.,**
L'épididyme et les glandes annexes.
In THIBAUT C., LEVASSEUR M.C. La reproduction chez les Mammifères et chez l'Homme. Paris, éd. Ellipses, 2001, 290-315.
- 32- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M.,**
Relations between the fertilizing ability, motility and metabolism of epididymal spermatozoa.
Reprod. Nutr. Develop., 1980, **20**, 1085-1099.
- 33- DACHEUX J.L., PAQUIGNON M.,**
Maturation épидидymaire des spermatozoïdes, influence sur la qualité des gamètes.
J.R.P en France, 1987, **19**, 99-106.
- 34- DADOUNE J.P., DEMOULIN A.,**
Structure et fonctions du testicule.
In THIBAUT C., LEVASSEUR M.C. La reproduction chez les Mammifères et chez l'Homme. Paris, éd. Ellipses, 2001, 256-289.
- 35- DAY B.N.,**
Reproductive Biotechnologies : current status in porcine reproduction.
Anim. Reprod. Sci., 2000, **61**, 161-172.
- 36- DERIVAUX J., ECTORS F.,**

Reproduction chez les animaux domestiques
Louvain-la-Neuve : éd. Jeziersky, 3ème édition, 1986, 1141 p.

- 37- DE ALBA ROMERO C., ROMERO A., MARTINEZ N.,**
Nutrición del verraco.
Porci, 2001, **62**,33-42.
- 38- DRUART,**
Premiers résultats des essais porcins.
Elevage et Insémination, 1999, **289**, 3-9.
- 39- D'ALLAIRE S., LEMAN A.D.,**
Boars culling in swine breeding herds in Minnesota.
Can. Vet. J., 1990, **31**, 581-583.
- 40- D'ALLAIRE S., LEMAN A.D., DROLET R.,**
Optimizing longevity in sows and boars.
Vet. Clinics of North America : Food Animal Practice , 1992, **8**(3), 545-557.
- 41- ELLIS J., HASSARD L., CLARK et al.**
Isolation of circovirus from lesions of pigs with Postweaning Multisystemic Syndrome.
Can. Vet. J., 1998, **39**, 44-51.
- 42- FLOWERS B. :**
Reproductive physiology of the boar. Proceedings of 29th Am. Meet. Of Association of Swine Reproduction,
Desmoines, Iowa 1996, 1-6.
- 43- FLOWERS W.L.,**
A.I. in Swine.
Agri-Practice, 1992, **13** (2), 36-40.
- 44- FOOTE R.H.,**
General evaluation of Male Reproductive Capacity.
10th Int. Congr. of Anim. Reprod. and A.I., 1984, **4**, X-1-X-7.
- 45- GADD J.,**
Réduire le stress en production porcine.
Porc Magazine, 1992, **242**, 115-119.
- 46- GALLOWAY D.B.,**
Semen.
In : SIMS L.D and GLASTONBURY J.R.W.
Pathology of the Pig.
Victoria :1996, 419-422.
- 47- GERARD C.,**
Perspectives en Insémination Artificielle : Diminuer le nombre de spermatozoïdes pour abaisser les coûts.
Réussir Porcs, 2002, **85**, 38-40.

- 48- GLOSSOP C.E.,**
Penile Injuries in the boar.
In Practice, Nov 1987, 211-215.
- 49- GLOSSOP C.E.,**
New concepts and technologies for boar semen.
Proceedings of Swine Reproduction Symposium, 1996, 26-35.
- 50- GLOSSOP C.E.,**
Semen Collection, Evaluation and Handling.
Proceedings of Swine Reproduction Symposium, 1996, 7-14.
- 51- GREENBERG L.G., MAHONE J.P.,**
The Effect of 15-H Photoperiod on Reproductive Function in boars at 2, 3, 4 or 5 months of Age.
Can. J. Anim. Sci., 1981, **61**, 925-934.
- 52- GUEBLEZ R. :**
I.A., le vent en poupe.
Porc Magazine, 1989, **214**, 37-39.
- 53- GUEBLEZ R., SALAUN Y. :**
Modélisation et bilan économique des trois politiques d'utilisation des verrats terminaux.
J.R.P en France, 1991, **23**, 283-290.
- 54- GUILLOUET P, TRIBOUT T., BUSSIÈRE J.F., BERTAUD G., BIDANEL J.P., TERQUI M.,**
Analyse des facteurs de variation de la production spermatique des verrats d'Insémination Artificielle.
J.R.P en France, 1999, **31**, 45-52.
- 55- GUIRIEC B.,**
Préparation des verrats chez Cobiporc. Bien entraînés pour produire.
Porc Magazine, 2000, **332**, 33-36.
- 56- HANCOCK J.L., DAKER M.G.,**
Testicular hypoplasia in a boar with abnormal sex chromosome constitution (39XXY).
J. Reprod. Fert., 1981, **61**, 395-397.
- 57- HARRISON R.A.P, VICKERS S.E.,**
Routine laboratory assesment of sperm integrity using fluorescent stains.
Jour. Repro. Fert., 1988, ****
- 58- HARRISON R.A.P, VICKERS S.E.,**
Use of fluorescent probes to assess membran integrity in mammalian spermatozoa.
Jour. Repro. Fert., 1990, 88, 343-352.
- 59- HEATH E., OLSEN A., BASURTO-KUBA V.,**
Intratesticular spermiostasis in the boar.
10th Congr. Anim. Reprod. and A.I., Illinois USA, 1984, **III**, 272-273.

- 60- HOAGLAND T.A., DIEKMAN M.A.,**
Influence of supplemental lighting during increasing daylength on libido and reproductive hormones in prepubertal boars.
Jour. Anim. Sci., 1982, **55** (6), 1483-1489.
- 61- HOLST S.J.,**
Sterility in boars
Nord. Vet. Med., 1949, **1**, 87-120
- 62- HOLT W.V.,**
Epididymal origin of a coiled-tail sperm defect in a boar.
J. Reprod. Fert., 1982, **64**, 485-489.
- 63- JEYENDRAN R.S., VAN DER VEN H.H., PEREZ-PELAEZ M., CRABO B.G. and ZANEVELD L.J.D.,**
Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics.
Journal of Reproduction and Fertility, 1984, **70**, 219-228.
- 64- JEYENDRAN R.S., VAN DER VEN H.H., ZANEVELD L.J.D.,**
The HOS Test : an update
Archives of Andrology, 1997, **29**, 105-116.
- 65- JOHNSON L.A.,**
Advances in gender preselection in swine.
J. Reprod. Fert., 1997, **suppl. 52**, 255-266.
- 66- JOSEPH P.G., MAHENDRANATHAN T., ANWAR M.,**
Pseudomonas pseudomallei orchitis in a boar.
Zbl. Vet. Med. B., 1974, **21**, 152-158.
- 67- KEMP B., GROOTEN H.J.G., DEN HARTOG L.A., LUITING P., VERSTEGEN M.W.A.,**
The effect of high protein intake on sperm production in boars at two semen collection frequency.
Elevage et Insémination, 1990, **238**, p 28.
- 68- KENNEDY B.W., WILKINS J.N.,**
Boar, breed and environmental factors influencing semen characteristics of boars used in A.I.
Can. J. Anim. Sci., 1984, **64**, 833-853.
- 69- KENNEDY S., MOFFETT D., McNEILLY F., ELLIS J., KRAKOWKA S., ALLAN G.M.,**
Reproduction of lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by infection of conventional pigs with porcine circovirus type 2 alone or in combination with parvovirus.
J. Compar. Pathol., 2000, **122**, 9-24.

70- KERISIT R.,

L'Insémination Artificielle : quel intérêt pour l'espèce porcine ?

Insémination Artificielle et amélioration génétique : bilan et perspectives critiques, les Colloques de l'INRA, **29**, Ed. INRA Publ. 1984, 339-347.

71- LADDS P.W.,

The Male Reproductive System.

In : SIMS L.D. and GLASTONSBURY J.R.W.

Pathology of the Pig.

Victoria :1996, 407-418.

72- LAROCHELLE R., BIELANSKY A., MULLER P., MAGAR R.,

PCR detection and evidence of shedding of porcine circovirus type 2 in boar semen.

Jour. Clinical Microbiology, 2000, **38**(12), 4629-4632.

73- LARSSON K., EINARSSON S.,

Seminal changes in boars after heat stress.

Acta. Vet. Scand., 1984, **25**, 57-66.

74- LE COZ P.,

L'I.A. au jour le jour : problèmes et solutions.

Porc Magazine, 1989, **214**, 47-50.

75- LE COZ P.,

Le verrat : les maladies transmissibles.

Porc Magazine, 1991, **239**, 40-41.

76- LE COZ P.,

Le verrat et son alimentation.

Porc Magazine, 1992, **241**, 26-27.

77- LE DENMAT M. :

L'insémination artificielle : le nouvel état d'esprit de l'éleveur moderne.

Porc Magazine, 1989, **214**, 52

78- LE DENMAT M., CHATELIER C., UHLEN J.C. :

Insémination avec prélèvement à l'élevage. Résultats d'une enquête.

Techni-porc, 1985, **8**(5), 47-52.

79- LE DENMAT M., DAGORN J., VAUDELET J.C. :

Saillie naturelle et I.A. avec prélèvement à l'élevage. Comparaison de prolificité.

Techni-porc, 1984, **7**(2), 7-10.

80- LE DENMAT M., RUNAVOT J.P.,

Premiers résultats d'une enquête sur l'âge, la durée d'utilisation et les causes de réforme des verrats en service dans les élevages de production.

J. R. P. en France, 1980, 149-156.

81- LE DU D.,

La sélection : une organisation pyramidale.
Paysan Breton, 2001, Suppl. **2433**, p 4.

82- LE DU D.,

La tenue de livre généalogique : une des missions des OSP.
Paysan Breton, 2001, Suppl. **2433**, 6-7.

83- LOGUE D., GREIG A.,

Infertility in the bull, ram and boar 2 : Infertility associated with normal service behaviour.
In Practice, 1986 Mai, 118-122.

84- Mac ENTEE K.,

The male genital system.
In : JUBB, K.V. and KENNEDY P.C.
Pathology of Domestic Animals,
NYC and London : Academic Press, 1970, 2nd ed., vol I, 450-485.

85- MADEC F.,

Etude de certaines caractéristiques bactériologiques de la semence de verrat utilisée en I.A.
J.R.P en France, 1987, **19**, 91-98.

86- MADEC F.,

Contamination de la semence chez le verrat.
Le Point Vétérinaire, 1998, **29**(195), 25-31.

87- MADEC F., EVENO E., MORVAN P. et al.

La Maladie d'Amaigrissement du Porcelet (MAP) en France. 1-Aspects descriptifs, impact en élevage.
J.R.P en France, 1999, **31**, 347-354.

88- MALMGREN L, LARSSON K.,

Semen quality and fertility after heat stress in boars.
Acta Vet. Scand., 1984, **25**, 425-435.

89- MALMGREN L, PLOEN L., LARSSON K.,

Experimentally induced testicular alterations in boars
11th Congr. Anim. Reprod. and A.I., Dublin Ireland, 1988, **3**, 377-378.

90- MARTIN Y.C.M.,

Qualité de la Semence en I.A. Porcine. Actualisation d'un test colorimétrique.
Th : Med. Vet. : Toulouse : 1993-TOU 3, 4032.

91- MARTIN RILLO S.,

Manual of Pig A.I. KUBUS,S.A. Madrid. 1994.

92- MARTIN RILLO S., MARTINEZ E., GARCIA-ARTIGAC., DE ALBA C.,

Boar Semen Evaluation in Practise.

Reprod. Dom. Anim., 1996, **31**, 519-526.

- 93- MARTINAT-BOTTE F., BOSCH M., PAQUIGNON M., COUROT M.,**
Le Porc et son élevage. Bases Scientifiques et Techniques. Ed. Maloine S.A., 1986, 23-53.
- 94- MAZZARI G., DU MESNIL DU BOISSON F., ORTAVANT R.,**
Action de la température et de la lumière sur la spermatogenèse, la production et le pouvoir fécondant du sperme chez le verrat.
J.R.P en France, 1969, 37-39.
- 95- MINTON J.E., WETTERMANN R.P.,**
Growth, Testicular and Endocrine Function of Boars Exposed to 8, 16 or 24 Hours of Light Daily Before Puberty.
Anim. Reprod. Sci., 1987, **14**, 239-244.
- 96- MORTON D.G., WEISBRODE S.E., WYDER W.E., MAURER J.K., CAPEN C.C.,**
Spermatid Giant Cells, Tubular Hypospermatogenesis, Spermatogonial Swelling, Cytoplasmic Vacuoles and Tubular Dilatation in the Testes of normal Rabbits.
Vet Pathol., 1986, **23**, 176-183.
- 97- MUIRHEAD M.,**
« Circus Virus » The show definitely must go on.
International Pig Letter, 2002, **22** (7), 38-39.
- 98- NOWAK R., PAQUIGNON M., SIGNORET J.P. :**
Possibilités et limites de l'utilisation du verrat en accouplement naturel.
INRA Production Animale, 1988, **1**(3), 215-218.
- 99- PALLUDAN B.,**
Direct Effect of Vitamin A on Boar Testis.
Nature, 1966, **211**, 639-640.
- 100- PANDEY R.P., SINGH B.K.,**
Bacterial flora in boar semen and their antibiotic sensitivity.
Jour. Anim. Sci., 1997, **67** (5), 411-412.
- 101- PEREZ-LLANO B., LORENZO J.L., YENES P., TREJO A., GARCIA-CASADO P.,**
A short hypoosmotic swelling test for the prediction of boar sperm fertility.
Theriogenology, 2001, **56** (3), 387-398.
- 102- PEREZ-LLANO B., SANCHEZ SANCHEZ R., YENES P., GARCIA-CASADO P.,**
Control de la contaminación bacteriana del semen de verraco.
Ediporc, Marz 2001, 74-79.
- 103- PISCITELLI P.,**
Raccolta del materiale seminale del verro. Un fattore tossico.
Selezione veterinaria, 1991, 32(suppl.1), 307-308.

- 104- POLGE C.,**
A.I. in Pigs.
Vet. Rec., Janv 1956 :62-76.
- 105- RADFORD P.,**
Factors influencing the Properties of Boar Semen.
Vet. Rec., 1961, **73**(33), 798-800.
- 106- REED H.C.B.,**
A.I. and fertility of the boar.
Br. Vet. J., 1964, **125**, 272-280.
- 107-Reproduction des Mammifères d'élevage. 1986. Coll. INRAP. Ed Fourcher.
- 108-ROBERTS S.T.,**
Veterinary Obstetrics and Genital Diseases.
Woodstock : Edward Bros, Inc., 2nd ed, 1971, 826-893.
- 109- ROSELL et al.,**
Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) in pigs.
J. Comp. Path., 1999, **vol 124**, 59-78.
- 110- RUTTEN S.C., MORRISSON R.B., REICKS D.,**
Boar stud production analysis.
Swine Health and Prod., 2000, **8** (1), 11-14.
- 111- RUVALCABA J.A.G.,**
Bioseguridad de los centros de inseminación artificial.
Porci, 2001, **62**, 25-30.
- 112- SALAUN Y. :**
Les bons comptes font la bonne technique.
Porc Magazine, 1992, **247**, 76-79.
- 113- SALAUN Y., PELLOIS H. :**
Coûts d'utilisation comparée des différentes techniques de reproduction : Saillie Naturelle, I.A. avec prélèvement à la Ferme et I.A. avec achat en CIA.
Techni-porc, 1996, **5**, 7-12.
- 114- SARMA D.K., TAMULI M.K., RAHMAN T., BORO B.R., DEKA B.C., RAJKONWAR C.K.,**
Isolation of Chlamydia from a pig with lesions in the urethra and prostate gland.
Vet. Rec., 1983, **112**, 525.
- 115- SINGH G. :**
Durée de passage dans l'épididyme des spermatozoïdes de verrat marqués au ³²P
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1962, **2**(1), 43-46.

116- SINGH G. :

Réserves spermatiques épидидymaires chez le verrat.
Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1962, **2**(1), 47-50.

117- STEVENS A., LOWE J. :

Histologie, éd. Pradel, Paris, 1993.

118- STEVERMER E.J., KOVACKS M.F., HOEKSTRA W.G., SELF H.L.,

Effect of Feed Intake on Semen Characteristics and reproductive Performance of Mature Boars.

J. Anim. Sci., 1961, **20**, 858-865.

119- STONE B.A.,

Heat Induced infertility of boars : the inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired.

Anim. Reprod. Sci., 1982, **4**, 283-299.

120- SWIESTRA E.E., RHANEFELD G.W.,

Semen and Testis Characteristics in young Yorkshire and Lacombe boars.

J. Anim. Sci., 1967, **26**, 149-157.

121- SWIESTRA E.E.,

A comparison of spermatozoa production and spermatozoa output of Yorkshire and Lacombe boars.

J. Reprod. Fert., 1968, **17**, 459-469.

122- SWIESTRA E.E.,

Influence of breed, age and ejaculation frequency on boar semen composition.

Can. J. Anim. Sci., 1973, **53**, 43-53.

123- TRUDEAU V., SANFORD L.M.,

J. Anim. Sci., 1986, **63**, 1211-1219.

124- VASQUEZ J.M., MARTINEZ E.A., MARTINEZ P., GARCIA-ARTIGA C. and ROCA J.,

HOS of boar spermatozoa compared to others methods for analysing the sperm membran.

Theriogenology, **47**, 913-922.

125- VAUDELET J.C. :

Un observatoire sur l'I.A. Le réseau ITP.

Porc Magazine, 1986, **196**, 34-34.

126- VIEL L.,

L'organisation du CIA COBIPORC à la loupe...Jeu de pistes à l'échelle bretonne.

Porc Magazine, 1996, **286**, 59-66.

127- WETTERMANN R.P., WELLS M.E., OMTVEDT L.T., POPE C.E., TURMAN E.J.,

Influence of elevated ambient temperature on reproductive performances of boars.
J. Anim. Sci., 1976, **42**, 664-669.

128- WOELDERS H.,

Overview of In Vitro Methods for evaluation of semen. Proceedings of the second international Conference on Boar Semen Preservation.

Berlin Hamburg, 1991, Paul Parey Scientific Publishers, , 145-164.

129- WROBEL K.H. :

Male Reproductive System.

In : DELLMAN, WROBEL K.H.

Textbook of Veterinary Histology, 2^{ème} édition, 1990, 226-243.

CREDITS PHOTOGRAPHIQUES

Alain Beguey (I.N.R.A. – P.R.C.) : photos 10 – 11 – 13 – 14 – 15 – 16 – 18 – 19 - 21

Philippe Guillouet (I.N.R.A. – U.E.I.C.P.) : photos 5 – 6 – 8 – 9 - 17

Anne Le Roux : photos 1 – 2 – 3 – 4 – 7 – 12 - 20

Toulouse, 2002

Le Roux Anne

Titre :

La réforme des verrats de Centres d'Insémination Artificielle pour baisse de qualité de semence : approche anatomopathologique et histologique.

Résumé :

La baisse de qualité de semence constitue une des premières causes de réforme des verrats en service dans les Centres d'Insémination Artificielle, ce qui constitue un problème pour eux dans la situation actuelle de concurrence sur le marché de l'Insémination Artificielle. La réforme de ces verrats est motivée par une diminution brutale du pourcentage de spermatozoïdes mobiles dans plusieurs éjaculats successifs.

Cette étude est basée sur la comparaison d'un lot de cinq verrats réformés pour baisse de qualité de semence avec un lot de dix verrats ne présentant pas de problème de qualité de semence. Cette comparaison comprend l'étude des profils de production de semence, l'étude approfondie de la qualité de semence et l'examen anatomopathologique et histologique des tractus génitaux des verrats réformés. Elle a permis de relier la baisse du pourcentage de spermatozoïdes mobiles avec l'augmentation des spermatozoïdes immatures et anormaux et d'identifier la dégénérescence testiculaire comme la cause probable de la baisse de qualité de semence.

Mots- clés : semence porcine – verrat – réforme - insémination artificielle – dégénérescence testiculaire

English title:

Boar culling for semen quality : anatomopathological and histological study

Summary :

One first cause of boar culling in I.A. centres is the fall of semen quality and constitute a problem for them because of the actual situation of the I.A. market. The culling is due to the fall of the percentage of mobile sperm cells in at least three ejaculates consecutives.

This investigation is based on the comparison between a group of five boars culled for fall of semen quality and a group of ten boars without problem of semen quality. The comparison concern the datas of semen production, the semen quality and the anatomopathological and histological characteristics of genital tracts of the boars culled. This study has permitted to bind the fall of mobiles sperm cells with a increased number of immature and abnormal sperm and to identify testicular degeneration as the probable reason of the fall of sperm motility.

Key words : semen – boar – culling – artificial insemination – testicular degeneration