



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/>
Eprints ID : 10839

To cite this version :

Trouche, Christel. *Etude de la relation entre l'infection par *Brucella ovis* et la fonction sexuelle des béliers*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2013, 78 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

ETUDE DE LA RELATION ENTRE L'INFECTION PAR *BRUCELLA OVIS* ET LA FONCTION SEXUELLE DES BÉLIERS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

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

par

TROUCHE Christel
Née, le 11 juillet 1989 à ALBI (81)

Directeur de thèse : Mme Nicole HAGEN

JURY

PRESIDENT :
M. Louis BUJAN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme Nicole HAGEN-PICARD
M. Xavier BERTHELOT

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

MEMBRES INVITES :
M. Bruno GARIN-BASTUJI
Mme Marceline PEGLION

Docteur vétérinaire – Unités Zoonoses Bactériennes – ANSES
Ingénieur – FRGDS PACA

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. AUTEFAGE André, *Pathologie chirurgicale*
- M. CORPET Denis, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. DELVERDIER Maxence, *Anatomie Pathologique*
- M. ENJALBERT Francis, *Alimentation*
- M. EUZEBY Jean, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. FRANC Michel, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. MARTINEAU Guy, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. PETIT Claude, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. REGNIER Alain, *Physiopathologie oculaire*
- M. SAUTET Jean, *Anatomie*
- M. SCHELCHER François, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. BERTHELOT Xavier, *Pathologie de la Reproduction*
- M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme CLAUW Martine, *Pharmacie - Toxicologie*
- M. CONCORDET Didier, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie des Ruminants*
- M. LEFEBVRE Hervé, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- Mme BENARD Geneviève, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
- Mme CHASTANT-MAILLARD Sylvie, *Pathologie de la Reproduction*
- M. DUCOS Alain, *Zootéchnie*
- M. DUCOS DE LAHITTE Jacques, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. GUERRE Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme HAGEN-PICARD Nicole, *Pathologie de la Reproduction*
- M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. LIGNEREUX Yves, *Anatomie*
- M. MEYER Gilles, *Pathologie des Ruminants*
- M. PICAVET Dominique, *Pathologie infectieuse*
- M. SANS Pierre, *Productions animales*
- Mme TRUMEL Catherine, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme MICHAUD Françoise, *Professeur d'Anglais*
- M. SEVERAC Benoît, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
- Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
- Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mlle DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- Mme LETRON-RAYMOND Isabelle, *Anatomie pathologique*
- M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
- M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
- Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
- Mme BENNIS-BRET Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- Mlle BIBBAL Delphine, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- Mme BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
- Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
- M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
- M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des Ruminants*
- M. CUEVAS RAMOS Gabriel, *Chirurgie Equine*
- Mme DANIELS Hélène, *Microbiologie - Pathologie infectieuse*
- M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
- Mlle FERRAN Aude, *Physiologie*
- M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
- M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
- M. LIENARD Emmanuel, *Parasitologie et maladies parasitaires*
- M. MAILLARD Renaud, *Pathologie des Ruminants*
- Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie Chirurgicale*
- M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
- M. NOUVEL Laurent, *Pathologie de la Reproduction*
- Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
- Mlle PAUL Mathilde, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
- Mme PRADIER Sophie, *Médecine interne des équidés*
- M. RABOISSON Didier, *Productions animales (Ruminants)*
- Mme TROEGELER-MEYNADIER Annabelle, *Alimentation*
- M. VOLMER Romain, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
- M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*
- Mme WARET-SZKUTA Agnès, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. BOURRET Vincent, *Microbiologie et infectiologie*
- Mme FERNANDEZ Laura, *Pathologie de la Reproduction*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle DEVIERS Alexandra, *Anatomie - Imagerie*
- M. DOUET Jean-Yves, *Ophthalmologie*
- Mlle LAVOUE Rachel, *Médecine Interne*
- Mlle PASTOR Mélanie, *Médecine Interne*
- M. VERSET Michaël, *Chirurgie des animaux de compagnie*

A notre président de thèse

Monsieur le Professeur Louis Bujan

Professeur des Universités

Praticien hospitalier

Andrologie – Biologie de la reproduction

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse

Madame le Docteur Nicole Hagen-Picard

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui nous a proposé cette étude et accepté la direction de notre travail.

Sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur Xavier Berthelot

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie de la reproduction

Qui a collaboré à cette étude et a aimablement accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Sincères remerciements.

Monsieur le Docteur Bruno Garin-Bastuji

Unités Zoonoses Bactériennes - ANSES

Qui a collaboré à cette étude.

Sincères remerciements.

Madame Marceline Peglion

Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire Provence Alpes Côte-d'Azur

et à l'ensemble de l'équipe des GDS de la région PACA.

Qu'ils veuillent accepter mes remerciements pour leur accueil chaleureux, leur organisation sans faille et leur aide précieuse tout au long de cette étude.

Remerciements

A tout le personnel de la Coopérative Prov'Alp, pour nous avoir gentiment ouvert ses locaux et aidé pendant notre semaine de présence.

A tous les éleveurs ayant participé à cette étude, pour leur patience et leur motivation.

A l'équipe du service de Pathologie de la reproduction pour m'avoir toujours bien accueillie.

A Aude pour avoir accepté de se lancer avec moi et pour son aide tout au long de cette étude.

A Xavier Berthelot pour toute l'aide apportée.

A Nicole Hagen pour sa grande disponibilité, sa gentillesse et son aide précieuse.

A ma famille et mes proches : mes parents qui m'ont soutenu tout ce temps, Arnaud qui n'a pas manqué de m'aider pour les problèmes informatiques, et tous ceux qui ont suivi toutes mes études avec passion et assiduité, se sont fait du souci pour moi mais qui ont cru en ma réussite.

A Muriel qui malgré le temps et l'éloignement est toujours disponible pour discuter.

A mes co-promos camarades d'amphis, de TD et de restaurants japonais : il est toujours agréable d'être bien entourée.

A Aude que j'ai débauchée de canine pour cette thèse. Merci pour ton implication, ton aide et ton soutien quand les lignes devenaient floues dans Excel...

A Cécile et Guillemette : sans vous fidèles camarades, ces années n'auraient pas eu la même saveur. Et parce que le sourire accompagne toujours le bonjour... J'espère, mais j'en suis convaincue, qu'il y aura encore beaucoup d'aventures.

Table des illustrations.....	12
Figures	12
Tableaux	12
Photographies	13
Table des abréviations	15
Introduction : l'épididymite contagieuse du bélier à <i>Brucella ovis</i> en region PACA.....	17
Partie bibliographique	20
1. <i>Brucella ovis</i>	20
2. Anatomie de l'appareil génital du bélier (Barone, 1990).....	22
2.1 Les testicules	23
2.2 Les épидидymes	24
2.3 La vascularisation des testicules	25
3. La production de sperme	26
3.1 La spermatogenèse	26
3.2 Composition du sperme	26
3.2.1 Les spermatozoïdes	27
3.2.2 Le plasma séminal.....	28
4. Exploration de la fonction sexuelle	28
4.1 Examen de l'appareil génital	28
4.1.1 Observation et palpation de l'appareil génital externe.....	28
4.1.2 Examen échographique de l'appareil génital externe.....	29
4.1.3 Mesure de la circonférence scrotale	30
4.2 Récolte de la semence par électroéjaculation	31
4.3 Examen de la semence	33
5. Conséquences de l'infection par <i>Brucella ovis</i> sur la fonction sexuelle	34
Partie expérimentale.....	36
1. Matériels et méthodes.....	36

1.1	Les locaux	36
1.2	Les animaux	36
1.3	Examen des animaux	37
1.3.1	Etat d'engraissement des animaux	37
1.3.2	Détermination de l'infection par <i>Brucella ovis</i>	38
1.3.3	Examen de l'appareil génital externe	39
1.3.4	Etablissement d'un score clinique.....	39
1.3.5	Récolte de sperme	40
1.4	Les paramètres séminologiques	40
1.5	Détermination de la fonction sexuelle	42
1.6	Analyse statistique	43
2.	Résultats et discussion.....	44
2.1	Sérologies par ELISA ou par fixation du complément vis-à-vis de <i>Brucella ovis</i>	44
2.2	Notes d'état corporel (NEC)	47
2.3	Lésions de l'appareil génital externe	48
2.3.1	Description des lésions	48
2.3.2	Lésions de l'appareil génital des béliers en fonction du statut sérologique	55
2.3.3	Lésion de l'appareil génital en fonction de l'ancienneté de l'infection par <i>B. ovis</i> 56	
2.4	Circonférence scrotale en fonction du statut sérologique	58
2.5	Qualité du sperme	61
2.5.1	Motilité individuelle	61
2.5.2	Nombre de spermatozoïdes	62
2.5.3	Anomalies des spermatozoïdes	63
2.5.4	Classification séminologique	65
2.6	Score clinique.....	66
2.7	Fonction sexuelle	66

2.7.1	Effet des lésions de l'appareil génital externe sur la fonction sexuelle des béliers	67
2.7.2	Effet du statut sanitaire vis-à-vis de <i>B. ovis</i> sur la fonction sexuelle des béliers	67
2.7.3	Facteurs de variation de la fonction sexuelle chez les béliers séronégatifs vis-à-vis de <i>B. ovis</i>	68
	Conclusion générale et contrôle de l'infection par <i>Brucella ovis</i>	71
	Bibliographie.....	75

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1 : Appareil uro-génital d'un bélier (d'après Barone, 1990).....	23
Figure 2 : Vue caudale du testicule et de l'épididyme gauche d'un taureau (d'après Barone, 1990).....	25
Figure 3 : Répartition des béliers en fonction de la NEC.....	47
Figure 4 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction du statut sérologique du bélier vis-à-vis de <i>B. ovis</i> , établi par ELISA	56
Figure 5 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction du statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i> et de l'année d'infection.....	57
Figure 6 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction de l'ancienneté de l'infection par <i>B. ovis</i>	58
Figure 7 : Répartition des béliers selon leur circonférence scrotale et la présence ou non de lésion de l'appareil génital externe.....	60
Figure 8 : Pourcentage moyen de spermatozoïdes anormaux en fonction de l'infection par <i>B. ovis</i>	64
Figure 9 : Répartition des béliers selon le score séminologique et leur statut sérologique (ELISA) vis-à-vis de <i>B. ovis</i>	65
Figure 10: Répartition des béliers selon le score clinique et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i>	66
Figure 11 : Effet de la présence ou l'absence de lésions de l'appareil génital sur la fonction sexuelle des béliers.....	67
Figure 12 : Effet du statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i> sur la fonction sexuelle des béliers	68

Tableaux

Tableau 1 : Résultats du dépistage sérologique de l'infection par <i>B. ovis</i> des béliers de la région PACA en 2010	17
Tableau 2 : Résultats du dépistage sérologique de l'infection par <i>B. ovis</i> des béliers de la région PACA en 2011	18
Tableau 3 : Composition de la semence chez le bélier (d'après Cupps, 1991)	27
Tableau 4 : Classement du potentiel reproducteur du bélier en fonction des seuils de circonférence scrotale (en centimètres) (d'après Van Metre, 2012)	31

Tableau 5 : Détermination de la note d'état corporel chez les ovins (d'après Scott, 2001).....	38
Tableau 6 : Critères de classification des béliers selon leur score clinique (synthèse bibliographique)	39
Tableau 7 : Scores de motilité massale	41
Tableau 8 : Critères de classification de la qualité de la semence chez le bélier (synthèse bibliographique)	42
Tableau 9 : Critères de détermination de la fonction sexuelle chez le bélier	43
Tableau 10 : Description des caractéristiques cliniques de la population de béliers	44
Tableau 11 : Correspondance des résultats des tests ELISA (avec les seuils 30 et 60) et de fixation du complément effectués en septembre 2012	45
Tableau 12 : Correspondance des résultats des tests ELISA (avec le seuil 45) et de fixation du complément effectués en septembre 2012	45
Tableau 13 : Pourcentage de béliers séropositifs vis-à-vis de <i>B. ovis</i> par élevage.....	46
Tableau 14 : Résultats des sérologies <i>B. ovis</i> des campagnes 2010 à 2012.....	47
Tableau 15 : Lésions de l'appareil génital observées lors de l'examen des béliers	48
Tableau 16 : Circonférence scrotale (en centimètres) selon le statut sérologique des béliers vis-à-vis de <i>B. ovis</i>	59
Tableau 17 : Répartition des béliers selon leur circonférence scrotale et leur statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i> (ELISA)	59
Tableau 18 : Différents paramètres de qualité du sperme	61
Tableau 19: Motilité individuelle moyenne (\pm écart-type) en fonction du statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i> et des lésions de l'appareil génital externe	62
Tableau 20 : Nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat (\pm écart-type) en fonction du statut sérologique vis-à-vis de <i>B. ovis</i> et des lésions de l'appareil génital	63
Tableau 21 : Répartition des béliers séronégatifs vis-à-vis de <i>B. ovis</i> en fonction de leur fonction sexuelle, de l'âge et de la NEC	69

Photographies

Photographie 1 : Electroéjaculateur	32
Photographie 2 : Image microscopique de spermatozoïdes anormaux : tête seule et flagelle replié.....	34
Photographie 3 : Image microscopique de spermatozoïdes anormaux : flagelles enroulés et repliés	34

Photographie 4 : Vue crâniale du scrotum d'un bélier présentant une dissymétrie scrotale marquée associée à une hypertrophie de la queue de l'épididyme gauche	49
Photographie 5 : Image échographique d'un kyste de la queue de l'épididyme droit de 6 cm de diamètre	50
Photographie 6 : Image échographique d'un abcès de la queue de l'épididyme droit de 5 à 6 cm de diamètre	50
Photographie 7 : Vue crâniale du scrotum d'un bélier présentant une dissymétrie des testicules avec atrophie du testicule gauche	51
Photographie 8 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule sain	51
Photographie 9 : Images échographiques d'une coupe longitudinale de testicule montrant plusieurs stades de dégénérescence testiculaire	52
Photographie 10 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule présentant quelques calcifications	53
Photographie 11 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule présentant un abcès de 3 cm de diamètre.....	53
Photographie 12 : Vue caudale du scrotum présentant une hyperkératose	54
Photographie 13 : Image échographique de nodules sur le scrotum, apparaissant anéchogènes	54

TABLE DES ABREVIATIONS

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

B. ovis : *Brucella ovis*

B. melitensis : *Brucella melitensis*

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

ENVT : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

FRGDS : Fédération Régionale des Groupements de Défense Sanitaire

ICFTU : International Complement Fixation Test Units

NEC : Note d'état corporel

OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale

PACA : Provence – Alpes – Côte d'Azur

PCR : Polymerase Chain Reaction

INTRODUCTION : L'EPIDIDYMITE CONTAGIEUSE DU BELIER A *BRUCELLA OVIS* EN REGION PACA

L'infection par *Brucella ovis* peut entraîner une épидидymite chez le bélier. Cette affection a été décrite pour la première fois en Nouvelle-Zélande et en Australie dans le début des années 50 et est maintenant présente dans les élevages ovins de nombreux pays, de façon plus ou moins importante (OIE, 2013).

Jusqu'en 2008, dans la région Provence – Alpes – Côte d'Azur (PACA), les agnelles et les béliers étaient vaccinés avec le vaccin Rev1. Au cours de cette période, la surveillance de l'épididymite contagieuse du bélier à *Brucella ovis* était totalement absente. En effet, ce vaccin, utilisé pour la protection contre *Brucella melitensis*, est également efficace contre *B. ovis* (Fensterbank et al., 1982 - Blasco et al., 1987). Or, fin 2008, un dépistage sérologique dans un centre d'insémination de la région PACA a mis en évidence une forte proportion d'animaux séropositifs vis-à-vis de *B. ovis* : sur 167 béliers testés par ELISA, 84 (soit 50,3%) se sont révélés positifs. En avril 2009, un dépistage par ELISA a été effectué sur 161 jeunes béliers d'environ 6 mois à leur entrée au centre et 54% des animaux ont été détectés positifs. Ce constat a entraîné la mise en place d'un dépistage sérologique plus étendu (par ELISA) de l'infection par *B. ovis* dans la région PACA à partir de 2010.

Pour la campagne 2010, le dépistage a été effectué sur la base du volontariat (Tableau 1).

Tableau 1 : Résultats du dépistage sérologique de l'infection par *B. ovis* des béliers de la région PACA en 2010

Département	Elevages dépistés	Béliers dépistés	Résultats négatifs (%)	Résultats douteux (%)	Résultats positifs (%)	Elevages infectés (%)
04	143	1568	85,6	10,1	4,3	13
05	509	3446	89,4	6,5	4,1	13
13	104	2110	67,9	12,7	19,4	47
83	130	987	69,2	22,1	8,7	18
84	9	118	82,2	13,6	4,2	33

Bien qu'effectué sur la base du volontariat, et donc présentant un biais évident dans la sélection, ce dépistage a concerné un grand nombre d'élevages (895) et de béliers (8229). Les résultats de cette enquête ont mis en évidence l'infection de nombreux béliers dans de nombreux élevages. La situation était particulièrement préoccupante dans les Bouches du

Rhône (13) où 19,4% des béliers testés étaient séropositifs et près de la moitié (47%) des élevages testés possédaient des béliers séropositifs. La séroprévalence élevée en région PACA a justifié pour la campagne 2011 la poursuite du dépistage, qui a été quasi systématique.

Tableau 2 : Résultats du dépistage sérologique de l'infection par *B. ovis* des béliers de la région PACA en 2011

Département	Elevages dépistés	Béliers dépistés	Résultats négatifs (%)	Résultats douteux (%)	Résultats positifs (%)	Elevages infectés (%)
04	387	2500	93,5	3,5	3	6
05	601	3686	96,5	1	2,5	5,5
13	142	2559	65	11	24	53
83	139	813	70	18	12	22
84	33	408	81	10	9	21

Les résultats du dépistage de 2011 (Tableau 2) ont mis en évidence une forte proportion d'animaux infectés, particulièrement dans les Bouches du Rhône (13), où 24% des béliers testés étaient séropositifs, et 53% des élevages étaient infectés. La situation semblait également préoccupante dans les départements du Var (83) et du Vaucluse (84), dont le cheptel ovin est toutefois plus réduit.

Le dépistage sérologique des béliers par ELISA s'est donc poursuivi en 2012. Mais, compte-tenu de l'extension de l'infection, la FRGDS PACA a initié une étude en partenariat avec l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse et l'ANSES visant à évaluer, dans les troupeaux infectés, la relation entre l'infection par *Brucella ovis* (déterminée par sérologie) et la fertilité des béliers (évaluée par un examen clinique de l'appareil génital et les caractéristiques de la semence). Le deuxième volet de cette étude a consisté à mesurer l'excrétion de *B. ovis* dans la semence (évaluée par bactériologie et PCR) en fonction du statut sérologique individuel des animaux. Cet aspect fait l'objet de la thèse d'Aude Schuster.

L'objectif final de cette étude était d'évaluer l'effet de l'infection par *B. ovis* sur la fonction sexuelle des béliers et, à partir de ces résultats, de proposer un plan de maîtrise de l'infection aux éleveurs.

Dans un premier temps, une revue bibliographique concernant *B. ovis* et l'examen de l'appareil génital du bélier permettra de situer le contexte de l'épididymite contagieuse et son

impact sur la reproduction. Dans un deuxième temps, l'étude expérimentale sera présentée selon un plan classique : matériels et méthodes puis résultats et discussion.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Brucella ovis

Brucella ovis est une bactérie appartenant au genre des Brucella. Ce sont de petits (0,6 x 0,6 x 1,5 µm) coccobacilles non mobiles (Quinn et al., 2011). Ces bactéries Gram négatif sont positives à la coloration de Ziehl-Neelsen modifiée : elles apparaissent sous forme d'amas de coccobacilles rouges. Les Brucella sont des bactéries aérobies, capnophiles (*B. ovis* nécessite par exemple 5 à 10 % de CO₂ pour sa culture et son isolement) et catalase positives. Contrairement à la majorité des Brucella, *B. ovis* est oxydase négative et uréase négative. Sa culture nécessite des milieux enrichis en plasma ou en sérum.

Les Brucella ont un tropisme particulier pour les organes reproducteurs mâles et femelles des individus pubères. Chaque espèce de Brucella a tendance à infecter une espèce animale en particulier. L'infection est souvent persistante et les animaux infectés servent alors de réservoir de bactéries. La transmission se fait généralement par contact direct avec un animal infecté ou via des sécrétions ou des tissus après un avortement. Dans le cas de *B. ovis*, la transmission se fait par voie muqueuse. Il a en effet été possible d'infecter expérimentalement des béliers par instillation sur les muqueuses de semence de béliers infectés ou de bactéries obtenues par culture bactérienne. En conditions naturelles, un mâle peut s'infecter par le biais de brebis auparavant accouplées par un bélier infecté au cours du même œstrus. Les béliers peuvent aussi s'infecter s'ils sont élevés sans brebis, par contact sexuel ou par onanisme (Burgess et al., 1982).

L'établissement d'une infection par des bactéries du genre Brucella dépend du nombre d'organismes infectants, de leur virulence, et de la sensibilité de l'hôte (notamment déterminée par son âge). Les Brucella sont des bactéries intracellulaires qui peuvent persister dans les macrophages, mais pas dans les neutrophiles. Après une étape de réplication dans la cellule, les Brucella virulentes sont transportées vers les nœuds lymphatiques régionaux. La bactériémie intermittente permet la diffusion des bactéries dans les organes reproducteurs et les glandes qui y sont associées. Enfin, il est à noter qu'un facteur de croissance des Brucella, l'érythrol, est présent à une forte concentration dans le placenta des bovins, ovins, caprins et porcs ainsi que dans la glande mammaire et dans l'épididyme.

Les espèces de Brucella peuvent être différenciées :

- sur des critères morphologiques : *B. ovis* est toujours isolée sous forme rugueuse. La colonie a un aspect terne et opaque
- sur des critères biochimiques : *B. ovis* est uréase négative, ne produit pas de H₂S ; ou en fonction des besoins spécifiques pour la culture : par exemple, *B. ovis* a besoin de CO₂, croît dans un milieu contenant de la thionine mais pas dans un milieu contenant de la fuchsine.

L'identification définitive peut se faire par agglutination avec un sérum spécifique (l'antigène R caractéristique des colonies rugueuses de *B. ovis* peut être détecté avec un sérum « anti-R ») ou des méthodes moléculaires. De plus, des méthodes PCR permettent de différencier les biovars 1, 2 et 4 de *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. suis* et d'autres biovars et espèces en plus des souches vaccinales de *B. abortus*.

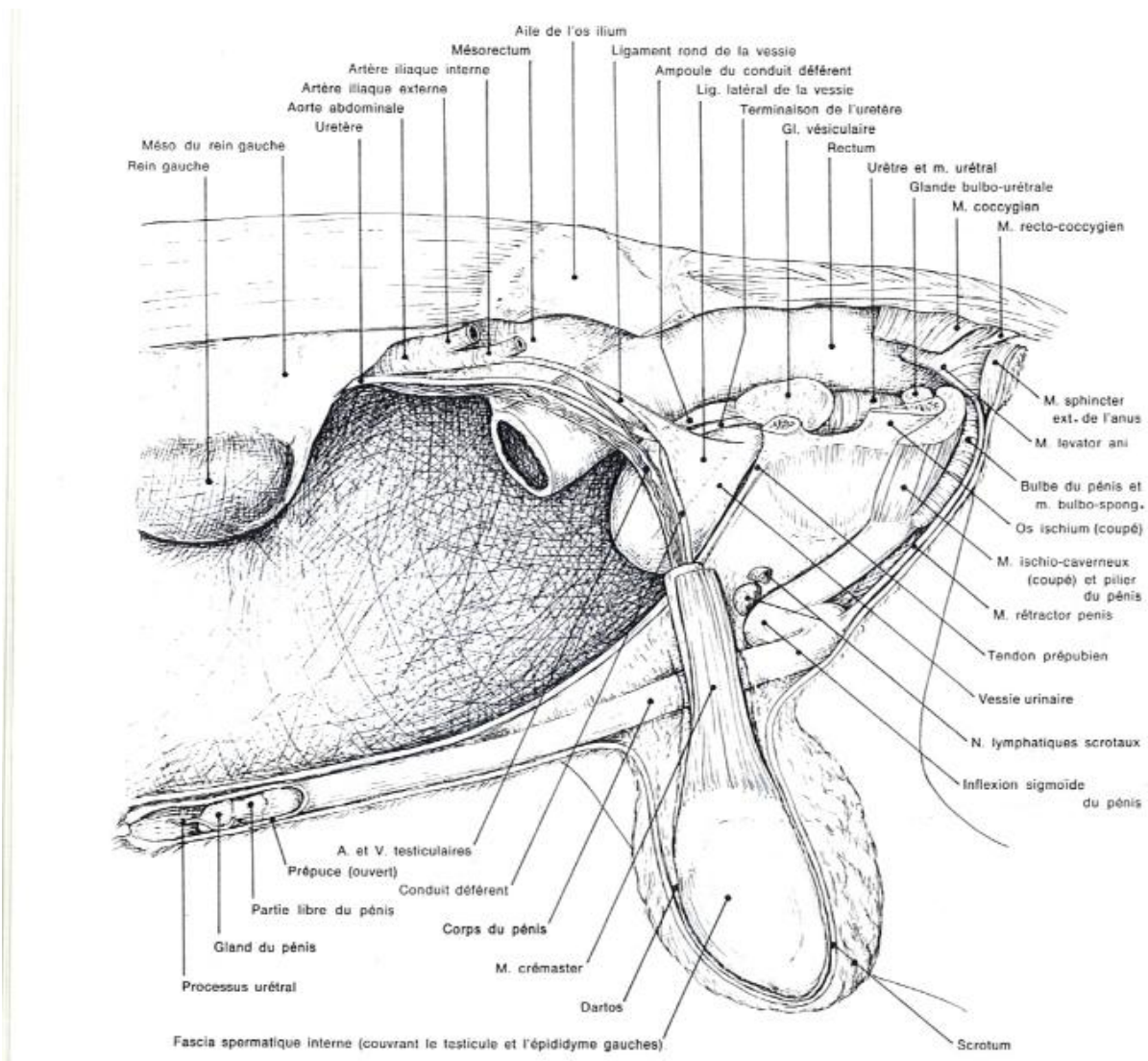
Le diagnostic de l'infection par *B. ovis* peut donc se faire par isolement (avec certaines conditions de culture) et identification. La bactériologie est la méthode la plus spécifique mais elle est difficile à mettre en œuvre car elle nécessite de trouver un milieu sélectif qui empêche la croissance de contaminants (Manterola et al., 2003). Il existe également des tests sérologiques, comme l'immunodiffusion sur gel, la fixation du complément et la méthode ELISA. La fixation du complément constitue le test de référence pour le commerce intra-communautaire. Il se caractérise par une bonne sensibilité et une bonne spécificité avec un seuil de positivité de 50 ICFTU/mL. Cependant, ses inconvénients (charge de travail, incompatibilité avec les sérums hémolysés, activité anti-complémentaire) ont justifié le développement des tests ELISA. En effet, un test ELISA indirect a l'avantage d'être facile d'utilisation, et d'être utilisable sur des sérums hémolysés ou anti-complémentaires (Praud et al., 2012). Le test utilisé dans notre étude est un test ELISA indirect avec l'extrait soluble de la souche REO 198 (souche non virulente et non dépendante du CO₂) comme antigène. Les seuils de décision de la densité optique recommandés par le fabricant pour séparer les résultats négatifs, douteux et positifs sont respectivement de 10 et 50 (résultat négatif si la densité optique est inférieure à 10, douteux si elle est comprise entre 10 et 50 et positif si elle est supérieure à 50). Mais pour plus de simplicité d'interprétation, les auteurs ont proposé l'utilisation d'un seuil unique à 45% de densité optique pour séparer les résultats positifs et négatifs (Praud et al., 2012). Dans ces conditions, la concordance entre l'ELISA indirect et la fixation du complément est de 92,6%. Les sensibilités et spécificités des deux techniques sont respectivement de 91,7% pour l'ELISA et 86,0% pour la fixation du complément, et 95,2% pour l'ELISA et 98,8% pour la fixation du complément. Praud et al. ont également calculé ces

valeurs pour l'association des deux tests. Pour l'association en série, le résultat est considéré positif lorsque les résultats des deux tests sont positifs. La sensibilité et la spécificité sont alors respectivement de 81,2% et 99,5 %. Pour l'association en parallèle, le résultat est considéré comme positif quand le résultat d'au moins un test est positif. Les tests sont alors sensibles à 96,4% et spécifiques à 94,6%. Des tests par PCR ont également été développés. Une étude (Manterola et al., 2003) a comparé un test par PCR sur semence à la bactériologie et à la sérologie (diffusion sur gel et fixation du complément). La PCR s'est révélée être spécifique à 100% mais légèrement moins sensible que la culture bactérienne.

2. Anatomie de l'appareil génital du bélier (Barone, 1990)

L'appareil génital mâle (Figure 1) est composé de trois parties : une section glandulaire constituée par les testicules, une section tubulaire – les voies spermatiques – constituées des épидидymes, des conduits déférents et enfin de la section uro-génitale qui comprend l'urètre, le pénis, le prépuce et les glandes qui y sont annexées (glandes vésiculaires, prostate, glandes bulbo-urétrales).

Figure 1 : Appareil uro-génital d'un bélier (d'après Barone, 1990)



Vue latérale gauche des organes en place.

2.1 Les testicules

Les deux testicules ont une forme ovoïde, comprimée d'un côté à l'autre, allongée chez les Ruminants mais plus sphéroïde chez le bélier que chez le taureau. Chez le bélier, ils représentent, de façon très approximative, environ 1/1000^{ème} du poids adulte. Chaque testicule présente deux faces : latérale et médiale, deux bords : libre et épидидymaire et deux extrémités : capitée et caudée. Le bord libre est convexe et lisse. Le bord épидидymaire est moins convexe et un peu plus court. Il est longé médialement par l'épididyme. L'extrémité capitée se trouve en continuité avec la tête de l'épididyme et l'extrémité caudée est contournée par la queue de l'épididyme.

La consistance des testicules est variable selon les sujets et les conditions physiologiques mais elle est généralement ferme et élastique.

Les testicules, ainsi que les premières voies d'excrétion et ses vaisseaux, sont contenus dans plusieurs enveloppes, qui permettent de soutenir et de protéger ces structures. L'enveloppe la plus externe, le scrotum, est de nature cutanée. Chez les Ruminants, celui-ci est pendant (il descend en regard du tarse chez le bélier) et pédonculé. Chez le bélier, il est couvert de laine, sauf en partie dorso-crâniale. Puis, du plus superficiel au plus interne se trouvent les enveloppes suivantes : le fascia spermatique externe, le muscle crémaster, le fascia spermatique interne et la tunique vaginale.

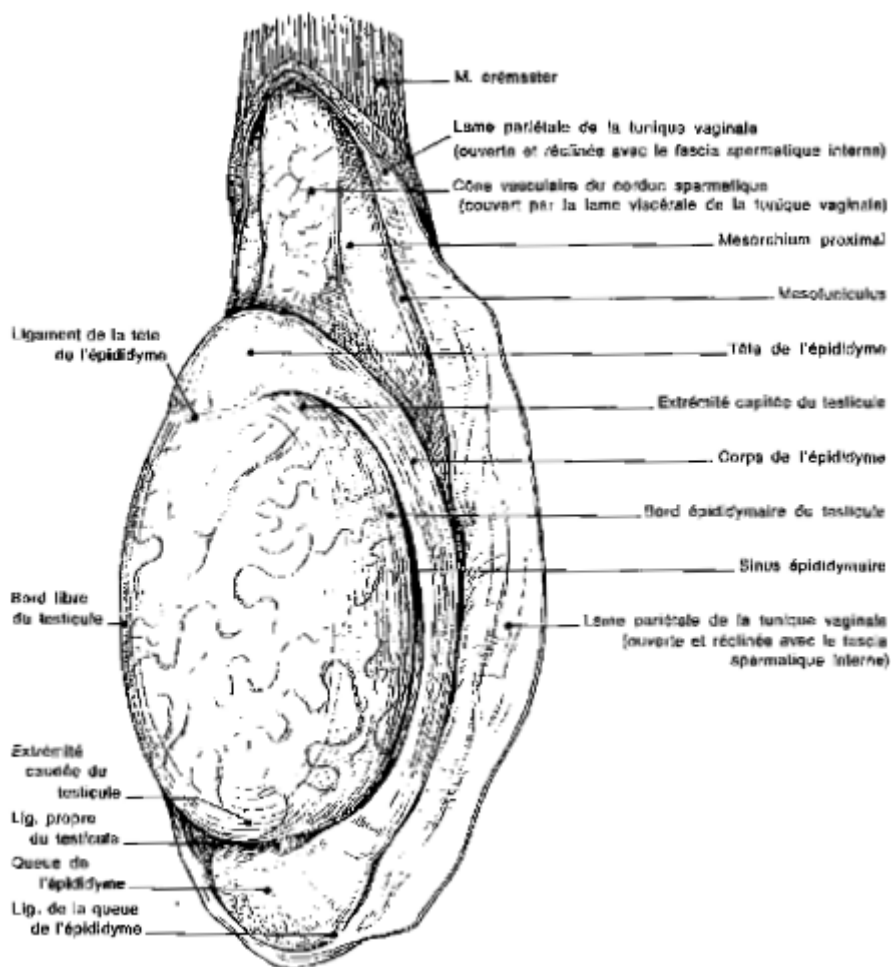
2.2 Les épидидymes

L'épididyme (Figure 2) est un organe pair, allongé et solidarisé au testicule. Chaque épидidyme reçoit de l'extrémité capitée du testicule les canalicules efférents et se continue à son extrémité opposée par le conduit déférent.

L'épididyme contourne le testicule médialement, qu'il déborde par ses deux extrémités plus volumineuses. Il est constitué de trois parties : la tête, le corps et la queue. Chez le bélier, la tête est large et plate et couvre le tiers dorsal du bord libre du testicule. La queue couvre d'abord l'extrémité caudée du testicule puis passe du côté médial où elle se poursuit par le conduit déférent qui s'abouche à l'urètre pelvien. Chez le bélier, l'ampoule du conduit déférent mesure 6 à 7 cm sur 6 à 7 mm.

L'épididyme entretient des connexions avec le testicule. La tête de l'épididyme est en continuité de substance avec l'extrémité capitée du testicule et unie au testicule par le ligament de la tête de l'épididyme. La queue de l'épididyme est unie à l'extrémité caudée du testicule par le ligament propre du testicule. Enfin, entre ces extrémités, l'épididyme est détaché du testicule et repose sur sa face médiale.

Figure 2 : Vue caudale du testicule et de l'épididyme gauche d'un taureau (d'après Barone, 1990)



2.3 La vascularisation des testicules

Les vaisseaux du testicule sont constitués par l'artère et la veine testiculaires qui constituent le plexus pampiniforme.

L'artère testiculaire amène le sang au testicule. Elle constitue une part importante du cône vasculaire du cordon spermatique. Au niveau du bord libre du testicule, elle envoie des collatérales principales qui pénètrent dans la charpente fibreuse près du bord épидidymaire pour rejoindre le *mediastinum testis*.

La veine testiculaire se constitue à distance du testicule, généralement à l'extrémité du cône vasculaire, à proximité de l'anneau inguinal profond.

Le plexus pampiniforme se situe à la sortie du testicule. Les mailles des veines testiculaires enserrant les circonvolutions de l'artère et assurent le refroidissement du sang artériel avant son arrivée au testicule. A ce niveau, le bœuf présente de nombreuses anastomoses artério-veineuses.

3. La production de sperme

3.1 *La spermatogenèse*

La spermatogenèse est un processus lent par lequel quelques cellules souches, les spermatogonies, alignées à la base des tubes séminifères, se divisent par mitose pour maintenir le nombre de cellules souches et pour produire des spermatocytes primaires de manière cyclique. Ces derniers, par méiose, produisent des spermatides haploïdes qui se différencient en spermatozoïdes. Ces spermatozoïdes sont ensuite libérés dans la lumière des tubes (Cupps, 1991).

La spermatogenèse peut être divisée en cycles, chaque cycle comprenant les événements se produisant entre deux vagues consécutives de libération de spermatozoïdes d'une région donnée de l'épithélium séminifère. La durée d'un cycle est déterminée par la fréquence d'entrée de nouvelles spermatogonies dans le processus. Chez le bélier, un cycle dure en moyenne 10,4 jours et la spermatogenèse dure au total environ 47 jours.

Différents facteurs, en plus des hormones, influencent la spermatogenèse. Chez le bélier, on observe une régression saisonnière des testicules, ce qui se traduit par un nombre inférieur de spermatogonies et une production de spermatozoïdes réduite. En effet, les jours longs (c'est-à-dire pendant l'ancestrus saisonnier) entraînent une augmentation de la dégénérescence des spermatogonies. De plus, il est avéré qu'une température élevée, ou au contraire des conditions météorologiques très froides ont un effet négatif sur la spermatogenèse. De même, les radiations, certains médicaments et toxiques chimiques, un déficit en vitamine A ou un régime alimentaire insuffisant ont un effet négatif sur la production de spermatozoïdes.

Avant d'évaluer la spermatogenèse, il faut noter que le nombre de spermatozoïdes dans un éjaculat est influencé par le nombre de spermatozoïdes produits par les testicules mais aussi par la fréquence des éjaculations. Ainsi, un certain nombre d'éjaculations sont nécessaires chez des mâles au repos sexuel avant que les réserves épидidymaires de spermatozoïdes ne soient stabilisées. C'est seulement à partir de cette stabilisation que la production quotidienne de l'éjaculat reflète la production quotidienne de spermatozoïdes.

3.2 *Composition du sperme*

Le sperme est constitué de deux éléments : les spermatozoïdes et le plasma séminal. La composition du sperme du bélier est détaillée dans le tableau 3.

Tableau 3 : Composition de la semence chez le bélier (d'après Cupps, 1991)

sperme	volume	mL	0,5 – 2
	concentration en spermatozoïdes	.10 ⁶ / mL	2000 – 5000
	spermatocrite	%	33
	pH		5,9 – 7,3
plasma séminal	fructose	mg / 100 mL	150 – 600
	sorbitol	mg / 100 mL	26 – 120
	acide citrique	mg / 100 mL	137
	acide ascorbique	mg / 100 mL	5
	inositol	mg / 100 mL	10 – 15
	acide glutamique	mg / 100 mL	76
	glycérylphosphocholine	mg / 100 mL	1600 – 2000
	sodium	mmol / L	78
	potassium	mmol / L	23
	calcium	mmol / L	1,9
	magnésium	mmol / L	2,4
	chlorures	mmol / L	18
	bicarbonates	mmol / L	7,1

Il est à noter que la composition de la semence varie entre des animaux d'une même espèce, entre différents échantillons de semence d'un même animal et entre les différentes fractions d'un même éjaculat et dépend de la sécrétion de testostérone par le testicule.

La composition peut également différer selon la méthode de récolte. L'utilisation de l'électro-éjaculation conduit à l'obtention d'une semence plus diluée. En outre, selon le positionnement de l'électrode, la proportion des sécrétions issues des différentes glandes pourra varier (Cupps, 1991).

3.2.1 Les spermatozoïdes

Chaque spermatozoïde est composé d'une tête et d'une queue. Chez le bélier comme chez le taureau, il mesure entre 75 et 80 µm. La tête est aplatie et contient le noyau, dont la chromatine est fortement condensée, et des petites protéines appelées « protamines ». La moitié antérieure de la tête est recouverte par l'acrosome. Cette structure contient notamment les enzymes nécessaires à la pénétration de l'ovocyte. La face caudale de la tête permet quant à elle l'attachement de la pièce intermédiaire, qui contient les mitochondries, et de la queue.

Lorsque le spermatozoïde est libéré à partir des tubes séminifères, il n'est pas mature. Il contient notamment une gouttelette cytoplasmique et doit subir une maturation dans l'épididyme pour acquérir progressivement sa motilité et son pouvoir fécondant.

3.2.2 Le plasma séminal

Le plasma séminal est la fraction liquide de la semence après avoir enlevé les spermatozoïdes par centrifugation ou filtration. Il s'agit d'un liquide complexe qui est le support de la fonction chimique de l'éjaculat (Juyena et al., 2012). Les composants biochimiques du plasma séminal sont sécrétés par le *rete testis*, l'épididyme et les glandes accessoires de l'appareil génital mâle. Les sécrétions de la glande vésiculaire constituent la part la plus importante quantitativement du plasma séminal. Les constituants majeurs du plasma séminal sont présentés dans le tableau 3. Ils peuvent être regroupés en plusieurs catégories : les ions, les substrats énergétiques (fructose, sorbitol, glycérylphosphocholine), les composés organiques (acide citrique, peptides, protéines) et, chez les Ruminants, des composés azotés et des composés réducteurs (acide ascorbique).

4. Exploration de la fonction sexuelle

4.1 *Examen de l'appareil génital*

4.1.1 Observation et palpation de l'appareil génital externe

Sera essentiellement détaillé ici l'examen du scrotum et de son contenu. L'inspection scrotale permet surtout de détecter des anomalies du scrotum (comme des abcès, des blessures récentes ou en cours d'évolution ou de l'hyperkératose) et des modifications importantes du volume des testicules ou des épидидymes. La peau du scrotum doit être fine et non adhérente aux testicules. La consistance et la symétrie des testicules doivent être évaluées. A la palpation, les testicules sont fermes, mobiles et non douloureux. Une hypertrophie ou une atrophie, une perte de symétrie ou de consistance peuvent être à l'origine d'une diminution de la fertilité. En effet, la production des spermatozoïdes est hautement corrélée à la masse donc à la taille des testicules (Ott et al., 1980). Chez des béliers prêts à être mis à la reproduction, la queue de l'épididyme mesure entre 20 et 30 mm de diamètre (Greig, 2000). La lésion la plus fréquemment retrouvée sur l'épididyme est une modification de sa taille consécutive à une inflammation ou à une fibrose (Kimberling et al., 1997).

4.1.2 Examen échographique de l'appareil génital externe

Il est possible de réaliser un examen échographique de l'appareil génital externe, c'est-à-dire des testicules et des épидидymes (Gnemmi et al., 2009). L'échographie permet d'identifier et de localiser des lésions à l'intérieur du testicule – lésions détectées ou non à l'inspection et la palpation – ou extra-testiculaires (Kastelic et al., 2012). La réalisation d'une vue en coupe sagittale permet l'évaluation du parenchyme testiculaire, du *rete testis*, de la tunique vaginale, de la tête et de la queue de l'épididyme.

Lors de l'examen du testicule peuvent être observés :

- Le *rete testis* : il est central. Il constitue la structure la plus échogène du parenchyme testiculaire. De plus, certains auteurs ont noté qu'il est encore plus échogène chez des béliers de 13 mois et plus (Gouletsou et al., 2003). Chez le taureau, il mesure environ 2 à 4 mm et apparaît comme une ligne ou un cercle selon l'orientation de la sonde (parallèle ou perpendiculaire au grand axe du testicule) (Kastelic et al., 2012). Il peut servir de repère pour mesurer le diamètre maximal du testicule.
- Le parenchyme testiculaire : son échogénicité est modérément homogène. Chez certains animaux, notamment les plus âgés, mais possédant des testicules normaux, de petits foyers hyperéchogènes sont parfois visibles dans le parenchyme.
- Les tuniques testiculaires : elles sont hyperéchogènes et présentent une ligne anéchogène entre les couches pariétale et viscérale de la tunique vaginale, correspondant à des vaisseaux sanguins et à du liquide.
- La peau du scrotum forme une structure épaisse et hyperéchogène qui entoure la structure testiculaire (Gouletsou et al., 2003).

L'examen échographique de la tête et de la queue de l'épididyme peut se faire selon un plan oblique près des pôles proximaux et distaux du testicule. La tête se situe au pôle crânial et proximal du testicule et est plus facile à voir sur un plan sagittal. La queue repose juste sous le bord ventral du testicule. La tête et la queue de l'épididyme sont moins échogènes que le testicule et sont clairement délimitées (Kastelic et al., 2012).

Différentes anomalies touchant les testicules entraînent une modification de l'apparence échographique. C'est le cas pour l'orchite. Bien que l'atteinte soit généralement unilatérale, l'autre testicule peut subir une dégénérescence à la suite de l'augmentation de température du testicule atteint. L'augmentation de volume associée à l'inflammation entraîne une nécrose par compression du parenchyme testiculaire. Lors de dégénérescence testiculaire, l'image

échographique montre une perte d'intégrité du parenchyme testiculaire qui conduit, à terme, à une diminution de la circonférence scrotale. Cette altération peut être engendrée par des facteurs interférant avec la régulation thermique du scrotum comme une température scrotale élevée, la présence de graisse dans le scrotum, une température ambiante élevée et enfin une inflammation locale ou systémique.

Les anomalies observées sur les épидидymes sont principalement une épидидymite (siégeant le plus souvent sur la queue) ou des kystes (structures circulaires anéchogènes). A l'échographie, l'épididymite se traduit par une augmentation de la taille et une diminution de l'échogénicité de l'épididyme. Dans les formes chroniques, l'aspect échographique est plus hétérogène (Kastelic et al., 2012).

4.1.3 Mesure de la circonférence scrotale

La mesure de la circonférence scrotale est un examen facile à réaliser et est corrélée au poids testiculaire (Philizot, 2005) et donc à la production de sperme (Kimberling et al., 1997). Elle consiste à mesurer la plus grande circonférence au mètre ruban après avoir pris soin de faire descendre manuellement les testicules dans le fond du scrotum. Cette mesure est répétable : en effet, la variance d'une mesure individuelle dépend essentiellement du sujet et peu de l'opérateur (Philizot, 2005).

Comme mentionné précédemment, la circonférence scrotale est un moyen d'estimer la production de spermatozoïdes. En effet, il existe une corrélation positive et assez élevée entre la circonférence scrotale et la quantité journalière de sperme produit. De plus, certains auteurs ont essayé de déterminer si la circonférence scrotale pouvait être reliée à la qualité de la semence. Chez le taureau, la circonférence scrotale est associée positivement à la qualité du sperme (Philizot, 2005), corrélée positivement à la motilité des spermatozoïdes, et négativement avec le pourcentage d'anomalies primaires des spermatozoïdes (Kastelic et al., 2001).

La mesure de la circonférence scrotale chez le bélier a permis d'établir certaines valeurs seuils (Tableau 4) permettant de classer les béliers en fonction de leur potentiel reproducteur. La circonférence scrotale d'un bélier de moins d'un an est considérée comme satisfaisante à partir de 30 cm. Ce seuil passe à 33 cm pour les béliers de plus d'un an. Ces recommandations sont valables pour une mesure effectuée pendant la saison de reproduction mais avant la lutte, c'est-à-dire quand les testicules présentent leur taille maximale.

Tableau 4 : Classement du potentiel reproducteur du bélier en fonction des seuils de circonférence scrotale (en centimètres) (d'après Van Metre, 2012)

	Très bon	Bon	Moyen	Insuffisant
Béliers \leq 1 an	≥ 36	30 - 35	27 - 29	< 26
Béliers $>$ 1 an	≥ 40	33 - 39	30 - 32	< 29

La circonférence scrotale varie en fonction :

- de l'âge, la vitesse de croissance du scrotum étant particulièrement élevée autour de la puberté (Philizot, 2005)
- de la saison (Mickelsen et al., 1982), en jours longs, la circonférence scrotale peut diminuer de 2 à 3 cm (Kimberling et al., 1997)
- de la race (Söderquist et al., 2006)
- du poids vif et de l'état d'engraissement. En effet, un engraissement excessif des animaux augmente la circonférence scrotale et peut conduire à une surestimation de la taille testiculaire (Philizot, 2005).

La mesure de la circonférence scrotale est donc un examen utile pour la détermination du potentiel reproducteur du bélier mais elle possède cependant certaines limites, notamment lors d'affections siégeant sur les testicules et le scrotum. Ces limites seront détaillées dans la discussion et doivent être prises en compte dans l'examen de la fonction sexuelle.

4.2 Récolte de la semence par électroéjaculation

Il existe trois méthodes pour récolter la semence chez le bélier. La première technique consiste à collecter la semence dans le vagin de la brebis juste après l'accouplement à l'aide d'une pipette et d'un spéculum (Boundy, 1998). En plus du risque de contamination de la semence par des sécrétions ou des cellules vaginales de la brebis, cette technique n'a pas été envisagée dans notre étude pour des raisons techniques évidentes.

La deuxième méthode est l'utilisation d'un vagin artificiel. Cette technique permet l'obtention d'un éjaculat représentatif (Boundy, 1998) mais elle nécessite une habitude de l'animal. Un bélier n'éjaculera dans un vagin artificiel que s'il est entraîné à le faire. Cet entraînement est particulièrement long et difficile chez le bélier et ne peut se concevoir dans notre étude où la récolte de semence était ponctuelle et concernait un grand nombre de béliers.

La méthode de récolte de semence la plus utilisée est l'électroéjaculation. L'électroéjaculation permet l'obtention de semence par une stimulation électrique à l'aide d'électrodes placées dans le rectum. Le passage d'un courant de façon diffuse dans la sphère génitale entraîne l'excitation des centres nerveux responsables de l'érection et de l'éjaculation (respectivement le plexus pelvien, provenant de S1, S2 et S3 et le centre nerveux de l'éjaculation, provenant de L2, L3 et L4) (Stievenart, 1997). Cette technique est utilisée chez les animaux domestiques depuis 1936 (Brindley, 1981). L'appareil utilisé, l'électroéjaculateur (Photographie 1) est constitué d'une sonde qui est insérée dans le rectum et qui délivre des impulsions électriques au moyen d'électrodes reliées à une batterie. L'électrode rectale, qui permet d'appliquer un courant électrique, doit être en contact avec le plancher du rectum, dans la région de l'ampoule et des vésicules séminales, crânialement à la prostate (Stievenart, 1997). Les impulsions électriques vont alors entraîner l'éjaculation, parfois sans érection.

Photographie 1 : Electroéjaculateur



(1) : générateur – (2) : télécommande – (3) : sonde

Au préalable, le rectum doit être vidé de son contenu pour obtenir un bon contact de la sonde avec la muqueuse rectale. La sonde rectale est lubrifiée à l'aide de gel et introduite dans le rectum. Le prépuce est nettoyé afin de limiter les contaminations de la semence. La présence

d'une femelle en chaleurs près du bélier peut stimuler sa libido et faciliter l'obtention de l'éjaculat.

L'utilisation des électrodes longitudinales entraîne une stimulation diffuse et donc la stimulation de nerfs n'intervenant pas dans le processus éjaculatoire : on observe donc des contractions musculaires et du dos. Elles sont constantes quelle que soit l'espèce animale et consistent en une extension des muscles des membres postérieurs et un voussissement. L'intensité des contractions musculaires est fonction des individus, de la position de la sonde, du modèle de stimulation et du matériel. Elles sont notamment plus marquées lorsque le temps de repos entre deux stimuli est plus court (Stievenart, 1997). Ces contractions sont une réaction indésirable mais les accidents traumatiques sont très rares, à condition de prendre quelques précautions. L'électroéjaculation peut engendrer d'autres effets indésirables : essentiellement une certaine douleur (mais qui peut être contrôlée en diminuant la puissance de stimulation), une contamination par de l'urine (en cas de mauvais positionnement de la sonde dans le rectum ou de fréquence mal adaptée) et d'éjaculation rétrograde. Enfin, la stimulation des glandes accessoires, inhérente à la technique, entraîne une augmentation de la quantité des fluides séminaux et donc une dilution excessive de l'éjaculat par rapport à d'autres techniques de collecte (Stievenart, 1997).

Les échecs sont possibles. Ils correspondent à une absence de réaction physique à la stimulation ou à l'absence d'éjaculation alors que l'animal ne présente pas d'anomalie visible.

Dans la majorité des cas, l'électroéjaculation est donc une technique de collecte relativement simple à mettre en œuvre, et permettant l'obtention d'une semence de qualité.

4.3 Examen de la semence

L'examen microscopique de la semence nécessite son maintien à une température de 37°C depuis la récolte jusqu'à la fin de l'examen (Kimberling et al., 1997). Il comprend l'évaluation de différents paramètres : la motilité, la présence de globules blancs, la viabilité et la morphologie des spermatozoïdes (identification et quantification des anomalies de la tête, de la pièce intermédiaire ou du flagelle).

Les anomalies des spermatozoïdes ont été décrites dans littérature et classées en deux catégories : les anomalies primaires et secondaires (Boundy, 1998 et Kimberling et al., 1997).

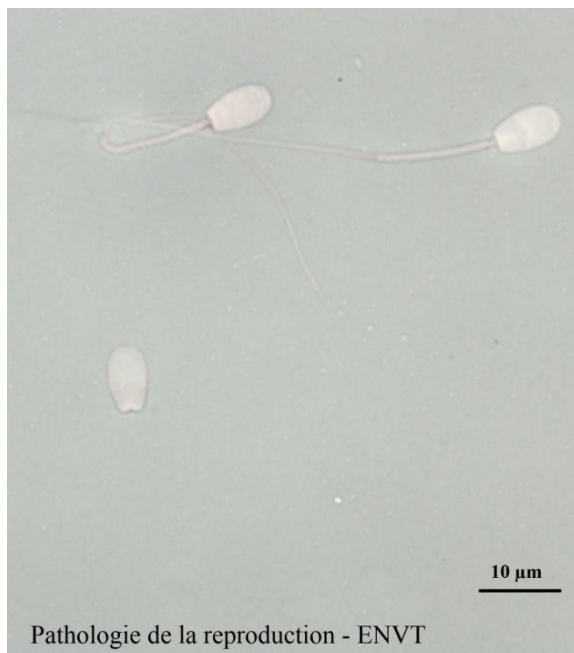
Les anomalies primaires comprennent les têtes et flagelles seuls (Photographie 2), les anomalies de la forme de la tête (têtes piriformes, macro ou microcéphalie), les doubles têtes,

la persistance de la gouttelette cytoplasmique dans la partie proximale de la pièce intermédiaire et les doubles flagelles. Ces anomalies se développent au cours de la spermatogenèse. Les têtes et queues détachées sont fréquemment observées lors de dégénérescence testiculaire sévère, et les anomalies de la tête lors d'hypoplasie testiculaire ou de dégénérescence testiculaire modérée.

Les anomalies secondaires comprennent la persistance de la gouttelette cytoplasmique dans la partie distale de la pièce intermédiaire ou dans la boucle d'une queue enroulée. Ces anomalies se développent lors du transit épидидymaire, au niveau de la queue de l'épididyme. D'autres anomalies du flagelle, qui peut être enroulé ou replié (Photographie 3), sont décrites.

Enfin, il faut noter que certaines anomalies sont liées à des artéfacts dus à la coloration utilisée, et qui peuvent être consécutifs à une osmolarité inadaptée du colorant.

Photographie 2 : Image microscopique de spermatozoïdes anormaux : tête seule et flagelle replié



Photographie 3 : Image microscopique de spermatozoïdes anormaux : flagelles enroulés et repliés



5. Conséquences de l'infection par *Brucella ovis* sur la fonction sexuelle

Les lésions causées par *B. ovis* sont limitées au tractus génital des béliers. Dans un premier temps, elles sont localisées aux épидидymes. A la palpation, il est possible de détecter une augmentation de volume et de consistance des épидидymes et la présence de nodules (Carvalho Júnior et al., 2012). Ces lésions correspondent souvent à de la fibrose ou à des

granulomes spermatiques (Foster et al., 1987). Les lésions peuvent toutefois s'étendre aux testicules et à la glande vésiculaire. A l'histologie, la tête et la queue des épидидymes des béliers infectés présentent des infiltrats inflammatoires. Des infiltrats ont également été observés dans les glandes vésiculaires (Carvalho Júnior et al., 2012). L'atteinte des organes sexuels conduit à l'altération de la qualité de la semence (Kimberling et al., 1997) : on note notamment une diminution de la motilité des spermatozoïdes, une augmentation des spermatozoïdes anormaux et la présence de nombreuses cellules inflammatoires dans l'éjaculat (Kott et al., 1988). Les mâles infectés par *B. ovis* sont donc généralement moins fertiles, ce qui a pour conséquence une dégradation des performances de reproduction, avec des répercussions économiques sur l'élevage. Ces conséquences sont cependant plus ou moins marquées selon la prévalence de la maladie et du ratio bélier / brebis (Ridler et al., 2011).

PARTIE EXPERIMENTALE

L'objectif de cette étude menée en collaboration par la FRGDS PACA, l'ENVT et l'ANSES est d'évaluer, dans les troupeaux infectés, la relation entre l'infection par *Brucella ovis* et la fonction sexuelle des béliers. L'infection par *B. ovis* est déterminée par sérologie (ELISA et fixation du complément) et la fonction sexuelle est évaluée par un examen clinique de l'appareil génital et les caractéristiques de la semence. Les résultats serviront à proposer un plan de maîtrise de l'infection aux éleveurs.

1. Matériels et méthodes

1.1 Les locaux

Les manipulations ont été effectuées dans les locaux de la coopérative Prov'Alp de Saint-Martin-de-Crau (13) en septembre 2012. Les animaux ont été amenés par camion sur le site environ une demi-journée avant l'expérimentation. Les béliers d'élevages différents ont été placés dans un box séparé par des barrières, avec un accès à l'abreuvement. Les béliers étaient ensuite amenés individuellement dans un enclos amovible où les examens de l'appareil génital et les prélèvements étaient effectués. Ils étaient ensuite regroupés dans un autre enclos amovible puis, quand tous les béliers d'un élevage avaient été examinés, ils rejoignaient un autre box où ils recevaient eau et nourriture.

1.2 Les animaux

L'étude a été conduite sur 217 béliers provenant d'élevages ovins de la région PACA. La répartition des élevages entre les différents départements de la région était la suivante : sept élevages des Bouches-du-Rhône (13), deux élevages des Alpes-de-Haute-Provence (04), un élevage du Var (83) et un élevage du Vaucluse (84). La répartition des béliers par département a été la suivante : 164 béliers sont issus des Bouches-du-Rhône, 33 des Alpes-de-Haute-Provence, 8 du Var et 12 du Vaucluse.

Plusieurs races étaient représentées : 81 béliers Ile-de-France, 67 Mérinos d'Arles, 29 Préalpes du Sud, 8 Charollais, 3 Mérinos de l'Est, 3 Texel et 1 Mérinos Espagnol. Pour 8 béliers, la race n'a pas été déterminée.

Pour les campagnes 2010, 2011 ou 2012, certains élevages avaient participé à un dépistage sérologique des béliers infectés par *B. ovis*. Nous disposons donc de plusieurs résultats de sérologie pour un certain nombre de béliers. En effet, 61 avaient été testés trois fois avant

septembre 2012, 54 deux fois et 79 une fois. Tous les élevages ayant fourni des béliers étaient infectés par *B. ovis*, avec une séroprévalence variable, indiquée dans la partie résultats.

1.3 Examen des animaux

1.3.1 Etat d'engraissement des animaux

Dans un premier temps, l'identification individuelle des animaux constituée par leur numéro complet à 10 chiffres a été enregistrée. L'état d'engraissement a été évalué par une note (note d'état corporel) sur une échelle variant de 1 (animal très maigre) à 5 (animal obèse). Cette notation, très largement utilisée, se base sur des caractéristiques physiques de la région lombaire (Scott, 2001) :

- la proéminence des processus épineux des vertèbres lombaires
- la proéminence et le degré de couverture graisseuse des processus transverses des vertèbres
- l'étendue des tissus musculaires et graisseux au-dessous des processus transverses
- le développement des muscles sous-lombaires et le degré de couverture graisseuse

Les animaux ont été classés dans l'une des cinq catégories, selon les critères du tableau 5.

Tableau 5 : Détermination de la note d'état corporel chez les ovins (d'après Scott, 2001)

Note	Caractéristiques		
	Processus épineux	Processus transverses	Muscles sous-lombaires et couverture grasseuse
1	Proéminents et pointus	Pointus, les doigts passent facilement en-dessous et palpent chacun d'eux	Peu épais, sans grasse de couverture
2	Proéminents mais lisses	Lisses et arrondis, les doigts passent en-dessous en exerçant une légère pression	Epaisseur modérée mais petite couverture grasseuse
3	Petites élévations, lisses et arrondis, il faut exercer une pression pour palper chacun d'eux	Lisses et bien couverts, une pression ferme est nécessaire pour passer les doigts en-dessous	Pleins avec une couverture grasseuse modérée
4	Ligne dure entre les muscles recouverts de grasse détectée avec une pression	La fin des processus transverses ne peut pas être sentie	Pleins avec une épaisse couverture grasseuse
5	Non palpables même avec une pression ferme. Dépression entre les couches de grasse	Non palpables	Pleins avec une épaisse couverture grasseuse, il peut y avoir des dépôts de grasse sur la croupe et la queue

1.3.2 Détermination de l'infection par *Brucella ovis*

Certains béliers de l'étude disposaient de résultats de sérologie (test ELISA) pour les campagnes 2010, 2011 ou 2012. En septembre 2012, une prise de sang a été effectuée sur chaque animal pour la recherche d'anticorps anti *B. ovis* par ELISA et fixation du complément. Les sérologies ont été effectuées par le laboratoire du Centre National de Référence des Brucella de l'ANSES. Les antigènes utilisés étaient des extraits de la chaîne REO 198 (selon les recommandations de l'OIE). Le seuil de positivité pour la fixation du complément a été fixé à 50 ICFTU/mL. En ce qui concerne l'ELISA, le nouveau seuil de décision à 45% de densité optique (Praud et al., 2012) a été utilisé. Les sensibilités et spécificités de ces tests ont été établies (Praud et al., 2012) et sont respectivement de 91,7% et 95,2% pour l'ELISA et de 86,0% et 98,8% pour la fixation du complément.

1.3.3 Examen de l'appareil génital externe

La mesure de la circonférence scrotale est effectuée sur animal debout, à l'aide d'un mètre ruban placé au niveau du plus grand diamètre. Cette mesure s'accompagnait d'une palpation systématique des testicules et des épидидymes (tête et queue) pour la recherche d'anomalies telles que des modifications de taille, de forme et de consistance.

Dans un deuxième temps, chaque bélier était isolé des autres. Si une anomalie avait été détectée à la palpation, une échographie de l'appareil génital externe était effectuée avec une sonde linéaire. Pour cela, le scrotum était tondu, la sonde enduite de gel échographique placée longitudinalement au niveau du testicule de façon à visualiser le *rete testis*. Puis la sonde était dirigée en partie caudale pour la visualisation de la queue de l'épididyme. Eventuellement, elle pouvait être amenée en partie plus crâniale pour visualiser une partie de la tête de l'épididyme. L'examen échographique ajouté à la palpation systématique de l'appareil génital externe a permis de diviser les béliers en deux catégories : les animaux cliniquement sains et les animaux présentant des lésions, d'intensité variable.

1.3.4 Etablissement d'un score clinique

Le score clinique a pris en compte l'âge, la note d'état corporel, la circonférence scrotale et la présence ou non de lésion de l'appareil génital, et ce pour chaque bélier (Tableau 6). Pour chaque critère, excepté pour les lésions de l'appareil génital, une note de 1, 4 ou 7 a été attribuée. Toutefois, considérant que les lésions étaient plus pénalisantes pour la fonction sexuelle que les autres critères, la note 0 a été attribuée lors de présence de lésion. Toutes les notes sont ensuite additionnées pour obtenir un score final qui détermine la classe du bélier : « mauvais », « moyen » ou « bon ».

Tableau 6 : Critères de classification des béliers selon leur score clinique (synthèse bibliographique)

Note	1	4	7
Age (ans)	≥ 5	1	2 à 4
NEC	< 2	> 3	2 à 3
Circonférence scrotale (cm)	< 33	≥ 33 - < 39	≥ 39
Lésion	Présence : note = 0		Absence : note = 7
Score clinique	4 à 12	13 à 21	22 à 28
Classification	mauvais	moyen	bon

1.3.5 Récolte de sperme

Pour chaque bélier, le sperme a été prélevé par électro-éjaculation (ElectroJac 5, Ideal Instruments®). Compte-tenu du nombre de béliers et donc du rythme de travail, il était impossible d'effectuer le prélèvement de façon aseptique. Cependant, certaines précautions d'hygiène ont été prises. Les poils du fourreau ont été coupés à l'aide de ciseaux puis celui-ci a été nettoyé au moyen de polyvidone iodée (Vétédine savon®) et d'eau, puis séché avec du papier. Ensuite, l'ampoule rectale a été vidangée si nécessaire avant d'introduire la sonde de l'électroéjaculateur lubrifiée dans le rectum. Après un temps d'adaptation pour le bélier, le programme automatique de l'électroéjaculateur était enclenché. Celui-ci alterne des phases de stimulation électrique de 2 secondes et de repos de 2 secondes. Par défaut, à chaque cycle, l'intensité de la stimulation augmente mais l'opérateur peut bloquer cette augmentation temporairement. L'objectif est d'obtenir une éjaculation sans atteindre une intensité électrique trop élevée qui pourrait être à l'origine d'un inconfort ou de stress pour l'animal.

La semence a été récoltée dans un tube Falcon® de 15 mL en essayant, lorsque cela était possible, de maintenir le pénis extériorisé du fourreau à l'aide d'une compresse pour limiter la contamination de la semence. La récolte achevée, le sperme a été placé dans un bain-marie à 37°C puis acheminé à l'intérieur des locaux pour son examen.

1.4 Les paramètres séminologiques

Le volume de l'éjaculat a été déterminé directement sur les graduations du tube de récolte. Puis, deux caractéristiques macroscopiques ont été notées : la couleur (aqueux, laiteux, crémeux, présence de sang ou de matière organique) et la consistance (aqueuse, crémeuse, blanc d'œuf, présence de grumeaux). La concentration de l'éjaculat a été déterminée par spectrophotométrie. Deux autres paramètres permettent de déterminer la qualité de la semence : la motilité massale et la motilité individuelle. Elles sont notées par observation de la semence au microscope à platine chauffante et à contraste de phase. La notation de la motilité massale nécessite l'observation d'une goutte de semence sur lame au grossissement 100. Elle est notée de 0 à 5 selon les critères du tableau 7.

Tableau 7 : Scores de motilité massale

Note	Motilité massale
0	Immobilité totale
1	Mouvements individualisés
2	Mouvements très lents, peu ou pas de vagues
3	Motilité massale générale de faible amplitude, vagues nombreuses
4	Motilité massale rapide, sans tourbillons
5	Motilité massale rapide, avec tourbillons (vagues)

Pour l'évaluation de la motilité individuelle, la semence est diluée (OptidylND) au 20^{ème} et une goutte est prélevée pour être observée entre lame et lamelle au grossissement 400. La motilité correspond au pourcentage de spermatozoïdes avec un mouvement rectiligne uniforme, traversant le champ du microscope.

L'évaluation de l'intégrité des spermatozoïdes nécessite la réalisation d'un frottis coloré. Celui-ci consiste à déposer sur une lame une goutte de sperme et à la mélanger avec une goutte de nigrosine et une goutte d'éosine puis d'étaler ce mélange à l'aide d'une lame rodée. En raison de contraintes d'organisation du travail, le comptage des anomalies des spermatozoïdes n'a pas été effectué sur place : le frottis a été effectué et coloré sur place mais la lecture s'est faite ultérieurement. Il n'a donc pas été possible de déterminer le pourcentage de spermatozoïdes vivants car la qualité de la coloration était trop altérée au moment de la lecture. Cependant, il a été possible de dénombrer les spermatozoïdes anormaux.

Les anomalies ont été dénombrées par observation de deux cents spermatozoïdes au microscope optique au grossissement 1000 à immersion. Chaque type d'anomalie a été noté afin de déduire un pourcentage total d'anomalies par bélier.

Les critères précédemment cités permettent d'établir une qualité « globale » de la semence du bélier (Tableau 8). Dans notre cas, celle-ci s'appuie sur trois critères : la motilité, le nombre de spermatozoïdes par éjaculat et le pourcentage de spermatozoïdes normaux.

La concentration du sperme en spermatozoïdes n'a pas été prise en compte car l'électro-éjaculation entraîne une dilution artéfactuelle de la semence. C'est pourquoi il semble plus approprié d'étudier le nombre de spermatozoïdes par éjaculat.

La motilité individuelle peut être affectée par des facteurs externes comme une contamination par l'urine, un choc thermique et le nombre de stimulations nécessaires pour la récolte de la semence. C'est pourquoi la motilité individuelle prise isolément n'est pas toujours un bon indicateur de la fertilité (Kimberling et al., 1997).

Une note a été attribuée pour chaque critère en fonction des seuils communément utilisés (Kimberling et al., 1997, Ott et al., 1980, Van Metre et al., 2012). La somme des notes attribuées pour chaque critère donne un score total qui détermine la classification finale de la semence.

Tableau 8 : Critères de classification de la qualité de la semence chez le bélier (synthèse bibliographique)

Note	1	4	7
Motilité (%)	≤ 30	> 30 ; ≤ 70	> 70
Nombre de spermatozoïdes (milliards)	≤ 1	> 1 ; ≤ 2	> 2
Spermatozoïdes normaux (%)	≤ 50	> 50 ; ≤ 70	> 70
Score séminologique	3 - 9	12 - 15	18 - 21
Classification	mauvais	moyen	bon

1.5 Détermination de la fonction sexuelle

La fonction sexuelle des béliers a été déterminée à partir de plusieurs paramètres : la circonférence scrotale, la motilité et le pourcentage de spermatozoïdes normaux (Kimberling et al., 1997). La fonction sexuelle de chaque bélier peut être classée dans l'une des catégories suivantes : excellente, satisfaisante, douteuse et mauvaise (Tableau 9).

Tableau 9 : Critères de détermination de la fonction sexuelle chez le bélier

		Excellente	Satisfaisante	Douteuse	Mauvaise
Bélier de 6 à 12 mois	Circonférence scrotale (cm)	> 33	> 30	< 30	< 30
	Motilité (%)	> 50	> 30	< 30	< 30
	Spermatozoïdes normaux (%)	> 90	> 70	< 70	< 50
Bélier de 12 à 18 mois	Circonférence scrotale (cm)	> 35	> 33	< 33	< 33
	Motilité (%)	> 50	> 30	< 30	< 30
	Spermatozoïdes normaux (%)	> 90	> 70	< 70	< 50

1.6 Analyse statistique

Les données spermatiques ont été présentées sous forme de moyenne \pm écart-type et étendue.

L'effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et des lésions de l'appareil génital sur la circonférence scrotale a été testé par un test χ^2 (Chi-deux, R[®], version 3.0.1).

L'effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et de l'année d'infection par *B. ovis* sur la présence de lésions de l'appareil génital a été testé par un test χ^2 (Chi-deux, R[®], version 3.0.1).

L'effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et des lésions de l'appareil génital sur la fonction sexuelle des béliers a été testé par un test χ^2 (Chi-deux, R[®], version 3.0.1).

L'effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* sur la circonférence scrotale, le pourcentage de spermatozoïdes anormaux et sur la motilité individuelle des spermatozoïdes a été évalué par un test de comparaison de moyennes (t-test indépendant, R[®], version 3.0.1).

L'effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* (séropositif ou séronégatif), des lésions de l'appareil génital (présence ou absence) et de l'interaction entre le statut sérologique et les lésions sur le nombre de spermatozoïdes par éjaculat a été testé par une analyse de variance à deux facteurs (ANOVA, SYSTAT[®], version 12) selon le modèle suivant :

$Y = \mu + \alpha + \beta + \alpha*\beta + \varepsilon$ où Y est le nombre de spermatozoïdes, μ la moyenne générale, α l'effet du statut sérologique, β l'effet des lésions de l'appareil génital, $\alpha*\beta$ l'interaction entre l'effet du statut sérologique et celui des lésions de l'appareil génital et ε l'erreur résiduelle.

Pour l'ensemble des tests statistiques utilisés, le seuil de signification a été fixé à P = 0,05.

2. Résultats et discussion

Les résultats des différentes caractéristiques cliniques (sérologie ELISA, NEC, circonférence scrotale et lésions de l'appareil génital externe) pour l'ensemble des béliers de notre étude sont présentés dans le tableau 10 et détaillés dans la suite du document.

Tableau 10 : Description des caractéristiques cliniques de la population de béliers

	Moyenne \pm écart-type	Médiane	Etendue	Nombre de béliers positifs
Sérologie ELISA 45 septembre 2012	-	-	-	81 (37,3%)
NEC	2,4 \pm 0,7	2,3	[1,3 ; 4]	-
Circonférence scrotale	36,4 \pm 3,6	36,5	[26 ; 46]	-
Lésions de l'appareil génital externe	-	-	-	71 (32,7%)

2.1 Sérologies par ELISA ou par fixation du complément vis-à-vis de *Brucella ovis*

En septembre 2012, deux tests sérologiques (ELISA et fixation du complément) ont été réalisés afin de déterminer le statut des béliers vis-à-vis *B. ovis*. La réaction de fixation du complément a mis en évidence 81 sérums positifs (37,3%), 135 sérums négatifs (62,2%) et 1 sérum « anti-complémentaire ». Dans un premier temps, les résultats de l'ELISA ont été classés en 3 catégories : positif (densité optique supérieure à 60), négatif (densité optique inférieure à 30) et douteux (densité optique comprise entre 30 et 60). Le test a mis en évidence 112 sérums positifs (51,6%), 94 sérums négatifs (43,3%) et 11 sérums douteux (5,1%). Les résultats ont ensuite été comparés avec ceux de la fixation du complément (Tableau 11). Le sérum anti-complémentaire s'est révélé être douteux au test ELISA. Les sérums positifs par fixation du complément étaient positifs ou douteux par ELISA et les sérums négatifs par ELISA l'étaient aussi par la méthode de fixation du complément.

Tableau 11 : Correspondance des résultats des tests ELISA (avec les seuils 30 et 60) et de fixation du complément effectués en septembre 2012

		ELISA			Total
		Positif	Douteux	Négatif	
Fixation du complément	Positif	80	1	0	81
	Négatif	32	9	94	135
	Anti-complémentaire	0	1	0	1
Total		112	11	94	217

L'utilisation de deux seuils pour l'interprétation des résultats ELISA et donc l'existence d'une catégorie d'animaux « douteux » est problématique pour la prise de décision pour ces animaux. C'est pourquoi, dans un deuxième temps, afin de faciliter l'interprétation des résultats, un seuil unique de 45 pour l'ELISA a été utilisé. Avec ce seuil, 117 sérums ont été positifs (53,9%) et 100 sérums négatifs (46,1%). Ces résultats ont été comparés avec ceux de la fixation du complément (Tableau 12). Les résultats sont semblables au cas précédent : tous les sérums positifs en fixation du complément le sont par ELISA et tous les sérums négatifs par ELISA le sont par fixation du complément (excepté le sérum anti-complémentaire).

Tableau 12 : Correspondance des résultats des tests ELISA (avec le seuil 45) et de fixation du complément effectués en septembre 2012

		ELISA		Total
		Positif	Négatif	
Fixation du complément	Positif	81	0	81
	Négatif	36	99	135
	Anti-complémentaire	0	1	1
Total		117	100	217

Comme les caractéristiques de sensibilité (91,7% pour l'ELISA et 86,0% pour la fixation du complément) et de spécificité (95,2% pour l'ELISA et 98,8% pour la fixation du complément) des deux tests sont différentes, 53,9% des béliers sont séropositifs selon le test ELISA et 37,3% selon la fixation du complément. Par la suite, nous avons déterminé le caractère séropositif ou séronégatif d'un bélier par le résultat du test ELISA avec un seuil de décision à 45, selon les recommandations de Praud et al. (2012).

Cela signifie que sur la population de béliers de notre étude, la prévalence de l'infection est de 53,9 %. Cette valeur élevée présente cependant une assez forte variabilité : de 35% à 83,3% selon les élevages (Tableau 13).

Tableau 13 : Pourcentage de béliers séropositifs vis-à-vis de *B. ovis* par élevage

Elevage	Département	Nombre de béliers	Prévalence (%)	
1	04	14	50	60,6
2		19	68,4	
3	13	37	56,8	50
4		20	35	
5		20	50	
6		13	84,6	
7		34	35,3	
8		12	66,7	
9		28	46,4	
10		83	8	
11	84	12	83,3	83,3

Il faut toutefois noter que les béliers inclus dans notre étude ne sont pas représentatifs de la population. En effet, la participation des éleveurs résultait d'une démarche volontaire de ceux-ci. Il est donc légitime de penser que ce sont les élevages les plus touchés par l'épididymite contagieuse qui sont représentés. Il en est de même pour le choix des béliers au sein de chaque élevage. Tous les béliers de chaque élevage n'ont pas été amenés et il est probable que les béliers choisis ne soient pas vraiment représentatifs de la population de l'élevage.

Parmi les béliers testés en septembre 2012, certains ont été testés par sérologie vis-à-vis de *B. ovis* en 2010, 2011 et/ou 2012. Le tableau 14 présente le nombre de béliers positifs, douteux ou négatifs pour ces trois années. Au fil des campagnes, le pourcentage de béliers séropositifs semble augmenter (30 béliers soit 44,8% des testés en 2010 à 112 soit 51,6% en septembre 2012). Sans mesure de contrôle ni de réforme sélective sur le critère de la séropositivité, l'infection pourrait donc se répandre au sein des élevages.

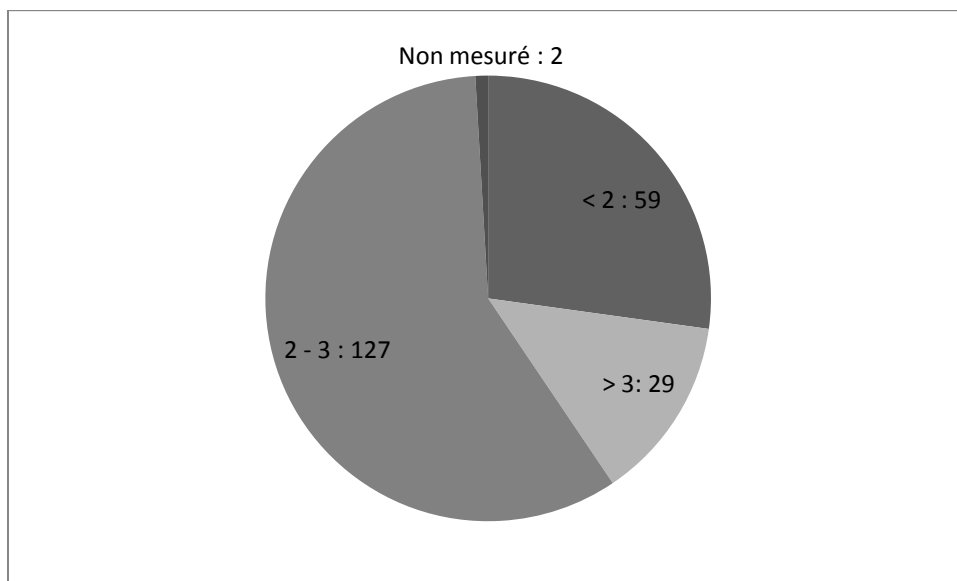
Tableau 14 : Résultats des sérologies *B. ovis* des campagnes 2010 à 2012

Année	Résultat sérologie (ELISA 30 – 60)			Total
	Positif	Douteux	Négatif	
2010	30 (44,8%)	4 (6%)	33 (49,2%)	67
2011	72 (60%)	12 (10%)	36 (30%)	120
2012	87 (47,5%)	14 (7,7%)	82 (44,8%)	183
Septembre 2012	112 (51,6%)	11 (5,1%)	94 (43,3%)	217

2.2 Notes d'état corporel (NEC)

L'état corporel des béliers avant la lutte est un paramètre à prendre en compte dans l'examen clinique car il détermine en partie le potentiel reproducteur du mâle. La figure 3 présente la répartition des béliers en fonction de leur NEC.

Figure 3 : Répartition des béliers en fonction de la NEC



127 béliers (58,2%) ont une note d'état corporel correcte, c'est-à-dire comprise entre 2 et 3. 59 béliers (27,2%) ont une NEC inférieure à 2 et 29 (13,4%) ont une NEC supérieure à 3. La moyenne et la médiane des NEC sont respectivement de $2,4 \pm 0,7$ et 2,3 c'est-à-dire légèrement en-dessous des recommandations. Les animaux étaient en effet globalement plutôt trop maigres que trop gras, comme en témoignent notamment les notes minimales (1,3) et maximales (4) : alors qu'aucun bélier n'a été évalué obèse (NEC = 5), 21 étaient proches de la maigreur extrême, avec une NEC proche de 1. Plus de deux tiers des béliers ont donc un état corporel compatible avec une fonction sexuelle satisfaisante, ce qui suggère que ce paramètre ne devrait pas avoir un impact important dans notre étude.

2.3 Lésions de l'appareil génital externe

2.3.1 Description des lésions

Le tableau 15 récapitule les lésions identifiées à l'inspection et à la palpation de l'appareil génital externe, ainsi que le nombre de béliers atteints (un bélier qui présente plusieurs lésions n'est comptabilisé qu'une seule fois, pour la lésion qui a le plus de conséquence pathologique).

Tableau 15 : Lésions de l'appareil génital observées lors de l'examen des béliers

Lésion			Nombre de béliers atteints
Testicules	Dissymétrie	Fibrose	2
		Atrophie	10
		Dégénérescence	8
	Abcès		1
Epididymes	Tête	Induration	4
		Hypertrophie	2
	Queue	Kyste	7
		Induration +/- hypertrophie	36
Scrotum		Kystes	
		Abcès	1
		Hyperkératose	1
Prépuce		Balanoposthite	1
Total			73

Les lésions du scrotum, mineures pour les béliers concernés, n'ont pas été prises en compte dans la suite de l'étude.

Lésions de l'épididyme :

La lésion la plus souvent détectée dans notre étude a été une hypertrophie de la queue de l'épididyme, associée ou non à une « induration » c'est-à-dire à une augmentation de la consistance de l'épididyme. Les lésions siégeaient le plus souvent au niveau de la queue de l'épididyme et, plus rarement, au niveau de la tête (Photographie 4).

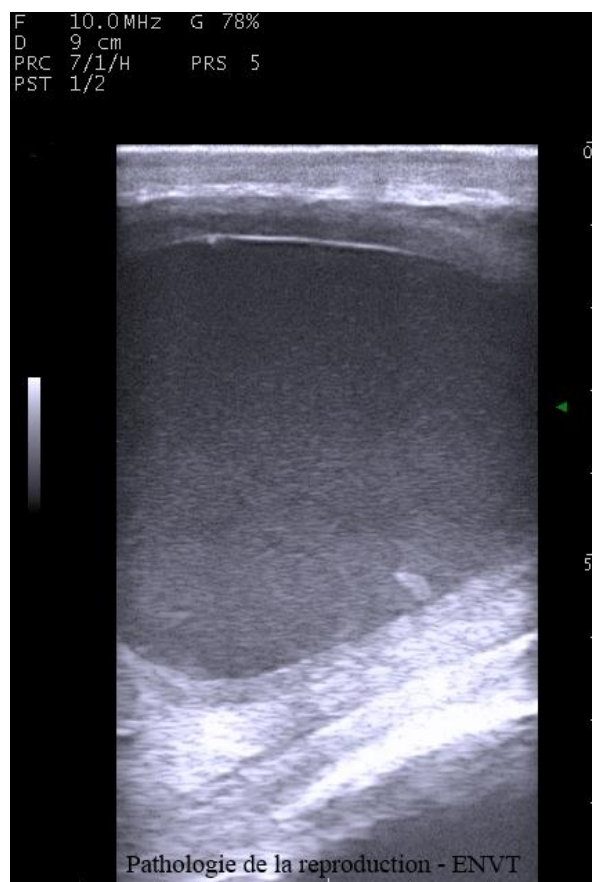
Photographie 4 : Vue crâniale du scrotum d'un bélier présentant une dissymétrie scrotale marquée associée à une hypertrophie de la queue de l'épididyme gauche



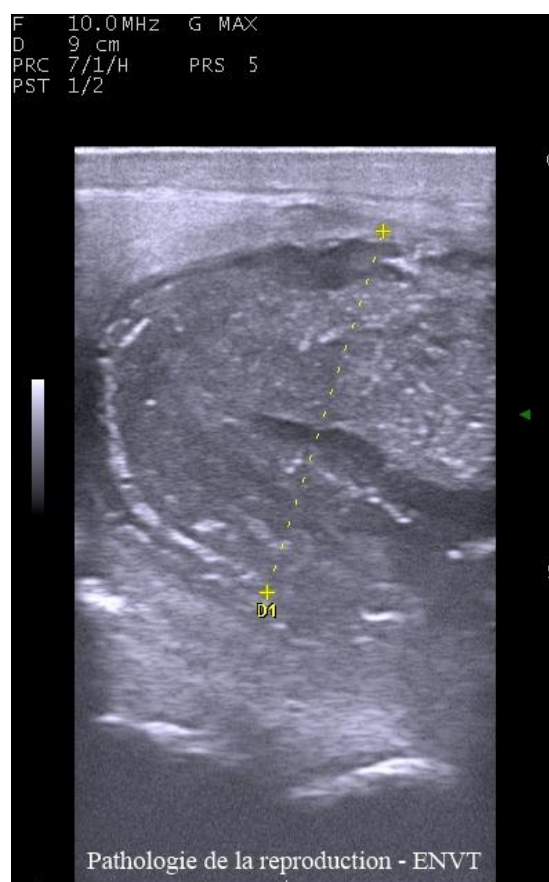
L'examen échographique a permis de caractériser ces lésions en fonction des critères suivants :

- Une modification de l'échogénicité de la queue de l'épididyme
- Des nodules anéchogènes de taille limitée et sans modification de la taille de la queue de l'épididyme
- Des nodules de taille marquée, anéchogènes et aux marges bien définies qui correspondaient à des granulomes spermatiques (Photographie 5). Chez certains individus, ces granulomes ont évolué sous forme d'abcès (Photographie 6).

Photographie 5 : Image échographique d'un kyste de la queue de l'épididyme droit de 6 cm de diamètre



Photographie 6 : Image échographique d'un abcès de la queue de l'épididyme droit de 5 à 6 cm de diamètre



Lésions du testicule :

Pour 21 béliers, la lésion majeure du tractus génital concernait les testicules. La dissymétrie mise en évidence à l'inspection (Photographie 7) pouvait être la conséquence d'une dégénérescence ou d'une hypoplasie testiculaire. La dégénérescence est identifiable par une modification de l'aspect échographique du parenchyme (qui diffère de celui d'un testicule normal – Photographie 8), par la mise en évidence de calcifications sévères (et non ponctuelles – Photographie 10) dans le parenchyme testiculaire (Photographies 9). Des abcès testiculaires ont été mis en évidence à l'échographie (Photographie 11) et étaient associés à une consistance augmentée.

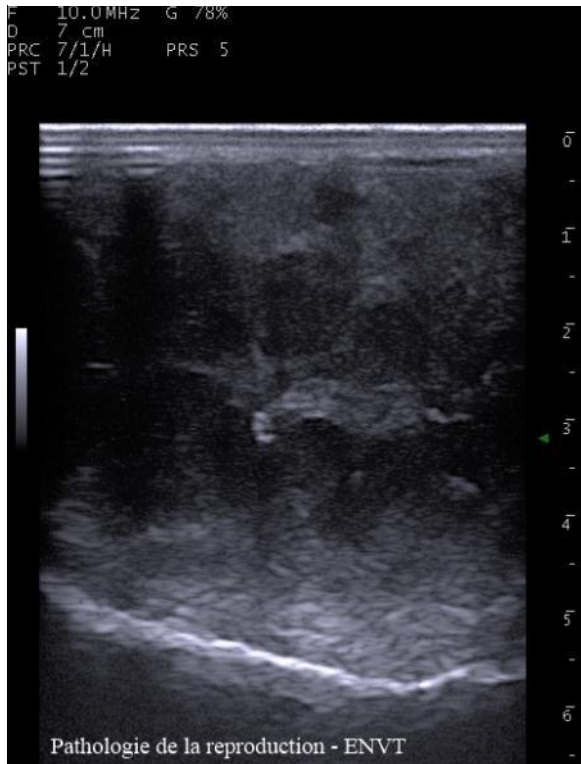
Photographie 7 : Vue crâniale du scrotum d'un bélier présentant une dissymétrie des testicules avec atrophie du testicule gauche



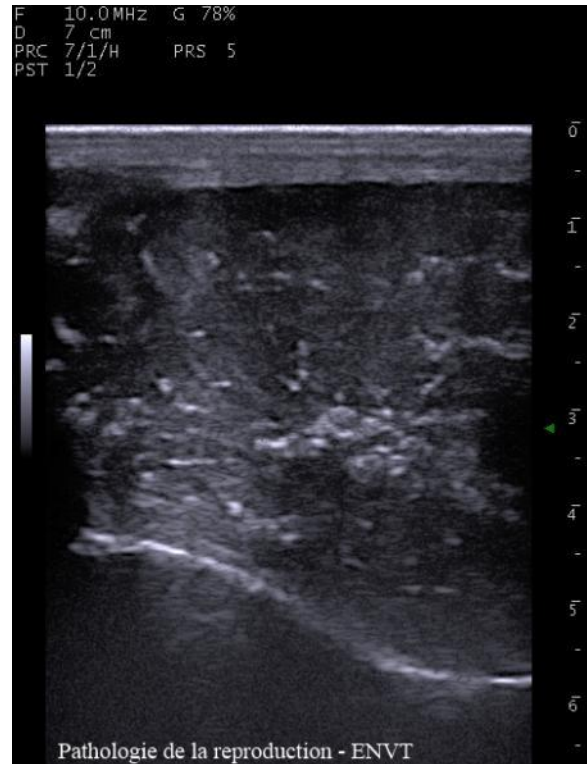
Photographie 8 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule sain



Photographie 9 : Images échographiques d'une coupe longitudinale de testicule montrant plusieurs stades de dégénérescence testiculaire

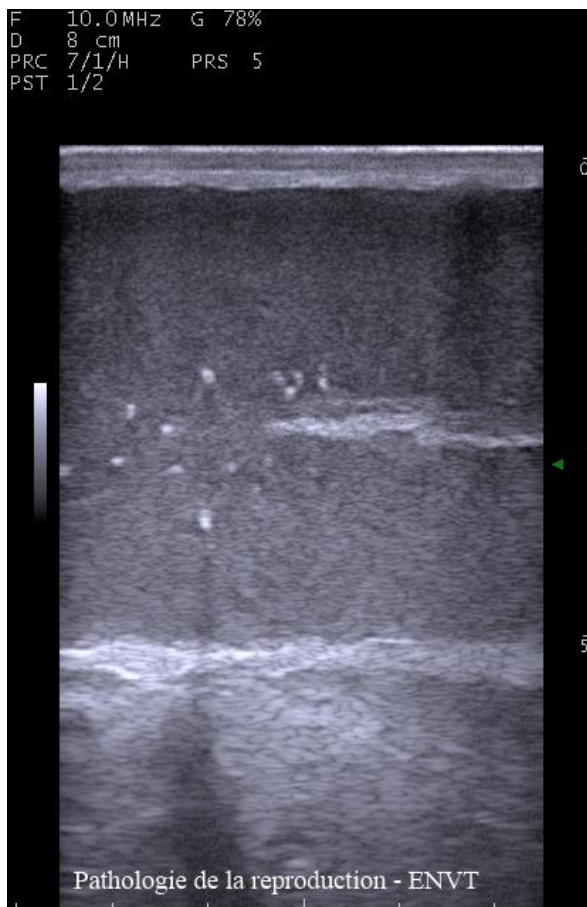


La largeur du testicule est de 5 cm et le parenchyme est très hétérogène, avec une perte de structure marquée.

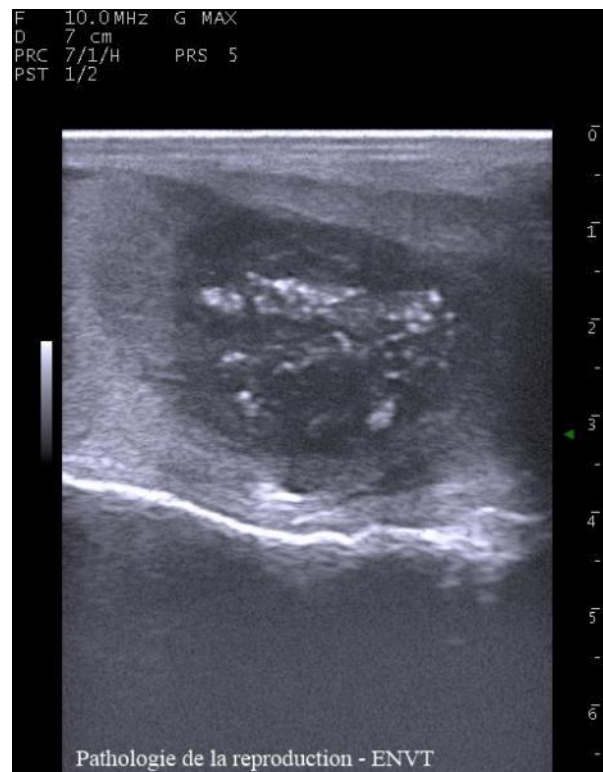


Parenchyme testiculaire très hétérogène présentant de nombreuses zones de calcifications hyperéchogènes.

Photographie 10 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule présentant quelques calcifications



Photographie 11 : Image échographique d'une coupe longitudinale de testicule présentant un abcès de 3 cm de diamètre



Lésions du scrotum et du fourreau :

L'examen du scrotum a révélé chez quelques béliers une hyperkératose (Photographie 12), qui siégeait le plus souvent en partie ventrale. Des abcès et des kystes ont également été mis en évidence (Photographie 13). Enfin, un bélier était atteint de balanoposthite.

Photographie 12 : Vue caudale du scrotum présentant une hyperkératose



Photographie 13 : Image échographique de nodules sur le scrotum, apparaissant anéchogènes



Il est important de noter que seules les lésions visibles ou palpables ont pu être mises en évidence. En effet, pour des contraintes de temps, l'échographie n'a été effectuée que sur 80 béliers, après détection préalable d'une lésion à la palpation. Il est donc possible que certains béliers considérés comme sains aient présenté des lésions non détectables à la palpation. En effet, dans une étude portant sur 2 281 béliers, Watt (1978) avait constaté que certaines lésions n'étaient pas mises en évidence par palpation du scrotum. Ces lésions étaient toutefois limitées (adhérences bénignes sur 342 béliers, calcifications sur 317 béliers et kystes congénitaux de la tête de l'épididyme sur 136 béliers).

Notre étude a mis en évidence une prédominance des lésions sur la queue de l'épididyme (49 béliers sur 71 présentant des lésions de l'appareil génital externe). Ce schéma lésionnel est en accord avec les lésions observées après une infection expérimentale de neuf béliers par *B. ovis* (Carvalho Júnior et al., 2012), caractérisée par une augmentation du volume et de la consistance de l'épididyme chez six béliers et la présence de nodules au niveau de la queue de l'épididyme chez deux béliers.

Lors des examens, nous avons également détecté chez certains individus une augmentation de la consistance des testicules, qui peut correspondre à de la fibrose ou à la présence d'un abcès

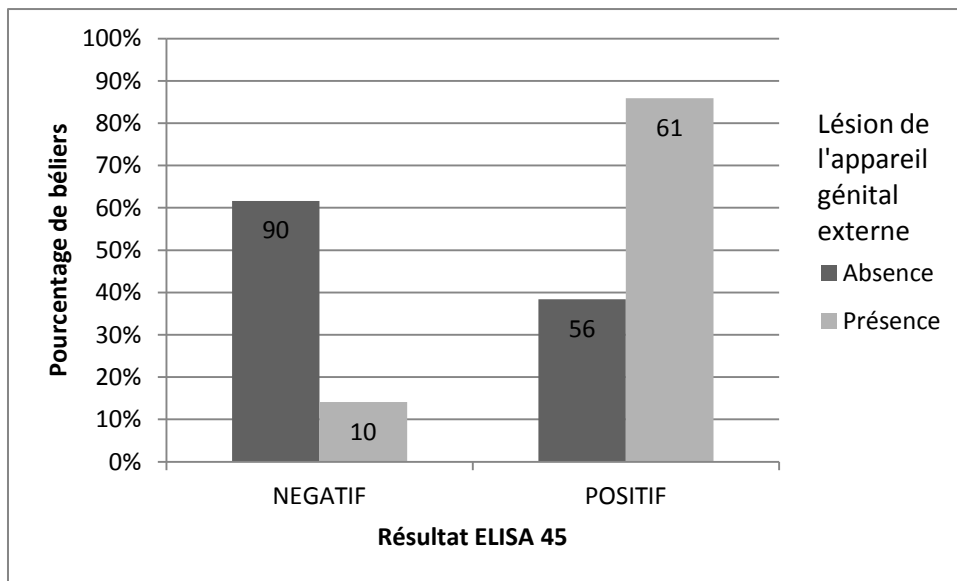
par exemple. La différence s'est faite sur la base de l'échographie, la fibrose apparaissant sous forme de foyers hyperéchogènes (Kastelic et al., 2012). Il est à noter que des lésions de calcification sans conséquence pathologique ont été décrites chez le taureau (Barth et al., 2008). Cette fibrose apparaît sous forme de foyers hyperéchogènes plus ou moins étendus. La plupart des lésions s'étendent depuis le *rete testis* vers la périphérie du parenchyme testiculaire. Dans certains cas, des lésions isolées sont trouvées dans le parenchyme sans atteindre le *rete testis*. Ces lésions augmentent avec l'âge, et si elles restent limitées, elles n'ont pas de répercussion sur la qualité de la semence. Des lésions similaires de calcification ont été décrites chez le bélier (Watt, 1978), et n'étaient pas détectables par palpation. Pour la plupart des béliers, l'atteinte était limitée à de faibles parties du parenchyme. Par contre, des lésions macroscopiques plus sévères (en particulier l'atrophie testiculaire) s'accompagnaient souvent de calcifications.

Ces calcifications du parenchyme testiculaire ont également été décrites chez le bouc. Des examens histologiques effectués sur les testicules de 5 boucs atteints ont permis de proposer un processus physiopathologique (Guillot, 2002) : l'origine de la lésion est une stase spermatique dans la lumière de certains tubes séminifères, possiblement due à l'existence de canaux borgnes au sein du parenchyme testiculaire. Cette stase est suivie de la mort des cellules accumulées et d'une calcification progressive. Suite à cela, le tube séminifère atteint dégénère et son épithélium germinale disparaît.

2.3.2 Lésions de l'appareil génital des béliers en fonction du statut sérologique

La répartition des béliers avec et sans lésion de l'appareil génital externe en fonction du résultat du test ELISA est présentée sur la figure 4.

Figure 4 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction du statut sérologique du bélier vis-à-vis de *B. ovis*, établi par ELISA



Les béliers ont été séparés en deux catégories en fonction de la présence ou de l'absence de lésions de l'appareil génital. Pour chaque catégorie, le pourcentage de béliers séropositifs vis-à-vis de *B. ovis* a été calculé. Le nombre de béliers de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme. Le test de χ^2 met en évidence un effet significatif du statut sérologique sur la présence de lésions de l'appareil génital.

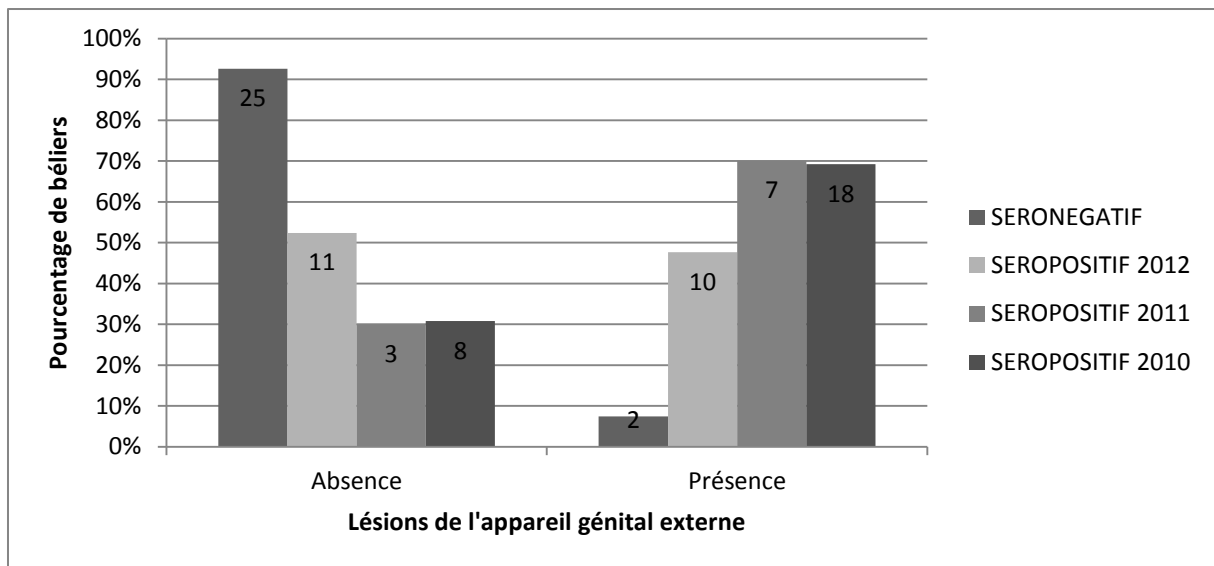
On constate que les béliers sans lésion détectable de l'appareil génital externe sont en majorité (61,6%) négatifs au test ELISA c'est-à-dire non infecté par *B. ovis*. Inversement, et de façon plus marquée, les béliers présentant des lésions de l'appareil génital externe sont en très grande majorité (85,2%) séropositifs vis-à-vis de *B. ovis*. Ainsi, les béliers infectés par *B. ovis* ont significativement plus de lésions de l'appareil génital que les béliers sains. En d'autres termes, si on détecte des lésions de l'appareil génital, il y a donc une forte probabilité pour que le bélier soit infecté par *B. ovis*.

Cette relation est en accord avec ce qui a été décrit dans la littérature. Des lésions de l'appareil génital externe (augmentation de la taille et de la consistance de l'épididyme, nodules sur la queue de l'épididyme) ont été détectées sur des béliers infectés expérimentalement par *B. ovis* (Carvalho Júnior et al., 2012).

2.3.3 Lésion de l'appareil génital en fonction de l'ancienneté de l'infection par *B. ovis*

Certains béliers ont été testés par sérologie ELISA vis-à-vis de *B. ovis* depuis 3 campagnes. L'absence ou la présence de lésions de l'appareil génital a été évaluée pour les quatre catégories suivantes : béliers séronégatifs, séropositifs en 2010, en 2011 ou en 2012 (Figure 5).

Figure 5 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et de l'année d'infection

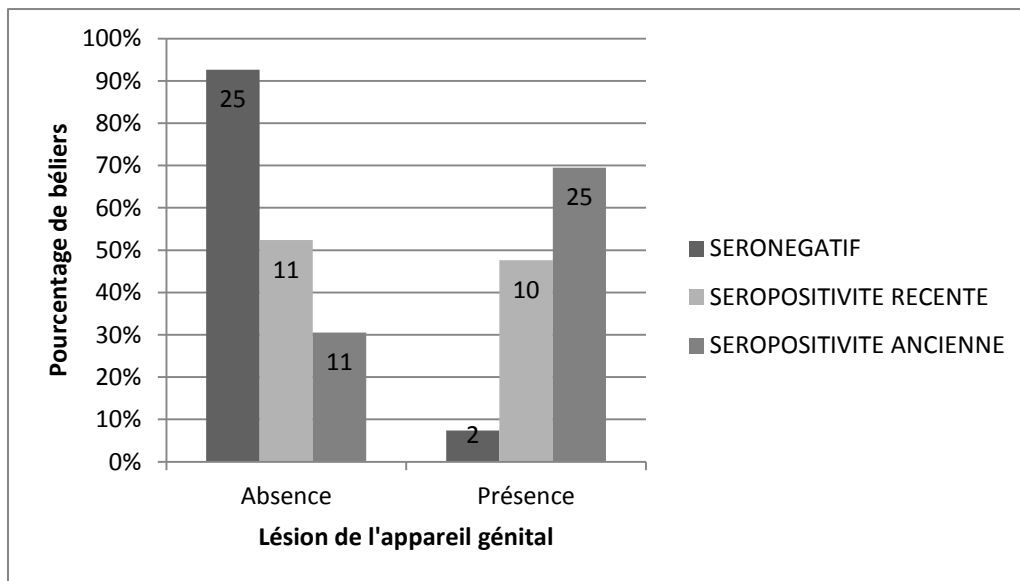


Les béliers ont été divisés en quatre catégories selon leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* : séronégatifs, séropositifs en 2010, 2011 et 2012. Pour chaque catégorie, le pourcentage de béliers avec des lésions de l'appareil génital a été calculé. Le nombre de bélier de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme. Le test de χ^2 met en évidence un effet significatif de l'année d'infection sur l'existence de lésions.

92,6% des béliers séronégatifs n'ont pas de lésion de l'appareil génital. Cette proportion diminue nettement pour les béliers séropositifs en 2012 : ils ne sont plus que 52,4% à être indemnes de lésion. En 2011 et 2010, environ 30% des béliers sont sans lésion. Les béliers séropositifs depuis plusieurs années semblent donc développer davantage de lésions que les animaux dont la séroconversion est récente.

Dans un deuxième temps, les deux catégories « séropositif en 2010 et en 2011 » ont été regroupées afin de comparer les béliers séronégatifs, les béliers dont la séroconversion est récente (en 2012) et ceux dont elle est plus ancienne (2011 et 2010) (Figure 6).

Figure 6 : Absence ou présence de lésions de l'appareil génital externe en fonction de l'ancienneté de l'infection par *B. ovis*



Les béliers ont été divisés en trois catégories selon leurs résultats sérologiques : séronégatifs, séropositivité récente (c'est-à-dire en 2012) et séropositivité ancienne (c'est-à-dire en 2011 ou 2012). Pour chaque catégorie, le pourcentage de béliers avec des lésions de l'appareil génital a été calculé. Le nombre de bélier de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme. Le test de χ^2 met en évidence un effet significatif de l'ancienneté de l'infection sur l'existence de lésions.

47,6% des béliers infectés récemment ont des lésions de l'appareil génital. La proportion de béliers atteints augmente et passe à 69,4% pour les animaux infectés depuis plusieurs années. Il semble donc que des lésions se développent au cours du temps et deviennent palpables. Ces lésions, une fois formées, sont probablement irréversibles.

On peut donc établir un lien entre la présence de lésions de l'appareil génital externe et l'infection par *B. ovis*. La palpation de l'appareil génital externe apparaît donc comme une méthode incontournable pour détecter les béliers infectés et décider de leur réforme.

L'interprétation de ces résultats est toutefois limitée en raison du faible nombre de béliers dans chaque catégorie. En effet, les béliers qui ont pu être infectés en 2010 et en 2011 sont des béliers plus âgés et qui ont donc pu être réformés depuis, notamment en raison de la présence de lésions de l'appareil génital.

2.4 Circonférence scrotale en fonction du statut sérologique

La moyenne, l'écart-type et la médiane de la circonférence scrotale selon le statut infecté ou non par *B. ovis* sont présentées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Circonférence scrotale (en centimètres) selon le statut sérologique des béliers vis-à-vis de *B. ovis*

	ELISA 45	
	Positif	Négatif
Moyenne \pm écart-type	37,0 \pm 3,7	35,7 \pm 3,5
Médiane	37	35,5
Etendue	[26 ; 46]	[28 ; 42]

Le test de comparaison de moyennes met en évidence une différence significative de la valeur moyenne de circonférence scrotale entre les béliers séropositifs et séronégatifs.

La moyenne de la circonférence scrotale des individus sains ou infectés est de 35,7 \pm 3,5 cm et de 37,0 \pm 3,7 cm respectivement. Bien que cette différence soit significative, les deux valeurs moyennes correspondent à des valeurs de circonférence scrotale satisfaisante chez le bélier. Il semble donc plus intéressant de travailler avec des catégories plutôt qu'avec une valeur moyenne. Les béliers ont été classés en quatre catégories selon leur circonférence scrotale : très bon, bon, moyen et insuffisant. En raison du faible nombre d'individus à circonférence scrotale moyenne ou insuffisante, les catégories « moyenne » et « insuffisante » ont été regroupées dans la catégorie « mauvaise ».

Les seuils déterminant ces catégories sont différents selon l'âge du bélier et ont été présentés dans le tableau 4 et les résultats dans le tableau 17.

Tableau 17 : Répartition des béliers selon leur circonférence scrotale et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* (ELISA)

Circonférence scrotale	ELISA 45		Total
	Positif	Négatif	
Très bonne	39	23	62
Bonne	68	62	130
Mauvaise	7	13	20
Total	114	98	212

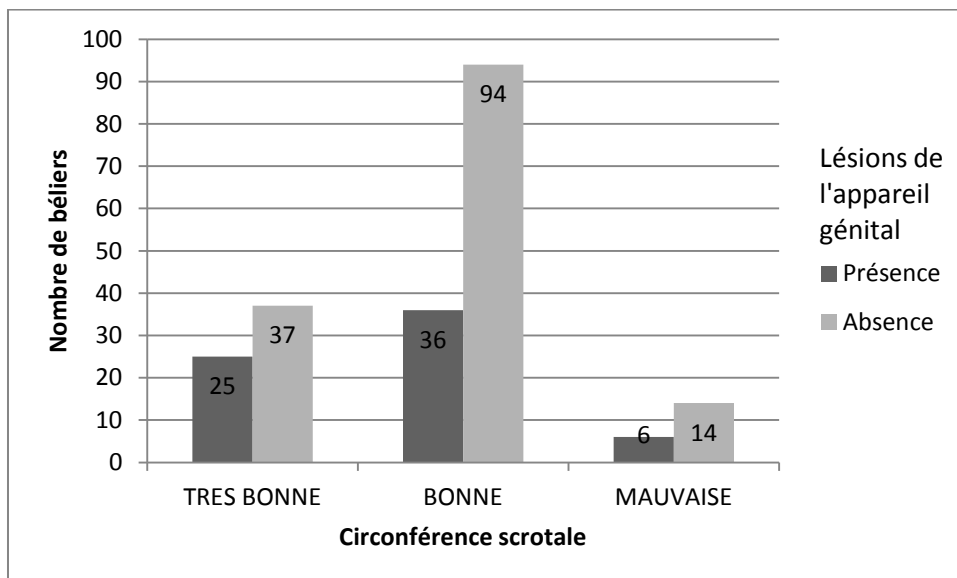
Nombre de béliers séropositifs et séronégatifs vis-à-vis de *B. ovis* pour chaque classe de circonférence scrotale : très bon, bon et mauvais (regroupe les catégories moyen et insuffisant). Le test de χ^2 ne met pas en évidence d'effet significatif de l'infection par *B. ovis* sur la circonférence scrotale.

La majorité des béliers (192 béliers soit 90,6%) ont une circonférence scrotale satisfaisante à très satisfaisante. Dans les catégories « très bon » et « bon » le nombre de béliers séropositifs est supérieur au nombre de béliers séronégatifs (respectivement 39 et 68 pour les béliers séropositifs et 23 et 62 pour les béliers séronégatifs). La catégorie « mauvaise » présente un faible nombre de béliers mais on retrouve davantage de béliers séronégatifs (13 versus 7

béliers). Toutefois, le test de χ^2 ne met pas en évidence d'effet significatif de l'infection par *B. ovis* sur la circonférence scrotale.

La circonférence scrotale est considérée comme un indicateur de la fertilité du bélier. Cependant, la présence de lésions testiculaires interfère avec la circonférence scrotale. En effet, si une lésion est détectée à l'inspection ou à la palpation, alors la circonférence scrotale n'est plus informative : certaines affections (abcès, tumeurs, nodules, orchite...) entraînent une augmentation artéfactuelle de ce paramètre qui n'est alors plus corrélé avec le volume ou le fonctionnement testiculaire (Philizot, 2005). Il est donc intéressant de regarder le nombre de béliers possédant une lésion au niveau de l'appareil génital externe par catégorie de circonférence scrotale. (Figure 7).

Figure 7 : Répartition des béliers selon leur circonférence scrotale et la présence ou non de lésion de l'appareil génital externe



On constate que la plupart des béliers présentant une lésion de l'appareil génital externe sont dans les catégories bon et très bon (61 béliers soit 91% des béliers avec des lésions de l'appareil génital) mais cette différence n'est pas significative. L'utilisation de seuils standards, établis pour des animaux sans lésion n'est donc pas adaptée pour les béliers présentant des lésions testiculaires ou épидидymaires : la circonférence scrotale ne peut être utilisée seule comme indicateur de la fertilité des béliers dans notre étude.

La saison peut également avoir une influence sur la circonférence scrotale : celle-ci est maximale aux alentours du mois d'août et minimale vers le mois de février chez le bélier

(Mickelsen et al., 1982). Dans notre étude, cette mesure a été ponctuelle et a été effectuée en septembre, soit au moment où la circonférence scrotale est maximale.

2.5 Qualité du sperme

Pour évaluer la qualité du sperme, trois critères ont été considérés : la motilité individuelle, le nombre de spermatozoïdes et le pourcentage de spermatozoïdes anormaux. Les valeurs moyennes de ces résultats et de la motilité massale sont regroupées dans le tableau 18.

Tableau 18 : Différents paramètres de qualité du sperme

	Moyenne \pm écart-type	Médiane	Etendue	Norme
Spermatozoïdes / éjaculat ($\cdot 10^9$)	$1,8 \pm 1,3$	1,8	[0,0 ; 5,5]	$> 1,2$
Motilité massale	$2,5 \pm 1,5$	3	[0 ; 5]	> 2
Motilité individuelle (%)	$49 \pm 30,0$	55	[0 ; 90]	> 40
Spermatozoïdes anormaux (%)	$21,4 \pm 20,9$	13,1	[0,0 ; 90,0]	< 20

En moyenne, un éjaculat contenait $1,8 \pm 1,3$ milliards de spermatozoïdes, avec une valeur maximale de 5,5 milliards. La motilité massale, notée sur une échelle de 0 à 5 est de $2,5 \pm 1,5$ en moyenne pour l'ensemble des béliers. La motilité individuelle, exprimée en pourcentage de spermatozoïdes fléchants, est de $49 \pm 30\%$ pour l'ensemble de l'effectif étudié. Elle s'étend de 0% pour les semences ne contenant pas de spermatozoïdes ou uniquement des spermatozoïdes immobiles jusqu'à 90% pour les meilleurs échantillons. Enfin, le dernier paramètre étudié est le pourcentage de spermatozoïdes anormaux. Celui-ci était de $21,4 \pm 20,9\%$ en moyenne.

2.5.1 Motilité individuelle

La valeur moyenne de motilité individuelle des éjaculats des béliers infectés ou non par *B. ovis* et présentant ou non des lésions de l'appareil génital est indiquée dans le tableau 19.

Tableau 19: Motilité individuelle moyenne (\pm écart-type) en fonction du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et des lésions de l'appareil génital externe

Résultat ELISA 45	Lésions de l'appareil génital externe		Total
	Présence	Absence	
Positif	27,8 \pm 30	41,1 \pm 27,5	34,2 \pm 29,5
Négatif	54,5 \pm 28,4	67,3 \pm 18,2	66,0 \pm 19,7
Total	31,5 \pm 31	57,3 \pm 25,6	48,8 \pm 30,0

Le test de comparaison de moyennes met en évidence une différence significative de la valeur moyenne de motilité des spermatozoïdes entre les béliers séropositifs et séronégatifs d'une part, et entre les béliers présentant ou non des lésions de l'appareil génital d'autre part.

La motilité individuelle moyenne est significativement plus faible chez les béliers séropositifs (34,2%) que chez les béliers séronégatifs (66%). Il en est de même en ce qui concerne les lésions de l'appareil génital : les spermatozoïdes des béliers avec des lésions ont une motilité significativement inférieure (31,5% en présence de lésion versus 57,3% pour les béliers sains).

Pour les béliers infectés par *B. ovis* et pour ceux présentant des lésions de l'appareil génital, la motilité individuelle moyenne est bien en-dessous de 40 à 50%, valeur qui sépare les bons éjaculats des mauvais (Boundy, 1998 – Kimberling et al., 1997). Toutefois, les valeurs de motilité individuelle sont très variables.

Une baisse de motilité chez les béliers infectés par *B. ovis* a été mise en évidence par Kott et coll. (1988) : les béliers excréant (excrétion mise en évidence par culture bactérienne) *B. ovis* dans leur semence et donc considérés comme infectés par la bactérie avaient une motilité individuelle significativement plus faible que les béliers non infectés. Mais dans les deux cas, la motilité moyenne était plus élevée que celle de notre étude : 77,8% pour les béliers négatifs et 67,9% pour les béliers positifs.

2.5.2 Nombre de spermatozoïdes

Le tableau 20 présente le nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat selon le résultat du test ELISA et selon la présence ou non de lésion de l'appareil génital.

Tableau 20 : Nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat (\pm écart-type) en fonction du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* et des lésions de l'appareil génital

Résultat ELISA 45	Lésions de l'appareil génital externe		Total
	Présence	Absence	
Positif	0,90 \pm 1,02	1,66 \pm 1,24	1,27 \pm 1,19
Négatif	1,61 \pm 1,24	2,44 \pm 1,21	2,36 \pm 1,23
Total	1,00 \pm 1,07	2,14 \pm 1,28	1,78 \pm 1,32

L'analyse de variance met en évidence un effet du statut sérologique et des lésions de l'appareil génital sur le nombre moyen de spermatozoïdes par éjaculat.

Un éjaculat de bélier séronégatif contient en moyenne 2,36 milliards spermatozoïdes alors que celui d'un bélier séropositif n'en contient que 1,27 milliards. Cette différence est significative.

De même, la moyenne du nombre de spermatozoïdes par éjaculat chez les béliers où une lésion génitale a été détectée par palpation est significativement plus faible que chez les béliers cliniquement sains ($1,00 \cdot 10^9$ et $2,14 \cdot 10^9$ respectivement).

Quel que soit le statut sérologique, la présence de lésions de l'appareil génital entraîne une diminution du nombre de spermatozoïdes, et quel que soit le statut clinique, la séropositivité vis-à-vis de *B. ovis* entraîne également une diminution du nombre de spermatozoïdes.

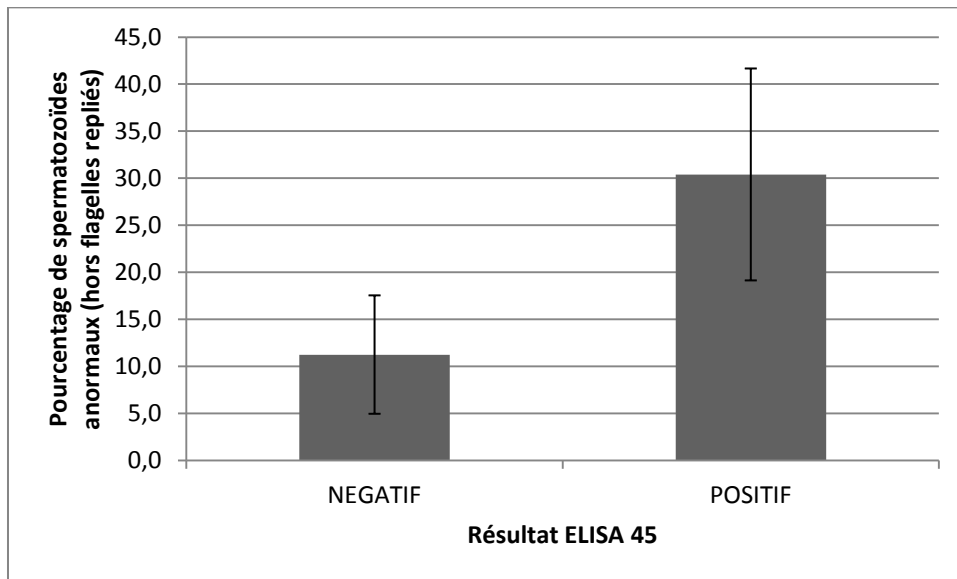
2.5.3 Anomalies des spermatozoïdes

Lors de l'examen de la semence, plusieurs anomalies ont été observées :

- Des anomalies de la tête : tête « seule » (absence de flagelle), tête « pointue » (regroupant toutes les têtes avec une forme anormale)
- Des anomalies du flagelle : replié (non comptabilisé, cf. infra), enroulé, cassé ou seul (absence de tête)
- La persistance d'une gouttelette proximale ou distale
- La présence d'autres cellules

Le pourcentage moyen de spermatozoïdes anormaux en fonction du résultat du test ELISA est présenté sur la figure 8.

Figure 8 : Pourcentage moyen de spermatozoïdes anormaux en fonction de l'infection par *B. ovis*



Le test de comparaison de moyennes met en évidence une différence significative du pourcentage moyen de spermatozoïdes anormaux par éjaculat entre les béliers séropositifs et séronégatifs.

Le pourcentage de spermatozoïdes anormaux est significativement plus élevé chez les béliers séropositifs comparativement aux béliers séronégatifs (30,4 % \pm 22,5 contre 11,2 % \pm 12,6).

Dans notre étude, nous avons dans un premier temps constaté un nombre élevé de spermatozoïdes dont le flagelle était replié. Or, il a été mis en évidence que la coloration des spermatozoïdes utilisée entraîne un nombre anormalement élevé de flagelles repliés. C'est la raison pour laquelle cette anomalie n'a pas été comptabilisée dans le pourcentage total des anomalies.

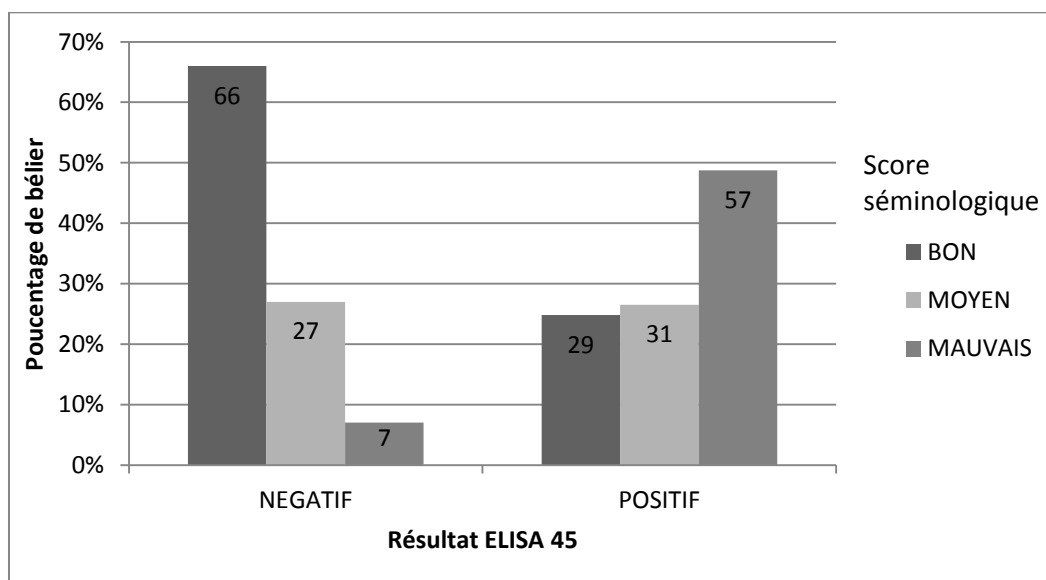
En accord avec nos résultats, le pourcentage de spermatozoïdes anormaux était significativement augmenté 30 jours après une infection expérimentale par *B. ovis* et est resté élevé pendant au moins 180 jours (Carvalho Júnior et al., 2012). Dans cette même étude, une corrélation négative a été mise en évidence entre le pourcentage de spermatozoïdes anormaux et la motilité et la concentration en spermatozoïdes. Par ailleurs, des béliers infectés (isolement de *B. ovis* en culture) avaient plus de spermatozoïdes anormaux que les béliers qui n'excrétaient pas *B. ovis* dans leur semence (15,86% et 9,00% respectivement) (Kott et al., 1988). Enfin, dans un troupeau indemne de *B. ovis*, les béliers présentaient en moyenne plus de spermatozoïdes normaux que ceux d'un troupeau infecté (respectivement 86,5% et 55,5%) et les têtes sans flagelles étaient en moyenne beaucoup plus nombreuses chez les béliers infectés (25,5% contre 6,9%) (Kimberling et al., 1997).

2.5.4 Classification séminologique

Pris individuellement, les paramètres séminologiques (motilité, nombre de spermatozoïdes et pourcentage de spermatozoïdes anormaux), étaient dégradés pour les animaux séropositifs vis-à-vis de *B. ovis* (donc étant ou ayant été infectés) par rapport aux animaux séronégatifs. Il est toutefois plus intéressant d'étudier un paramètre plus global qui reflète la qualité de la semence.

Les béliers sont classés selon la qualité globale de leur semence (évaluée par le score séminologique décrit en 1.4.3) : bonne, moyenne et mauvaise (Figure 9), et en fonction de leur statut sérologique (ELISA vis-à-vis de *B. ovis*).

Figure 9 : Répartition des béliers selon le score séminologique et leur statut sérologique (ELISA) vis-à-vis de *B. ovis*



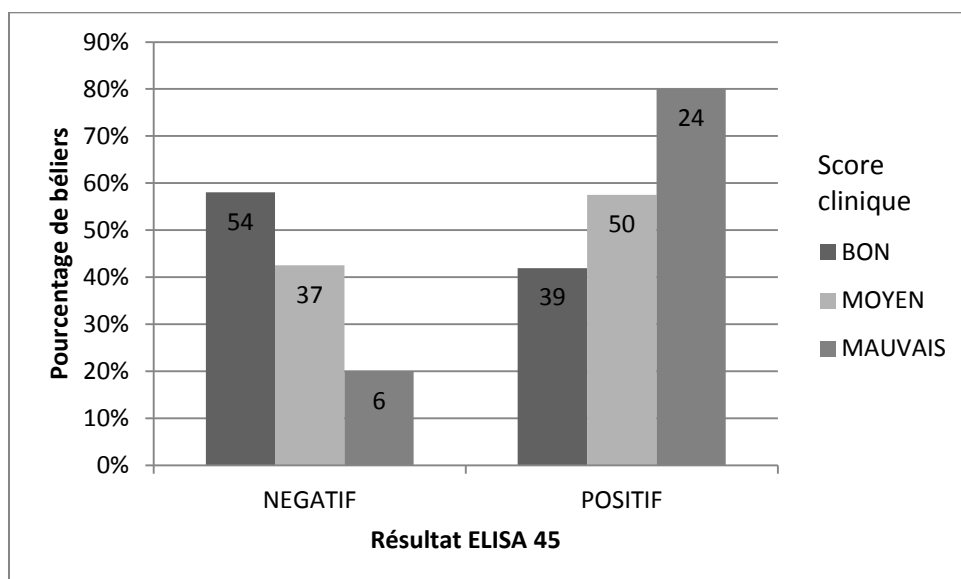
Les béliers ont été classés en trois catégories selon la qualité de leur semence : bon, moyen et mauvais. Pour chaque catégorie, ils sont répartis selon leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis*. Le nombre de béliers de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme.

Les béliers séronégatifs ont en majorité (66%) une semence de bonne qualité et très peu (7%) d'animaux ont une semence de mauvaise qualité. Au contraire, les béliers séropositifs ont pour la plupart (48,7%) une semence de mauvaise qualité : seulement 24,8% d'entre eux produisent une semence de bonne qualité. Cela peut peut-être s'expliquer par des lésions modérées ou unilatérales, les zones saines étant suffisantes pour produire une semence de qualité. Par ailleurs, l'infection a peut-être été transitoire chez certains béliers qui sont restés séropositifs (Ridler et al., 2011). Ainsi, en l'absence de lésion, la dégradation de la qualité de la semence est plus limitée et difficile à objectiver.

2.6 Score clinique

Le score clinique est fondé sur quatre critères : l'âge, la note d'état corporel, la circonférence scrotale et la présence ou l'absence de lésion de l'appareil génital. La prise en compte de l'ensemble de ces paramètres a permis de classer les béliers dans une des trois catégories suivantes : « mauvais », « moyen » et « bon ». La répartition des béliers dans ces trois classes selon leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* est présentée sur la figure 10.

Figure 10: Répartition des béliers selon le score clinique et leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis*



Les béliers ont été classés selon un score clinique en trois catégories : bon, moyen et mauvais. Pour chaque catégorie, les béliers sont répartis selon le résultat du test ELISA. Le nombre de béliers de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme.

La majorité (58,06%) des béliers dont le score clinique est bon sont séronégatifs vis-à-vis de *B. ovis*. Inversement, 80% des béliers dont le score clinique est mauvais sont séropositifs.

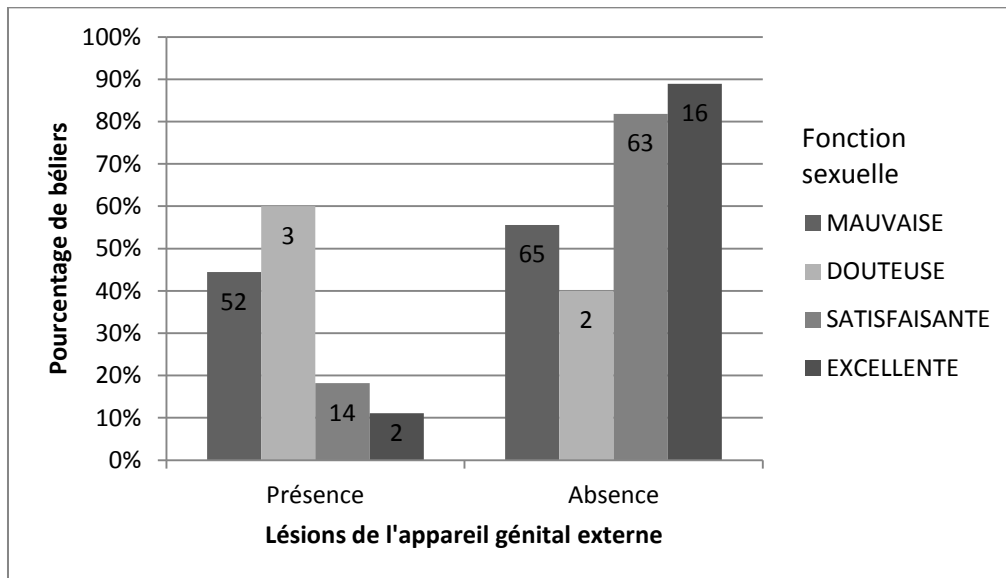
2.7 Fonction sexuelle

La détermination de la fonction sexuelle de chaque bélier s'est appuyée sur trois critères : la circonférence scrotale, la motilité individuelle et le pourcentage de spermatozoïdes normaux. Les béliers ont été classés dans quatre catégories en fonction de leurs résultats : fonction sexuelle excellente, satisfaisante, douteuse et mauvaise. Nous avons évalué l'effet de la présence ou l'absence de lésions palpables sur l'appareil génital et du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* sur la fonction sexuelle du bélier.

2.7.1 Effet des lésions de l'appareil génital externe sur la fonction sexuelle des béliers

La figure 11 illustre la répartition des béliers de chaque « catégorie » de fonction sexuelle selon l'absence ou la présence de lésion de l'appareil génital.

Figure 11 : Effet de la présence ou l'absence de lésions de l'appareil génital sur la fonction sexuelle des béliers



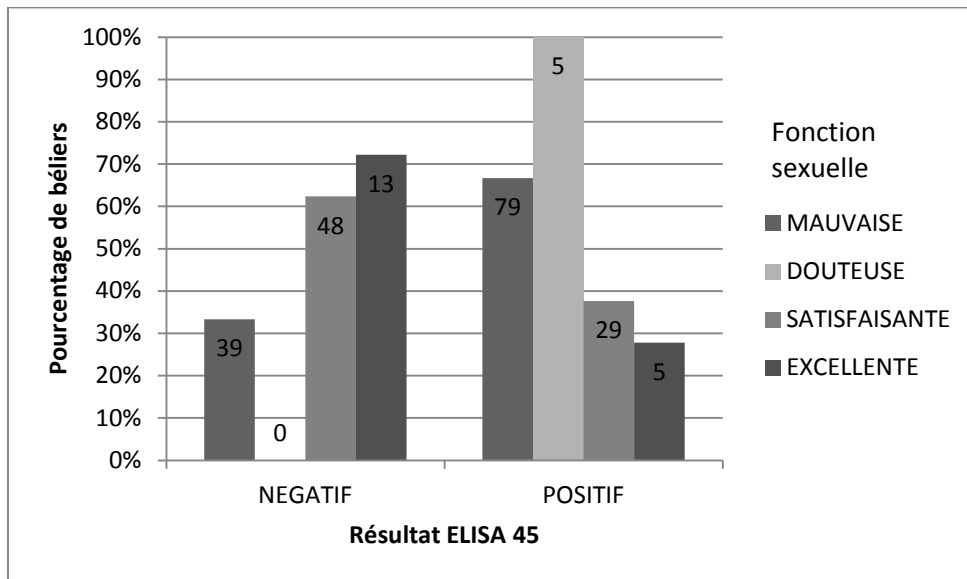
Les béliers ont été classés en quatre catégories selon leur fonction sexuelle : excellente, satisfaisante, douteuse et mauvaise. Pour chaque catégorie, les béliers sont répartis en fonction de la présence ou de l'absence de lésions de l'appareil génital. Le nombre de béliers de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme. Le test de χ^2 met en évidence un effet des lésions de l'appareil génital sur la fonction sexuelle des béliers.

Les béliers dont la fonction sexuelle est excellente ou satisfaisante sont quasi exclusivement des béliers ne présentant pas de lésion palpable de l'appareil génital externe (88,9% des béliers excellents et 81,8% des béliers satisfaisants). Par contre, on retrouve sensiblement le même pourcentage de béliers dont la fonction sexuelle est mauvaise à douteuse en cas de présence ou d'absence de lésion. L'absence de lésion ne garantit donc pas une fonction sexuelle correcte. En revanche, pour qu'un bélier soit potentiellement un bon reproducteur, il doit être exempt de lésion. Cela est cohérent avec les résultats précédents qui mettaient en évidence une dégradation de la qualité séminologique chez les béliers présentant des lésions.

2.7.2 Effet du statut sanitaire vis-à-vis de *B. ovis* sur la fonction sexuelle des béliers

La figure 12 présente la relation entre l'infection par *B. ovis* et la fonction sexuelle des béliers.

Figure 12 : Effet du statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis* sur la fonction sexuelle des béliers



Les béliers ont été classés en quatre catégories selon leur fonction sexuelle : excellente, satisfaisante, douteuse et mauvaise. Pour chaque catégorie, les béliers sont répartis en fonction de leur statut sérologique vis-à-vis de *B. ovis*. Le nombre de béliers de chaque catégorie est indiqué pour chaque histogramme. Le test de χ^2 met en évidence un effet du résultat du test ELISA sur la fonction sexuelle des béliers.

La figure 12 permet de constater que la fonction sexuelle est meilleure pour les béliers séronégatifs. En effet, seulement 33,3% des béliers « mauvais » sont séronégatifs, alors que le pourcentage atteint 62,3% pour les béliers « satisfaisants » et 72,2% pour les béliers « excellents ». Ainsi, la séropositivité vis-à-vis de *B. ovis* a un effet négatif sur la fonction sexuelle.

2.7.3 Facteurs de variation de la fonction sexuelle chez les béliers séronégatifs vis-à-vis de *B. ovis*

Sur les 217 béliers examinés dans notre étude, 39 béliers séronégatifs (dont 33 béliers sans lésion palpable de l'appareil génital) n'avaient pas une fonction sexuelle satisfaisante. Nous avons donc évalué l'effet de la note d'état corporel et de l'âge des animaux sur la fonction sexuelle des béliers séronégatifs et sans lésion de l'appareil génital (Tableau 21).

Tableau 21 : Répartition des béliers séronégatifs vis-à-vis de *B. ovis* en fonction de leur fonction sexuelle, de l'âge et de la NEC

		Fonction sexuelle												Total
		Mauvaise				Satisfaisante				Excellente				
		Age			Total	Age			Total	Age			Total	
		1	2 - 4	≥ 5		1	2 - 4	≥ 5		1	2 - 4	≥ 5		
NEC	< 2	2	6	2	10	2	7	4	13	0	0	1	1	24
	> 3	3	1	0	4	2	1	1	4	0	1	0	1	9
	2 - 3	1	16	1	18	6	16	5	27	0	9	2	11	56
Total		6	23	3	32	10	24	10	44	0	10	3	13	89

Sur les 13 béliers dont la fonction sexuelle est excellente, 11 ont une note d'état corporel correcte. Cette tendance s'observe également pour les béliers « satisfaisants » (27 béliers sur 44 ont une NEC comprise entre 2 et 3). Pour les béliers « mauvais », la proportion de béliers maigres augmente (10/32).

Bien qu'il soit recommandé d'éviter d'avoir des béliers trop maigres ou au contraire trop gras pour la mise à la lutte (Ott et al., 1980) et qu'il est recommandé d'avoir une note d'état corporel comprise entre 2,5 et 3,5 au début de la saison de reproduction (Kimberling et al., 1997), il est difficile de mettre en évidence un effet significatif de la note d'état corporel sur la fonction sexuelle. Selon une étude menée sur plusieurs milliers de béliers aux Etats-Unis (Van Metre et al., 2012), seul le manque d'état a eu un effet négatif sur la fonction sexuelle, avec des paramètres séminologiques en-dessous des seuils acceptables. L'effet négatif d'un engraissement excessif n'est toutefois pas écarté : peut-être qu'il n'a pas pu être démontré en raison du faible nombre d'individus concernés et du caractère ponctuel de l'examen de la fonction sexuelle.

Il est également difficile de mettre en évidence un effet de l'âge. Quelle que soit la fonction sexuelle, les béliers entre 2 et 3 ans sont majoritaires (respectivement 23/32 soit 71,9%, 24/44 soit 54,5% et 10/13 soit 76,9% pour les béliers « mauvais », « satisfaisants » et « excellents »). Toutefois, aucun jeune bélier (maximum 1 an d'âge) n'a une fonction sexuelle excellente, car il n'a peut-être pas encore atteint sa maturité sexuelle.

L'effet de l'âge est donc difficile à mettre en évidence, peut-être à cause de la courbe des âges dans la population globale des béliers de cette étude, les béliers entre 2 et 3 ans étant les plus nombreux.

Toutefois, il a été montré que l'incidence des lésions testiculaires et l'incidence de l'infection par *B. ovis* augmentait avec l'âge (en lien avec l'expérience des animaux) (Ficapal et al., 1998) et que les béliers âgés sont plus susceptibles d'avoir contracté une affection chronique ou débilante, une blessure physique ou être moins fertiles (Van Metre et al., 2012). Cependant, si ces béliers âgés sont présents dans l'élevage, c'est qu'ils n'ont pas été l'objet d'une réforme donc qu'ils ne présentaient pas d'affection. Ceci serait toutefois à confirmer par l'étude des schémas de réforme des élevages concernés. Cependant, une étude avait mis en évidence un taux d'infection vis-à-vis de *B. ovis* (évalué par sérologie et bactériologie) plus faible des béliers âgés de moins de 2 ans ou de plus de 5 ans. L'hypothèse formulée était la moindre activité sexuelle de ces animaux (les jeunes béliers étant peu expérimentés et les plus âgés moins actifs) qui exposait donc moins ces animaux à une infection (Ficapal et al., 1998).

CONCLUSION GENERALE ET CONTROLE DE L'INFECTION PAR *BRUCELLA OVIS*

L'infection par *B. ovis* est responsable de l'apparition de lésions de l'appareil génital et d'une dégradation de la fonction sexuelle des béliers. Ces altérations ont été observées dans d'autres études (Carvalho Júnior et al., 2012, Ficapal et al., 1998, Kott et al., 1988). Par conséquent, on considère que l'infection d'un bélier par *B. ovis* le rend souvent subfertile voire infertile. Ainsi, selon la prévalence de l'infection et le ratio bélier / brebis, les conséquences peuvent se traduire par une diminution du taux de conception ou un allongement de la saison d'agnelage (Ridler et al, 2011) conduisant à des pertes économiques importantes qui justifient la mise en place d'un plan de contrôle de l'infection. Actuellement, la plupart des élevages de la région PACA disposent d'un assez grand nombre de béliers par rapport au nombre de brebis, si bien que les conséquences économiques de l'épididymite contagieuse ne sont pas appréhendées par les éleveurs. Cependant, si la prévalence de la maladie venait à augmenter davantage, le grand nombre de béliers pourrait ne plus être suffisant pour maintenir les performances de reproduction. En outre, les éleveurs achètent, dans les élevages des départements voisins, des béliers sains qui se contaminent probablement très vite après leur introduction dans le troupeau.

Avant de concevoir un plan de lutte, rappelons quelques données concernant l'épidémiologie de l'infection. Bien que pouvant causer des lésions de l'appareil génital, l'infection n'est généralement pas à l'origine de signes cliniques évidents (Ridler et al., 2011) et peut donc passer inaperçue. C'est d'ailleurs ce qu'il s'est passé en région PACA : l'arrêt de la vaccination a probablement été suivi par une augmentation du taux d'infection mais il a fallu attendre un dépistage sérologique sur des béliers de centre (et non sur des béliers suspectés d'être infectés) pour se rendre compte de la prévalence élevée. L'infection a donc pu se propager dans les cheptels de béliers sans alerter les éleveurs. Les conditions d'élevage des ovins dans la région PACA ont probablement joué un rôle. En effet, les troupeaux transhumants, ce qui conduit à des regroupements d'animaux provenant d'élevages différents, originaires de départements voire de régions différentes. Cette particularité sera d'ailleurs à prendre en compte dans les mesures de contrôle envisageables. Un bélier infecté peut excréter des bactéries dans la semence pendant 2 à 4 ans (Ridler et al., 2011), il peut donc contaminer de nombreux autres béliers au cours de sa vie. Ces béliers infectés chroniques sont cependant facilement détectables puisqu'ils restent positifs en sérologie (Burgess et al., 1982). Notons que les brebis sont généralement considérées comme des vecteurs de transmission

négligeables dans l'épidémiologie de la maladie. Elles peuvent toutefois constituer une source d'infection de bélier à bélier lors d'accouplements rapprochés (Ridler et al., 2011).

Les enquêtes sérologiques réalisées dans la région PACA ont montré une prévalence élevée de l'infection. Ce constat est à prendre en compte dans la gestion de l'épididymite contagieuse puisqu'il empêche, au moins dans un premier temps, le recours à une stratégie d'éradication et de prévention de la réinfection. En effet, cette approche consiste à tester les béliers (par palpation de l'appareil génital, sérologie et éventuellement bactériologie sur semence) et à abattre les animaux positifs. Or cette méthode peut s'avérer coûteuse quand la prévalence est élevée ou que la maladie est implantée depuis longtemps (Ridler et al., 2011), ce qui est le cas ici. Ces mesures sont souvent perçues comme radicales et sont donc mal acceptées des éleveurs. L'abattage total n'est donc pas une option adaptée à la situation de la région PACA.

La réforme sélective des béliers séropositifs vis-à-vis de *B. ovis* et/ou présentant des lésions de l'appareil génital est une piste intéressante car relativement facile à mettre en œuvre. En effet, nous avons vu que l'existence de lésions palpables de l'appareil génital entraînait une dégradation de la fonction sexuelle du bélier. Ce critère est donc pertinent pour orienter la réforme : un bélier peu fertile a moins de chances de féconder une brebis. Il peut en plus empêcher l'accouplement de celle-ci avec un bélier plus fertile s'il se trouve être dominant. Modifier le ratio bélier / brebis en augmentant le nombre de béliers, comme cela est parfois pratiqué aujourd'hui n'est donc pas une solution viable : des béliers sains introduits dans un milieu infecté se contaminent rapidement.

La réforme sélective des animaux cliniquement atteints peut être bénéfique pour améliorer les performances de reproduction. Mais elle apparaît peu efficace dans une démarche globale de contrôle de l'épididymite contagieuse (Ridler et al., 2011). L'option la plus appropriée consisterait donc, au moins dans un premier temps, à limiter les conséquences économiques de l'infection en ayant recours à la vaccination, en plus de la réforme sélective des béliers atteints.

La vaccination en vue du contrôle de l'épididymite contagieuse du bélier repose sur l'utilisation du vaccin Rev1 contenant une souche atténuée de *B. melitensis*. Ce vaccin a en effet montré son efficacité dans la prévention du développement d'une infection (Blasco et al., 1987). La vaccination ne permet toutefois pas l'éradication de la maladie dans un troupeau : elle conduit à une diminution de l'incidence de la brucellose et à une réduction de ses conséquences économiques. De plus, elle entraîne la fabrication d'anticorps anti *B. ovis* et *B.*

melitensis, ce qui peut interférer avec le diagnostic sérologique (Ridler et al., 2011). Cette vaccination pose donc un problème réglementaire vis-à-vis de la brucellose. Depuis 2012, la vaccination des jeunes béliers avec le vaccin Rev1 pour la lutte contre l'épididymite contagieuse est autorisée dans le pays Basque. Car, si à la fin des années 1990, grâce à la vaccination des jeunes béliers au vaccin Rev1, le taux d'infection des troupeaux par *B. ovis* était d'environ 10% et celui des béliers de 3%, l'arrêt de cette vaccination a été suivi d'une augmentation de la prévalence d'infection qui a atteint environ 18% en 2005 (Anonyme, 2012). Pour les raisons évoquées plus haut, une prophylaxie sanitaire ne pouvait pas être envisagée. Une prophylaxie médicale a alors été mise en place. En 2012, la vaccination a finalement été autorisée selon les modalités suivantes. Le principe est de vacciner tous les jeunes béliers de 3 à 6 mois par voie conjonctivale. Cette vaccination ne doit cependant pas perdurer : elle doit permettre la mise en place d'une prophylaxie exclusivement sanitaire. Dans cette optique, des sondages réguliers seront réalisés afin de déterminer l'évolution des taux d'infection. Cette mesure est destinée à être temporaire, l'autorisation de vaccination accordée par l'Etat étant limitée dans le temps. Cette vaccination fait passer l'élevage du statut officiellement indemne à indemne vis-à-vis de la brucellose à *B. melitensis*, ce qui peut poser un problème réglementaire dans le cadre de la transhumance en région PACA. En effet, dans le pays Basque, la vaccination ne pose pas problème pour les troupeaux qui transhument dans le département des Pyrénées-Atlantiques mais ne peut être réalisée dans ceux transhumant dans les Hautes-Pyrénées. Or, dans la région PACA, les troupeaux transhumants changent souvent de département voire de région (avec des troupeaux qui transhument en Rhône-Alpes). La mise en place d'une vaccination devra donc s'accompagner d'aménagements de la réglementation.

La vaccination des béliers contre l'épididymite contagieuse est donc une mesure complexe à mettre en place et à appliquer. Elle doit nécessiter une forte motivation des acteurs de la filière ovine, en premier lieu des éleveurs, pour faire face aux contraintes réglementaires. Pour l'instant, les conclusions de cette étude relatives à la mise en place de mesures de lutte, présentées lors d'une réunion avec les éleveurs, n'ont pas soulevé un intérêt marqué. Mais on peut cependant espérer que si l'initiative basque porte ses fruits, elle facilitera la mise en place de mesures similaires dans la région PACA.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussignée, **Nicole HAGEN**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **TROUCHE Christel** intitulée « *Etude de la relation entre l'infection par *Brucella ovis* et la fonction sexuelle des béliers.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 25 octobre 2013
Professeure Nicole HAGEN
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

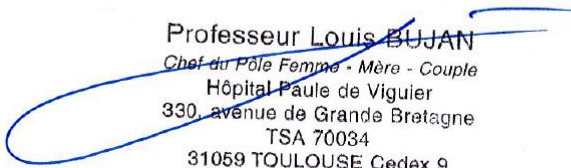


Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON



Vu :
Le Président du jury :
Professeur Louis BUJAN

Professeur Louis BUJAN
Chef du Pôle Femme - Mère - Couple
Hôpital Paule de Viguer
330, avenue de Grande Bretagne
TSA 70034
31059 TOULOUSE Cedex 9



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur Bertrand MONTHUBERT

Le Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation,
Le vice-Président du CEVU
Arnaud LE PADELLEC



Melle TROUCHE Christel
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

ANONYME (2012). Epididymite contagieuse du bélier (ECB) : en route pour la vaccination. In : *Assemblée générale 2012 du GDS Pyrénées-Atlantiques*

BARONE R (1990). Appareil génital mâle. In *Anatomie comparée des mammifères domestiques Tome 4 Splanchnologie II*. Paris : Vigot, p. 89-267.

BARTH AD, ALISION L, AVILES M, ARTEAGA AA, CAMPBELL JR, HENDRICK SH (2008). Fibrotic lesions in the testis of bulls and relationship to semen quality. *Animal Reproduction Science*, **106**, 274-288.

BLASCO JM, MARIN CM, BARBERAN M, MORIYON I, DIAZ R (1987). Immunization with *Brucella melitensis* Rev 1 against *Brucella ovis* infection of rams. *Veterinary microbiology*, **14**, 381-392.

BOUNDY T (1998). Collection and interpretation of ram semen under general practice conditions. In *Sheep and goat practice 2*. London : W.B. Saunders company Ltd, p. 19-31.

BRINDLEY GS (1981). Electroejaculation: its technique, neurological implications and uses. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, **44**, 9-18.

BURGESS GW, MCDONALD JW, NORRIS MJ (1982). Epidemiological studies on ovine brucellosis in selected ram flocks. *Australian veterinary journal*, **59**, 45-47.

CARVALHO JUNIOR C.A, MOUSTACAS V.S, XAVIER M.N, COSTA E.A, COSTA L.F, SILVA T.M.A, PAIXAO T.A, BORGES A.M, GOUVEIA A.M.G, SANTOS R.L (2012). Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. *Small Ruminant Research*, **102**, 213-222.

CUPPS P.T (1991). *Reproduction in domestic animals*. 4th edition. New York : Academic Press. 670 p. ISBN 0-12-196575-9

FENSTERBANK R, PARDON P, MARLY J (1982). The efficacy of *Brucella melitensis* Rev. 1 vaccine against *Brucella ovis* infection in rams. *Annales de recherches vétérinaires*, **13**, 185-190.

FICAPAL A, JORDANA J, BLASCO JM, MORIYON I (1998). Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. *Small Ruminant Research*, **29**, 13-19.

FOSTER RA, LADDS PW, BRIGGS GD, HOFFMANN D (1987). Pathology of the accessory sex glands of rams infected with *Brucella ovis*. *Australian veterinary journal*, **64**, 248-250.

GNEMMI G, LEFEBVRE R (2009). Anatomie et ultrasonographie de l'appareil reproducteur du taureau. In *Guide pratique d'échographie pour la reproduction des ruminants*. Paris : Med'com, p. 150-172.

GOULETSOU PG, AMIRIDIS GS, CRIPPS PJ, LAINAS T, DELIGIANNIS K, SARATSI P, FTHENAKIS GC (2003). Ultrasonographic appearance of clinically healthy testicles and epididymides of rams. *Theriogenology*, **59**, 1959-1972.

GREIG A (2000). Ram infertility. In *Diseases of sheep*. 3^o edition. London : Blackwell science, p. 65-70.

GUILLOT J (2002). La calcification testiculaire chez les boucs de centres d'insémination artificielle : étude clinique et répercussion sur la production de semence. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 113 p.

JUYENA NS, STELLETTA C (2012). Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *Journal of Andrology*, **33**, 536-551.

KASTELIC JP, COOK RB, PIERSON RA, COULTER GH (2001). Relationships among scrotal and testicular characteristics, sperm production, and seminal quality in 129 beef bulls. *Canadian Journal of Veterinary Research*, **65**, 111-115.

KASTELIC JP, BRITO LFC (2012). Ultrasonography for monitoring reproductive function in the bull. *Reproduction in Domestic Animals*, **47**, 45-51

KIMBERLING C.V, PARSONS G.A (1997). Breeding soundness evaluation and surgical sterilization of the ram. In *Current therapy in large animal Theriogenology*. London : W.B Saunders Compagny, p. 620-628

KOTT RW, HALVER GC, FIREHAMMER B, THOMAS VM (1988). Relationships between *Brucella ovis* semen culture and various semen and serology parameters. *Theriogenology*, **29**, 961-970.

MANTEROLA L, TEJERO-GARCES A, FICAPAL A, SHOPAYEVA G, BLASCO JM, MARIN CM, LOPEZ-GOÑI I (2003). Evaluation of a PCR test for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in semen samples from rams. *Veterinary Microbiology*, **92**, 65-72.

MICKELSEN WD, PAISLEY LG, DAHMEN JJ (1982). Seasonal variations in scrotal circumference, sperm quality, and sexual ability in rams. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **181**, 376-380.

OIE : Office International des Epizooties. Système Mondial d'information zoosanitaire [en ligne]. Disponible sur :

http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap/index/newlang/fr (consulté le 06.06.2013)

OTT R S, MEMON M A (1980). Breeding soundness examinations of rams and bucks, a review. *Theriogenology*, **13**, 155-164.

PHILIZOT S (2005). Intérêts et limites de la mesure de la circonférence scrotale pour évaluer la fonction sexuelle du taureau. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse 3, 117 p.

PRAUD A, CHAMPION J-L, CORDE Y, DRAPEAU A, MEYER L, GARIN-BASTUJI B (2012). Assessment of the diagnostic sensitivity and specificity of an indirect ELISA kit for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. *BMC Veterinary Research*, **8**, 68-74

QUINN JP, MARKEY BK, LEONARD FC, FITZPATRICK ES, FANNING S, HARTIGAN PJ (2011). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. 2nd edition. Oxford : Wiley-Blackwell. 912 p. ISBN 978-1-4051-5823-7.

RIDLER AL, WEST DM (2011). Control of *Brucella ovis* infection in sheep. *Veterinary Clinics of North America : Food Animal Practice*, **27**, 61-66.

SCOTT PR (2001). Health and production management in sheep flocks. In *Herd health : Food Animal Production Medicine*. 3rd edition. Philadelphia : WB Saunders Compagny, p. 765-844

SÖDERQUIST L, HULTEN F (2006). Normal values for the scrotal circumference in rams of Gotlandic breed. *Reproduction in Domestic Animals*, **41**, 61-62.

STIEVENART M (1997). L'électroéjaculation chez les mammifères. Revue bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon I, 119 p.

VAN METRE DC, RAO S, KIMBERLING CV, MORLEY PS (2012). Factors associated with failure in breeding soundness examination of Western USA rams. *Preventive Veterinary Medicine*, **105**, 118-126.

WATT DA (1978). Testicular pathology of Merino rams. *Australian veterinary journal*, **54**, 473-478.

WORTHINGTON RW, STEVENSON BJ, DE LISLE GW (1985). Serology and semen culture for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in chronically infected rams. *New Zealand veterinary journal*, **33**, 84-86.

NOM : TROUCHE

PRENOM : CHRISTEL

TITRE : ETUDE DE LA RELATION ENTRE L'INFECTION PAR BRUCELLA OVIS ET LA FONCTION SEXUELLE DES BELIERS

RESUME :

Une recrudescence de l'épididymite contagieuse à *B. ovis* dans la région PACA a été observée depuis l'arrêt de la vaccination contre *B. melitensis* en 2008. En 2011, un dépistage effectué sur 1302 élevages de la région a mis en évidence une forte proportion d'élevages infectés, surtout dans les Bouches-du-Rhône, où 53% des élevages testés possédaient au moins un bélier séropositif. Une étude a donc été initiée pour évaluer la relation entre l'infection par *B. ovis* et la fonction sexuelle des béliers. 217 béliers ont été testés par sérologie vis-à-vis de *B. ovis* et ont fait l'objet d'un examen de l'appareil génital externe. Un spermogramme a également été effectué sur chaque bélier après la récolte de sperme par électroéjaculation. Les béliers séropositifs présentent significativement plus de lésions de l'appareil génital et une dégradation de la qualité de la semence par rapport aux béliers séronégatifs. Un futur plan de lutte sanitaire pourrait donc reposer sur le dépistage sérologique systématique des béliers et la réforme des animaux séropositifs et présentant des lésions.

MOTS-CLES : *Brucella ovis*, épididymite contagieuse, béliers, fonction sexuelle, sérologie

ENGLISH TITLE: RELATIONSHIP BETWEEN BRUCELLA OVIS INFECTION AND BREEDING SOUNDNESS OF RAMS

ABSTRACT:

An increase of cases of ovine contagious epididymitis was observed in PACA region since the end of ovine brucellosis vaccination towards *Brucella melitensis*. In 2011, a screening in 1302 flocks of PACA showed a high proportion of infected flocks, especially in Bouches-du-Rhône, where 53% of tested farms owned a least one infected ram. A study was conducted to evaluate the relationship between *B. ovis* infection and breeding soundness of rams. Breeding soundness examination and serological test were performed on each 217 rams. The semen was collected by electroejaculation to determine its quality. An increase of genital lesions and an alteration of semen quality were observed in infected rams compared to seronegative ones. A future sanitary control program towards *B. ovis* could therefore be based on the systematic serological screening of rams and the culling of infected rams showing genital lesions.

KEY WORDS: *Brucella ovis*, contagious epididymitis, rams, breeding soundness, serology