

P. MERCIER et Patricia RIDEAUD

INRA Domaine pluridisciplinaire
du Magneraud
Saint-Pierre d'Amilly
17700 Surgères

Bactériologie du sperme frais de lapin

Etude préliminaire

La France demeure dans le groupe de tête des pays producteurs de lapins, au plan mondial, avec environ 160 000 tonnes de viande produites chaque année. Malgré l'atomisation des unités d'élevage, souvent de très petite taille, la rationalisation de la production française se poursuit, mais elle doit faire face aux facteurs limitants que sont la pathologie et le mode de diffusion du progrès génétique. C'est pourquoi les études de qualité de la semence de lapin sont à l'ordre du jour.

L'insémination artificielle (I.A.) en élevage de lapins connaît actuellement un certain développement en France et dans plusieurs pays européens (Battaglini 1986). La technique appliquée en particulier de 1972 à 1975 au Centre de Recherches INRA de Toulouse, dans le cadre d'un testage de lapins mâles (Hulot 1973 ; Vrillon *et al.* 1979), est bien codifiée et connue (Boussit 1989). Chez le lapin, comme dans les autres espèces, l'I.A. élimine le contact direct

entre mâles et femelles, mais n'évite pas la transmission éventuelle de germes pathogènes par le sperme (Hare 1985). A notre connaissance, la qualité bactériologique du sperme de lapin, au cours des opérations d'I.A., n'a jamais fait l'objet d'études très poussées. Mais une démarche assez similaire a été effectuée dans l'espèce porcine (Cariolet 1986 ; Madec 1987) et peut nous servir de référence.

Le protocole d'étude bactériologique du sperme frais de lapin que nous avons mis en oeuvre pourrait constituer le premier volet d'un programme plus vaste incluant l'étude bactériologique du sperme dilué dans un milieu de conservation et son évolution dans le temps.

Nos objectifs, au cours de cet essai, ont été les suivants :

- 1) Isoler et identifier la flore bactérienne présente dans la semence de lapin, avant son utilisation en I.A.,
- 2) Evaluer la qualité bactériologique de cette semence, en fonction :
 - des conditions d'élevage et d'environnement,
 - des précautions hygiéniques prises dans la technique de prélèvement : préparation du matériel de récolte, et méthode de collecte.

Résumé

L'étude a porté sur 12 mélanges de spermes provenant de 39 lapins de 3 origines (Néo-Zélandais, Angora, Rex), élevés dans des conditions d'élevage différentes et prélevés avec plus ou moins de précautions hygiéniques. Les mélanges ont été constitués en fonction de la qualité biologique (motilité massale) de chaque prélèvement et une étude bactériologique qualitative et quantitative a été effectuée sur chacun des mélanges.

Nous n'avons pas trouvé de relation entre la qualité bactériologique des mélanges testés et leur qualité biologique. Par ailleurs, la pratique de l'I.A. ne constitue pas en soi une barrière à la transmission des germes pathogènes, le sperme pouvant dans tous les cas véhiculer des germes dangereux.

Nous avons mis en évidence l'importance des conditions d'environnement et des précautions hygiéniques prises dans la technique de prélèvement du sperme sur la qualité bactériologique des mélanges testés.

Nous préconisons donc la mise au point d'un protocole sanitaire codifiant les opérations d'I.A. et l'assainissement des prélèvements devant servir à l'insémination par adjonction d'antibiotiques.

Ceci permet d'envisager des recherches ultérieures sur l'évolution dans le temps du niveau de contamination du sperme, sur l'efficacité des antibiotiques ajoutés au milieu de dilution et sur ces mêmes questions appliquées au sperme réfrigéré, voire au sperme congelé.

Enfin, il faudra vérifier l'influence de ces paramètres sur la fécondité des lapines.

1 / Conditions expérimentales

1.1 / Animaux

Pour cet essai, nous avons utilisé 3 origines différentes de lapins : Néo-Zélandais, Rex et Angora.

Les conditions d'élevage sont différentes pour chacune de ces 3 races : l'environnement et la conduite d'élevage sont de type industriel pour les lapins de chair, alors qu'ils sont beaucoup plus traditionnels pour les lapins à fourrure et les Angora. Mais, dans les 3 cas, les troupeaux sont tout à fait représentatifs des élevages de production du terrain.

a / Néo-Zélandais

Les reproducteurs occupent des cellules de maternité bien isolées. Chaque cellule comporte 138 places (120 femelles + 18 mâles) et les animaux sont logés en cages individuelles grillagées, dans une batterie de 3 étages Chabeauti. La ventilation est dynamique et les déjections sont évacuées automatiquement par raclage. La surveillance et l'hygiène sont rigoureuses. Ainsi, on élimine de façon systématique les animaux présentant des troubles sanitaires. Par ailleurs, le matériel et les locaux sont nettoyés et désinfectés régulièrement et on pratique un vide sanitaire dans chaque cellule tous les 18 mois environ.

b / Rex

Les reproducteurs sont logés dans une salle de maternité unique, en ventilation statique. Ils occupent des cages grillagées, en flat-deck, sur fond de litière. Cette litière est changée tous les 15 jours et les cages sont nettoyées après chaque sevrage. L'évacuation des déjections est manuelle. L'effectif assez réduit des animaux et l'application d'un schéma de sélection précis ne permettent pas toujours de réformer suffisamment vite des malades. On ne pratique pas de vide sanitaire dans ce local.

c / Angora

Il s'agit d'un élevage traditionnel. Les lapins sont élevés en clapiers béton, sur litière de paille qui est remplacée toutes les 3 semaines. Les cages sont entièrement nettoyées tous les ans. Les lapins sont gardés en moyenne 3 à 4 ans, en fonction de leur production de poil.

Malgré les différences de conditions d'élevage que nous venons de souligner, l'I.A. est pratiquée depuis quelque temps dans les 3 cheptels.

1.2 / Schéma expérimental

Nous avons voulu préparer et tester 6 mélanges de semence pour le troupeau Néo-

Zélandais, 3 mélanges pour les Rex et 3 mélanges pour les Angora (tableau 1).

En effectuant des mélanges, nous ne pouvions plus rapporter les résultats aux individus, mais cela nous permettait de nous faire une opinion sur la pollution du sperme, plus rapidement, à l'échelle du troupeau. Par ailleurs, nous procédions ainsi de la même façon que les éleveurs pratiquant l'I.A. sur le terrain.

Les pools de semence ont été constitués en fonction de la motilité massale des prélevements individuels, classés et notés de 0 à 9 sur ce critère (Petitjean 1965). Puis, la motilité individuelle des spermatozoïdes et le pourcentage de vivants ont été observés sur les mélanges, après dilution dans du sérum physiologique (1 goutte de mélange et 0,5 ml de sérum) et notés de 0 à 4 (Andrieu 1974).

En effet, nous avons tenu à nous placer dans les conditions pratiques d'utilisation de l'I.A. chez le lapin, en évaluant systématiquement la qualité biologique du sperme prélevé (Freychat *et al* 1989).

1.3 / Matériel et méthodes de récoltes

Le matériel de récolte du sperme est le même pour les lapins Rex et Angora, tandis que l'élevage de lapins de chair a son propre matériel.

Selon l'élevage, le niveau de précautions sanitaires est différent à la fois dans la préparation du matériel, et dans la méthode de collecte.

a / Préparation du matériel

- **Néo-Zélandais** : toute la verrerie (lames, tubes de récolte, pipettes Pasteur) est stérilisée et conservée dans du papier aluminium, à l'abri de la poussière. Les vagins artificiels et les capotes néoprène sont nettoyés par rinçage abondant à l'eau chaude, passés dans un détergent, rincés à l'eau distillée, et stockés dans des emballages placés dans des boîtes propres de polystyrène.

- **Rex et Angora** : la verrerie, les vagins artificiels et les capotes sont lavés à l'eau chaude, javellisés de temps en temps, séchés à l'étuve, et conservés sans protection particulière dans cette étuve, elle-même placée dans un petit laboratoire annexe à l'élevage. Les pipettes Pasteur et les lamelles sont à usage unique.

Tableau 1. Prélèvements et contrôle des semences.

Race de lapins	Nbre de lapins prélevés	Nbre de lapins par pool semence	Qualité biologique du sperme			
			Nbre total de pools	Nbre pools faibles	Nbre pools moyens	Nbre pools très bons
Néo-Zélandais	43	3 à 4	6	1	2	3
Rex	19	4	3	1	1	1
Angora	11	1 à 2	3	1	1	1

b / Méthode de collecte (tableau 2)

- Néo-Zélandais : les vagins remplis d'eau chaude et les manchons de protection des tubes de récolte sont placés dans une étuve à 44° C, branchée la veille de la récolte. Les lames, lamelles, pipettes Pasteur et tubes de récolte, conservés dans leur emballage, sont chauffés à 37° C sur une platine chauffante. Après la collecte, les tubes de récolte sont mis sur un portoir. Les spermes sont aussitôt contrôlés pour leur qualité biologique.

- Rex et Angora : la verrerie et les manchons sont chauffés, 1/2 heure avant la collecte, à l'étuve à 44° C. Juste avant le prélèvement, la capote est montée sur le corps du vagin artificiel et celui-ci est rempli d'eau chaude prise au robinet (à environ 45° C).

Lors de la récolte, le vagin est en contact avec la litière de la cage.

Dans les deux méthodes, les mains de l'éleveur ne sont pas nettoyées entre chaque récolte, on utilise un vagin par mâle, mais ce vagin n'est pas toujours attribué au même animal. Il peut être réutilisé après lavage et séchage pour un autre mâle. Enfin, le montage du vagin artificiel se fait à mains nues.

1.4 / Examens bactériologiques

Deux méthodes d'ensemencement ont été utilisées en parallèle pour la recherche des germes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs sur sperme pur.

a) L'isolement et l'identification des germes par la méthode de l'öse (anse de platine) : un

prélèvement à l'öse est réalisé à partir de chaque mélange hétérospermique et mis en culture sur boîte de pétri.

b) Le dénombrement de la flore totale présente sur sperme pur : il est effectué par le jeu des dilutions. Un volume précis (0,1 ml) par pool de semence est ensemencé par nappage sur boîte de pétri.

Deux milieux de mise en culture des pools de semences sont utilisés pour chacune de ces deux techniques :

- gélose tryptose Difco + 5 % de sérum de cheval,
- et, simultanément, gélose columbia + 5 % de sang de cheval.

La première boîte est incubée à 37° C, 24 heures en aérobiose et la deuxième boîte est mise à 37° C dans une atmosphère enrichie de 10 % de CO₂. La mise en culture des prélèvements est faite aussitôt la récolte et le contrôle de la qualité biologique de chaque pool de semence.

L'identification est effectuée surtout sur microméthodes API SYSTEM :

- pour les bacilles Gram négatif oxydase positive, elle est réalisée à l'aide de plaques API 20 E,
- pour les bacilles Gram négatif dépourvus d'oxydase, elle est faite sur galeries API 20 E auxquelles est ajouté un milieu nutritif, l'extrait globulaire,
- pour les coques Gram positif, catalase positive, elle est effectuée sur galerie API 20 STAPH,
- pour les coques Gram positif, catalase négative, elle est recherchée sur galerie API STREP.

De plus, des milieux classiques, traditionnels

Tableau 2. Conditions d'élevage et méthodes de récolte.

	Conditions d'élevage et d'environnement	Préparation du matériel de récolte	Méthode de collecte
Néo-Zélandais	Niveau d'hygiène rigoureux Batteries automatiques Cages grillagées Pas de litières	Verrerie stérile Vagin artificiel et capote lavés avec détergent et eau chaude + eau distillée Stockage du matériel à l'abri de la poussière	Pas de contact du vagin avec la cage de l'animal
Rex et Angora	Niveau d'hygiène moyennement rigoureux Cage grillagée avec litière de paille (Rex) ou Clapier béton traditionnel avec litière de paille (Angora)	Verrerie lavée à l'eau chaude et séchée à l'étuve Vagin et capote rincés à l'eau chaude Stockage du matériel à l'abri de la poussière	Contact du vagin avec la litière de paille de l'animal



Préparation de milieux de culture réalisés au laboratoire pour la recherche et l'identification des germes.

et différents produits sont utilisés, en particulier pour l'identification des bacillus.

Nous n'avons pas recherché les anaérobies et les champignons.

2 / Résultats et discussion (cf tableau 3)

2.1 / Qualité biologique des prélèvements

a / Néo-Zélandais

Le volume des prélèvements individuels varie de 0,3 à 1 ml, les notes de motilité massale sont généralement très bonnes dans ce troupeau, ce qui nous a empêchés de constituer un second mélange « faible ». Nous avons donc choisi de fabriquer un mélange supplémentaire « très bon » (n° 6).

La motilité individuelle des mélanges a été notée 3 à 4 et le pourcentage de spermatozoïdes vivants a varié de 75 à 95 %, ce qui est très satisfaisant.

b / Rex

Le volume des prélèvements a varié de 0,4 à 0,7 ml, le mélange n° 3, constitué en fonction des notes de motilité massale, doit plutôt être considéré comme « mauvais » que « faible » (notes de 3 à 4).

Nous n'avons pu évaluer la motilité individuelle et le pourcentage de spermatozoïdes vivants sur les mélanges n° 1 et n° 3. Pour le mélange n° 2, note et pourcentage sont satisfaisants.

c / Angora

Le volume de chaque prélèvement varie de 0,4 à 1 ml. La motilité individuelle et le pourcentage de spermatozoïdes vivants présentent de grandes variations : excellent pour le n° 1 (4 et 95 %), bon pour le n° 2 (3 et 75 %) et médiocre pour le mélange n° 3 (2 et 45 %).

En définitive, nous pouvons dire que cette évaluation de la qualité biologique du sperme est tout à fait représentative de nos troupeaux.

Par ailleurs, la démarche méthodologique que nous avons suivie (prélèvement, examen et notation, élimination des spermes « mauvais » ou « faibles ») correspond bien à une bonne technique d'I.A. en élevage de lapins. Nous allons donc pouvoir faire la relation entre nos résultats bactériologiques et ces mesures de qualité biologique pour chaque troupeau et pour chaque mélange.

2.2 / Qualité bactériologique des mélanges

Nous avons indiqué les deux méthodes d'ensemencement des mélanges sur boîte de Pétri qui ont permis de dénombrer la flore totale présente dans le sperme pur et, par ailleurs, d'isoler et d'identifier les germes en cause.

a / Dénombrement de la flore totale

Pour discuter du niveau de la contamination bactérienne, nous pouvons nous référer à l'étude réalisée sur le porc (Madec 1987) et considérer qu'un prélèvement n'est pas ou est faiblement souillé jusqu'à 10^4 germes/ml. Il est progressivement de plus en plus contaminé entre 10^4 et 10^5 germes/ml et il est très fortement souillé au-dessus de 10^5 germes/ml.

- **Néo-Zélandais :** 5 mélanges sur 6 sont « propres », le nombre de germes par ml de sperme variant de 1 020 à 7 360. Par contre, pour le mélange n° 4, nous atteignons 50 080 germes, ce qui correspond à une contamination assez forte.

- **Rex :** 2 mélanges sur 3 sont souillés (51 200 et 56 640), mais le mélange n° 3 est « propre » (7 300).

- **Angora :** le résultat est identique à celui des Rex : 2 mélanges contaminés (60 800 et 59 200) et le 3^e mélange « propre » (5 720).

L'observation de ces résultats amène plusieurs réflexions :

1) Bien que le nombre d'analyses soit faible, il est possible de dire que, globalement, l'élevage Néo-Zélandais (lapins de chair) est à l'origine de prélèvements peu contaminés (5 cas sur 6), alors que les élevages Rex et Angora montrent des résultats traduisant des souillures importantes 2 fois sur 3. Ceci est conforme à ce que nous attendions dans la mesure où, dans les élevages Rex et Angora, l'environnement est favorable aux souillures (présence de litières, peu de protections vis-à-vis de l'extérieur) et les précautions sanitaires pour le matériel de récolte sont moins strictes.

2) Cependant, cette différence entre les deux types d'élevage n'est pas inéluctable. Ainsi, un

Tableau 3. Qualités biologiques et qualités bactériologiques du sperme.

Race de lapin	Qualité biologique						Qualité bactériologique	
	De chaque prélèvement			Du mélange			De chaque mélange	
	N° de mâle	N° de mélange	Vol. en ml	Motilité massale	Motilité individu.	SPZ vivants (%)	Nbre germes/ml	Identification des germes
Néo-zélandais 31/07/89	32 047	1	0,8	9	3	95	7 360	Staph. xylosus 2 Corynélactérie
	32 068		1,0	8				
	32 139		0,6	8				
	32 114		0,5	9				
	24 215	2	1,0	7	3	80	4 880	Staph. xylosus 2 Staph. hominis 2 Corynélactérie
	24 064		0,6	7				
	24 053		0,5	7				
	24 113		0,6	7				
	32 081	3	0,3	5	3	80	7 120	Staph. xylosus 2 Staph. warneri Corynélactérie
	24 027		0,5	6				
	24 143		0,5	6				
	24 350		0,6	6				
Néo-zélandais 8/08/89	140	4	0,6	9	4	90	50 080	Proteus mirabilis Staph. xylosus 2 Staph. hominis 1 Aerococcus viridans
	044		0,5	8				
	287		0,6	8				
	323		0,6	8				
	069	5	0,5	7	3	75	3 970	Proteus mirabilis Staph. warneri Aerococcus viridans
	225		1,0	7				
	297		0,5	7				
Rex 17/07/89	209	6	0,4	9	3	90	1 020	Staph. aureus Corynélactérie Aerococcus viridans
	243		0,5	9				
	293		0,3	9				
	125		1,0	9				
	8 129	1	0,4	9	-	-	51 200	Corynélactérie Yersinia enterocolitica Staph. xylosus 2
	7 758		0,5	9				
	6 177		0,5	9				
	6 584		0,5	8				
	6 291	2	0,5	7	3	85	56 640	Staph. epidermidis Staph. xylosus 2 Pseudomonas paucimobilis
	6 095		0,5	7				
	17 743		0,7	7				
	16 213		0,4	7				
Angora 24/07/89	7 805	3	0,4	4	-	-	7 300	Corynélactérie Staph. sciuri Staph. aureus Streptococcus faecalis Pseudomonas cepacia Bacillus subtilis
	7 889		0,6	3				
	8 089		0,6	4				
	16 828		0,4	3				
	7 043	1	0,9	8	4	95	60 800	Staph. xylosus 1 et 2 Staph. hyicus Streptococcus acidominimus Bacillus circulans
	6 133	2	0,4	7	3	75	5 720	Staph. epidermidis Staph. xylosus 2 Staph. aureus Strep. sanguis 1/3
	8 601	3	0,5	5	2	45	59 200	Proteus mirabilis Staph. epidermidis Bacillus subtilis Aerococcus viridans Pasteurella pneumotropica
	7 037		1,0	6				

mélange de l'élevage chair est très contaminé, ce qui peut indiquer une faille dans le dispositif de manipulation des spermes. Par ailleurs, un mélange Rex et un mélange Angora sont « propres », ce qui indique que même dans un milieu défavorable, un ensemble de précautions peut réduire le niveau de contamination.

3) Nous remarquons également qu'il n'y a aucune relation entre le niveau de contamination (nb de germes/ml) et la qualité biologique des mélanges. Un mélange de très haute qualité biologique peut être fortement souillé (Cf. mélange n° 4 Néo-Zélandais ou mélange n° 1 Angora). A l'inverse, des mélanges « moyens » sur le plan biologique sont très peu contaminés (Cf. mélange n° 5 Néo-Zélandais et mélange n° 2 Angora).

4) Nous ne pouvons, dans le cadre de cet essai, fournir d'indications sur l'influence éventuelle du niveau de contamination du sperme sur la fécondité, puisque les mélanges constitués n'ont pas été utilisés en I.A. de lapines.

**La pratique
de l'insémination
artificielle
ne constitue pas
en soi une barrière
à la transmission
des germes
pathogènes.**

b / Identification des germes

L'identification des germes présents dans chaque mélange met en évidence, dans tous les cas, la variété de la flore contaminante. A l'examen du tableau de résultats, on se rend compte que cette variété est plus grande encore pour les élevages Rex et Angora, par rapport aux Néo-Zélandais. Plus que le niveau de contamination, cette différence semble bien être liée à l'environnement, en particulier à la présence de litière, qui entraîne une diversification des micro-organismes.

Nous pouvons tenter de classer les germes identifiés :

- Pathogènes : *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella pneumotropica*.
- Pathogènes facultatifs : *Staphylococcus epidermidis*, *Corynébactéries*, *Streptocoques*, *Proteus mirabilis*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas cepacia*.
- Non pathogènes : Autres staphylocoques, *Aerococcus viridans*, *Bacillus*, *Pseudomonas paucimobilis*.

La flore microbienne ainsi identifiée est essentiellement une flore cutanée (staphylocoques, corynébactéries, aerococcus). Nous n'avons pas isolé en particulier, en culture pure, de germes spécifiques et pathogènes pour le lapin. Les vecteurs de contamination semblent plutôt être la litière ou le sol de la cage d'une part et les manipulations humaines d'autre part.

Cependant, nous constatons également que des germes pathogènes vrais et (ou) facultatifs sont présents dans les mélanges et peuvent donc être transmis par l'I.A.

En cela, le lapin n'est pas différent des autres espèces animales : la présence de germes pathogènes dans le sperme du taureau (brucellos), des oiseaux (mycoplasmes), de l'homme (virus du SIDA) est bien connue, ainsi que leur transmission possible par l'I.A.

Ceci nous amène à souligner l'intérêt d'assainir le sperme afin de ne pas véhiculer de germes dangereux en pratiquant l'I.A.. Pour

cela, il est possible d'intervenir de deux façons :

- mettre au point un protocole strict de prophylaxie sanitaire afin de limiter les risques au cours des opérations d'I.A.

- ajouter des antibiotiques aux milieux de conservation du sperme. L'effet de ces produits devrait alors être étudié de façon approfondie.

Conclusions

Compte tenu des effectifs relativement restreints et du niveau modéré de pollution révélé par nos analyses, l'étude bactériologique du sperme frais de lapin que nous venons de rapporter semble répondre aux questions que nous nous posions en préambule.

Dans les conditions de notre essai, nous n'avons pas trouvé de relation entre la qualité bactériologique des mélanges testés et leur qualité biologique. Ceci se vérifie aussi bien sur le plan quantitatif (nombre de germes/ml) que sur le plan qualitatif (identification de germes pathogènes vrais ou facultatifs).

La pratique de l'I.A. ne constitue pas en soi une barrière à la transmission des germes pathogènes. Nous avons constaté que des germes pathogènes vrais ou facultatifs pouvaient être véhiculés par le sperme, dans tous les types d'élevages et quel que soit le niveau de contamination. Il faudra donc prévoir des méthodes et techniques, au cours des opérations d'I.A., permettant d'assainir le sperme que l'on utilise.

Nous avons mis assez nettement en évidence l'importance des conditions d'environnement et des précautions hygiéniques prises dans la technique de prélèvement du sperme sur la qualité bactériologique des mélanges testés. Quantitativement et qualitativement, les caractéristiques bactériologiques des mélanges sont corrélées au type d'élevage : élevage chair Néo-Zélandais d'un côté et élevages Rex et Angora de l'autre.

Il est donc indispensable de préconiser un protocole sanitaire codifiant toutes les opérations allant du prélèvement du mâle à l'insémination de la femelle. Ce protocole doit indiquer les manipulations à effectuer et les précautions hygiéniques à prendre au niveau du matériel utilisé et il sera d'autant plus strict que l'élevage sera moins protégé des contaminations extérieures.

Malgré ces précautions au niveau des opérations d'I.A., il subsistera toujours un risque de transmission de germes pathogènes. C'est pourquoi il y a lieu d'envisager l'intérêt, les contraintes et les limites de l'adjonction d'antibiotiques destinés à assainir le prélèvement qui doit servir à l'insémination.

En effet, la bibliographie n'indique pas de recherches spécifiques dans ce domaine, chez le lapin (Elian et Heller 1968 ; Sone *et al* 1982 ; Martin Rillo *et al* 1984), c'est en extrapolant à partir de ce qui se fait dans d'autres espèces que des antibiotiques ont été incorporés dans les dilueurs et nous avons constaté des différences importantes au niveau des formules et des doses utilisées (Menezo 1976 ; Ahmad et

Foote 1985 ; Paquignon *et al* 1987). Enfin, les contrôles effectués à la suite d'incorporation d'antibiotiques, dans des milieux de conservation, portent plus sur la détérioration éventuelle de la qualité biologique du sperme que sur leur efficacité bactéricide.

Ceci laisse entrevoir de nouvelles questions qui pourraient être à l'origine de recherches ultérieures :

- Quelle est l'évolution dans le temps du niveau de contamination des mélanges de sperme ?

- Quel rôle peut jouer dans cette évolution le milieu de conservation employé et surtout sa supplémentation en antibiotiques ?

- Quels sont les antibiotiques les plus efficaces, sans détériorer le métabolisme des cellules, dans ces conditions (nature et dose) ?

- Comment répondre à ces différentes questions lorsqu'on voudra utiliser, non plus du sperme frais, mais du sperme réfrigéré ou congelé ? (Yoshiaki Sawada et Chang 1964 ; Wales et O'Shea 1968).

- Quelle est l'influence des différents paramètres que nous venons de citer sur la fécondité des lapines ?

Tout ceci constitue un vaste programme qu'il faut réaliser si l'I.A. doit être le véhicule de la diffusion de l'amélioration génétique, en France, dans l'espèce lapin.

Remerciements

Nous remercions pour leur collaboration technique : J. Bellereaud et son équipe (élevage lapins de chair du Magneraud), R.G. Thébault et son équipe (élevage Angora et lapins fourrure du Magneraud), P. Perot (bactériologie).

Nous remercions également J.P. Lafont et P. Couderc (INRA Tours-Nouzilly), ainsi que M. Theau-Clement (INRA Toulouse-Auzeville), pour leurs conseils.

Références bibliographiques

- AHMAD et FOOTE. 1985. Motility and fertility of frozen bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing Amikacin sulphate. *J. Dairy Science*, 68, 2083-2086.
- ANDRIEU R. 1974. Physiologie de la reproduction chez le lapin domestique. Conservation du sperme de lapin sous forme liquide. Mémoire de fin d'études, E.N.S.A. de Montpellier, Station de Physiologie de la Reproduction, I.N.R.A.
- BAT'TACLINI M.. 1986. L'insémination artificielle chez la lapine. 1^{re} partie : Cuniculture n° 71, 13 (5), 230-234. 2^e partie : Cuniculture n° 72, 13 (6), 280-283.
- BOUSSIT D.. 1989. Reproduction et Insémination artificielle en Cuniculture. Ed. AFC, 234 p.
- CARIOLET R.. 1986. L'insémination artificielle en élevage porcin intensif. Aspects techniques et hygiène. *Bull. Lab. Vét.* n° 22, juin 86, 1-5.
- ELIAN M.. HELLER D.. 1968. L'action de divers antibiotiques sur la viabilité des spermatozoïdes in vitro. 3^e Conférence européenne de l'Aviculture, Jérusalem, 8/12 sept. 1968, section II, p. 84.
- FREYCHAT J.L., COUDERT P., PONCEAU J.P.. 1989. Rôle du temps de conservation du sperme et d'autres facteurs sur les résultats obtenus en insémination artificielle, Cuniculture n° 85, 16 (1), 25-32.
- HARE W.C.D.. 1985. Maladies transmissibles par la semence et les techniques de transfert d'embryons. OIE, série technique n° 4, 119 p.
- HULOT F.. Problèmes posés par l'insémination artificielle chez la lapine. Session ITAVI sur la reproduction et la sélection du lapin de chair. Toulouse, 10-11 avril 1973.

MADEC F.. 1987. Etude de certaines caractéristiques bactériologiques de la semence de verrat utilisée en insémination artificielle. Journées de la Recherche Porcine en France, 19, 91-98.

MARTIN RILLO S., SEBASTIAN J.J., ALIAS E., DIAS YUBERO C.. 1984. The effects of antibiotics associations in the conservation of boar semen at 15° C. International Pig Veterinary Society, Ch. XIII, 295.

MENEZO Y.. 1976. Milieu synthétique pour la survie et la maturation des gamètes et pour la culture de l'oeuf fécondé. *C. R. Acad. Sc. Paris*, t. 282 (14 juin 1976), série D, 1967-1970.

PAQUIGNON M., BUSSIÈRE J., BARITEAU F.. 1987. Résultats récents en matière de technologie de la conservation de la semence de verrat. Journées de la Recherche Porcine en France, 19, 63-78.

PETITJEAN M.. 1965. Recherches sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Mémoire Ingénieur DPE, CNAM, Paris.

SONE M., OHMURA K., BAMBA K.. 1982. Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. *Veterinary Record*, 111, 11-14.

VRILLON J.L., DONAL R., POUJARDIEU B., ROUVIER R.. 1979. La sélection et le testage des lapins mâles de croisement terminal de 1972 à 1975. *Bull. tech. Dép. Génét. Anim. (INRA)*, n° 28.

WALES R.G., O'SHEA T.. 1968. The deep freezing of rabbit spermatozoa. *Aust. J. Biol. Sci.*, 21, 831-833.

YOSHIAKI SAWADA, CHANG M.C.. 1964. Motility and fertilizing capacity of rabbit spermatozoa after freezing in a medium containing dimethyl sulfoxide. *Fertility and sterility*, vol. 15, n° 2, 222-229.

Summary

Bacteriology of fresh rabbit semen : a preliminary study

12 mixtures of sperm from 39 New Zealand, Angora and Rex rabbits were used in this study. The animals were raised in different farming conditions and sperm was collected with more or less hygienic precautions. The mixtures were prepared according to the biological quality (mass motility) of each sample and they were all subjected to a qualitative and quantitative bacteriological examination.

No relationship was found between the biological and the bacteriological quality of the tested mixtures. Artificial insemination does not constitute a barrier to the transmission of pathogens, the semen being always liable to transport dangerous germs.

It was clearly shown that the environmental conditions and the hygienic precautions taken during sperm collection have a major effect on the bacteriological quality of the tested mixtures.

For that reason, we preconize the preparation of a protocol involving hygienic measures to be taken during A.I. operations and antibiotic treatment of semen samples prior to their use in artificial insemination.

Further research should be carried out on the changes in the level of sperm contamination with time, the efficiency of the antibiotics added to the extenders and on the same questions applied to cooled and frozen sperm.

It would also be important to examine the influence of these parameters on rabbit fertility.

MERCIER P., RIDEAUD P.. 1990. Bactériologie du sperme frais de lapin - Etude préliminaire. INRA Prod. Anim. 3 (3), 215 - 221.