

# Infection par le sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine : cinétique d'évolution de l'ARN viral dans la semence de béliers et ses interrelations avec la qualité du sperme

## *Bluetongue serotype 8 infection in rams: kinetics of viral RNA levels in semen and its interrelationships with sperm quality*

LEEMANS J. (1), RAES M. (1), SAEGERMAN C. (2), VANBIST T. (3), DE CLERCQ K. (3), KIRSCHVINK N. (1)

(1) Université de Namur, Département de Médecine Vétérinaire, Unité de Physiologie Animale, 5000 Namur, Belgique

(2) Université de Liège, Epidémiologie et Analyses de risques appliquées aux sciences vétérinaires, 4000 Liège, Belgique

(3) CODA-CERVA, Unité des Maladies vésiculeuses et exotiques, 1080 Bruxelles, Belgique

### INTRODUCTION

Le sérotype 8 du virus de la fièvre catarrhale ovine (BTV-8) a émergé en août 2006 en Europe du Nord pour finalement connaître un pic d'intensité l'été suivant, affectant un nombre considérable de ruminants (Saegerman *et al.*, 2008). Ses conséquences néfastes sur la qualité de la semence des béliers ont été récemment documentées (Kirschvink *et al.*, 2009). A ce jour, la détection et la quantification du génome viral dans l'éjaculat n'a fait l'objet d'aucune étude de terrain spécifique. Dans ce contexte, l'objectif de cette nouvelle recherche est d'étudier la cinétique d'évolution de l'ARN viral dans l'éjaculat en relation avec la qualité de la semence.

### 1. MATERIEL ET METHODES

Une étude longitudinale d'une durée de 4 mois a été réalisée en 2007 au Centre du mouton de l'Université de Namur. Douze béliers infectés naturellement par le BTV-8 ont fait l'objet de collectes répétées de semence (5–6) dans les 5 à 130 jours suivant la détection des premiers signes cliniques de la maladie. La charge virale dans la semence a été mesurée par RT-PCR quantitative en temps réel et exprimée en termes de Cq (nombre de cycles d'amplification nécessaire pour atteindre un seuil de fluorescence donné). Des valeurs de Cq  $\leq 39$ ,  $> 39$  et  $\leq 45$  ou  $= 45,01$  indiquent respectivement un résultat positif, douteux ou négatif. Les paramètres d'évaluation de la qualité de la semence étaient les suivants : motilité massale (score de 0–5), concentration en spermatozoïdes (sp), pourcentage (%) de sp vivants, % de sp morts (normaux et anormaux), cytologie sur frottis de semence colorés au Giemsa (score de 0–5). Des valeurs de référence pour la semence ovine ont été définies, à partir d'un groupe de onze béliers indemnes de BTV-8 et prélevés à plusieurs reprises avant l'épidémie de 2007. Afin de déterminer si la charge en ARN viral dans l'éjaculat est un indicateur pertinent de la qualité de la semence, un score global a été défini (SQS pour score global de qualité de la semence ; 0–6) en attribuant un point à tout paramètre dans les limites de la normale lors de l'examen de l'éjaculat.

### 2. RESULTATS

#### 2.1. DETECTION DE L'ARN VIRAL DANS LA SEMENCE

Tous les échantillons de semence de béliers sains se sont avérés négatifs pour la recherche d'ARN viral par RT-PCR (Tableau 1). A la première récolte d'éjaculat, i.e. 25 jours post-détection (JPD), tous les béliers infectés étaient positifs pour l'ARN viral avec un Cq médian de 31. A l'issue de l'étude, i.e. 116 JPD, trois prélèvements étaient encore positifs, deux étaient douteux et sept s'avéraient négatifs.

**Tableau 1.** Cinétique d'évolution de l'ARN viral et des paramètres d'évaluation de la semence

Béliers	Prélèvements	Motilité (/5)	Conc. ( $\times 10^9$ /ml)	% sp vivants	Cytologie (/5)	ARN viral (Cq)
Sains (n=11)	–	4,4 (4,0–4,8)	2,9 (2,4–4,3)	77 (64–83)	0 (0–0)	45,01
Infectés (n=12)	#1 : 25 (5–39) JPD	0,6 (0,0–2,0) †	0,6 (0,2–2,4) †	7 (0–26) †	5,0 (0,0–5,0) †	31 (23–37)
	#3 : 50 (38–75) JPD	2,8 (0,0–4,8) †	0,9 (0,3–2,8) †	60 (0–78) †	2,5 (0,0–5,0) †	36 (28–45)
	#5 : 86 (61–94) JPD	4,3 (2,0–4,9)	1,9 (1,4–3,8) †	67 (23–83)	0,0 (0,0–2,0)	39 (26–45)
	#6 : 116 (72–130) JPD	4,4 (3,0–4,8)	3,0 (1,9–4,4)	73 (53–85)	0,0 (0,0–1,0)	45 (28–45)

Les données sont des médianes (min–max). † significativement différents des béliers sains ( $P < 0,05$ ).

#### 2.2. ANALYSE DE LA QUALITE DE LA SEMENCE

A la première analyse de l'éjaculat, i.e. 25 JPD, il est apparu que tous les paramètres d'évaluation de la qualité de la semence étaient significativement altérés (Tableau 1). Un retour à des valeurs équivalentes à celles des animaux contrôlés est observé 86 JPD pour la motilité massale, le % de sp vivants et le score cytologique, et 116 JPD pour la concentration en sp. L'évolution du SQS après infection par le BTV-8 est présentée en relation avec les taux en ARN viral dans la semence (Tableau 2). Au prélèvement 1, i.e. 25 JPD, le Cq médian était minimal et le SQS médian égal à 0, indiquant que pour la moitié des béliers tous les paramètres d'évaluation de la semence étaient altérés. En fin d'étude, i.e. 116 JPD, le Cq médian était similaire aux valeurs mesurées chez les béliers sains. Par ailleurs, bien que proche, le SQS médian n'a pas atteint la valeur médiane de référence.

**Tableau 2.** Evolution de l'ARN viral et du SQS (médianes)

Béliers	Prélèvements	SQS (/6)	ARN viral (Cq)
Sains (n=11)	–	6	45,01
Infectés (n=12)	#1 : 25 JPD	0	31
	#3 : 50 JPD	2	36
	#5 : 86 JPD	4	39
	#6 : 116 JPD	5	45,01

### 3. DISCUSSION

Cette étude est la première du genre à avoir détecté et quantifié l'ARN viral dans la semence de béliers infectés par le BTV-8 en 2007. L'élimination complète du génome viral est attendue dans les 4 mois après infection. En l'absence d'isolement viral, ces résultats ne permettent pas de préjuger du potentiel infectieux de la semence pendant cette même période. Au regard des paramètres considérés dans notre étude (SQS et Cq), la disparition du génome viral de la semence précède la récupération d'une semence de qualité. Sur cette base, la quantification de l'ARN viral dans l'éjaculat ne saurait constituer une alternative totalement satisfaisante aux méthodes traditionnelles d'analyse de la semence chez les béliers infectés par le BTV-8.

### CONCLUSION

En l'absence d'isolement viral, il est proposé d'attendre 4 mois afin d'éviter tout risque d'infection à partir de semence contaminée par le BTV-8 et plus encore pour un retour à une semence de qualité optimale.

Saegerman *et al.*, 2008. *Emerg. Infect. Dis.*, 14, 539-544

Kirschvink *et al.*, 2009. *Vet. J.*, 182, 244-251.