

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

**PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE**

**Évaluation de la qualité des paillettes
d'insémination artificielle bovine**

Présenté par :

**KESMOUNE Wafa
KECHNIT Rachida**

Soutenu le : 07 juillet 2011

Le jury :

**Présidente : M KHELEF D (Maître de Conférence à l'ENSV)
Promotrice : M BOUDJELLABA S (Maître Assistant à l'ENSV)
Examineur : M SOUAMES S (Maître Assistant à l'ENSV)
Examineur : Mlle CHOUIA F (Maître Assistant à l'ENSV)**

Année universitaire : 2010/2011

Remerciements

Au terme de ce travail

*Nous tenons à remercier DIEU le tout puissant pour
Nous avoir préservé, donné la santé et guidé
Vers la connaissance et le savoir.*

*Nous tenon vivement à remercier notre promoteur
M. BOUDJELLABA. Pour avoir accepté la charge d'encadrer
Ce travail, son sérieux et sa patience*

*Je remercier le professeur Khelefde m'avoir fait l'honneur
d'être le président du jury de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent également à monsieur le
professeur SOUAMES.S, au Melle chouya, d'avoir accepté
d'être les examinateurs de ce travail.*

*Nos sincères remerciements à M. SAADI AHMED Saadi,
inséminateur, sans sa contribution ce modeste travail
n'aura pas lieu.*

En fin je voudrais remercier tous les professeurs de l'ENSV.

Merci à tous qui nous ont soutenus.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail pour les personnes les plus chère de ma vie, que m'ont soutenu durant toute ma période d'étude, avec tous leurs conseils, et leur patience, c'est le moment pour moi de partager cette joie avec eux :

- *A mes très chers parents, pour leur sacrifices et leurs soutient.*
- *A mon mari j'aime beaucoup*
- *A mes frères et mes sœurs qui grâce à leur encouragement, je suis devenu ce qui j'ai toujours souhaité.*
- *A REDWAN et AZIZ et toutes mes tantes, mes oncles et leurs femmes et leurs enfants*
- *A ma grand-mère et grand-père*
- *A ma grande famille : KECHNIT, SEGLANI, M^{ed} SBA ainsi que mes beaux-parents.*
- *A ma binôme WAF A et mon promoteur*
- *A tous mes amis pour les moments inoubliables passé ensembles.*
- *A tous ceux qui m'ont aidé, je leur dédie ce projet de fin d'étude.*

RACHIDA

Dédicace

J'ai l'immense plaisir de dédier ce travail :

A la mémoire de ma grand-mère maternelle « AZOUZA » qui nous a quittée trop tôt, comme j'aurais tant souhaité sa présence en ce jour ;

A mon grand-père maternel

A la flamme qui éclaire ma vie et qui me guide vers le droit chemin, à ma très chère mère, pour son soutien sans limite, son extrême gentillesse et compréhension, sa patience, et son sacrifice qu'elle trouve ici l'expression de toute ma tendresse et mon profond amour quoique rien ne puisse égaler tout ce qu'elle m'a donné que Dieu te donne santé et longue vie ;

A mon adorable frère M^{ed} lamine, et ma sœur Imen ;

A mes oncles, tantes, cousines et cousins surtout aya, dona, manel ;

A TOUTE LA FAMILLE BERRAHIL, petits et grands ;

A mon binôme Rachida, merci pour tous ce que tu m'as appris durant cette année et à toute ta famille et ton mari ;

A mon très cher ami Walid, qui m'a soutenu tout le long de l'année ;

Et à tous mes amis surtout Sarah, El-khansa et Imen

A toute la promotion de 2011.

Merci infiniment

wafa

Liste des références

1. BONNES G, DESCLAUDES J et DROGOUL C, 2005. Reproduction des animaux d'élevage. Edition Educagri, 2^{ème} édition p 92.
2. CRAPLET C et THIBIER M, 1973. La vache laitière, tome V. Edition Vigot Frères Paris.
3. DAVID I, 2008. Analyse génétique et modélisation de la production de semence et de la réussite de l'IA en ovin, thèse doctorat. Agro Paris Tech.
4. DOCLOS P, 1998. Examen du taureau : prélèvement et examen du sperme. SNGTV, numéro spécial ; 1998 p 461-466.
5. DRUART X et RIBEIRO BENTO DOS SANTOS C, 2004. Le sexage des spermatozoïdes : état des lieux et perspectives. Renc. REch. Rum, 11, 105-110.
6. GERARD O, 2005. L'IA : améliorer les connaissances physiologiques et la réussite de l'acte technique ? IA une réussite garantie, INRA Commission des Recherches Bovines, juin 2005.
7. GHOZLANE F, 2004. Les bases de la production animale : partie reproduction & lactation. Polycopie du cours à l'INA d'alger.
8. HANZEN CH, 2009. La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. Cours doctorat 2^{ème} degrés année 2009-2010.
9. JOHNSON et EVERITT, 2002. Reproduction. De Boeck ; P 53 – 64, 2002.
10. OTT R S, 196. Breeding soundness examination of bulls. In : « Current therapy in Theriogenology », Morrow DA, 1986, 125-136.
11. ROSENBERGER Gustav, 1977. Examen clinique des bovins. Edition Point Vétérinaire, 1^{ère} édition ; 358-369.
12. SAUVEROCHE et WAGNER, 1993. Physiologie de la reproduction des bovins trypanotolérants, études FAO production et santé animale ; p112.

Liste des tableaux

Tableau n° 1 : Description des paillettes analysées selon les renseignements écrites sur elle-même -----	12
---	-----------

Liste des figures

Figure n° 1 : représentation des principales anomalies de morphologie des spz	8
Figure n° 2 : diagramme en secteur représentant la motilité massale.	15
Figure n° 3 : Histogramme représentant le pourcentage des spermatozoïdes fléchant.	15
Figure n° 4 : Histogramme représentant le pourcentage des spermatozoïdes ayant des mouvements anormaux.	16
Figure n° 5 : Histogramme représentant le pourcentage des spermatozoïdes ayant des mouvements anormaux.	17
Figure n° 6 : Histogramme représentant le taux de spermatozoïdes morts.	18
Figure n° 7 : Histogramme représentant le taux des anomalies de formation	18
Figure n° 8: histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction de la race	20
Figure n° 9 : histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction du lieu de fabrication	22
Figure n° 10 : histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction des taureaux	24
Figure n° 11: histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des taureaux sur le terrain.	25
Figure n° 12 : histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des races sur le terrain.	26
Figure n° 13 : histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction du lieu de fabrication, sur le terrain.	27

Liste des abréviations

CNIAAG : Centre National d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique

FL : race Feckveich.

IA : Insémination artificielle

MB : race Montbéliarde

PNH : Pie Noir Holstein

PRH : Pie Rouge Holstein

Spz : spermatozoïde

Sommaire

Introduction & problématique	1
Chapitre I : historique, situation et progrès de la technique d'IA Historique	
I.1. L'historique	2
I.2. Situation et progrès de la technique	3
Chapitre II: Évaluation de la qualité du sperme	
II.1. Examens macroscopiques	4
II.1.1. Volume	4
II.1.2. Aspect et consistance	4
II.1.3. Couleur	5
II.1.4. Viscosité et pH	5
II.2. Examen microscopique du sperme	5
II.2.1. Détermination de la motilité massale	5
II.2.2. Détermination de la motilité individuelle :	6
II.2.3. Détermination de la concentration	7
II.2.4. Examen morphologique	7
II.2.4.1. Morphologie du spermatozoïde	7
II.2.4.2. Principes généraux	7
II.2.4.3. Anomalies morphologiques	8
II.2.5. Examens complémentaires	9
II.3. Interprétations	9
Chapitre III : Facteurs de variation des paramètres spermatiques	
III. Facteurs de variation des paramètres spermatiques	10
III.1 Alimentation	10
III.2 Température	10
III.3 Age	10
III.4 État de santé	10
III.5 Rythme de collecte	10
Partie Expérimentale	
Matériels & Méthodes	
I. Matériels	11
I.1. Présentation du matériel utilisé	11
I.2. Présentation des paillettes examinées	12

II. Méthodes	13
II.1. Préparation des paillettes et extraction de la semence	13
II.2. Dilution de l'échantillon	13
II.3. Préparation des lames	13
II.3.1. Préparation de la lame pour l'appréciation de la motilité massale	13
II.3.2. Préparation de la lame pour l'appréciation de la motilité individuelle	14
II.3.3. Préparation de la lame pour le teste de viabilité et l'estimation des anomalies de formation	14
II.3.4. Préparation de la cellule de Malassez pour détermination de la concentration	14
Résultats	
1. Motilité massale	15
2. Motilité individuelle :	15
3. Mouvement anormal :	16
4. La concentration :	17
5. Le taux des spermatozoïdes morts :	18
6. Taux d'anomalie de morphologie :	18
II. Comparaison entre les paillettes (facteurs de variation de la qualité) :	19
II.1. Comparaison entre les paillettes en fonction de la race :	19
II.2. Comparaison entre les paillettes en fonction de leur lieu de fabrication	21
II.3. Comparaison entre les paillettes en fonction du taureau	23
III. Taux de réussite de l'insémination artificielle de l'inséminateur	25
III.1. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des taureaux	25
III.2. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des races	26
III.3. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction de lieu de fabrication	27
Discussion Générale	28
Conclusion & Recommandation	29

L'élevage bovin constitue un secteur important pour subvenir aux besoins de consommation algérienne en matière protéique d'origine animale (lait et viande). En effet, afin d'atteindre cet objectif, on contraint de faire reproduire les animaux. Effectivement « Sans la reproduction, pas de production ».

Cependant les performances de reproduction de nos fermes bovines sont loin des normes recommandées et encore ne cessent de se déclinier. Certains attribuent ce manque de performances reproductives à l'alimentation, à la femelle et d'autres au côté mâle. La contribution du mâle au niveau des fermes est assurée, principalement, par l'Insémination Artificielle compte tenu de ces avantages.

C'est dans cette optique que s'inscrit notre travail. Il consiste à analyser la qualité de la semence des paillettes d'IA dans des conditions réelles du quotidien de l'inséminateur. L'objectif est d'essayer d'apporter des réponses quant aux caractéristiques spermatiques des paillettes et leur relation avec les performances observées sur le terrain.

Chapitre I : historique, situation et progrès de la technique d'IA Historique

I.1. L'historique

Dès le XIV^e siècle, l'insémination artificielle aurait été pratiquée par les arabes pour la reproduction des chevaux et ce grâce à ABOU-BAKR ENNACIRI. Toutefois la première expérience scientifique fut réalisée avec succès par le physiologiste italien Lauro SPALLANZANI en 1779 qui obtient trois chiots 62 jours après avoir inséminer artificiellement une chienne de race Barbets. En 1885, le vétérinaire français REPIQUET utilisa cette technique chez l'espèce chevaline pour sa clientèle.

Au début du XX^e siècle, IVANO V et ses collaborateurs pratiquèrent en Russie les premières IA chez les ovins. Par la suite, ils firent passer cette technique dans la pratique de l'élevage en mettant au point le vagin artificiel pour taureaux, béliers et étalons.

En 1938 déjà, plus de 1 million de vaches et 15 millions de brebis étaient inséminées en URSS. Les premières coopératives se créaient en 1936 au Danemark, 1938 et 1939 aux USA. Néanmoins, la conservation du sperme à la température ambiante ne permettait pas le testage des géniteurs. Ce problème fut résolu en 1952 par Poldge et Rowson qui mirent au point les premières techniques de conservation par congélation dans de l'azote liquide à -196°C. C'est ainsi que l'insémination artificielle prit réellement son essor.

Cette biotechnologie est actuellement très répandue dans le monde. Son utilisation dans les pays en voie de développement reste en deçà par rapport aux pays développés. Ceci s'explique par :

- Les exigences fondamentales d'un service d'insémination.
 - Stimulation économique.
 - Qualités des techniques essentielles.
 - Service fiable.
- Personnel de service qualifié.
- Organisation des services de terrain.
- Approvisionnement en sperme.
- Coût.
- Contrôle.

En Algérie l'introduction de l'insémination artificielle date de l'époque coloniale. Après l'indépendance cette technique a connu une évolution très importante surtout avec la

création du Centre National d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique (GNIAAG).

I.2. Situation et progrès de la technique

Plusieurs grandes étapes ont marqué le développement de l'IA et les progrès dans la qualité du service rendu :

La découverte du rôle bénéfique des antibiotiques et des sulfamides sur le pouvoir fécondant du sperme et la réduction du taux de la mortalité embryonnaire.

La mise a point de méthode rapide de congélation du sperme en paillette par JONDET en 1964 et en pastilles par NAGASE et NIWA en 1964 a considérablement simplifié les conditions pratiques de la préparation de la semence, et augmenté ainsi le potentiel de travail des centres (GHOZLANE, 2004).

Le sexage des spermatozoïdes dont les progrès réalisés ces dernières années permettent d'envisager son utilisation dans le cadre de la production de semence et de l'insémination chez les espèces domestiques. En effet la séparation des spermatozoïdes X ou Y par cytométrie en flux en fonction de leur contenu en ADN a permis l'obtention de naissances du sexe souhaité chez sept espèces différentes. D'autres méthodes de sexage sont actuellement recherchées (DRUART et RIBEIRO BENTO DOS SANTOS, 2004).

Chapitre II: Évaluation de la qualité du sperme

L'évaluation de la qualité du sperme d'un animal dans les élevages en général, vise en fait à rencontrer trois objectifs :

- d'identifier les animaux infertiles.
- d'évaluer la fertilité d'un animal antérieurement infertile.
- détecter les animaux dont la fertilité est supérieure.

En pratique, seuls les deux premiers objectifs sont susceptibles d'être atteints, étant donné la multiplicité des facteurs responsables du troisième. Cette dernière entre dans le cadre de sélection de géniteurs pour l'IA sur la base de leurs performances observées sur la descendance.

La fertilité d'un mâle dépend de la capacité de celui-ci à former un nombre suffisant de spermatozoïdes qui seront déposés au moment optimal et à l'endroit anatomique optimal du tractus génital femelle pour optimiser leur contact avec l'ovocyte, en permettre la fertilisation et le développement embryonnaire.

Deux types de facteurs séminaux sont susceptibles d'interférer avec la fertilité d'un mâle compte tenu de l'interaction existante entre la quantité et la qualité du sperme (HANZEN, 2009).

II.1. Examens macroscopiques

II.1.1. Volume

La quantité de sperme varie selon les espèces et pour une espèce donnée, selon l'état physiologique de l'individu, l'âge, la saison, les méthodes de récolte, la race ou encore les conditions sanitaires et alimentaires. Le volume de sperme recueilli est apprécié directement par la lecture de tube gradué. Habituellement, le volume moyen est de : $3\text{ à }8\text{m}^3$. Il ne s'agit que d'un élément quantitatif, sans incidence sur la qualité de sperme (DUCLOS, 1998).

II.1.2. Aspect et consistance

Le sperme normal est un liquide crémeux, épais consistant en suspension de spermatozoïdes dans le plasma séminal. Il devient plus clair au fur et à mesure que concentration en spermatozoïdes diminue (BONNES et al, 2005).

II.1.3. Couleur

Le sperme est normalement blanchâtre. Une coloration jaunâtre n'a pas de signification pathologique. Contrairement à la coloration brunâtre liée à la présence de souillures (sang par exemple). La coloration limpide laisse présager un taureau stérile (DUCLOS, 1998).

La coloration rosée ou rougeâtre résulte de la présence de sang. Quelques gouttes ou ml de sang peuvent parfois apparaître à la fin de l'éjaculation. Elles disparaissent le plus souvent spontanément et n'interfère pas avec la fécondation (HANZEN, 2009).

II.1.4. Viscosité et pH

La viscosité dépend de la concentration en spermatozoïdes. Comparée à l'eau distillée, la viscosité du sperme de taureau est de 3,7. Elle dépend également de sa conductibilité électrique c'est-à-dire de sa concentration en ions. La mesure du pH (pHmètre, papier indicateur) doit être immédiate, le sperme s'acidifiant rapidement étant donné la formation d'acide lactique. Sa valeur normale doit être comprise entre 6,5 et 6,8 (ROSENBERGER, 1977)

II.2. Examen microscopique du sperme

L'examen microscopique permettra de poser le diagnostic de l'une ou l'autre anomalie dont il est important de rapporter les définitions. On parlera :

- d'asthénospermie ou d'asthénozoospermie si la motilité individuelle est inférieure à 30 % ou si la note de motilité massale est inférieure à 2.
- d'azoospermie en cas d'absence de spermatozoïdes dans l'éjaculat.
- nécrospermie si l'on observe une proportion élevée de spermatozoïdes morts.
- L'oligospermie traduit une concentration faible en spermatozoïdes ($< 300.000 / \text{mm}^3$).
- La teratospermie ou teratozoospermie traduit la présence d'une proportion élevée en spermatozoïdes anormaux ($> 30 \%$) (HANZEN, 2009).

II.2.1. Détermination de la motilité massale

La motilité du spermatozoïde est due à la contraction du filament axial. L'examen de la motilité doit se faire le plus rapidement possible après l'ouverture de paillette, en le maintenant rigoureusement à une température voisine de 38°C.

La progression des spermatozoïdes est habituellement rectiligne. Au cours de leur déplacement, ils subissent une rotation autour de leur grand axe. Leur motilité dépend de leur

présence dans un milieu de pH et de température normale, renfermant en quantités adéquates nutriments et ions, conditions offertes une fois qu'ils sont présents dans les sécrétions séminales. La motilité massale dépend essentiellement de trois facteurs (HANZEN, 2009):

- ✓ La Concentration
- ✓ Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles
- ✓ La vitesse de déplacement des spermatozoïdes.

Ils doivent être pris en considération dans l'interprétation du score de la motilité massale.

Chez le taureau, La motilité massale s'apprécie au grossissement 100 sur une goutte de sperme non dilué placée sur une platine chauffante à 37°C

les mouvements d'ensemble repérés sont codifiés sur une grille de notation allant de 0 à 5 (grille de notation de la motilité massale du sperme) :

0 : aucun mouvement

1 :mouvement légers

2 :mouvement nets, sans vague

3 :début de vague

4 :vagues très nettes

5 :tourbillons

En général, on a tendance à sous-estimer une bonne mobilité massale et à la surestimer quand elle est mauvaise. L'examen de la motilité massale ne donne qu'une idée fort approximative du pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Mieux vaut donc recourir à l'examen de la motilité individuelle (DUCLOS, 1998).

II.2.2. Détermination de la motilité individuelle :

Les Spz doivent se déplacer en ligne droite et de façon rapide: il s'agit des spz fléchant ou traceur. Tout déplacement lent, ou ondulatoire, voire en rond est anormal. Un sperme normal ne doit pas présenter de phénomène d'agglutination de spz. Il convient d'insister sur le fait que toute manipulation intempestive et anarchique de la semence est susceptible d'intervenir sur l'interprétation de résultat de la motilité individuelle, d'où l'importance de réaliser un bon prélèvement et de le maintenir dans des conditions optimales en évitant choc thermique, pollution physique et chimique. Sur un sperme de bonne qualité, la motilité individuelle se maintient entre lame et lamelle (DUCLOS, 1998).

II.2.3. Détermination de la concentration

La concentration exprime le nombre de spermatozoïdes par mm³ (ou par ml). Elle peut être déterminée directement par comptage des spermatozoïdes au moyen d'une cellule de Malassez ou indirectement par le spectrophotomètre. Ce type de numération suppose la dilution préalable du sperme dans une solution susceptible de disperser et de tuer les spermatozoïdes : solution de chlorure de sodium à 3 % ou solution de formaldéhyde à 1 % (solution de Hancock). Il existe différents types d'hématimètre qui se caractérisent notamment par leur surface (S) et la profondeur de leur chambre de numération (P) : Malassez (S: 5 mm², P: 0.2 mm), Thoma (S : 1 mm², P: 0.1 mm), Neubauer (S : 9 mm², P: 0.1mm) et Türk (S: 9 mm², P: 0.1 mm) (BONNES et al, 2005).

La concentration est déterminée lors d'utilisation de la cellule de Malassez, par la formule suivante :

$$\text{Concentration} = N/5 \times 100 \times D$$

N : nombre de spz comptés dans 5 grandes cellules.

D : taux de dilution.

II.2.4. Examen morphologique

II.2.4.1. Morphologie du spermatozoïde

Le spermatozoïde normal se compose essentiellement d'une tête, d'un col et d'un flagelle.

Comprenant essentiellement le noyau, la tête est recouverte sur ses deux tiers de l'acrosome renfermant dans sa partie antérieure l'hyaluronidase, enzyme chargé de "digérer" le matériel unissant les cellules du cumulus oophorus ovocytaire et dans sa partie postérieure, l'acrosine impliquée dans la pénétration de l'ovocyte par le spermatozoïde. Le col est une région complexe située entre les deux centrioles. Le flagelle comprend la pièce intermédiaire débutant au niveau du centriole distal ; elle constitue la pièce motrice proprement dite, de la pièce principale qui en est la portion la plus longue et de la pièce terminale (JOHNSON et EVERITT, 2002)

II.2.4.2. Principes généraux

L'examen morphologique nécessite la coloration du sperme. Pour ce faire, une goutte de sperme est déposée à l'extrémité d'une lame et étendue en couche mince au moyen d'une autre lame inclinée à 45°. La préparation est séchée à l'air libre en quelques minutes. Le frottis est ensuite fixé par immersion dans une solution d'alcool méthylique ou dans une solution de formaline à 5 %. La fixation à l'air libre est également possible comme celle

consistant à passer rapidement le frottis au-dessus d'une lampe à alcool. Tout choc thermique sera néanmoins évité pendant ces préparations. Les éjaculats trop concentrés seront avantageusement dilués. Certaines colorations ont pour objet de mieux faire apparaître la morphologie du spermatozoïde (coloration totale), les autres dites vitales permettent de différencier les spermatozoïdes morts et vivants (HANZEN, 2009).

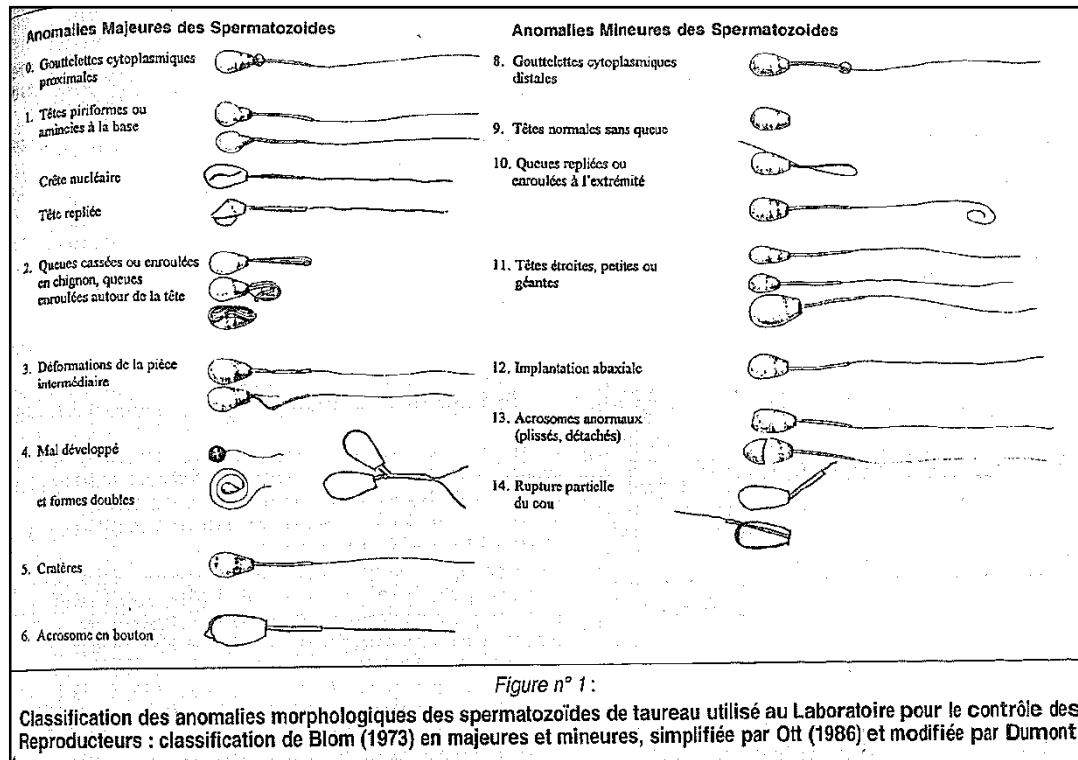


Figure n° 1 : représentation des principales anomalies de morphologie des spz (OTT, 1986).

Principe de la coloration vitale à l'éosine-nigrosine

- Solution d'éosine-nigrosine maintenue au réfrigérateur
- Placer huit gouttes de la solution dans un tube au bain-marie à 37°C
- Placer deux gouttes de sperme dans le même tube
- Agiter
- Après 5 minutes d'équilibration, faire un frottis sur une lame à 37°C
- Sécher la préparation aussi vite que possible pour réduire l'effet du
- choc hypotonique induite par le colorant

II.2.4.3. Anomalies morphologiques

Les lésions du spermatozoïde peuvent également être qualifiées de majeures ou de mineures selon qu'elles exercent ou non un effet négatif sur la fertilité. Enfin, elles peuvent concerner isolément ou simultanément les diverses parties du spermatozoïde (HANZEN,

2009). On considère en effet qu'un sperme normal ne doit pas compter plus de 15% à 20% de spz anormaux. On reconnaît des anomalies de (DUCLOS, 1998). :

- la tête
- la pièce intermédiaire
- du flagelle
- la décapitation

II.2.5. Examens complémentaires

La glycolyse et la respiration constituent les deux principales activités métaboliques des spermatozoïdes. Elles sont étroitement dépendantes de la concentration et de la motilité des spermatozoïdes. En l'absence d'oxygène, les spermatozoïdes trouvent leur principale source d'énergie dans le métabolisme des hydrates de carbone et du fructose notamment, présent en grandes concentrations dans les vésicules séminales. L'index de fructolyse se définit comme la quantité de fructose (mg) utilisée par un milliard de spermatozoïdes en une heure à 37°C. Sa valeur normale est comprise entre 1.4 et 2. D'autres tests complémentaires peuvent être réalisés en vue d'évaluer l'intégrité de la membrane plasmique (coloration à l'éosine-nigrosine, au moyen de fluorochromes, test hypo-osmotique), de l'acrosome (examen direct ou indirect après induction de la réaction acrosomiale, du noyau (test de décondensation de la chromatine) (DUCLOS, 1998).

II.3. Interprétations

L'appréciation de la fonction sexuelle du taureau est réalisée de manière fort différente selon la catégorie à laquelle il est susceptible d'appartenir :

- ✓ taureau de monte naturelle.
- ✓ taureau destiné tardivement à l'insémination.
- ✓ taureau de la filière insémination artificielle.

III. Facteurs de variation des paramètres spermatiques

III.1 Alimentation

L'alimentation semble être un facteur limitant pour une production de semence de bonne qualité. (GERARD, 2005). Son effet est d'autant plus marqué en période pré pubertaire; une variation du régime alimentaire pourrait avoir une répercussion ultérieure sur la fécondité (CRAPLET et THIBIER, 1973),

III.2 Température

Une corrélation significative a été observée entre la variation de température et le pourcentage de spermatozoïdes vivants. (COULIBALY, 1988 cités par SAUVEROCHE et WAGNER, 1993). En effet, toute augmentation de la température entraîne une forte mortalité. Un abaissement provoque une réduction de la vitesse de mobilité (CRAPLET et THIBIER, 1973).

III.3 Age

La fécondité augmente progressivement à partir de la puberté, elle atteint un maximum vers 4 - 5 ans et diminue en suite progressivement. (CRAPLET et THIBIER, 1973).

III.4 État de santé

Toute maladie peut compromettre la spermatogenèse et conduit à la stérilité, souvent la morphologie des spermatozoïdes est altérée (CRAPLET et THIBIER, 1973).

III.5 Rythme de collecte

Le rythme de collecte influence également le nombre de spermatozoïdes par éjaculat dans de nombreuses espèces. Il a été observé en ovin et en bovin, une augmentation du volume, de la concentration et donc du nombre de, spermatozoïdes par éjaculat lorsque la période d'abstinence s'allonge et une diminution de ces trois critères avec le numéro d'éjaculat lors d'éjaculations successives dans la plupart des études (DAVID, 2008).

Le but de la présente étude est d'évaluer la qualité de semence des paillettes d'insémination artificielle bovine. Pour atteindre cet objectif, on a sollicité un technicien inséminateur afin de nous procurer quelques paillettes (la description de ces paillettes est illustrée dans le tableau n° 1). Il nous a ramené, de Béjaia, les paillettes jusqu'à l'École Nationale Supérieure Vétérinaire dans un BT2.

L'inséminateur s'approvisionne en paillettes d'IA de CNIAAG d'Alger et de Sétif. Il exerce dans la wilaya de Béjaia depuis 2009, ayant un taux de réussite acceptable : 65,10 % soit 97 gestation sur 149 IA (du janvier 2010 jusqu'au mars 2011).

Dès l'arrivage des paillettes, on a procédé à leur analyse dans le laboratoire de physio-reproduction de l'ENSV.

I. Matériels

I.1. Présentation du matériel utilisé

L'équipement utilisé pour l'analyse de la semence est :

- Paillette d'AI bovins conservé dans BT2.
- Microscope a plaque chauffante 37°C.
- Plaque chauffante réglée à 37 °C.
- Colorant des cellules mortes : Eosine-Négrosine.
- Solution de dilution pour la motilité individuelle : sérum physiologique.
- Solution de dilution pour la concentration : Formol 1 %.
- Cellule de comptage la « Malassez ».
- Lame et lamelle.
- Petits tubes en plastique à essai à usage unique ayant une extrémité en cône.
- Pistolet d'IA 40-45 cm.
- Gaines du pistolet d'IA en plastiques à usage unique.
- Bain-marie à 35- 37°C.
- Micropipette de potin et cupules.

I.2. Présentation des paillettes examinées

Le tableau n° 1 nous rapporte les caractéristiques des paillettes examinées (nom du taureau, race ...). Le travail a été mené sur 4 taureaux, 3 races différentes et de lieu de fabrication différents. Ces caractères sont utilisés comme facteur de variation de la qualité des paillettes.

On a gardé le même ordre de distribution des taureaux dans la présentation des résultats. Il a noté que sur les 10 paillettes, il y avait une défectueuse (paillette n° 10) et une autre non identifiée (aucun renseignements sur la paillette).

Tableau n° 1 : Description des paillettes analysées selon les renseignements écrites sur elle-même.

N° paillette	Taureau	Race	Date de fabrication	Lieu de fabrication
1	WALUS	FL	11/06/2011	Étranger
2	Anonyme	/	/	/
3	WALUS	FL	11/06/2010	Etranger
4	ALBOR	PNH	29/03/2010	Etranger
5	RADIST	PNH	21/11/2010	CNIAAG
6	ALBOR	PNH	29/03/2010	Etranger
7	RUSSIE	Montbéliard	02/12/2009	CNIAAG
8	RUSSIE	Montbéliard	09/03/2011	CNIAAG
9	RUSSIE	Montbéliard	02/12/2009	CNIAAG
10*	FREGATE	Montbéliard	16/03/2011	CNIAAG

*défectueuse.

II. Méthodes

II.1. Préparation des paillettes et extraction de la semence

Après avoir préparé au préalable tout le matériel nécessaire. On a décongelé puis examinée, à chaque fois une paillette à part, dans de l'eau chauffée à 37 °C pendant 40 secondes.

On a monté la paillette sur le pistolet de l'IA et on a extrait la semence dans les petits tubes en respectant les mêmes étapes utilisées lors de l'insémination.

Les renseignements (race, nom du taureau, date de fabrication ...) concernant chaque paillette sont rapportés immédiatement dans un bloc-notes. Ainsi pour chaque paramètre d'évaluation de la qualité de la semence.

II.2. Dilution de l'échantillon

Après avoir récupéré la semence dans un petit tube. On a prélevé 1 volume de sperme (50 µl) et on la mise dans un autre petit tube contenant 9 équivalent-volume du sérum physiologique (450 µl) afin d'avoir un taux de dilution de 1/10, ainsi pour l'appréciation de la motilité individuelle. Dans le but d'apprécier la concentration, on a prélevé 1 volume de la solution diluée 1/10 (c-à-d 25 µl), dans 19 volume de formol 1 % (c-à-d 475 µl) afin d'obtenir un taux de dilution de 1/200. Il faut noter qu'à chaque manipulation, on changeait les cupules par d'autres neuves.

II.3. Préparation des lames

Pour chaque paillette analysée, on lui a préparé 3 lames, 3 lamelles et une cellule de Malassez propre. Ces lames sont entreposées sur la plaque chauffante à 37 °C afin d'éviter un éventuel choc thermique.

II.3.1. Préparation de la lame pour l'appréciation de la motilité massale

On a prélevé une goutte du sperme pur, à l'aide de la micropipette. On l'a posée sur une lame sans lui mettre une lamelle en dessus. Puis, on observe sous microscope à plaque au grossissement x100.

II.3.2. Préparation de la lame pour l'appréciation de la motilité individuelle

On a prélevé une goutte du sperme dilué à 1/10 dans le sérum (NaCl 9 %), à l'aide de la micropipette. On l'a posée entre une lame et une lamelle. Puis, on observe sous microscope à plaque au grossissement x400.

II.3.3. Préparation de la lame pour le teste de viabilité et l'estimation des anomalies de formation

On a prélevé une goutte du sperme dilué à 1/10 dans le sérum, à l'aide de la micropipette. On l'a posée entre une lame puis on a ajouté 2 gouttes du colorant (Eosine-Nigrosine) et on laisse agir pendant 1 à 2 minutes. La lamelle est déposée après avoir étalé le mélange par une autre lame. Puis, on observe sous microscope à plaque au grossissement x400.

II.3.4. Préparation de la cellule de Malassez pour détermination de la concentration

On a monté la lamelle sur la cellule de Malassez au préalable avant de poser l'échantillon sur la lame. On a prélevé une goutte du sperme dilué à 1/200 dans le formol 1%. Puis, on a déposé une goutte près de la lamelle, en suite on laisse, pendant 1 à 2 minutes, diffuser par phénomène de capillarité. En fin, on observe sous microscope au grossissement x400. Le calcul de la concentration est déterminé par la l'équation suivant :

$$C = (N/5) * 100 * D$$

- Par cette relation, on détermine le nombre de Spz dans un volume de 1 μ l ou 10^{-3} ml. Ce volume est propre à la cellule de Malassez qui est le produit de 5 mm² et 0,2 mm).
- Par l'application de la règle de trois, on détermine le

Où :

N : Nombre de Spz compté dans 5 grandes cellules.

D : taux de dilution

1. Motilité massale :

La figure n° 2 représente la motilité massale. On observe clairement plus de 80% (88,88%) des paillettes analysées ayant une motilité massale très bonne ($\geq 3\%$) dont 44,44% ont la note de 4, alors que la note de 2 est présente dans 11,11 % des paillettes analysées.

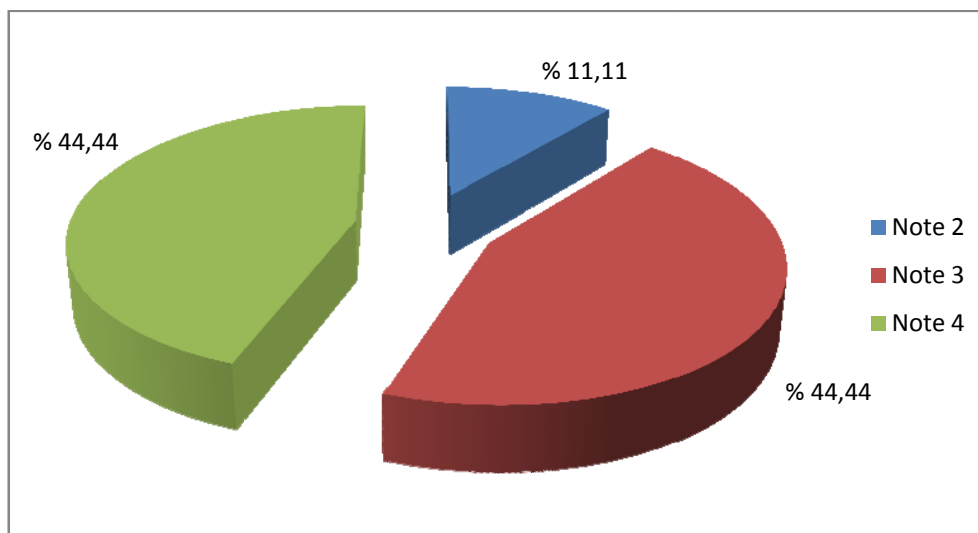


Figure n° 2 : diagramme en secteur représentant la motilité massale.

2. Motilité individuelle :

La figure n° 3 : représente le pourcentage des spermatozoïdes fléchant. Dans cette figure on observe que certains paillettes (4;5;et 6) ont une très bonne motilité individuelle ($\geq 90\%$), alors que la paillette n°3 présente une motilité de 80% ; tandis que les paillettes 1 ; 2 ; 7 ; 8 ; 9 ont une motilité $\leq 70\%$ dont la paillette n°9 a une très mauvaise motilité individuelle (5%).

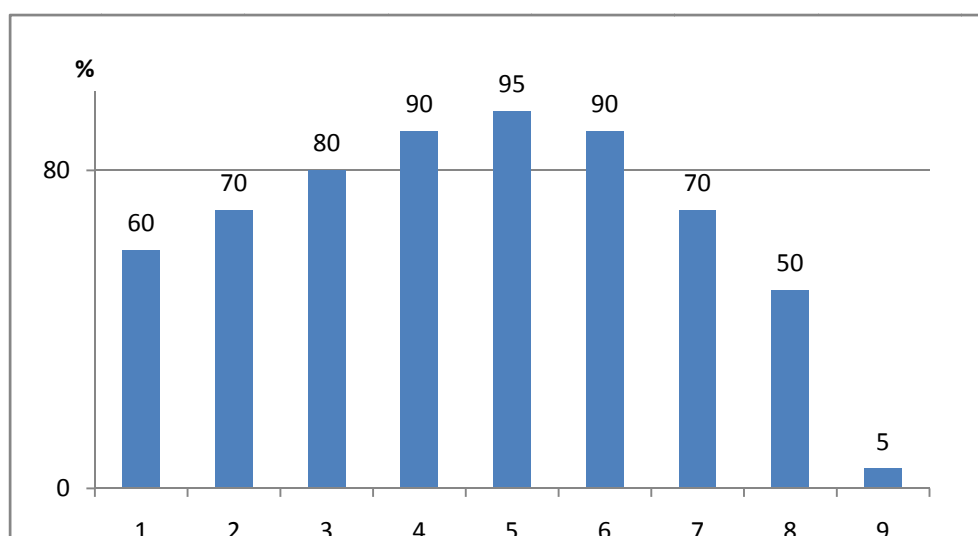


Figure n° 3 : Histogramme représentant le pourcentage des spermatozoïdes fléchant.

3. Mouvement anormal :

La figure n° 4 représente le pourcentage des spermatozoïdes ayant des mouvements anormaux, on note dans cette figure que les paillettes n°3 et 5 ne présentent aucun mouvement anormal, tandis que les paillettes n°1 et 2 ont un pourcentage relativement élevé (10%) des spermatozoïdes ayant des mouvements anormaux, alors que les paillettes n°4 ; 7 ; 8 présentent un pourcentage relativement faible ($\leq 5\%$) des mouvements anormaux (tournent en rond ou ondulateur).

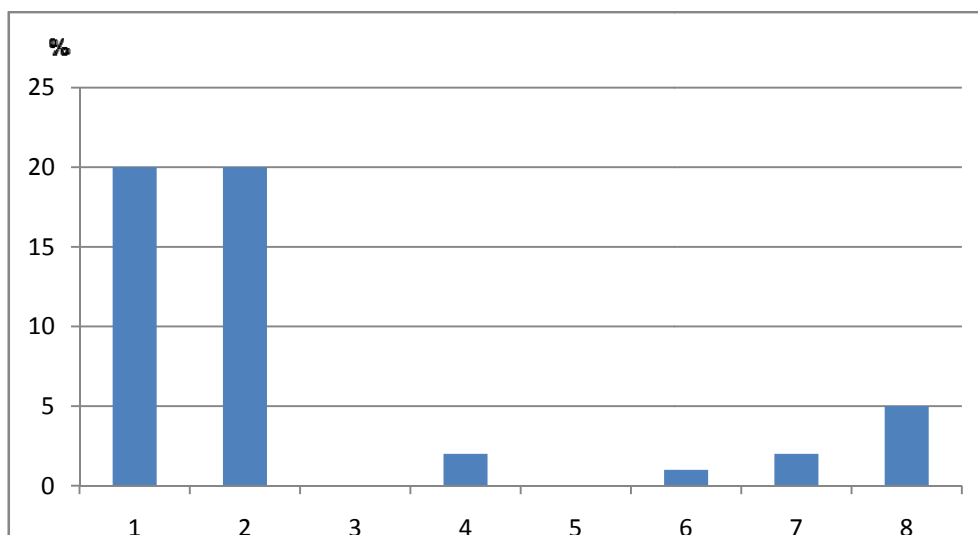


Figure n° 4 : Histogramme représentant le pourcentage des spermatozoïdes ayant des mouvements anormaux.

4. La concentration :

La figure n° 5 représente la concentration des paillettes en Spz. On remarque que la concentration est très bonne par rapport aux normes (20 à 25 10^6 spz) de fabrication des paillettes. La concentration de la paillette n° 7 n'était calculée, faute d'une erreur de dilution lors de la manipulation. Elle est considérée comme une aberration statistique.

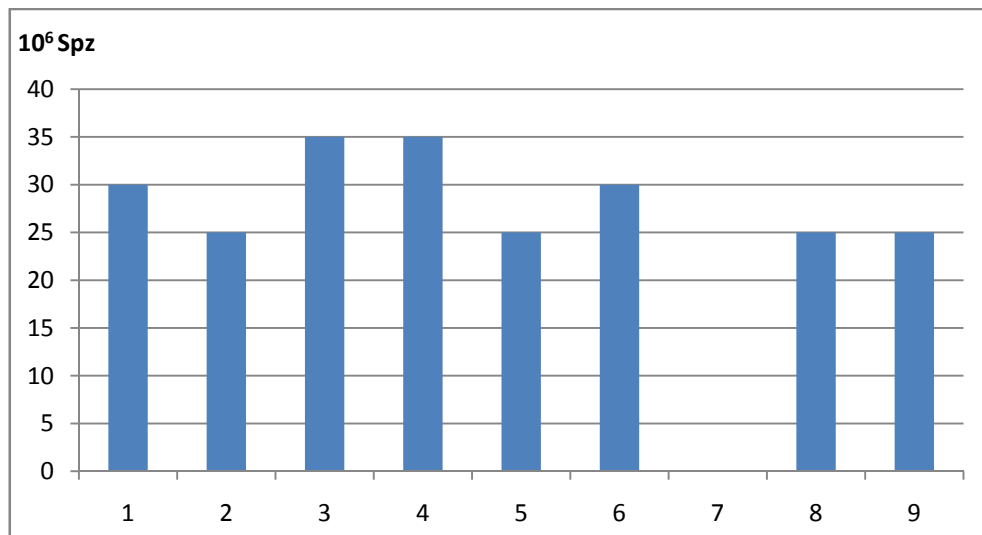


Figure n° 5 : Histogramme représentant la concentration des spermatozoïdes

5. Le taux des spermatozoïdes morts :

La figure n° 6 représentant le taux de spermatozoïdes morts, dans cette figure on observe un taux très élevé ($\geq 80\%$) des spermatozoïdes morts présenté par les paillettes n° 7 ; 8 ; 9, et un taux de 60% par la paillette n°2, tandis que les paillettes n° 1 ; 3 ; 4 ; 5 ; 6 présentent un taux de mortalité $\leq 20\%$.

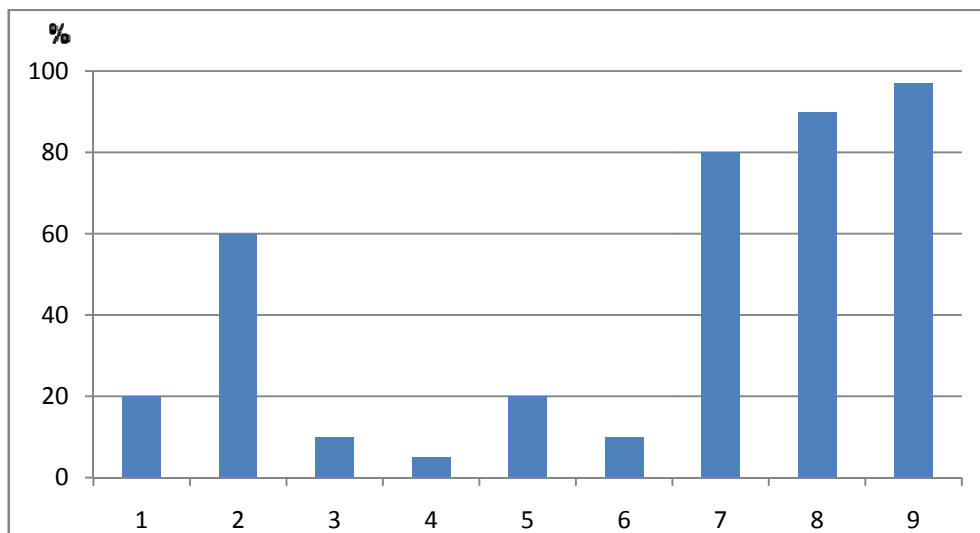


Figure n° 6 : Histogramme représentant le taux de spermatozoïdes morts.

6. Taux d'anomalie de morphologie :

La figure n° 7 représente le taux des anomalies de formation, on note dans cette figure un taux de 5% présenté par la paillette n°2, et un taux $\leq 3\%$ présenté par le reste des paillettes

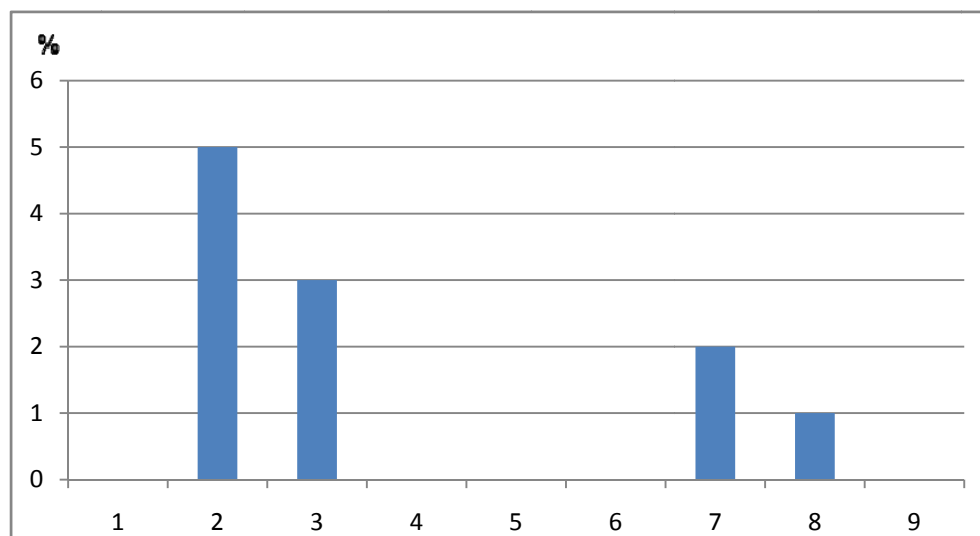


Figure n° 7 : Histogramme représentant le taux des anomalies de formation

II. Comparaison entre les paillettes (facteurs de variation de la qualité) :

II.1. Comparaison entre les paillettes en fonction de la race :

La comparaison entre les paillettes analysées en fonction des races montre la présence des variations dans les paramètres spermatiques. En effet, c'est la race PNH qui a une légère supériorité quant à la motilité massale et individuelle (figure n° 8 a et b) suivie par la montbéliarde. Néanmoins, les trois races ont une notation acceptable en ces paramètres (≥ 3 et ≥ 60 % respectivement). On remarque aussi que la race PNH enregistre moins d'anomalies de mouvements ou de morphologies que les deux races (figure n 8 c et f). La race Fleckviech (FL) a les taux les plus élevés surtout pour les anomalies de mouvements (10 %).

On remarque que la race montbéliarde non seulement présente la plus faible concentration ($28,55 \cdot 10^6$ spz) par rapport aux deux autres races mais aussi le taux le plus élevé de Spz morts (46,5 %) (figure 8 d et e). Quant à la race FL présente la concentration la plus élevée des deux races mais elle possède le taux le plus élevé des anomalies de morphologie (6,5 et 1,5 % respectivement) (figure 8 d et f). La race PNH présente une concentration en Spz intermédiaire ($30 \cdot 10^6$ spz), le taux le plus faible de mortalité (11,67 %) et aucune anomalie morphologique.

.

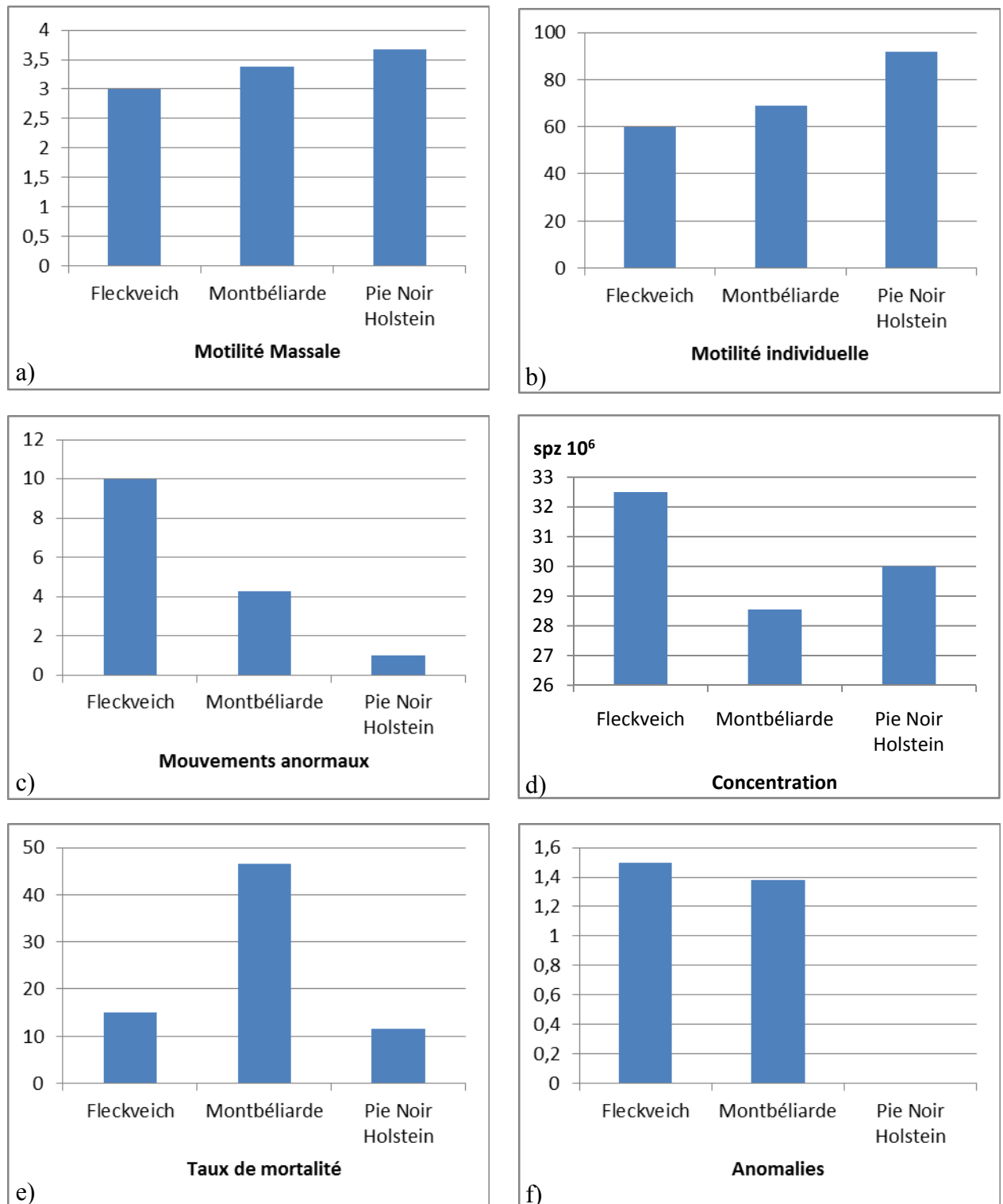


Figure n° 8: histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction de la race (a : motilité massale ; b : motilité individuelle ; c : mouvements anormaux ; d : concentration ; e : taux de mortalité ; f : anomalies).

II.2. Comparaison entre les paillettes en fonction de leur lieu de fabrication

On note sur la figure n° 9 que les paillettes importées ont une légère supériorité en la motilité massale (3,5 vs 3,38) et elle plus nette pour la motilité individuelle (80,8 vs 68,75 %) (figure 9 a et b). En dépit de cette supériorité, on enregistre un taux de 7,17 % des mouvements anormaux contre 4,29 % pour paillettes fabriquées au CNIAAG (figure 9 c).

L'avantage est toujours observé des paillettes de l'étranger par rapport à celles fabriquées localement, tant pour la concentration (30vs 28,55 10^6 spz) que pour le taux de Spz morts (20,83 vs 46,5 %) respectivement (figure 9 d et e).. Néanmoins, l'égalité est observée pour le taux des anomalies de morphologie qui est de (1,33 %) (figure 9 f).

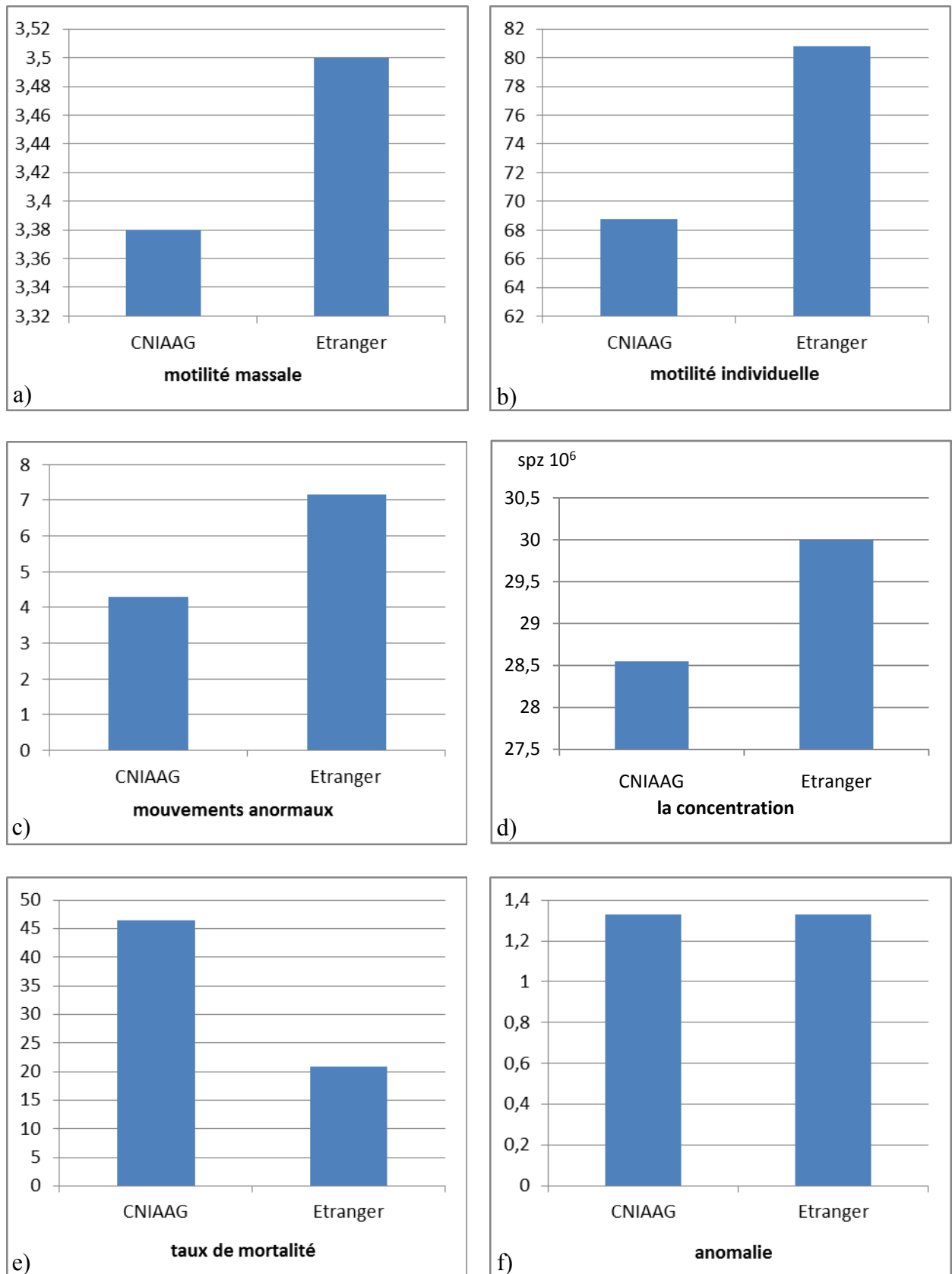


Figure n° 9 : histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction du lieu de fabrication (a : motilité massale ; b : motilité individuelle ; c : mouvements anormaux ; d : concentration ; e : taux de mortalité ; f : anomalies).

II.3. Comparaison entre les paillettes en fonction du taureau

En étudiant les paramètres spermatiques des taureaux, on remarque sur la figure n° 10 (a et b) qu'en général, la motilité massale et individuelle sont bonnes pour l'ensemble des taureaux, mais on note une distinction du taureau « RADIST » (4 et 95 % respectivement). Cette distinction est encore observée pour les autres caractères sauf pour la concentration où elle est la plus faible par rapport aux autres taureaux ($25 \cdot 10^6$ spz) (la figure n° 10 d).

Ensuite, une attention particulière doit être accordée au taureau « ALBORT », puisqu'il présente le taux le plus faible d'anomalies de mouvements et de mortalité (1 et 11,67 % respectivement) (la figure n° 10 c et e), une concentration élevée ($30 \cdot 10^6$ spz) (la figure n° 10 d) et aucune anomalie morphologique (la figure n° !!! f).

Finalement, on remarque que le taureau « WALUS » présente une meilleure concentration et un faible taux de Spz morts que le taureau « Russie » (30 vs $28,55 \cdot 10^6$ spz et 30 vs $46,5$ % respectivement) (la figure n° 10 d et e). Toutefois, le contraire est observé pour les anomalies de mouvements et morphologiques ($13,33$ vs $4,29$ et $2,67$ vs $1,38$ % respectivement) (la figure n° 10 c et f).

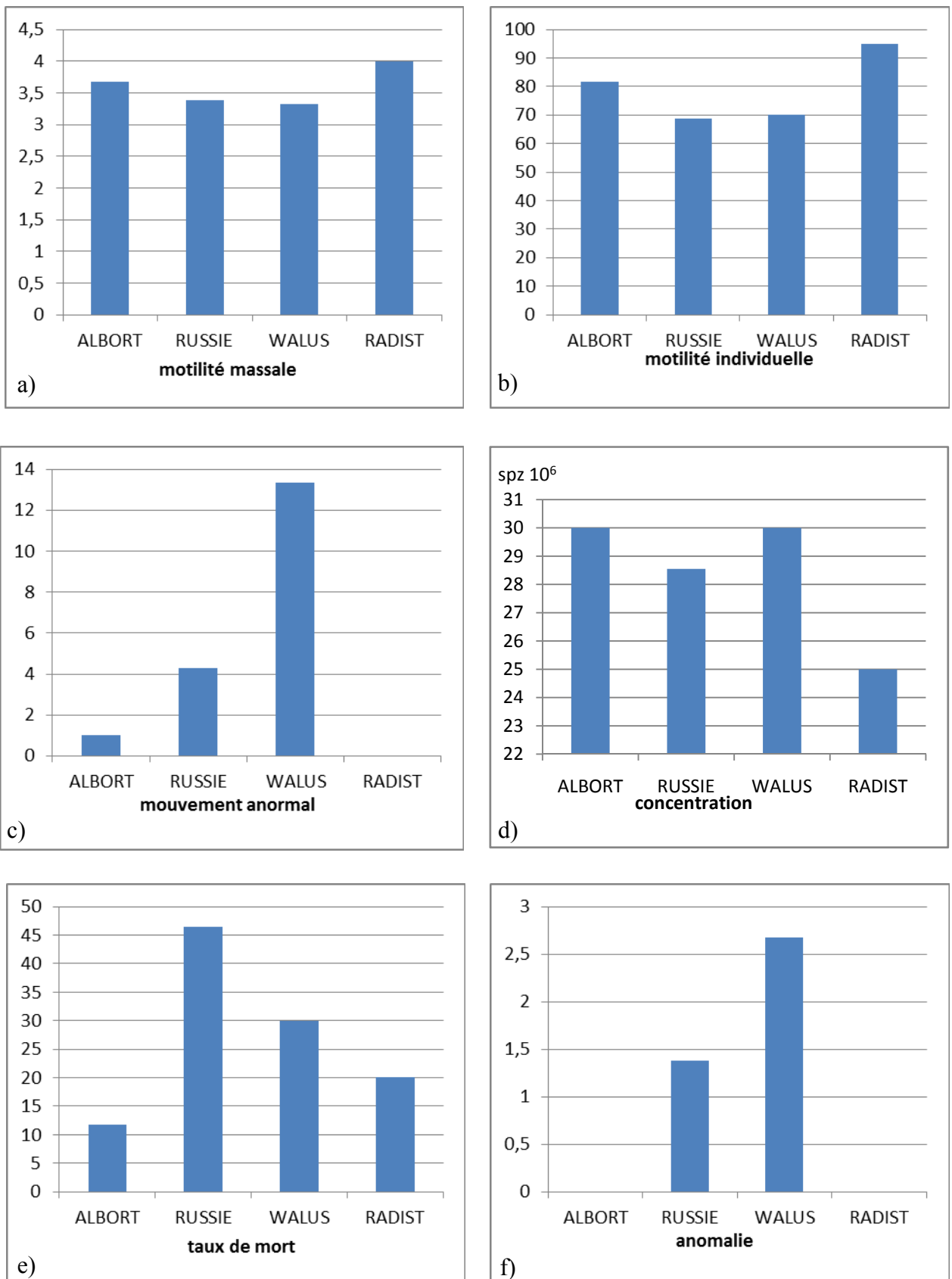


Figure n° 10 : histogrammes représentant la comparaison entre les paillettes en fonction des taureaux (a : motilité massale ; b : motilité individuelle ; c : mouvements anormaux ; d : concentration ; e : taux de mortalité ; f : anomalies).

III. Taux de réussite de l'insémination artificielle de l'inséminateur

III.1. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des taureaux

On remarque sur la figure n° 11 qu'hormis le taureau « RADIST », les taux de réussite de tous les taureaux (des paillettes examinées et non-examinées) est ≥ 50 %. L'élite est constituée par les géniteurs « FREGATE » et « PLELO » (85 et 81,81 % respectivement) (Annexe 1).

En considérant les performances sur le terrain des taureaux examinés (représentés en bleu) et non-examinés (représentés en rouge), on note qu'elles n'excèdent pas les 70 % pour les géniteurs examinés et elles ressemblent aux performances de ces trois taureaux non-examinés (« VOLT », « RUM » et « RAPALLO »).

Compte tenu de la figure n° 10 faut noter seulement que les constats faits, quant à la qualité de la semence des taureaux, ne se vérifient pas sur le terrain. Effectivement, on a remarqué que les meilleurs qualificatifs attribués aux taureaux mais ils ne sont pas vérifiés. Surtout pour le taureau « RADIST » dont le taux de réussite est nul. Probablement, il est dû au petit nombre de paillettes utilisées de ce taureau sur le terrain (02 inséminations seulement).

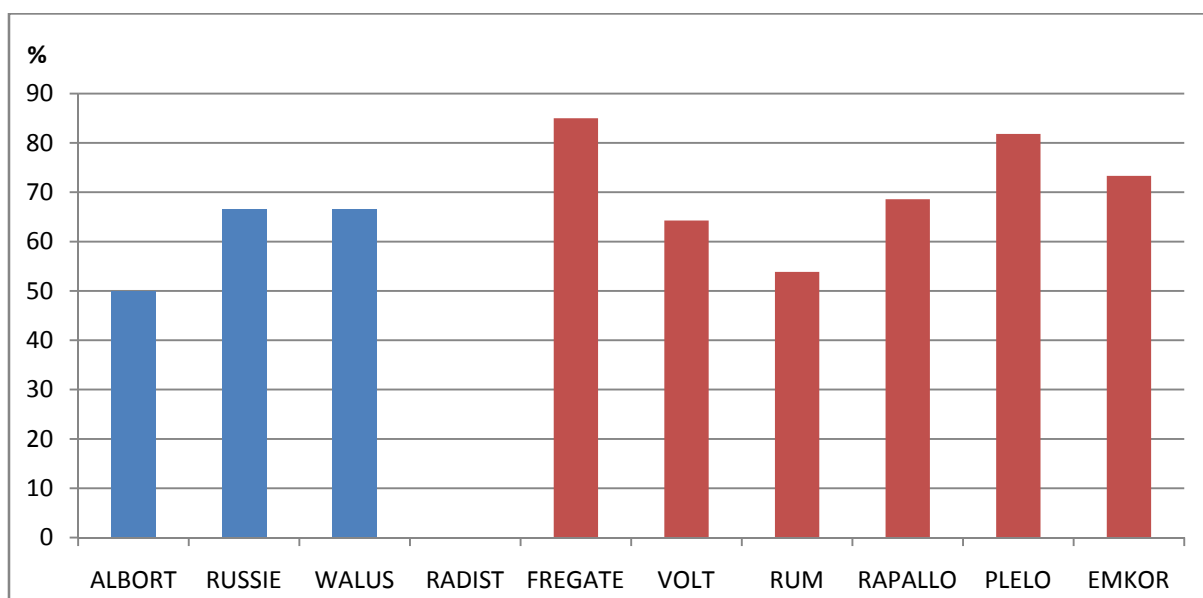


Figure n° 11: histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des taureaux sur le terrain.

III.2. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des races

On remarque sur la figure n° 12 que le meilleur taux de réussite enregistré par l'inséminateur est attribué à la race PRH (81,82 %), en suite et à taux relativement égaux pour les races Montbéliarde et Brunes des Alpes (72,37 et 73,33 % respectivement). La race PNH a le taux le plus faible (40 %).

En tenant compte des paillettes examinées (représentées en bleu) et non-examinées (représentées en rouge), on remarque que l'avantage est pour les taureaux non-examinés. Cependant, pour les races dont leurs paillettes sont examinées, on note inversion des rôles par rapport aux leurs qualités montrées dans la figure n° 8. Dans cette figure, la supériorité est pour la race montbéliarde et l'infériorité est pour la race PNH, constat tout à fait le contraire dans la figure n° 8.

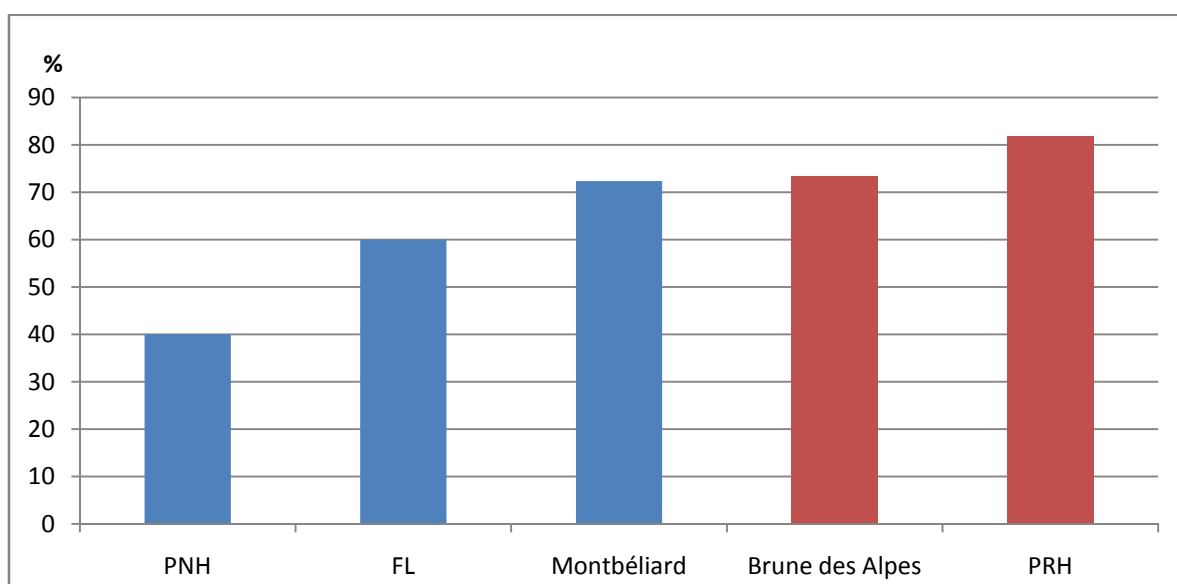


Figure n° 12: histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction des races sur le terrain.

III.3. Taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction de lieu de fabrication

On remarque sur la figure n° 13 que le taux de gestation obtenue par des paillettes issues du CNIAAG est légèrement supérieur à celui des paillettes importées. Cet état de lieu contrevient les observations de la figure n° 9 où l'avantage était pour les paillettes étrangères.

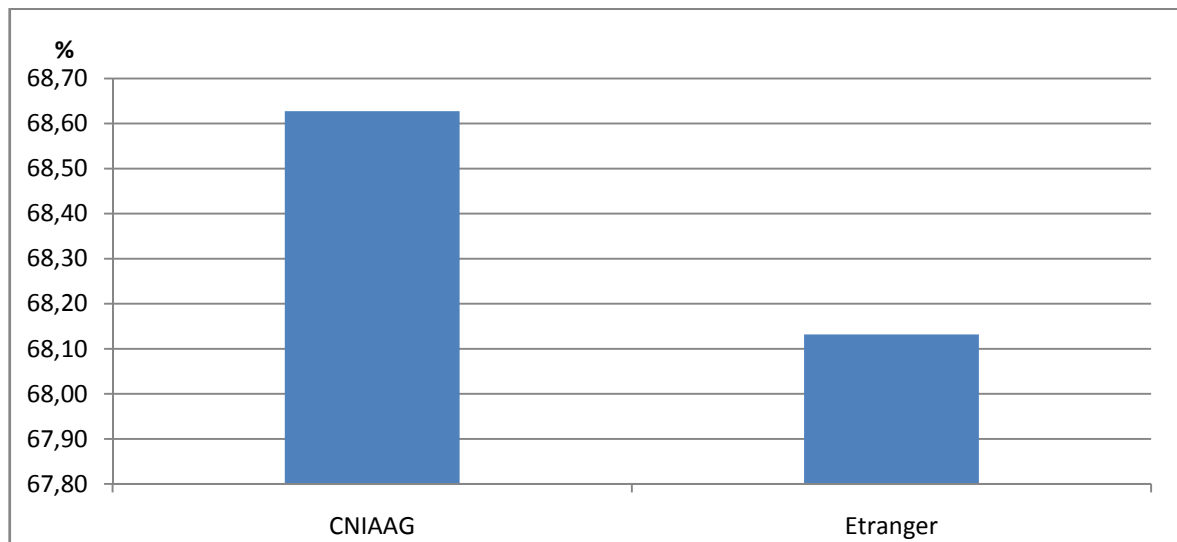


Figure n° 13 : histogramme représentant taux de réussite de l'insémination artificielle en fonction du lieu de fabrication, sur le terrain.

L'examen des paillettes de l'insémination artificielle bovine nous a révélé, en tenant en compte les caractères spermatiques étudiés, qu'elles sont de bonne qualité en termes de concentration et de motilité. Néanmoins, l'observation de chaque caractère à part et pour chaque paillette, nous montre certaines différences qui peuvent être alarmante comme le taux de spz morts après décongélation.

Cette différence entre les paillettes est aussi observée lorsqu'on tient compte de la race (par exemple la race PNH a présenté des caractères spermatiques excellents), du lieu de fabrication (les paillettes importées sont relativement de qualité supérieure par rapport à celles fabriquées localement, seulement il faut retenir que ces dernières répondent largement aux normes de fabrication) cela suggère que l'importation se fait sur la base d'une exigence très sévère quant à la qualité des paillettes importées. Nous pensons que le recours à l'importation de telles paillettes ne fait que diversifier le choix du taureau pour l'inséminateur et de même, l'embarras du choix du progrès génétique de l'éleveur pour son élevage.

Toute fois, cette supériorité enregistrée à la faveur de certaines races, taureaux ou paillettes en fonction de leur provenance, n'est pas vérifiée sur le terrain. On effet, on a constaté que les paillettes ayant de bons caractères spermatiques n'ont pas forcément les meilleurs taux de réussite, et le contraire est observé pour celles ayant une qualité moindre. Cet état est vrai pour tous les facteurs de variation étudiés (race, taureau et lieu de fabrication des paillettes). Ce phénomène s'explique majoritairement du fait que la réussite de l'insémination artificielle ne dépend pas seulement de la qualité du sperme, mais aussi, du moment de l'insémination (la détection des chaleurs), la technicité de l'inséminateur et de la femelle elle-même (alimentation, mortalité embryonnaire, état sanitaire ...).

L'évaluation de la qualité de la semence que soit fraîche ou d'insémination artificielle est très importante dans l'élevage bovin afin d'expliquer éventuellement les problèmes de fertilité des troupeaux.

Au terme de notre étude, nous concluons qu'on peut répondre à la question concernant la qualité des paillettes de l'insémination artificielle examinées. Effectivement, sont de qualité satisfaisante et que même celles qui sont de qualité inférieure, dans notre présente étude, présentent de bonnes performances sur le terrain. Ces résultats nous laissent tout à fait très confiant à la qualité des paillettes commercialisées en Algérie et aussi à l'état de conservation des paillettes chez les inséminateurs car les paillettes ayant fait l'objet de notre étude étaient apportées chez un inséminateur.

Nous recommandons à la fin de notre travail :

- D'évaluer souvent la qualité des paillettes afin de suivre les caractéristiques spermatiques avec la fertilité des taureaux sur le terrain.
- D'étudier les facteurs de variation de la qualité des paillettes qui expliqueront certaines anomalies de performances.
- D'étudier d'autres caractères spermatiques (pH, aspect bactériologique, caractères physico-chimiques ...)
- Poursuivre ce travail sur un nombre de paillettes plus important et plus de données sur les inséminateurs.

Annexe n° 1

Tableau récapitulatif des performances d'Insémination Artificielle du technicien inséminateur de janvier 2010 au mars 2011.

Nom de taureau	Race	Origine de semence	Nombre des vaches insimé	Nombre des vaches positif 1er ia	Nombre des vaches négatif
FREGATE	MB	CNIAAG	27	17	10
RUSSI	MB	CNIAAG	21	14	07
ZODIAC	MB	CNIAAC	Non confirmé	Non confirmé	Non confirmé
ALBOR	PNH	CNIAAG	08	04	04
RADIST	PNH	CNIAAG	02	00	02
WALUS	FL	Importe	03	02	01
VOLT	FL	Importe	14	09	05
RUM	FL	Importe	13	07	06
RAPALLO	MB	Importe	35	24	11
PLELO	PRH	Importe	11	09	02
EMKOR		Importe	15	11	04
total	11	—	149	97	52

Résumé :

Le but de notre travail est d'évaluer la qualité des paillettes d'insémination artificielle bovine.

On a analysé dix paillettes provenant d'un inséminateur.

On a remarqué qu'en majorité, les paillettes avaient des bons caractères spermatiques.

Néanmoins, le qualificatif de « bonne paillette » ne se vérifie pas sur le terrain (taux de réussite d'insémination artificiel), faible par rapport à celle qualifiées de mauvais caractère spermatique.

En conclusion, il ne suffit pas de fiers vaux seulement sur les caractères spermatiques pour en juger la fertilité des paillettes. Il faut les vérifier sur le terrain.

Summary:

The aim of our study was to evaluate the quality of bovine artificial insemination straws.

Were analyzed from a ten sequins inseminator.

It was noted that the majority of the flakes had good sperm characters.

However, the term "good flake" is not true in the field (success rate of artificial insemination), low compared to that described as ill-tempered sperm.

In conclusion, it is not enough pride worth only the sperm characteristics to judge the fertility of glitter. We must verify on the ground.

ملخص:

كان الهدف من دراستنا تقييم أنابيب التلقيح الاصطناعي للأبقار.

من أجل ذلك تم تحليل عشرة أنابيب.

لوحظ أن الغالبية العظمى للخلايا المنوية جيدة لكن هذا التقييم الجيد (أي نسبة نجاح التلقيح الاصطناعي) ليس مطبقا في الميدان العملي.

لا تكفي خصائص الخلايا المنوية للحكم على خصوبتها إنما يجب التحقق على أرض الواقع.