



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Bibliographie d'évaluation de la fonction sexuelle chez le taureau

Réalisé par : **AKNOUCHE Mourad & ALOUACHE Massinissa**

Président(e) :	Berber .A	professeur	ISVB
Examineur :	Belabdi .I	Maitre assistant A	ISVB
Promoteur :	Yahimi .A	Maitre assistant A	ISVB

Année : Année 2015/2016

REMERCIEMENTS

Nous remercions Dieu de nous donné le courage, la volonté d'achever ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude pour notre promoteur Mr : yahimi abd el karim, nous tenons à le remercier profondément et sincèrement pour sa disponibilité, sa patience ses précieux conseils, ses encouragements et sa confiance en nous.

Nous remercions M^r **BELABDI iBRAHIM**, maître assistant à l'institut des sciences vétérinaires à Blida de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous ceux qui ont participé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Je dédie ce mémoire :

A Mes chers parents pour leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leur encouragement

A Mon frère redha

A Mes sœurs radhia et manel

A Mon cher cousin hamza

A Mon binôme et sa petite amie inaaam

A Ma cher Sabrina

A Tous mes amis sadek, juba , oussama, boudidah, halim parisien , sissi boedeaux moh lamine parisien ,abdenmour,aissa,ghiles ,amar el hadi, saleh .nor praliné ,sarah, ikram, salem amel

A Tous mes camarades de la promo 2015/2016 des sciences vétérinaires de blida

A Tous le personnel de la cité 6 et tous les gens que j'aime et j'ai pas cité ici

RESUME

Notre travail consiste à une étude bibliographique d'évaluation de la fonction sexuelle chez le taureau reproducteur, est composé de trois chapitres dont le premier est l'insémination artificielle qui est la technique la plus répandue dans le monde, pour but d'améliorer la génétique et la fertilité de la descendance, le deuxième on parle de l'évaluation de la fonction sexuelle du taureau, enfin dans le dernier chapitre on parle des techniques de préparation et conservation de la semence, le refroidissement, la congélation, la décongélation et quelques généralités sur les facteurs influençant la congélation et la décongélation .

Ce travail est réalisé en se basant sur des références bibliographiques et nos informations acquises à l'institut des sciences vétérinaire de blida (ISV).

abstract

Our work consists in a bibliographic study evaluating sexual function in the breeding of bull, the use of technical observation and freezing semen in pellets and the various stages of the harvest sperm for to assess its fertility and genetic improvement by the artificial insemination Widespread most technical in the world and their different conditions, factors Influencing it. This work is based on achieving references and our bibliographic information acquired at the National Veterinary Institute of blida

artificial insemination, harvesting, freezing, fertility, pellets

ملخص

العمل يهدف الى دراسة بيليوغرافية للوظيفة الجنسية عند الثور المنتج، باستعمل تقنيات الملاحظة و تجميد السائل المنوي في انابيب حافظة و مختلف المراحل للحصول عليه من الثور الهدف منه

لتقييم الخصوبة والتحسين الوراثي عن طريق التلقيح الاصطناعي باستعمال التقنية الاكثر شيوعا في العالم، الامراض و العوامل المؤثرة على هذا الاخير ،

لتقييم الخصوبة والتحسين الوراثي عن طريق التلقيح الاصطناعي باستعمال التقنية الاكثر شيوعا في العالم، الامراض و العوامل المؤثرة على هذا الاخير ، والعوامل

التأثير عليه. ويستند هذا العمل على المراجع البيليوغرافية و المكتسبات القبلية التي حصلنا عليها في المعهد الوطني للطب البيطري

بالبلية

التلقيح الاصطناعي، الحصاد، التجميد، الخصوبة، الانابيب

Introduction.....	1
CHAPITRE 1 :L'INSEMINATION ARTIFICIELLE.....	2
INTRODUCTION :	2
I .1.historique de performances artificielle :	2
I .2. Définition de l'insémination artificielle :	2
I .3. Les avantages de l'insémination artificielle :	3
I .3.1. Avantages d'ordre génétique :	3
I .3.2. Avantages d'ordre sanitaire :	3
I .3.3 Avantages d'ordre économique :	3
I .3.4. Avantages d'ordres techniques :	3
I .4. Moment idéal de l'insémination artificielle :	Erreur ! Signet non défini.
I .5.lieu de dépôt de la semence :	4
I .6. Technique de l'insémination artificielle :	5
I- L'examen du reproducteur :	6
I.1- L'objectif :	6
I.2- La qualification d'un reproducteur :	6
II- Examen clinique :	7
II.1- L'anamnèse :	7
II.2- Etat sanitaire :	Erreur ! Signet non défini.
II.3- Examen de l'animal au repos :	Erreur ! Signet non défini.
Examen de l'appareil reproducteur :	9
II.3.1- Examen externe :	9
A- Bourses :	9
B- Testicules :	9
C- Le scrotum :	10
D- Epididyme et conduits déférents :	11
E- Fourreau et pénis :	12
II.3.2- Examen interne :	13
A-Anneaux inguinaux :	13
B- Prostate :	14
C- Vésicules séminales :	14
D- Canaux déférents :	14

E- Ganglions lymphatiques iliaques internes :	14
II.4- Examen de l'animal en action :	15
A-L'appréciation du comportement sexuel (la libido):	15
B- Examen de l'appareil locomoteur :.....	15
II.5- les examens complémentaires :.....	16
A- L'échographie :.....	16
B- Biopsie testiculaire.....	16
C- Examen du sperme :.....	16
III- Technologie de la semence bovine.....	16
III.1- Récolte du sperme :	17
A-Préparation des taureaux dans les centres de collecte :.....	17
B- Description du vagin artificiel :	18
C- Technique de collecte de sperme au vagin artificiel :	20
D- Intérêts et limites de la collecte du sperme au vagin artificiel :.....	21
D.1- Les intérêts de la collecte au vagin artificiel :.....	21
D.2- Les limites de la collecte au vagin artificiel :	21
III.1.2- La collecte à l'électro-éjaculateur :.....	22
III.1.3- La récolte du sperme par massage transrectal :.....	23
III.2- Examen séminologique :.....	23
III.2.1- Examens macroscopiques du sperme :.....	24
A. Volume de l'éjaculat :.....	24
B- Couleur de l'éjaculat :	25
C- Aspect et consistance du sperme :	26
D- Viscosité :.....	26
E- Le pH du sperme :	26
F- Le poids :.....	27
III.2.2- Examens microscopiques du sperme :.....	27
A- Motilité :.....	27
A.1- Motilité massale :.....	28
A.2- Motilité individuelle :.....	29
A- Concentration du sperme	30
C- Pourcentage de spermatozoïdes vivants :	31

D-Morphologie des spermatozoïdes :.....	31
E- Etude physico-chimique et biochimique du sperme :	33
F- Analyse du spermogramme :	33
G- Modification du spermogramme :.....	34
H- Examens bactériologiques et virologiques :.....	35
H.1- Principe du test de Schälrm :	35
H.2- Réalisation du test de Schälrm :.....	35
H.3- Interprétation du test de Schälrm :	36
Introduction :.....	39
I- La récolte :.....	39
II- Préparation de la semence :	39
II.1- La dilution :.....	39
A- Les milieux de dilution :	39
B- Qualités des milieux de dilution :.....	40
C- Nature des milieux de dilution :.....	40
D- Le taux de dilution :	42
E- Réalisation de la dilution :.....	42
III- Refroidissement et équilibrage de la semence :.....	43
IV- Conditionnement de la semence:.....	43
V- Conservation de la semence :.....	44
VI- La décongélation :.....	45
VII . Les facteurs influençant sur la congélation et la décongélation du sperme :	46
a- La congélation :	46
-b La décongélation :	47
- C Les principales facteurs influençant :.....	48

Liste des tableaux

Tableau I: Volume spermatique de quelques races bovines tropicales reporté par KONFE.H, 2014.....	25
Tableau II: Estimation rapide de la concentration par examen macroscopique du sperme des taureaux (PIETREMONT, 1992).....	26
Tableau III: Notation de la motilité massale du sperme dans l'espèce bovine.....	29
Tableau IV: Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle, dans une grille de notation de 0 à 5.....	30
Tableau V: Echelle d'interprétation de la réaction au test de Schälrm (GUERIN et THIBIER, 1984).....	36
Tableau VI: Composition des dilueurs les plus utilisés NAGASE et NIWA cités par (LAMINO, 1999).....	41

Liste des figures

Figure 1: Examen du scrotum et mesure de la circonférence scrotale (R.G. EL More, 1996).....	11
Figure 2: Mesure de la circonférence scrotale (HANZEN, 2008-2009).....	11
Figure 3: Examen du fourreau (R.G. EL More, 1996).....	13
Figure 4: Le vagin artificiel (SOLTNER, 1993).....	20
Figure 5+6: Collecte de la semence au moyen du vagin artificiel (R.G. EL More, 1996)/Prélèvement de sperme : résultat (R.G. EL More, 1996).....	21
Figure 7: Collecte du sperme à l'Electro-éjaculateur + Sonde d'électro éjaculation (R.G. EL More, 1996).....	23
Figure 8: Spermatozoïdes morts (tête rouge) et vivants (tête incolore) (AMMAR-KESKAS, 2013).....	31
Figure 9: Anomalies de la taille de la tête + anomalies de forme de la tête.....	32
Figure 10: anomalies de la pièce intermédiaire + anomalies du flagelle (AMMAR-KESKAS, 2013).....	32
Figure 11: Echantillon de semence contenant des cellules épithéliales germinales chez un taureau présentant une dégénérescence testiculaire associée à une vésiculite(LINHART et PARKER, 1988).....	35
Figure 12: Schéma récapitulatif de la propédeutique d'évaluation de la fertilité chez le taureau (HANZEN,2014-2015).....	38
Figure 13: Schéma d'une paillette de type « CASSOU» (MBAINDINGATOLOUM, 1982).....	44

Liste des abréviations :

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFNOR: agence française de normalisation

ALH: Amplitude of Lateral Head displacement

AMM: Autorisation de mise en marché

BCF:beat cross frequency

BVD: Diarrhéevirale bovine

C°: degré Celsius

CASA: Computer AssistedSpermAnalysis

Cm: centimètre.

CMT :Californian Matitis Test

CNIAAG : centre national d'insémination artificielle et d'amélioration génétique

EPIC : établissement public à caractère industriel et commercial

G : gramme

H : heure.

HP :Hewlett-Packard

I.A : insémination artificielle

IBR :La rhinotrachéite infectieuse bovine

IDEB : Institut de Développement des Élevages Bovins

INA : l'Institut National Agronomique

INRA :Institut national de la recherche agronomique

IV : intraveineuse

Jrs : jours.

Kg : kilogramme.

l: litre

LDL: Low density lipoprotein

LIN:linearity

mg : milligramme

MHz : mégahertz

ml : millilitre

MLRC : maladies légalement reconnues contagieuses

Mm : millimètre.

Mn : minute.

MST : maladies sexuellement transmissibles

Nacl : chlorure de sodium

Nbre : nombre

ND : nom déposé

Nm : nanomètre

PH : potentiel hydrogène

S: seconde.

SCA: Sperm Class Analyzer

SPZ: spermatozoïde

STR:staightness

UI : unité internationale

UNCEIA : Union nationale des coopératives d'insémination animale

µl : microlitre

µm : micromètre

VAP:velocityaveragepath

VCL:curvilinearvelocity

VSL:velocity straight line

WOB:wobble

Introduction :

L'Insémination Artificielle (I.A.) est la « biotechnologie de reproduction » la plus utilisée dans le monde, c'est une technique de fécondation sans accouplement naturel qui s'est fortement développée dans l'espèce bovine ces dernières décennies, que n'a pue pénétré en Algérie qu'à la fin des années 80. L'I.A. est devenue un mode de reproduction à part entière, utilisé dans plus de 60% des élevages à partir des doses fabriquées en Centre National d'Insémination Artificielle et d'Amélioration Génétique (CNIAAG).

Le succès de l'insémination artificielle dépend en grande partie de la qualité de la semence. C'est pourquoi, il est important de disposer de techniques analytiques fiables permettant de l'évaluer. La meilleure méthode d'évaluation de la fertilité d'un mâle reproducteur est l'estimation du taux de gestation suite à l'insémination artificielle de femelles. Mais cette méthode est longue et très coûteuse. C'est pourquoi de nombreuses méthodes ont été développées pour tenter d'évaluer la fertilité d'un reproducteur par l'analyse *in vitro* de sa semence.

Les différentes méthodes d'analyse de la semence tentent de caractériser des marqueurs de fertilité, c'est-à-dire des particularités des spermatozoïdes liées à leur pouvoir fécondant. Ces marqueurs doivent être corrélés à la fertilité mais également se rapprocher autant que possible des résultats d'estimation de la fertilité.

Notre travail est présenté en une seule partie :

- ✓ La partie bibliographique composée de trois chapitres. chapitre I : L'insémination artificielle, chapitre II : évaluation la fonction sexuelle du taureau reproducteur et le chapitre III : les techniques de préparation et conservation de la semence bovine.

CHAPITRE 1 :L'INSEMINATION ARTIFICIELLE

INTRODUCTION :

L'insémination artificielle (IA) est la biotechnologie de reproduction la plus utilisée au monde dans les programmes d'amélioration génétique par croisement. En plus de l'intérêt économique associé à l'obtention et à la diffusion rapide des races performantes, d'autres avantages liés à la pratique de l'IA concernant les aspects de conservation du patrimoine génétique et de sécurité sanitaire.

I .1.historique de performances artificielle :

D'après **HEAPE**(1897), l'insémination artificielle aurait été pratiquée pour la première fois par les arabes pour la reproduction des chevaux dès le XIV^e siècle. Toutefois, la première fois expérience scientifique fut réalisée avec succès par **SPALLANZANI**(1779) qui obtint trois chiots 62 jours après avoir inséminé artificiellement une chienne de la race des barbets. **Bernard** proposait dans ses cahiers de notes de féconder des chiennes ou des lapines en injectant du sperme dans la cavité péritonéale, à proximité des ovaires. La première mention scientifique de l'application de l'insémination artificielle au cheval est due au vétérinaire **REPIQUET (1887)**. Au début du siècle, par insémination artificielle, la jument la mouche donna naissance successivement à deux poulains :LE Miracle et la Merveille .E Ivanov qui pratiqua en Russie les premières inséminations artificielles chez les ovins entre 1901 et 1905, fit passer cette technique dans la pratique de l'élevage (**LETARD ,1935**).

Les premières démonstrations furent effectuées en France, à Alfort par **LETARD (1937)**. Le premier centre d'insémination fut créé en France, en 1946. En 1950, on insémina pour la première fois des vaches avec du sperme congelé à -79°C

En Algérie cette technique n'était pas totalement méconnue puisque les premières expériences dans ce domaine débutaient dès 1945 essentiellement dans l'espèce bovine

Ce n'est pas qu'en 1987 que, suite aux propositions du Ministre de l'agriculture et de la pêche et aux recommandations du dossier lait, que les pouvoirs publics prirent la décision de création d'un centre spécialisé en insémination artificielle et amélioration génétique (**CNIAAG**), des espèces domestiques et notamment bovines ainsi que la mise en place d'un comité national d'amélioration génétique

-c'est ainsi que le centre national de l'insémination artificielle et amélioration fut créé par décret N°88.04 du 05 janvier 1988.

I .2. Définition de l'insémination artificielle :

L'insémination artificielle (IA) consiste à déposer le sperme, par voie instrumentale et au moment le plus opportun, dans la partie la plus appropriée des voies génitales femelles .La liqueur fécondante, recueillie par artifice variable, subit au préalable une dilution appropriée et convenable de sorte que le produit d'une seule éjaculation peut servir à l'insémination d'un nombre plus élevé de femelles **(DERIVAUX ET ECTORS ,1989),(WATTIAUX,1996).**

I .3. Les avantages de l'insémination artificielle :

L'insémination artificielle présente plusieurs avantages d'ordres sanitaire, génétique, économique et technique.

I .3.1. Avantages d'ordre génétique :

Cette technique est la seule qui permette à la fois l'exploitation rationnelle intensive et une plus large diffusion de la semence des meilleurs géniteurs pour leurs potentialités zootechniques. Permettant ainsi la création d'espèces de meilleures qualités productives et génétiques (AHMED.2002).

I .3.2. Avantages d'ordre sanitaire :

L'insémination artificielle est un outil de prévention de propagation de maladies contagieuses et /ou vénériennes, grâce au non-contact physique direct entre la femelle et le géniteur, telle que la brucellose, la trichomonose. Ainsi. L'addition d'antibiotiques ajoute un élément de garantie supplémentaire.

Cependant, il y a certains agents infectieux qui peuvent être présents dans la semence et transmis, notamment le virus aphteux, le virus bovine pestique, le virus de la fièvre catarrhale du mouton, le virus IBR, Brucella abortus et Compylobacter.

Toutefois, le contrôle de maladies grâce aux normes sanitaires stricts exigées dans les centres producteurs de semences permet de réduire considérablement le risque de transmission de ces agents par voie male **(AHMED.2002).**

I .3.3 Avantages d'ordre économique :

L'achat et l'entretien d'un taureau demandent la mobilisation d'un capital important et couteux. À l'opposé ,l'IA entraîne une augmentation de la productivité du taureau en même temps qu'il rend possible son remplacement par une vache **(WATTIAUX .1996)**

I .3.4. Avantages d'ordres techniques :

Diffusion rapide dans le temps et dans l'espace du progrès génétique. Ainsi que la découverte rapide des géniteurs ayant de très hautes performances géniteurs ayant de très

hautes performances génétique grâce au testage sur descendance qui exige l'utilisation de l'insémination artificielle, et la grande possibilité pour l'éleveur du choix des caractéristique du taureau qu'il désire utiliser en fonction du type de son élevage et l'option de l'animal à développer

A coté de ces avantages , l'IA est considéré ainsi comme un outil d'orientation ,en réalisant et contrôlant les programmes nationaux de développement de l'élevage et ceci à travers :

-L'amélioration de la productivité des races locales par le croisement avec des races selon la vocation de chaque zone :

-Réalisation du programme national de testage des géniteurs sur descendance d'où accroissement du progrès génétique indispensable au développement des productions ;

-L'accroissement du nombre de coopératives laitiers qui participent a l'intensification de l'IA

-contribuer a la sécurité alimentaire a travers l'amélioration de la production national en lait et en viandes (**WATTIAUX,1996**).

I .4. Moment idéal de l'insémination artificielle :

Il est fonction des paramètres suivants :

-moment de l'ovulation de la femelle ;

-durée de fécondabilité de l'ovule ;

-temps de remonter des spermatozoïdes dans les voies génitales et de la femelle ;

-durée de fécondabilité des spermatozoïdes (**HAMOUDI ,1999**).

L'insémination ne peut produire une gestation que si un ovule et un spermatozoïde sont au bon endroit et au bon moment.

L'ovule est libéré de l'ovaire 10 à 14 heures après la fin des chaleurs et survit seulement 6 à 12 heures. par contre, une fois déposé dans le système reproducteur de la vache, les spermatozoïdes peuvent y survivre jusqu'à 24h (**WATTIAUX ET AL ,1996**). Généralement, les vaches inséminées après 6heures et moins après le début de l'œstrus montrent une remue acceptable .avec de bons résultats obtenus quand l'insémination est faite au milieu ou vers la fin de l'œstrus (**SALISBURY ET VANDEMARK ,1961**).

De ces études , est développée la règle ante mède /post médé (AM/PM) :les vaches sont observées en chaleurs durant la matinée (AM), elles doivent être saillies ou inséminées l'après midi ou tot dans la soirée (PM) ; si ces dernières sont observées en chaleurs tard dans l'après midi ou en soirée , elles doivent être saillies ou inséminées tôt le lendemain matin (**HAMOUDI ,1999**)

I .5.lieu de dépôt de la semence :

En réalité, pour avoir le maximum de réussite en insémination artificielle, il faut que l'inséminateur soit capable de déposer la semence dans l'utérus de la vache, rapidement, et avec un minimum de traumatisme au cervix et à l'endomètre.

Le corps utérin est habituellement recommandé comme lieu de dépôt de la semence. Ceci permettra à cette dernière de dépasser la barrière cervicale et aux spermatozoïdes d'entrer dans chacune des deux cornes utérines.

Dans une étude faite par **(SEGUIN 1984)**, le taux de conception a été de 67 % quand l'insémination artificielle s'est effectuée au niveau de 114 cornes utérines ovulantes ; par contre, le taux de conception n'a été que de 64% quand l'insémination artificielle a eu au niveau du corps utérin de 110 vaches.

La différence entre les taux de fertilité obtenus par dépôt de semence dans la corne utérine et le corps utérine n'a pas été statistiquement significative. Cependant, il est plus facile pour l'inséminateur de déposer la semence dans le corps utérin que dans la corne utérine **(WILLIAM ET AL .1988 ;MC KENNA ET AL .1990)**

I .6. Technique de l'insémination artificielle :

La technique de l'insémination artificielle s'avère en elle-même facile mais a besoin d'une précision et une grande attention de la part de l'inséminateur.

C'est la méthode recto-vaginale qui consiste au cathétérisme du col de l'utérus avec immobilisation de celui-ci à travers la paroi rectale. L'opérateur introduit de la main droite

L'appareil de l'insémination dans la vulve (préalablement nettoyé) en le poussant vers l'avant et en suivant le plafond du vagin pour éviter le méat urinaire. Les replis vaginaux sont évités en poussant le col tenu de la main gauche vers l'avant. La localisation de l'orifice du col par lequel le cathéter doit pénétrer est le temps le plus délicat de l'intervention. Il a été rapporté que la stimulation du tractus génitale par massage de clitoris après insémination augmente le pourcentage de conception chez la vache (AHMED.2002).

I- L'examen du reproducteur :

I.1- L'objectif :

L'observation d'une infertilité est une indication majeure, quand à l'examen d'un reproducteur, il consiste à recueillir l'historique des performances reproductives du taureau. Classiquement, l'examen d'un mâle reproducteur doit être réalisé avant son acquisition, afin que l'acheteur puisse éviter de payer pour une non-valeur économique et que le vendeur puisse s'assurer une réputation comme fournisseur d'animaux fertiles.

Cet examen peut se faire aussi avant la mise à la reproduction afin de permettre au propriétaire d'apprécier le potentiel reproducteur de son animal.

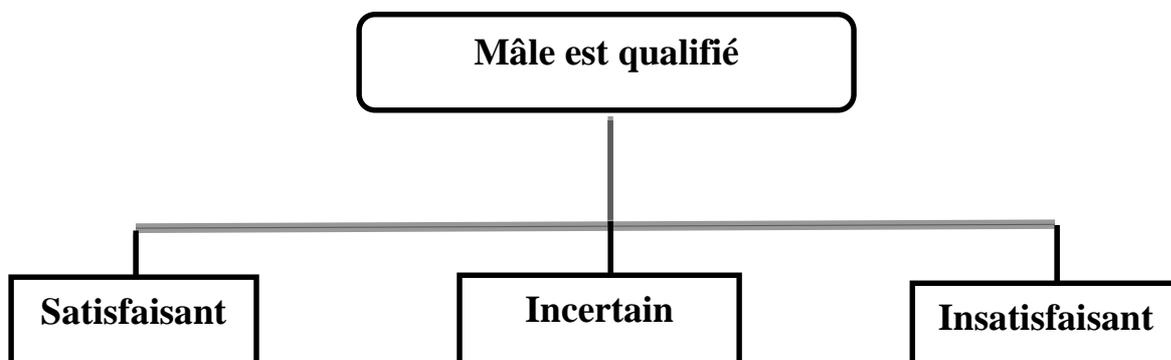
La démarche classique de l'évaluation du taureau reproducteur est la suivante :

- Examen clinique.
- Appréciation du comportement sexuel.
- Examen du sperme et autres examens complémentaires.

L'examen du mâle a pour but de déterminer sa capacité physique et comportementale, à déposer au niveau du tractus génital femelle un sperme viable, irréprochable sur le plan sanitaire et apte à assurer une fécondation.

I.2- La qualification d'un reproducteur :

La fertilité ou le pouvoir fécondant d'un reproducteur n'est pas directement appréciable, seule proportion limitée des fonctions de l'animal ou des gamètes est vérifiée. A l'issue de l'examen potentiel reproducteur d'un mâle est qualifié de :



Les mâles insatisfaisants présentent des défauts susceptibles de diminuer leur fertilité ou les capacités de reproduction de leur descendance. Ils peuvent être éliminés (HANZEN, 2014).

Les mâles dont le potentiel reproducteur est incertain doivent être réexaminés plus tard afin d'améliorer la valeur pronostic de l'appréciation.

L'aptitude des taureaux aux fonctions reproductrices est actuellement basée sur l'examen clinique général, l'examen spécial (appareil génital interne et externe) et enfin le contrôle du sperme ; donc pour cela il faut contrôler :

- L'état de santé (absence de maladies extra-génitales pouvant handicaper les fonctions sexuelles).
- La santé génétique de l'animal (absence des tares héréditaires chez le sujet examiné, ses ascendants et ses descendants).
- La santé génitale (absence d'infections génitales).
- Son aptitude à l'accouplement.
- Son aptitude à la fécondation (ROSENBERGER, 1979).

On complétera nos informations par l'anamnèse qui visera à déterminer l'origine de l'animal, sa fertilité antérieure ainsi que celle de ses ascendants et descendants, il faudra également s'enquérir de son :

- Age
- Etat de santé actuel et passé.
- Alimentation.
- Nombre de saillies effectuées.
- Vaccinations.

II- Examen clinique :

II.1- L'anamnèse :

C'est d'abord le signalement de l'animal, on se renseigne sur son emploi en tant que reproducteur, sur ses performances de reproduction et ses produits. Il est nécessaire de recueillir les commémoratifs suivants :

- Age de première saillie

- Maladies et accidents antérieures à l'examen
- Les blessures, les traitements et les vaccinations.
- Le comportement de l'animal (agressivité).

II.2- Etat sanitaire :

Tous les taurillons (plus les boute-en-train utilisés pour récolter la semence) doivent être indemnes de toute maladie réputée contagieuse bovine, et officiellement indemnes de tuberculose, de leucose et de brucellose. De même, les mères doivent appartenir à des cheptels officiellement indemnes de tuberculose, brucellose et leucose.

Il faut que les taureaux soient aussi indemnes de certaines maladies transmissibles par le coït ou le sperme : Campylobacteriose, chlamydie, Trichomonas, IBR, IPV et BVD.

Si tous les contrôles sont satisfaisants, les taureaux seront acheminés soit vers l'abattoir soit vers les centres de production de semence.

Simultanément à ce suivi sanitaire réglementaire, une prévention médicale classique (vaccinations, vermifuges...) sera mise en place sous contrôle vétérinaire (COURSIN STEPHANE, 2012).

II.3- Examen de l'animal au repos :

Il faut noter que toute pathologie a une répercussion sur l'appareil reproducteur de l'animal et son fonctionnement.

L'examen général commence par une observation à distance de l'animal puis on se rapproche pour mesurer les trois paramètres quantitatifs : sa température, son pouls et sa fréquence respiratoire.

L'examen doit se rapporter aussi sur les critères suivants : rapport entre l'arrière main et l'avant main, largeur de l'encolure, morphologie de la tête et des cornes, aspects des poils et un examen des différents appareils.

Ces caractères permettent d'apprécier la masculinité du taureau. Il faut y ajouter l'examen de l'appareil locomoteur.

Au repos on doit apprécier les paramètres suivants :

- La note d'état corporel, car un animal trop gras ou trop maigre a plus de chance d'avoir des problèmes de libido ou lors de la monte (HOPKINS et SPITZER, 1997)

- L'appareil locomoteur au repos et en mouvement en attachant un intérêt tout particulier pour les membres postérieurs et en observant à la fois les pieds et le reste du membre à la recherche des affections courantes. De plus, les animaux qui restent longtemps en décubitus au cours de leur vie ont des problèmes de thermorégulation des testicules ce qui peut entraîner des problèmes de fertilité (HOPKINS et SPITZER 1997)
- La vision car elle est nécessaire au taureau pour reconnaître les vaches en chaleurs. On recherchera notamment les kérato-conjonctivites infectieuses et leurs conséquences (HOPKINS et SPITZER, 1997)
- Détermination de l'état sanitaire
- Examen de l'appareil reproducteur

La contention est très importante lors de la réalisation de l'examen d'un taureau, quel que soit l'appareil examiné. L'animal doit être dans une cage de contention et sédaté si nécessaire.

Examen de l'appareil reproducteur :

II.3.1- Examen externe :

A- Bourses :

En se plaçant à l'arrière de l'animal, on va inspecter puis palper le scrotum et son contenu.

On recherche :

- Une asymétrie (on observera des plis latéraux du scrotum)
- Les déplacements des différentes couches (une inflammation interdira ou limitera les mouvements des différentes couches les unes par rapport aux autres)
- L'aspect de la peau et les poils du scrotum (couleur, odeur, chaleur, néoformations, ...).

B- Testicules :

On examine les deux testicules par inspection puis palpation : taille, forme, symétrie, position, consistance, chaleur, douleur. On les bloque dans les bourses en les entraînant vers le bas jusqu'à ce que la peau du scrotum soit tendue et sans plis (NICOLAS, 2009).

La taille dépend de l'âge du taureau ; à maturité sexuelle (2 ans), le testicule doit mesurer environ 9 cm sur 5 cm ; à la fin de la croissance (5 ans), il doit mesurer environ 10 à 12 cm

sur 6 à 8 cm. La circonférence est un bon indicateur de la capacité de production des spermatozoïdes (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

Les anomalies de forme des testicules, courbure trop ou trop peu marquée, sont souvent associées à des troubles de la spermatogenèse.

La cryptorchidie et la monorchidie sont relativement rares. Toute asymétrie des testicules est le signe d'un développement inégal ou d'une maladie (MARTINE et YANNICK, 2011).

Des torsions autour de l'axe longitudinal sont possibles. Il est donc nécessaire de bien connaître la disposition des différentes structures: le corps de l'épididyme a une position médiane et la plus forte courbure du testicule est latérale(HUET, DE MOUSTIER, 2009).

L'appréciation de la consistance peut se faire manuellement avec un peu d'expérience ou à l'aide d'un tonomètre qui donnera des résultats plus objectifs. Un testicule normal a une consistance homogène et ne présente pas d'adhérences avec le scrotum. La palpation peut permettre de détecter la présence d'anomalies telles que des abcès, tumeurs, hématoécèles, calcifications (ALBERT, 2007).

La consistance testiculaire se trouve diminuée lors de dégénérescence et augmentée en cas d'hypoplasie ou d'inflammations chroniques. Elle est habituellement plus nette chez les jeunes taureaux. De même, la mobilité des testicules peut être altérée par la présence d'adhérences ou de brides inflammatoires acquises ou congénitales plus localisées, de varicocèles, d'abcès, de dépôts de graisse (HANZEN, 2014).

C- Le scrotum :

L'examen le plus important est la mesure de sa circonférence scrotale qui est le reflet indirect de la masse des testicules qui, on le rappelle, est proportionnelle à la production de spermatozoïdes. De plus, ce paramètre est hautement héritable. La mesure est réalisée là où le scrotum est le plus large (figures 1,2) (SPIESER, 2012).

Valeurs normales: (American Society for Theriogenology)

- < 16 mois 31 cm
- 16 à 21 mois 32 cm
- 22 à 24 mois 33 cm
- 24 mois 34 cm



Figure 1: Examen du scrotum et mesure de la circonférence scrotale (R.G. EL More, 1996)

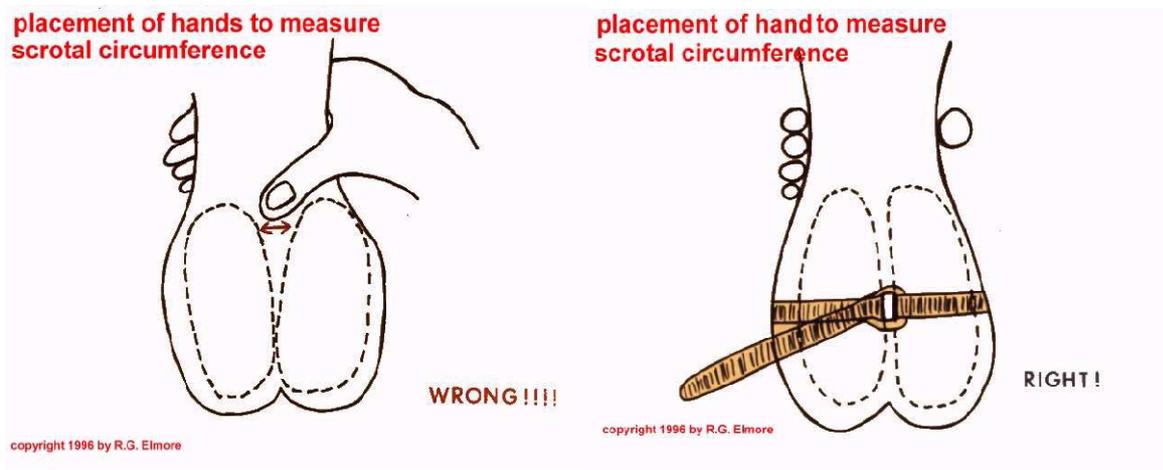


Figure 2: Mesure de la circonférence scrotale (HANZEN, 2008).

D- Epididyme et conduits déférents :

L'inspection et la palpation de l'épididyme sont réalisées en pinçant le scrotum au-dessus du pôle supérieur du testicule. On peut ainsi sentir la tête de l'épididyme et noter son volume, sa consistance, sa sensibilité et sa symétrie (BOUAZIZ, 2013).

L'épididyme peut être dilaté en cas de spermastase ou douloureux en cas d'inflammation. La tête de l'épididyme sera plus aisément palpée chez certains taureaux. Le corps de l'épididyme est palpé en position médiane plus aisément si le testicule contra latéral est repoussé vers le haut. La queue de l'épididyme est nettement proéminente à la base du testicule. Des différences de consistance et de taille entre la gauche et la droite peuvent

indiquer un état inflammatoire. Des cas d'aplasie segmentaire uni ou bilatérale ont été décrits (HANZEN, 2009).

E- Fourreau et pénis :

L'inspection et la palpation se font latéralement (figure 3). Il faut donc bien maîtriser la contention de l'animal avant de se lancer dans cet examen.

On inspecte la peau et les poils du fourreau ; celui-ci peut-être le siège de lacérations ou d'hématomes. Les poils doivent être secs. Dans le cas contraire, la sécrétion peut être qualifiée par sa couleur, sa consistance et son odeur. Lors d'inflammation (posthite), le prépuce peut présenter des modifications de volume, de sensibilité ou de température.

La palpation du fourreau ne présente que peu d'intérêt. La verge est palpable jusqu'au S pénien (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

On réalise tout d'abord une palpation du pénis au travers du fourreau et on s'assure que le pénis est symétrique, libre dans le fourreau et qu'il ne présente pas de masse (HOPKINS et SPITZER 1997).

L'examen du pénis nécessite de l'extérioriser : on peut l'obtenir par électro-éjaculation, massage transrectal ou tranquillisation à l'acépromazine (0,1 à 0,2 mg/kg en IV hors AMM) (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

On examine le pénis extériorisé (après la récolte du sperme) à la recherche d'un phimosis ou d'un paraphimosis ou de la persistance du frein (qui doit disparaître à l'âge de 32 semaines (HOPKINS et SPITZER 1997).

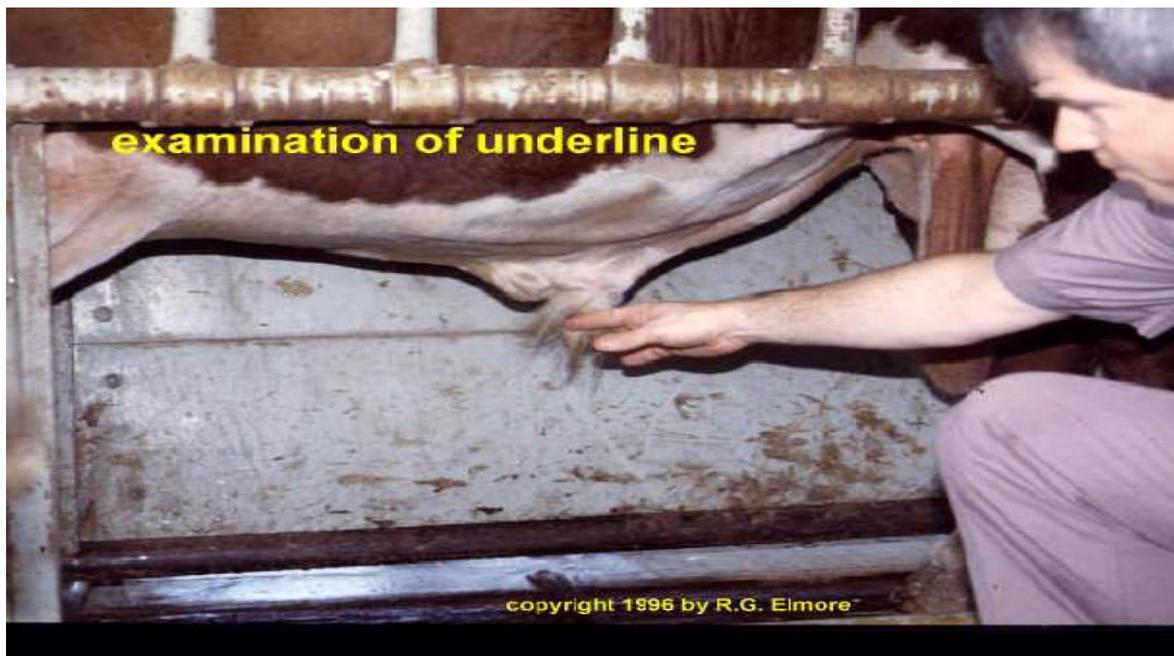


Figure 3: Examen du fourreau (R.G. EL More, 1996)

On s'assure en outre que la longueur du pénis est suffisante c'est-à-dire que le pénis parvient entre les membres antérieurs du taureau lors de l'érection et de l'extension totale du pénis. On vérifie que le pénis ne présente pas de déviation ni d'abcès ou de fibropapillome, ce dernier pouvant être à l'origine de saignements lors du coït et donc d'infertilité (Louisiana State University Department of Veterinary Clinical Sciences 2005).

II.3.2- Examen interne :

Il se réalise par palpation transrectale et permet d'examiner les anneaux inguinaux, la prostate, les vésicules séminales et les canaux déférents.

A- Anneaux inguinaux :

On cherche les anneaux inguinaux à une distance de deux à cinq centimètres du plan médian crânialement au bord crânial du pubis. Ils se ressentent comme une fente mesurant moins de six centimètres de long. Si les anneaux inguinaux mesurent plus de six centimètres ou si l'on sent des anses intestinales cela pourra entraîner des problèmes par la suite (SPIESER, 2012).

Ils ne doivent contenir que le cordon spermatique. Un à trois doigts peuvent y être introduits. Une augmentation de diamètre prédispose l'animal à la hernie inguinale (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

B- Prostate :

La partie conglomérée de la prostate est palpée transversalement, elle apparaît comme une bande lisse qui entoure l'extrémité crâniale de l'urètre (RIGAL, 2008). Lors de prostatite, il y a une modification de volume et de consistance de l'organe, ainsi qu'une douleur à la palpation (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

C- Vésicules séminales :

Les vésicules séminales mesurent de six à douze centimètres de long, deux à quatre centimètres de largeur et un à deux centimètres d'épaisseur. Une douleur à la palpation, une perte de la lobulation, un élargissement et une augmentation de la consistance (fibrose) des vésicules séminales ou une dissymétrie sont les signes d'une vésiculite. Cette affection est courante chez les taureaux de moins d'un an. Le diagnostic sera confirmé à l'examen du sperme qui sera purulent et contiendra de nombreux polynucléaires neutrophiles à l'examen microscopique. (HOPKINS et SPITZER 1997).

D- Canaux déférents :

Leur diamètre étant très petits, leur palpation est difficile, on ne peut examiner que leur partie terminale (BOUAZIZ, 2013). Ils vont de la queue de l'épididyme jusqu'à l'urètre et se rapprochent dans le bassin pour former une ampoule. L'ampoule est de consistance ferme et lisse. Sa palpation stimule l'érection chez la plupart des taureaux et permet de récolter le sperme et les sécrétions prépucciales. Les anomalies que l'on peut trouver sont : une asymétrie, une surface irrégulière et une consistance dure (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

E- Ganglions lymphatiques iliaques internes :

Ce sont eux qui drainent la région examinée, leur palpation doit être systématique en région antérieure du corps de l'ilium ; le plus grand ganglion mesure environ 2 à 3 cm (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

II.4- Examen de l'animal en action :

A- L'appréciation du comportement sexuel (la libido):

L'appréciation du comportement sexuel comprend le désir sexuel (libido), le réflexe d'accouplement (saut), l'acceptation du vagin artificiel (intromission du pénis et éjaculation). On teste la libido du taureau en lui présentant une génisse bloquée au cornadis pendant dix à quinze minutes. Il doit la saillir au moins une fois durant cette période sinon sa libido n'est pas suffisante (Louisiana State University Department of Veterinary Clinical Sciences 2005).

La libido est considérée comme moyenne si 2 à 3 montes ont été réalisées et comme excellente si ce nombre est égal ou supérieur à 4. On se souviendra que la virilité dépend davantage de la rapidité de la monte que de son intensité.

La libido nous renseigne sur l'appétit sexuel du taureau. Elle varie selon la race, l'âge de l'animal et son état de santé. Durant cette phase on peut observer l'écoulement de sécrétions des glandes annexes. L'identification d'une manifestation de *flehmenest* également importante en présence d'une femelle en chaleurs (HANZEN, 2014).

L'évaluation du saut renseigne sur l'intégrité de l'appareil locomoteur et permet d'apprécier le degré d'érection du pénis.

Il est important d'examiner l'intromission ; celle-ci n'est possible qu'en l'absence de phimosis et en présence d'une bonne érection (HUET, DE MOUSTIER, 2009).

B- Examen de l'appareil locomoteur :

L'examen de l'appareil locomoteur revêt une importance essentielle puisque les animaux seront amenés à parcourir parfois de longues distances au pâturage et que lors de la saillie, c'est sur les membres postérieurs (jarrets, colonne vertébrale) que reposera l'entièreté du poids de l'animal. On veillera à identifier dès que possible des lésions à caractère héréditaire telles que la contracture des gastrocnémiens (HANZEN, 2014).

A l'examen général, on peut observer divers symptômes : raideur, faiblesse, boiterie ou paralysie, port anormal, soulagement d'un ou de plusieurs membres (piétinement)...etc. en présence d'un problème, il faut rechercher toutes les anomalies susceptibles de provoquer des affections des membres : type de stabulation, épaisseur de la laitière, propreté du bâtiment...etc. (MARTINE, YANNICK, 2011).

II.5- les examens complémentaires :

A- L'échographie :

L'échographie du testicule avec une sonde linéaire de 6 MHz peut-être intéressante. L'idéal est de réaliser l'échographie en bain d'eau afin d'éviter tout artefact de contact.

L'échographie peut aussi permettre de visualiser l'épididyme. La queue et la tête de l'épididyme sont visibles par échographie. Le corps de l'épididyme et le canal déférent, sont plus difficiles à identifier (HANZEN, 2014).

B- Biopsie testiculaire :

Chez le taureau elle est d'utilisation difficile compte tenu de la richesse de l'albuginée en vaisseaux (HANZEN, 2014).

C- Examen du sperme :

Il s'agit d'un examen à réaliser de manière systématique en cas de suspicion d'infertilité. Afin d'examiner la semence, il faut la prélever dans les meilleures conditions possibles et sans souillures.

III- Technologie de la semence bovine :

Le sperme est un produit des organes génitaux d'un mâle destiné à la fécondation d'une femelle, fourni lors de l'éjaculation (PAREZ et DUPLAN, 1987).

Il est constitué du liquide séminal et d'éléments cellulaires (spermatozoïdes, macrophages polynucléaires, hormones de croissance, cellules souches, cellules épithéliales).

Selon l'agence française de normalisation (AFNOR), la semence est un produit préparé (dilué, conditionné, conservé) par une technique appropriée en vue de son emploi en insémination artificielle.

L'ensemble des opérations de préparation de la semence bovine peut être comparé à une chaîne dont chaque maillon constitue un stade technologique très important (ADAMOU-N'DIAYE et al,2003).

Une défectuosité à une étape donnée porte préjudice à la qualité du produit final. Cette chaîne est chronologiquement découpée comme suit: la collecte du sperme, l'analyse du sperme récolté, la préparation de la semence, le conditionnement en doses individuelles, la

congélation et la conservation à -196°C et en fin la décongélation de la semence congelée pour vérification de la qualité finale (KONFE, 2014).

III.1- Récolte du sperme :

La récolte du sperme est l'ensemble des procédés par lesquels le sperme est recueilli chez un animal vivant. Le sperme est prélevé sur des animaux sains, reconnus indemnes de maladies légalement reconnues contagieuses (MLRC) et de toutes zoonoses (brucellose, tuberculose). Plusieurs techniques de récolte ont été utilisées au fil du temps avec les progrès scientifiques et technologiques. Les unes s'inspirent des conditions naturelles d'accouplement alors que les autres sont le fruit d'investigations expérimentales à la lumière de la physiologie sexuelle (BOLY, 1986).

Le choix d'une méthode pour une espèce donnée est guidé par ses particularités anatomiques et physiologiques. La récolte au vagin artificiel et à l'électroéjaculateur restent cependant les deux méthodes de récolte les plus utilisées actuellement au niveau de l'espèce bovine (PAREZ et DUPLAN, 1987).

III.1.1- Collecte du sperme au vagin artificiel :

Cette méthode a été mise au point en 1914 par AMANIGA sur le chien. Elle fut améliorée par la suite par KAMAROU NAGAEN en 1930 pour le taureau. Le modèle de vagin actuellement utilisé a été mis au point par WALTON en 1940 (BIZIMUNGU, 1991).

La collecte du sperme au vagin artificiel constitue la technique la plus utilisée dans le monde au niveau de l'espèce bovine. C'est un procédé de récolte qui se rapproche le plus des conditions naturelles d'éjaculation (BOLY, 1986). Elle permet de simuler les conditions naturelles offertes par le vagin de la vache.

Dans les centres de production de semence, le sperme des taureaux est le plus souvent collecté au vagin artificiel. L'obtention d'une semence de qualité avec cette technique nécessite une bonne préparation des taureaux préalablement à la collecte (RIGAL, 2008).

A- Préparation des taureaux dans les centres de collecte :

La collecte a lieu dans un local dédié, physiquement séparé des autres bâtiments : la salle de monte. Elle doit être spacieuse, lumineuse et aérée, facile à nettoyer et à désinfecter (GERARD et HUMBLLOT, 1992).

Avant chaque collecte, les taureaux sont amenés dans la salle de monte et attachés dans les salles d'attente où ils peuvent voir la collecte de sperme des autres taureaux.

Lors de la préparation passive, la libido des taureaux est stimulée par voyeurisme et par le conditionnement : la reconnaissance des bruits, des odeurs propres à la salle de monte.

La préparation active consiste à promener le taureau et à l'amener au contact des boutes en train. Les boutes en train sont des taureaux éliminés de la production pour des raisons génétiques et qui sont gardés en raison de leur robustesse et de leur docilité, les vaches étant interdites des centres de production de semence pour des raisons sanitaires et de sécurité.

Lorsque le taureau présente des signes d'excitation (érection, flehmen...), le taurellier lui fait effectuer plusieurs fausses montes. Elles consistent à laisser le taureau monter sur le boute en train sans lui laisser le temps de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation.

Les taureaux réalisent en moyenne deux fausses montes avant d'être récoltés au vagin artificiel mais leur nombre varie en fonction du centre de production de semence et du taureau. La connaissance de chaque animal, de ses habitudes permet d'effectuer une bonne préparation (GERARD et KHIRREDINE, 2002).

B- Description du vagin artificiel :

Le principe du vagin artificiel est de reproduire l'ensemble des sensations présentées par les voies génitales femelles lors du coït (chaleur, pression, lubrification), et de recueillir rapidement un éjaculat total et non souillé (DUMONT, 1997).

Le vagin artificiel (figure 04) est un appareil simple et pratique représentant autant que possible

les conditions des voies génitales femelles au moment du coït. Le vagin artificiel est un assemblage de quatre pièces (Figure 04) :

- le corps du vagin : manchon extérieur cylindrique, en matériel rigide le plus souvent en caoutchouc dur et épais (isolant thermique) ou en plastique, muni d'un orifice à valve par lequel on peut introduire de l'eau tiède ou l'air. Sa longueur est comprise entre 26 et 40 cm selon l'âge de l'animal. Son diamètre externe varie entre 6 et 8 cm.

- le manchon intérieur en caoutchouc souple qui est une chemise intérieure en latex ou en caoutchouc de 50 cm de long introduite dans le cylindre externe. Ses extrémités rabattues et maintenues au moyen de deux lanières en caoutchouc forment avec le cylindre externe une cavité. La cavité ainsi formée par le cylindre externe et la chemise interne est remplie d'eau à 39-40°C en quantité suffisante pour obtenir une pression équivalente à celle du vagin de la vache (PAREZ et DUPLAN, 1987).
- le cône : permet de relier le corps du vagin artificiel au tube gradué ;
- le tube gradué pour l'appréciation de la quantité de sperme récolté.

Les vagins artificiels modernes sont actuellement équipés d'un thermomètre qui permet de suivre l'évolution de la température de l'eau contenue dans la cavité (KONFE, 2014).

L'ensemble du vagin lorsqu'il est prêt à être utilisé est lui-même isolé thermiquement.

Après utilisation, l'ensemble du vagin est entièrement démonté pour être lavé, séché et désinfecté (GERARD et KHIRREDINE, 2002).

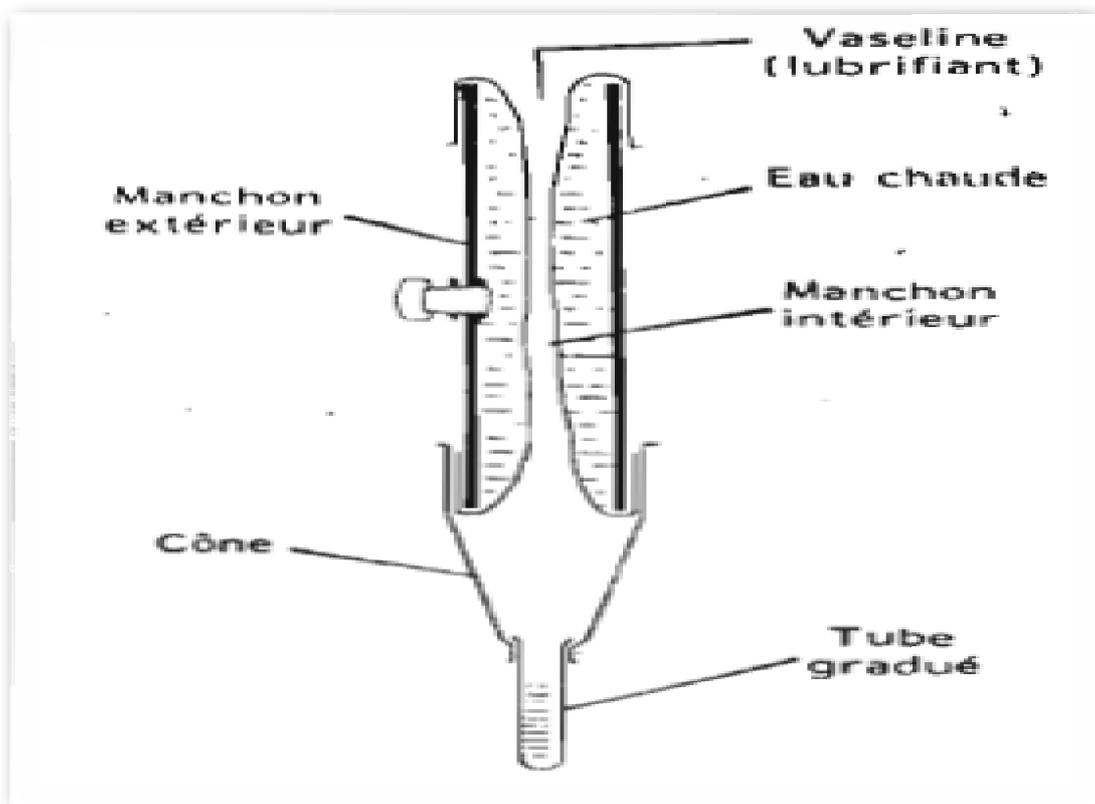


Figure 4:Le vagin artificiel (SOLTNER, 1993).

C- Technique de collecte de sperme au vagin artificiel :

Avant chaque utilisation, les vagins sont maintenus dans une étuve à une température de 45°C. L'eau présente dans la paroi du vagin permet de maintenir une certaine pression et une température du vagin d'environ 42°C lors de la collecte. Si la température de l'eau est trop élevée, l'organe copulateur peut être lésé et le taureau peut refuser la collecte.

Les vagins sont sortis de l'étuve au dernier moment, lorsque le préleveur estime que le taureau est suffisamment préparé. La capote interne du vagin artificiel est plus ou moins gonflée en fonction des habitudes du taureau. L'intérieur du vagin est lubrifié avec de la vaseline ou un gel gynécologique (DUMONT, 1997).

L'opérateur laisse alors le taureau monter sur le bœuf en train. Le préleveur s'accroche au taureau, il dévie son pénis en érection dans le vagin artificiel en le saisissant à travers le fourreau. Ce simple contact suffit en général à déclencher le saut et l'éjaculation qui ne durent que quelques secondes. L'opérateur retourne ensuite le vagin artificiel et le sperme s'écoule dans le tube collecteur (GERARD et KHIRREDINE, 2002).

A la place du bœuf en train, on peut utiliser un chariot mannequin, dans lequel est installé le récolteur qui présente le vagin artificiel au taureau (LAMINOUE, 1999).

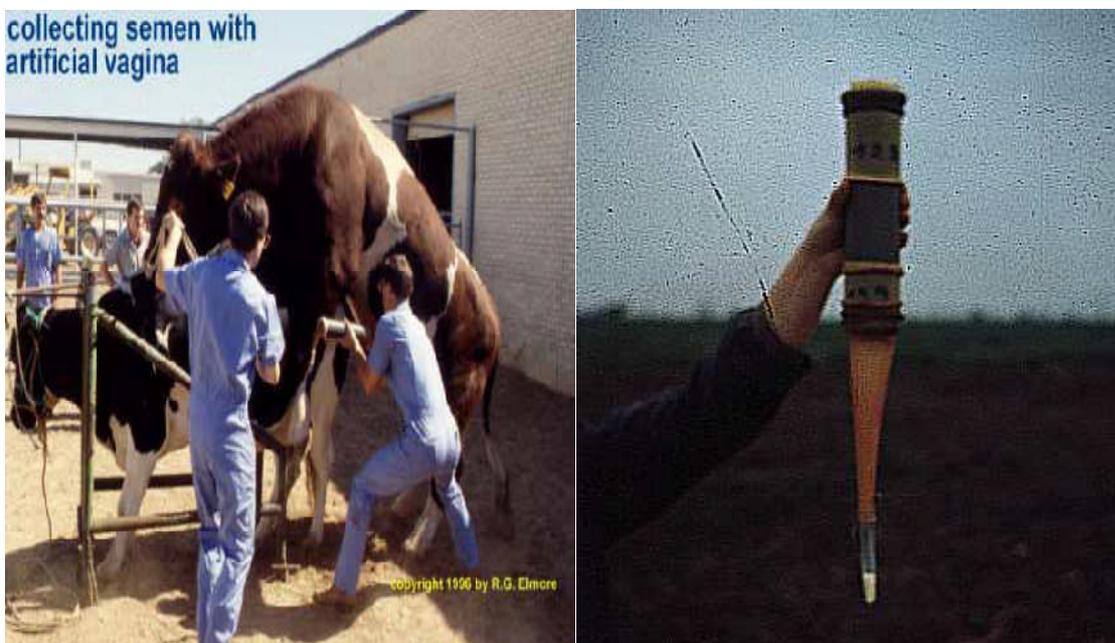


Figure 5+6: Collecte de la semence au moyen du vagin artificiel (R.G. EL More, 1996)/Prélèvement de sperme : résultat (R.G. EL More, 1996).

D- Intérêts et limites de la collecte du sperme au vagin artificiel :

D.1- Les intérêts de la collecte au vagin artificiel :

La collecte du sperme au vagin artificiel donne un éjaculat naturel induit par une libido nécessaire, suffisante et produite par un comportement physiologique proche du coït. Elle permet d'obtenir le meilleur sperme possible à un moment donné.

Dans le cadre d'un contrôle de la fertilité, la collecte au vagin artificiel permet également d'apprécier l'aptitude à la saillie du taureau qui est en fonction de sa libido et de ses capacités à sauter et à introduire le pénis dans le vagin (érection et intromission) (RIGAL,2008).

Cette technique malgré ces avantages est confrontée à certaines contraintes.

D.2- Les limites de la collecte au vagin artificiel :

La principale limite de cette méthode est l'incapacité de collecter des taureaux qui refusent de sauter ou de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation et nécessaire à la collecte au vagin artificiel.

Le vagin artificiel mal utilisé entraîne des lésions de la verge.

Il arrive des fois que les taureaux se montrent récalcitrants à cette méthode de collecte pour des raisons diverses: pathologie de l'appareil locomoteur, stress provoqué par la présence humaine, indocilité, faible libido (RIGAL, 2008).

De même une inadéquation de la température du vagin artificiel par insuffisance, par excès ou de sa pression peut entraîner des échecs de collecte. Dans de telles situations, le recours est fait à l'électro-éjaculation (KONFE, 2014).

III.1.2- La collecte à l'électro-éjaculateur :

L'électro-éjaculation permet de provoquer l'éjaculation par une stimulation électrique. Un générateur produit de l'électricité qui est transmise par l'intermédiaire d'électrodes à l'animal.

L'interface tissu/électrodes (résistance interne) joue un rôle non négligeable car la stimulation électrique doit parvenir jusqu'aux nerfs pour provoquer l'érection et l'éjaculation (STIEVENART, 1997).

L'électro-éjaculation s'accomplit par stimulation électrique des muscles lisses de l'ampoule et du canal déférent à l'aide d'une sonde intra-rectale et d'une source électrique avec contrôle de la tension. Elle permet d'obtenir le prélèvement de sperme à partir du taureau sans intervention des mécanismes normaux, sensoriels et psychiques de l'éjaculation.

Après contention de l'animal, l'électrode lubrifiée est introduite dans son rectum vidé au préalable. Puis, une série de stimulations répétées est appliquée au rectum, en augmentant progressivement l'intensité selon les instructions du fabricant jusqu'à l'érection complète et l'éjaculation de l'animal. Le sperme est recueilli par un appareil de récolte (FIDELE, 2008).

Les éjaculats recueillis par électro-éjaculation sont généralement d'un volume plus important et d'une concentration plus faible en spermatozoïdes que ceux recueillis par le vagin artificiel (SALISBURY et VANDERMARK, 1961). Cependant, le nombre total de spermatozoïdes, le pouvoir fertilisant et l'aptitude à la congélation ne semblent pas être affectés. L'utilisation de l'électro-éjaculation même durant une longue période (plus d'une année) n'a aucun effet néfaste sur la santé et sur la fertilité de l'animal (HASKOURI, 2001).

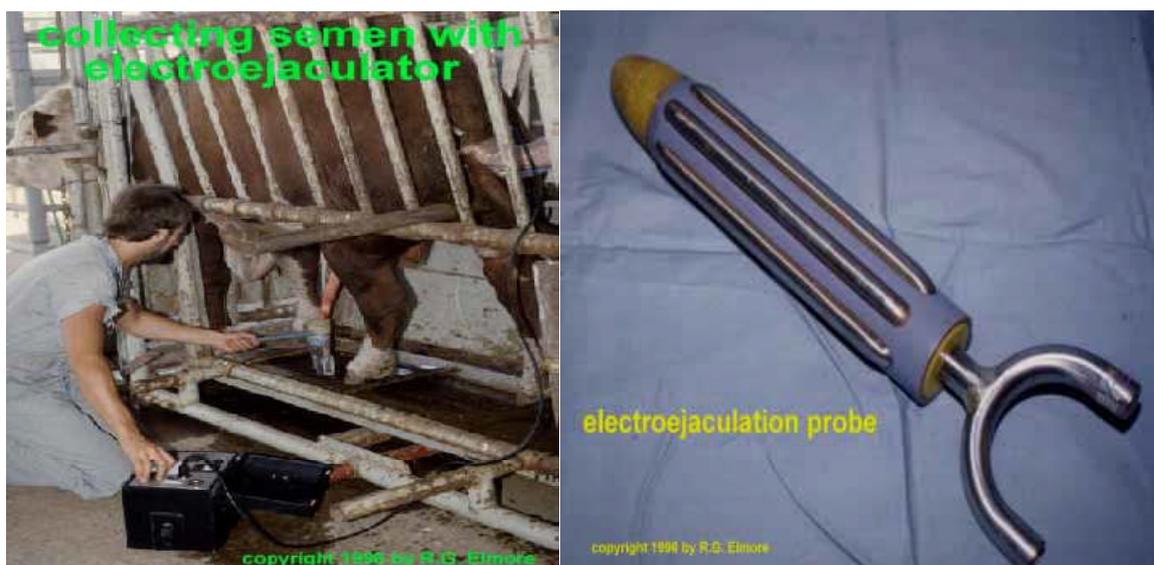


Figure 7: Collecte du sperme à l'Electro-éjaculateur + Sonde d'électro éjaculation (R.G. EL More, 1996)

III.1.3- La récolte du sperme par massage transrectal :

Les taureaux calmes et dociles, en repos sexuel, sont de bons candidats pour être collectés par massage transrectal. L'examineur introduit sa main dans le rectum et après l'examen des glandes accessoires, il commence à appliquer un mouvement longitudinal d'avant en arrière sur les ampoules du conduit déférent, la prostate et périodiquement l'urètre. Le fait

de stimuler en plus les glandes vésiculaires n'apporte pas de meilleurs résultats. Le massage est effectué jusqu'à ce qu'un échantillon de semence ait pu être collecté ; mais si rien n'est collecté au bout de 2 à 3 mn, la collecte sera sûrement un échec. Les inconvénients principaux de la technique sont l'irritation de la muqueuse rectale, la faible fréquence des érections observées et la difficulté à masser des taureaux peu dociles. De plus, la technique est assez laborieuse (ALBERT et al, 2007).

III.2- Examen séminologique :

L'éjaculat est caractérisé par différents paramètres séminologiques qui constituent le spermogramme (GERARD et KHIRREDINE, 2002).

Le spermogramme est l'analyse du sperme qui permet d'évaluer les qualités morphologiques et fonctionnelles des spermatozoïdes et de mesurer l'activité sécrétoire des différentes glandes exocrines de l'appareil génital (AMMAR-KEKAS, 2013).

L'examen séminologique de l'éjaculat comprend un examen visuel (macroscopique), un examen microscopique et une évaluation par test métabolique ou test de résistance (RIGAL, 2008).

Examen du sperme récolté :

L'examen du sperme a pour objectif d'apprécier la qualité et la quantité du sperme pour son utilisation en situation artificielle (RUKUNDO, 2009).

III.2.1- Examens macroscopiques du sperme :

L'évaluation visuelle permet d'apprécier le volume de l'éjaculat, sa couleur et sa viscosité. Il est rapidement réalisé après la collecte du sperme.

A. Volume de l'éjaculat :

Une fois collecté, le sperme est transmis au laboratoire pour mesurer le volume (lecture directe dans le tube de collecte gradué de 0 à 15 ml ou pesée) (GERARD.O et al, 2008).

Le volume du sperme collecté varie selon l'espèce (Tableau I) et pour une même espèce donnée, il est en fonction de l'état physiologique de l'individu, de l'âge, de la saison, de la

race, de la méthode de récolte ou encore des conditions sanitaires et alimentaires (HANZEN, 2008).

Le volume du sperme est également influencé par des facteurs psychiques et environnementaux (PAREZ et DUPLAN, 1987). On distingue les espèces animales à insémination de type utérin (cheval, porc, chien) et les espèces animales à insémination de type vaginal (ruminants, lapin). Chez les premières, le sperme produit est abondant et peu concentré, tandis qu'il est peu abondant et très concentré chez les secondes (HANZEN, 2014-2015).

Au niveau de l'espèce bovine, le volume du sperme varie entre 0,5 à 14 ml avec un volume moyen de 4 ml (PAREZ et DUPLAN, 1987).

Les jeunes taureaux produisent moins de sperme que les adultes, mais au-delà de sept ans le volume de l'éjaculat diminue. Ce volume est en moyenne de 4 à 6 ml chez un taureau adulte ; tandis qu'il est de l'ordre de 2 ml chez le jeune.

Les taureaux de race laitière fournissent moins de volume par rapport aux taureaux de race à viande. Chez les taureaux ayant une forte libido, on constate que le volume de l'éjaculat est élevé. (KONFE, 2014).

Tableau I: Volume spermatique de quelques races bovines tropicales reporté par KONFE.H, 2014.

Auteur (s)	Race	Volume (ml)	Localité
Igboeli et Rakha (1971)	Angoni	3,25	Nigéria
Cloe et al., (1989)	Baoulé	3,1	Burkina Faso
Adamou-N'diaye et al., (2000)	Borgou	3, 11	Bénin
Gauthier et Varo (1985)	Créole	4,3	Guadeloupe
Menendez-Buxadera et al., (1983)	Cubaine	5,88	Cuba
Kumi-Diaka et al., (1981)	Goudali	6,5	Nigéria
Igboeli et al., (1987)	Muturu	2,1	Nigéria
Tamboura et al., (1992)	N'Dama	4,05	Côte d'Ivoire
Menendez-Buxadera et al., (1983)	Zébu Créole	5,88	Cuba

B- Couleur de l'éjaculat :

Le sperme normal de taureau est de couleur blanchâtre (PAREZ et DUPLAN, 1987), elle peut varier du blanc clair au jaune brillant (EZEKWE, 1988).

Cette couleur peut être cependant modifiée pour des raisons d'ordre physiologiques en fonction de la concentration de spermatozoïdes (RIGAL, 2008) ou pathologiques. La couleur jaune du sperme est due à une teneur élevée en carotène provenant des vésicules séminales. Elle peut également résulter de la présence de pus ou d'urine dans le sperme. Une coloration rosâtre ou rougeâtre traduit la présence de sang et de phénothiazine dans le sperme. Elle peut être aussi due à une lésion de la verge ou de la muqueuse urétrale dans sa portion terminale. La coloration brunâtre traduit la présence de sang altéré ou d'éléments sanguins dégénérés dans le sperme. La couleur bleue de l'éjaculat est due à une faible concentration en spermatozoïdes ou l'administration de bleu de méthylène (KONFE, 2014).

C- Aspect et consistance du sperme :

Le sperme normal a un aspect généralement homogène et crémeux (DJABAKOU et al, 1984). C'est un liquide laiteux, épais, légèrement jaunâtre ou grisâtre selon les espèces et consistant en une suspension de spermatozoïdes dans le plasma séminal. Il devient plus clair au fur et à mesure que la concentration en spermatozoïdes diminue (PAREZ et DUPLAN, 1987).

Au fur et à mesure que les saillies se répètent au cours d'une même journée, le liquide spermatique peut devenir de plus en plus clair et ce, en raison de la diminution de la concentration en spermatozoïdes.

Tableau II: Estimation rapide de la concentration par examen macroscopique du sperme des taureaux (PIETREMONT, 1992)

Couleur/consistance	Densité
Crémeuse	1
Crémeuse à laiteuse	1 à 0.8
Laitieuse	0.8 à 0.6
Laitieuse à petit lait	0.6 à 0.4
Petit lait	0.4 à 0.2
Petit lait à aqueuse	0.2 à 0.05
Aqueuse	0.05

D- Viscosité :

La viscosité traduit la consistance du sperme et en même temps sa concentration en spermatozoïdes. L'éjaculat est d'autant plus visqueux que le nombre de spermatozoïdes est élevé. Comparé à l'eau distillée, le sperme normal de taureau a une viscosité de 3,7 (PAREZ et DUPLAN, 1987).

La viscosité du sperme dépend également de sa teneur en ions. La présence de grumeaux, la formation d'un filament glaireux à l'extrémité de la pipette traduisent un sperme pathologique (KONFE, 2014).

E- Le pH du sperme :

Il est mesuré à l'aide d'un pH-mètre ou à l'aide du papier indicateur. C'est une mesure qui se fait immédiatement après la récolte. En effet le sperme s'acidifie rapidement par formation d'acide lactique. Le pH du sperme normal est compris entre 6,5 et 6,8 (HANZEN, 2008). Pour d'autres auteurs, il est proche de la neutralité (pH=7) avec des valeurs oscillant entre 6,8 et 7,2. En général les éjaculats très concentrés et riches en fructose accusent une diminution plus rapide du pH du fait de l'accumulation plus rapide d'acide lactique due à une glycolyse plus intense (KONFE, 2014).

Une augmentation du pH peut provenir de la présence de lésions inflammatoires dans le tractus génital, elle peut aussi signifier une contamination par de l'urine ou du savon. Une

éjaculation incomplète donnera aussi un pH alcalin, car celui du liquide pré-éjaculatoire est de 7.8 à 8.2 (CHAVATTE, 1992).

F- Le poids :

Le poids spécifique du sperme dépend du rapport entre la concentration en spermatozoïdes et le volume du plasma séminal. Il est de 1.035 chez le taureau (HANZEN, 2008).

III.2.2- Examens microscopiques du sperme :

Les examens microscopiques se font à l'aide d'un microscope. Ils consistent à évaluer la motilité des spermatozoïdes, la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat, la morphologie des spermatozoïdes. C'est également au cours de cette étape que s'est effectuée l'analyse bactériologique et virologique du sperme.

A- Motilité :

L'examen de la motilité initiale des spermatozoïdes est important. Il est nécessaire, bien que non suffisant, aux spermatozoïdes d'être mobiles pour atteindre le lieu de la fécondation. De plus, les forces produites par le flagelle jouent un rôle dans la pénétration du cumulus et de la zone pellucide. Ce sont des forces qui sont à l'origine de la motilité des spermatozoïdes.

La motilité de l'éjaculat peut être évaluée par l'observation d'une goutte diluée ou non (YAHIMI, 2003).

C'est un examen classique, constant et obligatoire sur lequel on se base pour effectuer une première élimination des éjaculats considérés comme inaptes à la congélation (GOFFAUX, 1986). Un autre examen de la motilité est également réalisé sur un autre échantillon de semence décongelée avant la mise en stock définitive. Ce dernier examen donne lieu à une dernière élimination des éjaculats inaptes. On distingue deux types de motilité: la motilité massale et la motilité individuelle.

A.1- Motilité massale :

L'évaluation de la motilité massale est effectuée à partir de sperme pur, dans les dix minutes qui suivent la récolte, l'examen doit se faire le plus rapidement possible après le prélèvement du sperme en le maintenant rigoureusement à une température voisine de 37°C, car elle diminue très rapidement (RIGAL, 2008).

Les spermatozoïdes se déplacent habituellement de manière rectiligne (HANZEN, 2014-2015). La motilité massale dépend essentiellement de trois facteurs: la concentration, le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et de la vitesse de déplacement des spermatozoïdes.

Le matériel nécessaire se compose d'une lame préalablement chauffée à 37°C et d'un microscope à platine chauffante. L'opérateur dépose une goutte de sperme (6µl, 5 mm de diamètre) à la surface d'une lame.

Au grossissement 100, l'intensité des vagues provoquées par le déplacement des spermatozoïdes est évaluée (SAACKE, J.M WHITE, 1972). L'épaisseur de l'anneau formé par les spermatozoïdes en périphérie d'une goutte est également appréciée.

La motilité massale est affectée d'une note variant de 0 à 5 (Tableau III) (PAREZ et DUPLAN, 1987). Cette note est souvent convertie en un pourcentage approximatif de spermatozoïdes mobiles (la note 3 correspond par exemple à 60% de spermatozoïdes mobiles). Un sperme dont la motilité massale est inférieure ou égale à 3 est généralement éliminé.

Tableau III: Notation de la motilité massale du sperme dans l'espèce bovine.(PAREZ ET DUPLAN 1987).

Note	Pourcentage approximatif (%)	Nature et intensité du mouvement
0	0	Aucun mouvement en surface (immobilité totale)
1	20	Léger mouvement à la surface de la goutte
2	40	Mouvement net mais ne formant pas de vague
3	60	Début de vague
4	80	Vagues très nettes
5	100	Tourbillons nettement visibles

L'examen de la motilité massale ne donne qu'une idée approximative du pourcentage de spermatozoïdes mobiles. L'examen de la motilité individuelle permet de cerner le pourcentage de spermatozoïdes mobiles.

A.2- Motilité individuelle :

La motilité individuelle est un examen qui permet d'évaluer le mouvement individuel des spermatozoïdes. Elle mesure le pourcentage de spermatozoïdes ayant une mobilité propre. Ce test est réalisé avec du sperme dilué dans un liquide physiologique. Ce milieu doit être préparé avant l'examen afin d'éviter toute modification du pH préjudiciable à la motilité des spermatozoïdes. Le principe consiste à déposer une goutte de sperme diluée entre lame et lamelle au fort grossissement ($\times 200$ à 400) et ensuite à observer le pourcentage de spermatozoïdes mobiles. Ce pourcentage est estimé par un comptage d'au moins deux cent spermatozoïdes (KONFE, 2014).

Il existe de nos jours des analyseurs d'image de type CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) qui permettent de quantifier de manière plus précise la nature et la vitesse de déplacement des spermatozoïdes (GERARD, 2008).

L'examen de la motilité individuelle permet aussi de fournir indirectement des informations sur l'intégrité de la membrane du spermatozoïde et son intégrité morphologique. Il permet aussi de déterminer approximativement le taux de spermatozoïdes vivants et d'affecter au sperme une note allant de 0 à 5 (Tableau IV). Un bon sperme doit avoir au moins 60 à 70 % de spermatozoïdes vivants.

Tableau IV: Notes attribuées aux éjaculats suivant leur motilité individuelle, dans une grille de notation de 0 à 5. (gerrard,2008)

Critères	Notes
Absence de spermatozoïdes : azoospermie	0
Absence de spermatozoïdes vivants : spermatozoïdes morts (absence de mobilité)	1
25% de spermatozoïdes vivants	2
60% de spermatozoïdes vivants	3
80% de spermatozoïdes vivants	4
100% de spermatozoïdes vivants	5

B- **Concentration du sperme :** La concentration exprime le nombre de spermatozoïdes par mm^3 (ou par ml) d'un éjaculat. Elle peut être directement déterminée par

comptage des spermatozoïdes au moyen d'une cellule hématimétrique ou indirectement par comparaison visuelle du sperme à des solutions standards par comptage électronique ou encore par

néphélométrie. L'évaluation de la concentration en spermatozoïdes par la méthode directe permet d'avoir un résultat plus objectif (PAREZ et DUPLAN, 1987).

La mesure de la concentration par comptage des spermatozoïdes par hématimètre consiste à utiliser une lame de Mac Master ou une cellule de Malassez. Le sperme est d'abord dilué 100 ou 200 fois à l'aide d'une solution de NaCl formolé à 3%. Une goutte de sperme dilué est déposée dans la chambre de l'hématimètre qui est recouverte d'une lamelle. Le comptage est réalisé au microscope au grossissement 1000 (RIGAL, 2008).

La concentration moyenne de l'éjaculat d'un taureau est de un milliard de spermatozoïdes par millilitre. Cette méthode présente l'inconvénient d'être méticuleuse et demande trop de temps (PAREZ et DUPLAN, 1987).

La méthode la plus utilisée dans les centres d'insémination artificielle est la méthode indirecte, elle consiste à apprécier la concentration en spermatozoïdes en évaluant l'opacité de la suspension au moyen à l'aide d'un spectrophotomètre étalonné. Cet appareil mesure la densité optique du sperme dilué (40uL de sperme dans 960uL de sérum physiologique, il est réglé sur une longueur d'onde de 535 nm) (RIGAL, 2008).

C- Pourcentage de spermatozoïdes vivants :

Le pourcentage de spermatozoïdes vivant est apprécié au microscope optique sur un frottis de sperme coloré à l'éosine-nigrosine. Les spermatozoïdes dont la membrane est endommagée (morts) se laissent pénétrer par le colorant et apparaissent en roses (éosine), alors que les spermatozoïdes vivants ayant une membrane intacte apparaissent incolores (KONFE, 2014).

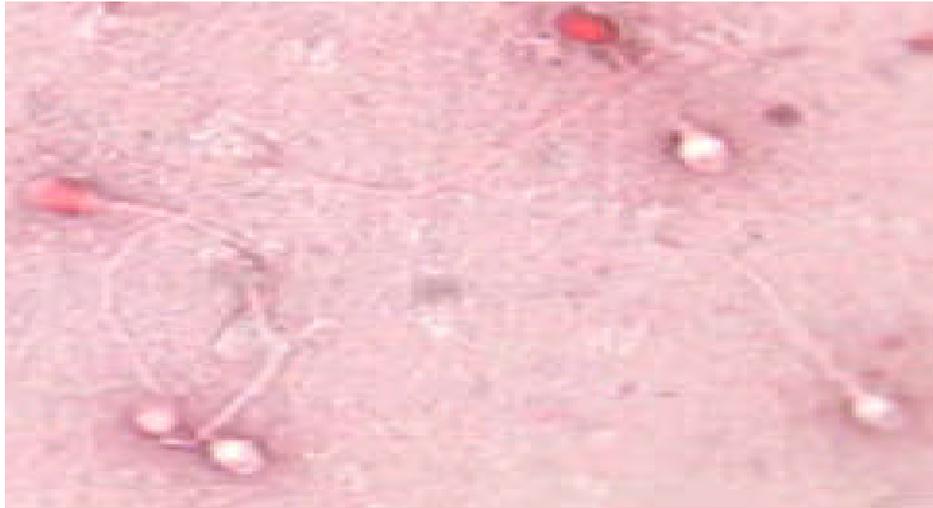


Figure 8: Spermatozoïdes morts (tête rouge) et vivants (tête incolore) (AMMAR-KESKAS, 2013)

D-Morphologie des spermatozoïdes :

L'étude morphologique se fait après la coloration à l'encre de chine ou à l'éosine-nigrosine, afin de détecter les anomalies de forme de la tête et de la queue du spermatozoïde (duplication de la tête, macrocéphalie, queue courte ou enroulée, duplication de la queue). Ne sont retenus pour l'IA que les spermes ayant moins de 25% de spermatozoïdes anormaux et plus de 60% de spermatozoïdes vivants (PAREZ et DUPLAN, 1987).

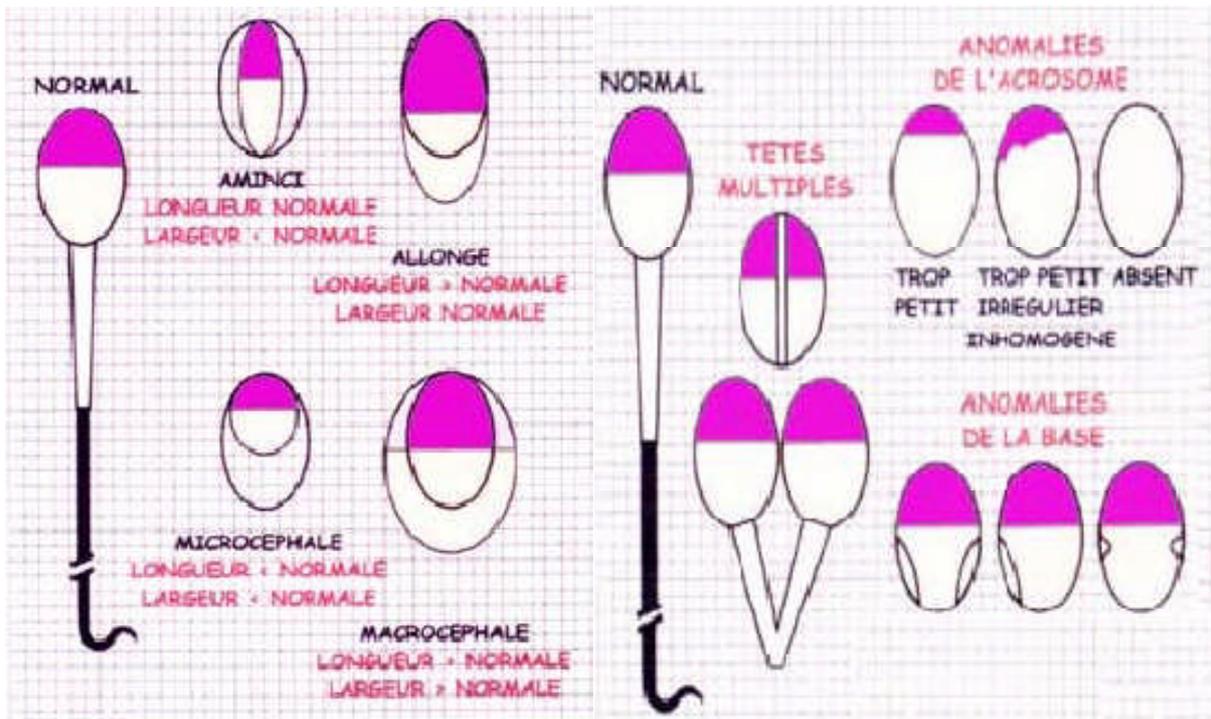


Figure 9: Anomalies de la taille de la tête + anomalies de forme de la tête

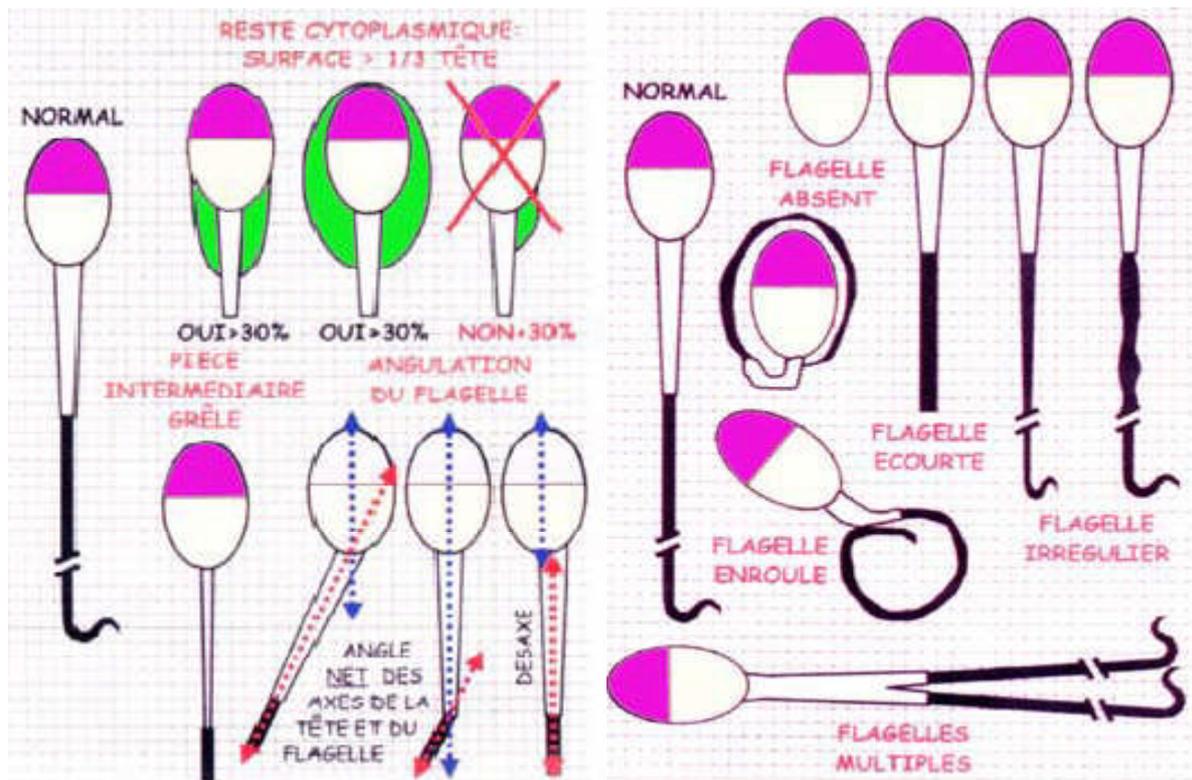


Figure 10: anomalies de la pièce intermédiaire + anomalies du flagelle (AMMAR-KESKAS, 2013).

E- Etude physico-chimique et biochimique du sperme :

L'activité métabolique des spermatozoïdes est un important indicateur de la qualité du sperme. L'évaluation peut se faire par plusieurs moyens tels que la mesure du pH (DERIVAUX, 1971), l'indice de fructolyse, la réduction du bleu de méthylène, le test de résistance au NaCl, l'oxydation du pyruvate (MELROSE et TERNER, 1952), la réduction de la résazurine, etc.

- **Test ou épreuve de la réductase :** ce test est basé sur la détermination du temps nécessaire pour qu'un échantillon de sperme décolore une certaine quantité de bleu de méthylène dans les conditions standard d'incubation. En effet, il existe une corrélation assez étroite entre le nombre de spermatozoïdes vivants, leur motilité et la réduction du fructose entraînant l'enrichissement du milieu en acide lactique. Un sperme décolorant le bleu de méthylène en plus de 5mn ne peut être retenu, compte tenu de sa faible teneur en éléments fécondants (500 000 à 700 000 spz).

- **L'épreuve de la catalase** : ce test découle du fait qu'il ya une corrélation positive entre l'activité respiratoire, la longévité des gamètes et leur activité fertilisante.
- **L'aptitude à la congélation** : il est procédé à une congélation du sperme en milieu glycérolé suivi de dégel et la numération de spermatozoïdes morts (LAMINO, 1999).

F- Analyse du spermogramme :

La décision de garder ou détruire le sperme récolté est fonction des résultats que fournit l'examen de sa qualité. Les normes communément admises pour l'évaluation de la qualité d'un éjaculat dans le cadre de son utilisation pour l'insémination artificielle sont (PAREZ et THIBIER, 1983) :

- volume > 1 ml ;
- concentration supérieure à $0,5 \times 10^9$ par ml ;
- motilité supérieure ou égale à 3 ;
- pourcentage de spermatozoïdes vivants > 60% ;
- taux de spermatozoïdes sans anomalies majeures > 80% ;
- pH compris entre 6,5 et 7,2.

Divers facteurs tels que le mode de collecte, l'hygrométrie, la température, la pluviométrie, la saison et l'alimentation peuvent influencer la variation du spermogramme (FIDELE, 2008).

G- Modification du spermogramme :

Toute réaction inflammatoire de l'une des parties du tractus génital (et en particulier celle des vésicules séminales) influe sur la qualité du sperme éjaculé (BAGSHA et LADDS, 1974).

Certains signes tels qu'une hémospemie (hématies dans la semence) sont facilement objectivables sans présenter pour autant de pronostic défavorable. D'autres, bien que plus discrets, sont néanmoins associés à une évolution plus préjudiciable. Les différents éléments macroscopiques (couleur, consistance, volume), quantitatifs (concentrations en spermatozoïdes) ou microscopiques (motilité, pourcentage de spermatozoïdes vivants ou d'anomalies morphologiques, présence de cellules étrangères) doivent être pris en considération afin d'orienter le diagnostic.

L'interprétation d'un spermogramme ne peut se faire que par comparaison aux spermogrammes précédents d'un même taureau et par rapport à ceux des autres taureaux

du même centre de production de semence sur une période de temps donnée (GUERIN et THIBIER, 1984).

Dans tous les cas, toute altération, même discrète, du spermogramme doit systématiquement déclencher la mise en place d'un test de Schälrm et d'un examen clinique.

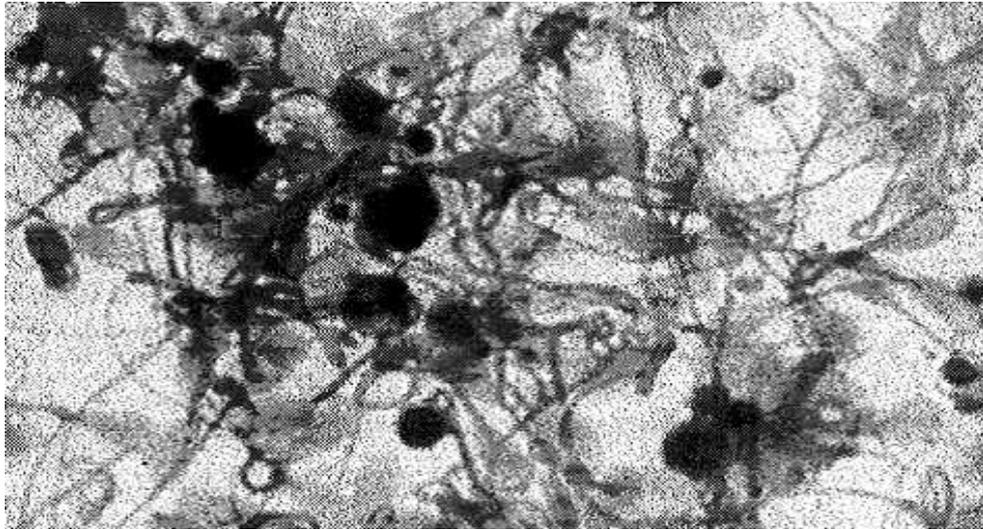


Figure 11: Echantillon de semence contenant des cellules épithéliales germinales chez un taureau présentant une dégénérescence testiculaire associée à une vésiculite (LINHART et PARKER, 1988).

H- Examens bactériologiques et virologiques :

Principe, réalisation et interprétation du test de Schälrm :

H.1- Principe du test de Schälrm :

Toute réaction inflammatoire entraîne un afflux de leucocytes polynucléaires sur le lieu de l'inflammation. Un tel processus pathologique dans le tractus génital se traduit par l'augmentation de la concentration de ces cellules dans le liquide séminal. Cette hyperleucocytose du sperme conditionne le principe du test dit de Schälrm (test initialement appelé Californian Matitis Test (CMT) (SCHALM et NOORLANDER, 1957) mis au point pour détecter les mammites subcliniques).

H.2- Réalisation du test de Schäl m :

Avant de pouvoir réaliser ce test, il faut prélever la semence dans des conditions les plus proches de l'asepsie et cela, dès l'apparition des troubles et avant tout traitement antibiotique (DUMONT et al, 1999 ; GUERIN et THIBIER, 1984).

Dans une coupelle spécialement calibrée, on mélange 0,5 ml de sperme pur et 2,5 ml du liquide réactif Leucocyttest (ND) contenant des ammoniums quaternaires (teepol) colorés par du pourpre de bromocrésol. Le teepol provoque l'éclatement des cellules et donc la libération de leur ADN. Or l'ADN ne peut rester en solution : le principe de la lecture repose sur la gélification de la solution (formation de grumeaux) en présence de l'ADN des leucocytes présents dans le sperme. La lecture du test se fait quelques secondes après avoir effectué le mélange (GUERIN et THIBIER, 1984).

H.3- Interprétation du test de Schäl m :

Les résultats de test de Schäl m sont notés sur une échelle de 0 à 4 (tableau V)

Tableau V: Echelle d'interprétation de la réaction au test de Schäl m (GUERIN et THIBIER, 1984).

Aspect	Réaction	Notation
Réactif fluide (couleur jaune ou violette en fonction du pH)	Réaction négative	0
Présence de quelques grumeaux fugaces (disparition en 1 mn). Réactif fluide	Réaction positive +	1
Présence de quelques grumeaux nets persistants. Réactif encore fluide	Réaction positive ++	2
Présence de gros grumeaux. Réactif visqueux, consistance du blanc d'œuf	Réaction positive +++	3
Prise en masse du réactif. Consistance de crachat	Réaction positive ++++	4

Au cours de l'analyse, les résultats sont groupés en trois classes (GUERIN et THIBIER, 1984) :

- Schälm 0 = Négatif
- Schälm 1 = Douteux
- Schälm 2 à 4 = Positif

En cas de doute (Schälm 1), le technicien peut réaliser un frottis de la semence afin de procéder à la recherche microscopique des leucocytes. On estime à 15% le pourcentage de réactions douteuses correspondant à une réaction de type « Réaction positive + 1 ». En l'absence de tout autre signe, notamment cliniques, il est recommandé de renouveler le test dans les 8 jours suivants pour apprécier la dynamique : régression ou progression.

Résumé : le Schéma dans la figure 12 présente une carte conceptuelle de l'évaluation de la fertilité du taureau reproducteur (prof ch hanzen 2015) et ce qui est doit être envisagé avant son achat , sa mise a la reproduction et en cas d'infertilité des femelles.

Carte conceptuelle de l'évaluation de la fertilité du taureau reproducteur (Prof Ch. Hanzen 2015)

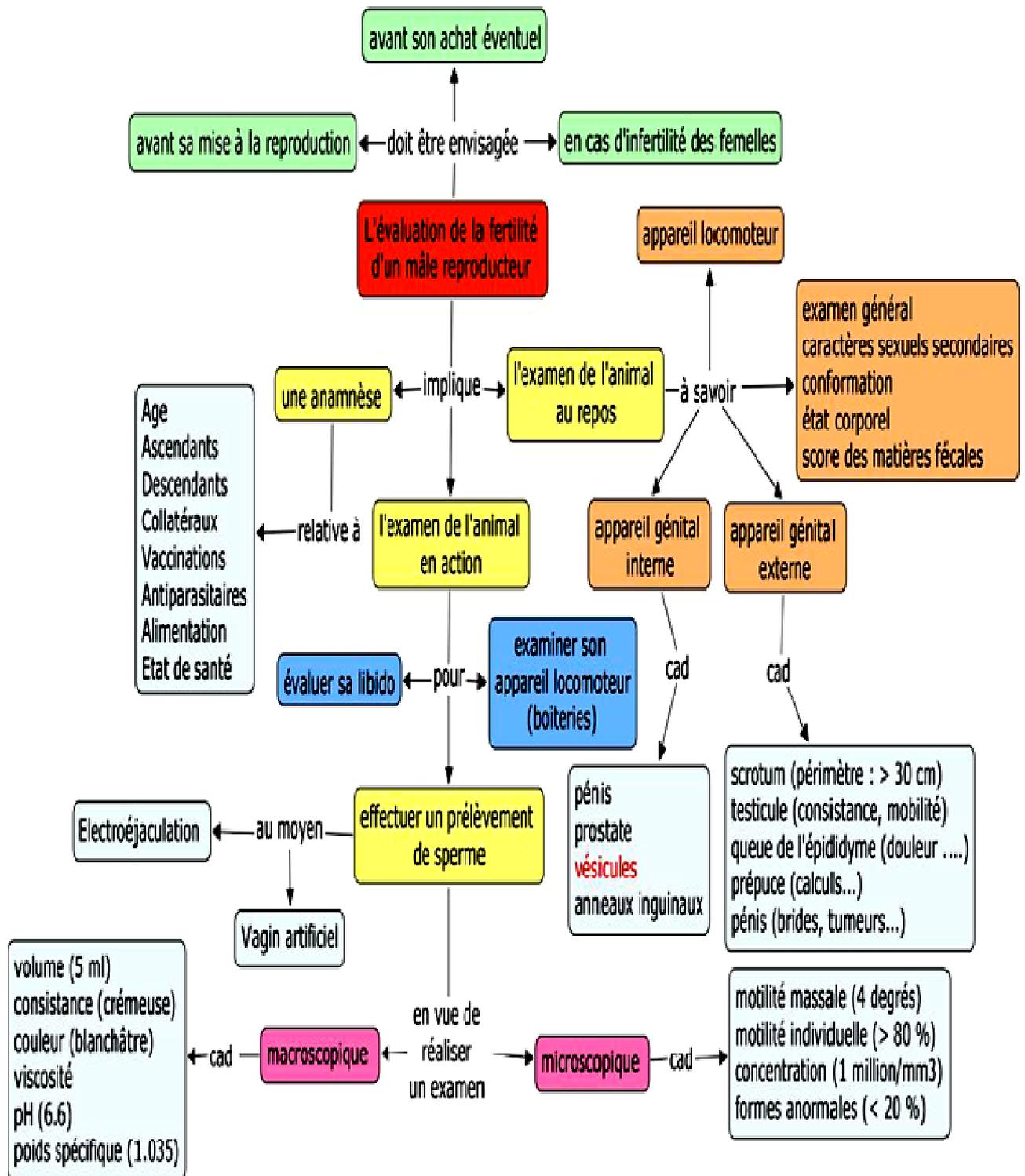


Figure 12: Schéma récapitulatif de la propédeutique d'évaluation de la fertilité chez le taureau (HANZEN,2014)

Introduction :

La semence est le sperme préparé (dilué, conditionné et conservé) par une technique appropriée en vue de son emploi en I.A (FIDELE, 2008). Le sperme récolté contient un nombre de spermatozoïdes supérieur à ce qui est requis pour la fécondation. Une dilution avant usage ou conservation s'avère nécessaire. La dilution du sperme a pour but:

- D'accroître le volume de l'éjaculat de telle sorte qu'un grand nombre de femelles puissent en profiter.
- De protéger les spermatozoïdes (incorporation de conservateurs) pour qu'ils puissent supporter sans dégradation la succession des opérations lors de la préparation (congélation).
- Emballer, identifier et conserver chaque portion qui servira à inséminer des femelles.

Plusieurs opérations conduisent à l'obtention de la semence prête pour la conservation ou à l'insémination (KONFE.H, 2014).

I- La récolte :

La récolte du sperme est l'étape initiale dans sa préparation. Il s'agit d'obtenir à partir des taureaux choisis, du sperme pur, non souillé et cela d'une façon régulière pendant plusieurs années (LAMINO, 1999). Plusieurs méthodes de récolte ont été utilisées certaines n'ont aujourd'hui qu'un intérêt historique comme l'utilisation d'un matériel en plastique dans le vagin, le massage des vésicules séminales par voie rectale du taureau et la récolte directe du sperme dans le vagin. Cependant, en pratique, les méthodes les plus couramment utilisées de nos jours sont la récolte au vagin artificiel et de moins en moins l'électro-éjaculation (FABRICE, 2007).

II- Préparation de la semence :

II.1- La dilution :

A- Les milieux de dilution :

La dilution du sperme permet, en augmentant le volume total de la masse spermatique, de fractionner plus facilement l'éjaculat. Ce fractionnement en doses rend possible l'insémination de plusieurs femelles, parfois plusieurs centaines, à partir d'un seul éjaculat.

La dilution dans un milieu approprié assurant la survie des spermatozoïdes permet, en outre, de conserver et de transporter les doses de semence (EDUCAGRI, 2013).

B- Qualités des milieux de dilution :

Un milieu de dilution doit répondre à un certain nombre de critères. Il permet d'apporter aux spermatozoïdes les éléments nutritifs et protecteurs permettant leur survie après congélation. Il contient un substrat énergétique nécessaire au maintien du métabolisme des spermatozoïdes (fructose, glucose ou lactose), et doit maintenir une pression osmotique et un équilibre électrolytique physiologiques. Le dilueur doit aussi avoir un bon pouvoir tampon afin de limiter les variations de pH néfastes à la survie des spermatozoïdes.

La cryopréservation et la congélation des spermatozoïdes sont assurées par la présence de lécithines, protéines et lipoprotéines du jaune d'œuf ou du lait, l'ajout de glycérol permet d'éviter la formation de cristaux de glace qui lèsent les membranes cellulaires. La législation européenne impose l'ajout de substances antibiotiques au dilueur pour garantir la qualité bactériologique de la semence (GERARD et KHIRREDINE, 2002).

C- Nature des milieux de dilution :

Les dilueurs utilisés doivent être non toxiques, cryoprotecteurs et permettre de réduire le développement microbien. L'adjonction de substances bactéricides ou bactériostatiques permet de limiter la prolifération de germes dans ces milieux biologiques. Les bactéricides ou bactériostatiques les plus couramment utilisés sont la sulfanilamide (0,3%), la pénicilline (500 à 1000 UI/ml), la streptomycine (1mg/ml) (KONFE, 2014).

Le lait entier ou demi écrémé, le lait de noix de coco, le jaune d'œuf de poule ont été largement utilisés pour la conservation des spermatozoïdes. Plus particulièrement, le jaune d'œuf est l'additif le plus communément utilisé dans les centres d'I.A en France dans l'espèce bovine. L'utilisation du jaune d'œuf dans les dilueurs de la semence a tout d'abord été rapportée pour ses effets bénéfiques dans la conservation des cellules à basses températures. En association avec d'autres éléments, le jaune d'œuf assure une bonne protection des spermatozoïdes contre le choc dû au froid (BOGART, 1950).

Cependant, l'utilisation du jaune d'œuf présente certaines limites. En effet, la complexité de la composition du jaune d'œuf rend, d'une part, la reproductibilité des résultats assez faible

et, d'autre part, certains laboratoires ont révélé que la concentration en jaune d'œuf habituellement utilisée dans les dilueurs (20 %) interférait avec certains tests biochimiques (WALL, 1999).

Par ailleurs, en plus des risques sanitaires (AIRES et al, 2003) le jaune d'œuf renferme des substances qui inhiberaient la respiration des spermatozoïdes et par conséquent réduiraient leur mobilité (WATSON, MARTIN, 1975). Pour toutes ces raisons, il est intéressant d'isoler et de produire l'élément cryoprotecteur du jaune d'œuf de poule.

Dans la pratique, les dilueurs rencontrés sont des produits synthétiques prêts pour usage (Optixcell, Laiciphos, BioxcelND) (KNOFE, 2014).

L'ajout d'antioxydants (OxyfreeND) augmente *in vitro* les paramètres de vitesse des spermatozoïdes et pour certains taureaux améliore la fertilité *in vivo* (GERARD et al, 2006 ; GRIGAL et al, 2008).

Tableau VI: Composition des dilueurs les plus utilisés NAGASE et NIWA cités par (LAMINO, 1999).

Milieu à base de jaune d'œuf et de citrate de sodium	Milieu IVT (Illinois, Variable, Température)	Milieu à base de lait de vache (LAICIPHOSND)
<ul style="list-style-type: none"> • Citrate de sodium 2,9 % • Jaune d'œuf 25 % • Glycérol 7,5 % • Antibiotiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Bicarbonate de soude 0,2 g • Citrate trisodique (2H₂O) 2 g • Chlorure de potasse 0,04 g • Glucose 0,3 g • Jaune d'œuf 10 % • Antibiotiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Lait 54% • Jaune d'œuf 10% • Glycérol 6% • Antibiotiques

D- Le taux de dilution :

L'opérateur doit fixer son taux de dilution en tenant compte du volume de sperme récolté, de sa concentration, de la proportion de spermatozoïdes vivants et anormaux, et en fin de la proportion des spermatozoïdes altérés par les manipulations techniques (KNOFEE, 2014).

Le taux de dilution est obtenu à partir des caractéristiques de l'éjaculat et d'une dose de semence : volume et concentration. Par exemple, pour un éjaculat de taureau dont le volume V est égal à 4ml, et contenant $N=1.1 \times 10^9$ spz vivants par ml, le nombre de spermatozoïdes vivants de l'éjaculats est : $N \times V=1.1 \times 10^9 \times 4=4.4 \times 10^9$.

La dose de semence a un volume $v=0.25$ ml, et elle contient $n=20 \times 10^6$ spz vivants. Le nombre de doses obtenues est égal à :

Nbre de spz de l'éjaculat /nbre de spz d'une dose= $N \times V/n=4.4 \times 10^9 /20 \times 10^6=220$.

Ces 220 doses représentent un volume de : $v \times (N \times V/n)=0.25 \times 220= 55$ ml.

Il faut utiliser $55-4=51$ ml de dilueur et le taux de dilution est égal à :

Volume final/volume de l'éjaculat $v \times (N \times V/n)/V= vxN/n= 0.25 \times 1.1 \times 10^9 /20 \times 10^6=13.75$.

Le taux de dilution est indépendant du volume de l'éjaculat. Il est aussi égal à $55/4=13.75$. (EDUCAGRI, 2013).

Le dilueur doit être toujours porté à une température de 37-38°C avant d'être incorporé au sperme afin d'éviter le choc thermique (KNOFEE, 2014).

E- Réalisation de la dilution :

La réalisation pratique de la dilution se fait en deux étapes (la pré-dilution et la dilution finale). Elle consiste à :

- La prédilution consiste à ajouter au sperme récolté la moitié du volume total du dilueur non glycérolé puis le refroidir à 4°C pendant 30 mn.
- La dilution finale quant à elle, consiste à ajouter goutte à goutte au sperme prédilué, le dilueur à 7,5 ou 9 % de glycérol. L'objectif de cette rigueur est d'éviter le choc thermique. Les dilueurs les plus utilisés sont à base de lait ou de jaune d'œufs .

Le glycérol, par ses effets cryoprotecteurs, permet :

- un ralentissement du processus de cristallisation extra et intra cellulaire, ainsi que la formation de cristaux plus petits et cela de façon réversible.

- une atténuation du choc osmotique en réduisant la quantité d'eau qui se transforme en glace.
- une protection des membranes cellulaires en réduisant le phénomène de dislocation cellulaire (FIDELE, 2008).

III- Refroidissement et équilibrage de la semence :

Pour éviter la détérioration de la qualité de la semence, la température est abaissée jusqu'à +5°C. Le métabolisme des spermatozoïdes est ainsi réduit. Le refroidissement peut se faire pendant ou après la dilution. La vitesse de refroidissement doit être rapide pour réduire au maximum la durée du passage dans la zone critique de température mais aussi suffisamment lente pour éviter le choc thermique.

La température de +5°C est obtenue après un refroidissement progressif en une heure 30 mn, maximum dans une vitrine réfrigérée. Il peut être nécessaire d'ajouter de la glace à partir de +15°C. Pour permettre aux spermatozoïdes de perdre une partie de l'eau de façon à réduire la cristallisation intra cellulaire, il faut laisser équilibrer 3 à 5h, Cette période dite «équilibrage » est considérée comme le temps nécessaire aux spermatozoïdes pour s'adapter au milieu qui leur est imposé (contact avec le glycérol du dilueur) (FIDELE, 2008).

IV- Conditionnement de la semence:

Le but du conditionnement est de fractionner la semence de façon à ce qu'elle soit facilement identifiable, stockable et utilisable.

Une fois diluée, la semence est conditionnée en doses individuelles permettant une manipulation et une conservation faciles. Ce conditionnement se fait dans des paillettes en plastique contenant des doses individuelles (FABRICE, 2007). Il est recommandé d'avoir 15 000 000 de spermatozoïdes par dose fécondante (RUKUNDO, 2009)

La paillette plastique jetable de CASSOU (Figure13) est actuellement la contenant le plus utilisé pour conditionner la semence. C'est un cylindre en matière plastique de 133 mm de long pour un volume de 0,5 ou 0,25 ml et de couleur variée (plus de vingt couleurs).

L'originalité de ce conditionneur réside surtout dans le bouchage qui est fait avec de la poudre d'alcool de polyvinyle entre deux tampons de coton qui deviennent gélatineux et étanche au contact de l'eau. Les différentes doses sont identifiées à l'aide des coloris des

paillettes, mais aussi à l'aide d'un code-barres inscrit sur le fourreau d'identification des paillettes (nom du taureau, race, date de récolte, lieu de récolte, rang de récolte, ...).

La semence préparée est aspirée à 4-5 C° dans les paillettes sous une vitrine réfrigérée. Il existe actuellement un système de remplissage de paillettes avec soudure et inscription de code-barres automatique (KNOFEE, 2014).

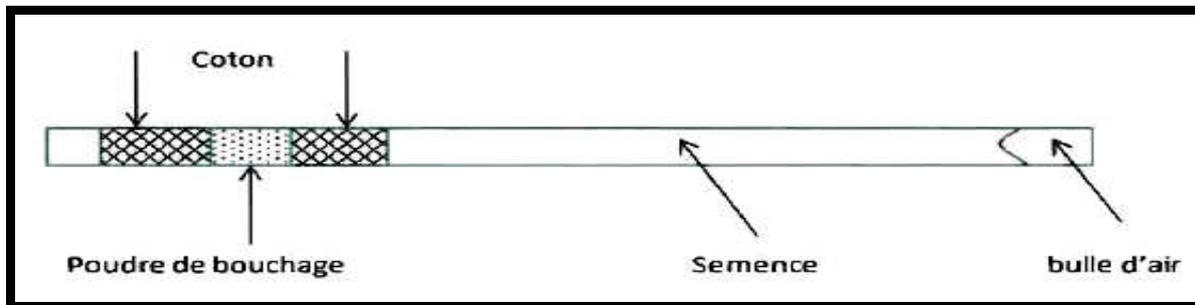


Figure 13: Schéma d'une paillette de type « CASSOU» (MBAINDINGATOLOUM, 1982)

V- Conservation de la semence :

Les semences obtenues peuvent être utilisées fraîches ou conservées pendant longtemps. Leur conservation est en fonction du mode d'utilisation :

- **Semence fraîche :**

Les spermatozoïdes ont une durée de vie très brève (de quelques minutes) à température ambiante. Le sperme frais doit être utilisé dans la demi-heure suivant sa récolte, ensuite les spermatozoïdes meurent par les protéines du plasma séminal qui sont réputées toxiques, mais qui en fait jouent leur rôle physiologique trop prématurément (TAINTURIER et al, 2013).

Pour une utilisation directe, la semence conditionnée est maintenue dans un bain-marie (37 à 38°C) (GERARD et al. 2008).

- **Semence réfrigérée :**

La semence a une durée de vie maximale de trois jours à une température de 4-5 C° (GERARD et al. 2008). Il faut éviter le choc thermique en faisant baisser la température de 5°C toutes les 10 mn, entre 37°C et 22°C et 5°C toutes les 5 mn jusqu'à 5 °C. Le temps de conservation devra tenir compte du fait que le pouvoir de fertilité chute de 3 à 8% par jour.

- **Semence congelée :**

La congélation est une méthode de conservation qui a révolutionné l'IA. En effet, la congélation a permis une diffusion large et facile de la semence aussi bien dans le temps que dans l'espace. La méthode utilise l'azote liquide dans laquelle la semence est conservée dans une bonbonne contenant de l'azote liquide à -196°C . La congélation est progressive et peut se faire à l'aide de machines spécialisées ou de façon manuelle. Les paillettes sont d'abord congelées à -140°C au-dessus d'une vapeur d'azote liquide pendant 9 mn, puis plonger dans l'azote liquide. Après quelques jours, un test de congélabilité de la semence est réalisé avant sa conservation. C'est un test de vitalité des spermatozoïdes après décongélation renvoyant à l'examen de motilité individuelle. Si la semence présente une bonne congélabilité, elle est retenue et conservée pour une utilisation ultérieure en insémination artificielle (FIDELE, 2008).

Cette conservation est rendue possible grâce à l'action cryoprotectrice de certains produits tel que le glycérol ; et cette méthode permet de conserver les semences pendant 6 ans voir 20 ans si le niveau d'azote est régulièrement respecté (GOFFAUX, 1991).

Aussi, une nouvelle substance « la glutamine », testée par (TRIMECHE et al, 1996)

à montrer un effet cryoprotecteur avec un mécanisme de protection différents de celui du glycérol et l'association de ces deux substances améliore significativement la qualité du sperme congelé.

VI- La décongélation :

Le maniement correct de la semence, avant pendant et après la décongélation est crucial pour la bonne réussite de l'insémination (TORO MAGAZINE, SWISSGENITICS, 2009).

Sortir la dose de semence du container

- Il faut impérativement éviter de sortir les paillettes du container rien que pour lire le nom du taureau, car cela conduit inévitablement à des fluctuations de température importantes. En effet, les doses de semence doivent être protégées des variations chaud-froid. C'est pourquoi il est important de tenir une liste d'inventaire exacte du container.

Le gobelet ou canister contenant les paillettes, ne doit être relevé qu'un peu, juste suffisamment pour pouvoir saisir la paillette avec les brucelles. Ce faisant, le gobelet doit

être maintenu aussi profond que possible dans le col du container pour minimiser les fluctuations de température.

- La paillette est saisie avec des brucelles tant pour des raisons hygiéniques que pour éviter de réchauffer les paillettes environnantes avec les doigts. Dès que la paillette est saisie, le gobelet est replongé dans le ventre du container.

Décongélation de la dose de semence :

- Plonger la paillette choisie entièrement dans le bain-marie (eau propre à 38 °C) sans tarder.
- Y laisser la paillette pendant 25 secondes.
- Pendant ce temps, chauffer l'instrument d'insémination (pistolet) en le frottant avec un papier sec et propre.
- Sortir la paillette de l'eau et la sécher avec du papier à usage unique.
- Secouer la paillette jusqu'à ce qu'une bulle se forme à la base supérieure.

VII . Les facteurs influençant sur la congélation et la décongélation du sperme :

a- La congélation :

Au cours de la congélation proprement dite, quel que soit le mode de conditionnement de la semence, pastille ou paille, les spermatozoïdes traversent une zone de température critique dans laquelle ils sont fortement endommagés.

Soixante-dix à quatre-vingt pour cent des anomalies dues à la congélation apparaissent entre 0 et - 20°C (**Pursel et Park 1985**). Ceci est la conséquence de la formation de cristaux de glace (**Niwa et Taguchi 1981**)..Ces dommages peuvent être réduits quand les vitesses de la congélation sont adaptées au mode de conditionnement de la semence. Avec les premières techniques, les vitesses de congélation étaient très faibles. Dans ces conditions le pourcentage de spermatozoïdes mobiles le plus élevé était obtenu quand la concentration en glycérol était supérieure à 5 % mais, dans ce cas, le pouvoir fécondant des spermatozoïdes était nul (**Dalrymple et McPherson 1969**). Depuis 1970, il est généralement admis que des vitesses de congélation plus élevées, obtenues lors de la congélation en pastilles (**Nagase et Niwa 1964**) en combinaison avec de faibles concentrations de glycérol, sont préférables pour la survie des spermatozoïdes et le maintien de leur pouvoir fécondant.

Cette méthode est utilisée dans les principales techniques actuellement proposées (**Pursel et Johnson 1975a, Paquignon et Courot 1975a, Larsson et al 1977**). La taille des pastilles peut varier de 0,05 à 0,2 ml sans affecter la qualité de la semence (Salamon 1973, Pursel et Johnson 1976) ; au-delà, il y a une baisse de cette qualité (**Kozumplik 1978**). Les spermatozoïdes peuvent également être congelés en pailles de différents volumes. En général, la qualité de la semence obtenue après congélation en paillette de 0,5 ml est supérieure à celle obtenue après congélation en paille de 5 ml (**Paquignon et al 1986**). Cependant, pour des raisons pratiques de volume de semence à congeler, ce sont les pailles de 5 ml qui sont utilisées (**Westendorf et al 1975**). Avec des volumes supérieurs le pouvoir fécondant des spermatozoïdes est faible (**Larsson et al 1976**).

-b La décongélation :

Jusqu'à maintenant, il était difficile d'apprécier d'une façon objective, dans la chute de la qualité de la semence, la part revenant au processus de congélation de celle revenant au processus de décongélation.

Une expérience récente de cryosubstitution, montrant que seulement 1 à 2 % des spermatozoïdes ont des acrosomes gonflés au moment de la congélation alors que 60 % d'entre eux ont la même anomalie après dégel, indique qu'un des principaux problèmes de la technologie survient au cours de la décongélation (**Courtens et Paquignon 1985**). Plus celle-ci est rapide, meilleure est la qualité de la semence (**Pursel et Johnson 1976**). C'est pourquoi des solutions de dégel, destinées à accélérer les échanges thermiques, sont utilisées pour la décongélation des pastilles (**Pursel et Johnson 1976**). La température de dégel est aussi un facteur de réussite, surtout pour la décongélation des pastilles mais moins pour celle des pailles

(Westendorf et al 1975, Perezcanto-Fernandez 1978).

Il existe donc une vitesse de décongélation optimale variant selon les techniques de congélation.

Dans la pratique courante, les pastilles sont décongelées dans une solution à 50°C et les pailles dans un bain d'eau chaude à 50° avec une durée d'immersion qui doit être comprise entre 40s et 50s (**Pursel et Park 1985**).

- C Les principales facteurs influençant :

- La température
- La vitesse de conservation
- Le cout de la congélation
- Hygrométrie
- Influence de la nature du dilueur de congélation sur la motilité des spermatozoïdes.
- influence de la température de décongélation des pellets sur le pouvoir Fécondant.
- Variation inter sperme dans l'aptitude à la congélation et la conservation à l'état congelé.

Références bibliographiques :

1. ADAMOUC-N'DIAYE, M., GBANGBOCHE, A.B., ADJOVI, A. et JONDET, R., 2003. Cryopréservation de la semence de taureau de race Borgou au Bénin. *Revue Méd. Vét.*
2. Ahmed,2002 Ahmed M., McNeil D. L., Fautrier A. G., Armstrong K. F. and Paterson A. M. (1996). Genetic relationships in len species and parentage determination of their interspecific hybrid using RAPD marker. *Theor. Appl. Genet.* 92:1091-1098.
3. AIRES V.A., HINSCH K.D., MUELLER-SCHLOESSER F.,BOGNER K., MUELLER-SCHLOESSER S., HINSH E, 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithinbased extenders for cryopresrvation of bovine semen. *Theriogenology*,60, 269-279.
4. ALBERT . 2007– Evaluation of potential breeding soundness of the bull – In : ROBERT, S. YOUNGQUIST., WALTER, R. THREFALL – *Curent Therapy in large animal theriogenology*, second edition – Saunders Elsevier.
5. AMANIGA, RP, 1989. Can the fertility of a seminal sample be predicted accurately? *Journal of Andrology*.
6. AMIRAT L., TEINTURIER D., JEANNEAU L., THOTIN C., GERARD O., COURTENS JL, et al., 2004. Bull semen in vitro fertility after cryopreservation using egg yolk LDL: a comparison with optidly, a commercial egg yolk extender. *Theriogenology* 2004: 61 495 – 907.
7. AMMAR-KESKES Leila., 2013. *Biologie de la reproduction: Atlas de spermologie*. Faculté de médecine de Sfax, Tunisie.
8. ANDERSSON .M ; HELLMAN. T; HOLMSTROM.B.G; JOKINEN. L.1992. Computerized and subjective assessments of post thaw motility of semen from Finnish Ayrshire AI bulls in relation to non return rates. *Acta Vet. Scand.*
9. BAGSHAW P. A. et LADDS P. W,1974. A study of the accessory sex glands of bulls in abattoirs in northern australia. *Aust. Vet. J.*
10. BENLEKHEL.A, MANAR.S, EZZAHIRI.A. ET BOUHADDANE.A, 2000. L'insémination artificielle des bovins : une biotechnologie au service des éleveurs. *Transfert de Technologie en Agriculture*, 65, p. 4.
11. BENCHARIF ET AL, 2000. Bencharif D ,Tainturier D, Slama H, Bruyas J F, Battut I et Fienni F 2000 Prostaglandines et post-partum chez la vache. *Revue de MédecineVétérinaire*,151 ,5,401-408 72.
12. BIZIMUNGU J., 1991. *Insémination artificielle au Rwanda : Bilan etperspective*.Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 15.
13. BOGART R., MAYER D.T,1950.The effects of egg yolk on the various physical and chemical

Références bibliographiques :

- factors detrimental to spermatozoa viability. J.Anim. Sci., 9, 143.
14. BOLY, H., 1986. La récolte du sperme chez le babouin (*Papio papio*) par la technique de l'électro-éjaculation. Thèse de Doctorat Vétérinaire. Université Cheick A. Diop de Dakar, EISMV.
 15. BOUAZIZ Omar, 2013. Examen de la fonction génitale du taureau. Cours de reproduction, université Constantine 1.
 16. BOYELDIEU.J, 1983. L'élevage ovin : Nouvelle encyclopédie des connaissances agricoles. Editions de l'Institut National Agronomique, PARIS, 255 P.
 17. CHAVATTE.P, 1992. Examen de la fonction génital de l'étalon. Rec.Med.Vét.
 18. COURSIN STEPHANE, 2012. Prédiction du potentiel reproducteur de jeunes taureaux par échographie testiculaire et mesure de la circonférence scrotale. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT.
 19. DAIRY HERD MANAGMENT PUBLIE DANS LE BULTIN DES AGRICULTEURS ,MAI,2010 ,PAGE 49
 20. David I, 2008. Analyse génétique et modélisation de la production de semence et de la réussite de l'insémination artificielle en ovin. Génétique animale Pour l'obtenir le grade de Doctorat d'Agro Paris Tech. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement UFR Génétique, Elevage et Reproduction, France (Paris), p. 199.
 21. DERIVAUX.J, 1971. Reproduction chez les animaux domestiques tome II, le mâle : insémination artificielle. Liège. Edition Derouaux.
 22. DIOP P.E.H., 1993. Biotechnologie et élevage africain (147-162) In « Maîtrise de la reproduction et amélioration génétique des ruminants » Apport des biotechnologies nouvelles. Dakar : NEAS.-290p.
 23. DJABAKOU K., FIMMEN H.O. et BOTTGER M., 1984. Examination of bull semen at CREAT.Tryanotolérance and animal production. Avetonou, Togo.
 24. DUMONT .P, PONSART.C, HUMBLLOT. P et GUERIN .B, 1999. Etude de la réaction au test de Schalm au cours du contrôle de la fonction sexuelle chez le jeune taureau Normand. Elev. et Insem.
 25. DUMONT. P, 1997.Appréciation de la fonction sexuelle du taureau reproducteur. Le Point Vétérinaire.
 26. EDUARDO VILLENA. F, JOSE JIMENEZ. R.M, MENDOZA.E, LOPEZ. J.C, 2003. Technicien en

Références bibliographiques :

- élevage. Editions Cultural, S.A Tome2, MADRID – Espagne, 226 p.
27. EDUCAGRI, 2013. Reproduction des animaux d'élevage. Educagri Edition, Dijon, France.
 28. EZEKWE A.G., 1988. Ejaculate characteristics of two breeds of tropical bulls - N'dama and Muturu.- Joint seminar on animal reproduction for african countries.-Addis-Abeba:CIPEA.
 29. FABRICE ABONOU, 2007. Réalisation d'un programme d'insémination artificielle bovine dans la région de Dakar. Ecole inter - états des sciences et médecine vétérinaires (E.I.S.M.V.)
 30. FIDÈLE KABERA, 2008. Appréciation de la qualité de la semence bovine produite au centre national d'amélioration génétique (cnag) de Dahra au Sénégal. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire de Dakar.
 31. FOOTE, RH, 2002.The history of artificial insemination: selected notes and notables.Journal of Animal Science. 80, 1-10.
 32. Gilles de Cremoux, FRGTV Pour le groupe Qualité du lait du Sud-Ouest Publié le jeudi 25 novembre 2010
 33. GERARD.O, DRUARD. X., SELLEM.E, HUMBLLOT.P, 2006. 18th European AI Vets Meeting. Boras, 12-14 october, 2006.
 34. GERARD, O., HUMBLLOT, P, 1992. Influence du rythme de collecte, de la race et de la saison sur la production de semence de taureaux Prim'Holstein, Normands et Charolais. I-Effets sur les paramètres du sperme frais. El. Insem.
 35. GERARD, O., KHIRREDINE.B, 2002. Production de semence bovine - Didacticiel de Maîtrise de la reproduction des bovins.
 36. GERARD.O, PONSART. C, PETIT .M, HUMBLLOT. P, 2008. Evolution des techniques de préparation de la semence et d'insémination artificielle chez les bovins. Union nationale des coopératives d'insémination animale (UNCEIA), France.
 37. GOFFAUX. M., 1986. Quelques aspects relatifs à la technologie de l'insémination artificielle des bovins. Banques de gènes et technologie de la reproduction bovine. Analyse et perspectives. Coopérative d'amélioration de l'élevage et d'insémination artificielle du Bearn Symposium de PAU 20 juin 1986.
 38. GOFFAUX M., 1991. Technique de congélation de la semence de taureau : congélation proprement dite, décongélation et conservation. Elev. et Insém., (241) : 3-18
 39. GRIGA1 M., NEHRING H., LEIDING C., 2008. XXV WoldBuiatric Congress 6-11 July 2008 Budapest, Hungary. p 297

Références bibliographiques :

40. GUERIN B. et THIBIER M,1984. Approche diagnostique et thérapeutique des inflammations de l'appareil génital du taureau d'insémination artificielle. Elev. Insem.
41. Hamoudi,1999 Benia, A R; Taibi, K; Ait-Amrane, A; Belhamiti, T; Hammoudi, S M; et al.. African Journal of Biotechnology 12.41 (Oct 9, 2013): 6042-6048
42. HANZEN.Ch, 2007-2008.Anatomo-physio-histologie du tractus génital du taureau : Rappels anatomophysiologiques relatifs à la reproduction du taureau.
43. HANZEN.Ch, 2009-2010. Rappels anatomophysiologiques relatifs à la reproduction.
44. HANZEN.Ch, 2014-2015. La propédeutique de l'appareil reproducteur et l'examen du sperme des ruminants. Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire. Service de Thériogenologie des animaux de production
45. HAURAY .2004.
46. Haskouri. H « Gestion de la reproduction chez la vache : insémination artificielle et détection des chaleurs » Cours 5e année Vétérinaire, IAVHassen II Rabat, 2000
47. *(Huet et de moustier)thèse mémoire pour docotorat vetrinaire .faculté de medcine de creteil 2009 Journal of Comparative Human Biology, Volume 62, Issue 1, February 2011,*
48. HUMBLOT.P, 1999. Utilisation de l'insémination artificielle et du transfert embryonnaire en France, leur impact sur la limitation des problèmes sanitaires. Agence Française de sécurité sanitaire des aliments : Colloque Scientifique ; Biotechnologies de la reproduction animale et sécurité sanitaire des aliments.
49. HOPKINS, F.M. & SPITZER, J.C, 1997. The new Society for Theriogenology breeding soundness evaluation system. The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice.
50. IBRAHIM MAMAN LAMINO, 1999. L'amélioration génétique par la biotechnologie de l'insémination artificielle bovine : cas du PAPEL au Sénégal., bilan et perspectives. Université cheikh ANTA Diop de Dakar. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires.
51. EAN CLAUDE RUKUNDO, 2009. Evaluation des résultats de l'insémination artificielle bovine dans le département de Mbour au Sénégal: cas du projet Goana. Université cheikh ANTA DIOP de Dakar. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire (E.I.S.M.V).
52. Karine Hauray, vétérinaire Les mérites ont été abordées lors de la journée sanitaire du GDS de l'Isère du 13 décembre 2007

Références bibliographiques :

53. KONFE Harouna, 2014. Etude spermologique des bovins de races locales de l'Afrique de l'Ouest: cas du Borgou, du taurin Lagunaire, du taurin N'Dama et du Zébu Peulh. Université Polytechnique De BOBO-DIOULASSO, Burkina Faso.
54. Laminou M.I.,1999. L'amélioration génétique par la biotechnologie de l'insémination artificielle bovine: bilan et perspectives. Thèse: Méd. Vét.: Dakar; 9.
55. Letradi 1931 Letard 1935 histoire de l'insémination et le nombre de lignée associée chez la plupart des animaux.
56. LINHART RD. et PARKER WG.(1988) Seminal Vesiculitis in Bulls. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 10, 12, 1428-1432.
57. CROISIER ,M ET Y , 2011. Hygiène et santé en élevage: L'animal, Volume 1. Educagri Editions.
58. MBAINADINGATOLOUM, FM, 1982. L'insémination artificielle bovine au Sénégal. Th.Med. Vét. DAKAR.
59. MELROSE DR et TERNER C, 1952. The Metabolism of Pyruvate in Bull Spermatozoa. Biochem. J. 1953;53:296.
60. NICOLAS GUN, 2009. PROPEDEUTIQUE ET SEMIOLOGIE DE L'APPAREIL GENITAL MALE bovins et les caprins. FAO, Rome, Italie, 231 p.
61. PALMER.C.W; BARTH. A.D, 2003. Comparison of the BullMate™ Sperm Quality Analyser with conventional means of assessing the semen quality and breeding soundness of beef bulls. Animal Reproduction Science.
62. PAREZ, M. et DUPLAN, J.M., 1987. L'insémination artificielle bovine, ROGER MARION Edition. reproduction et amélioration génétique, Paris, France.
63. PETITJEAN M., 1965. Recherches sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. Mémoire Ingénieur DPE, CNAM, Paris
64. PITREMONT J.L, 1992. Maîtrise de la reproduction en élevage allaitant: examen et contrôle du mâle. G.T.V.
65. **Pursel et Johnson 1975a, Paquignon et Courot 1975a, Larsson et al 1977)** To cite this version: M. PAQUIGNON, J. Bussi`ere, F. BARITEAU. Efficacité des techniques de conservation de la

Références bibliographiques :

- semence de verrat. INRA Productions animales, 1988, 1 (4), pp.271-280. <hal-00895841>
66. RADHWANE SAIDI, DJAMEL KHELEF, RAHID KAIDI, 2012. Analyse descriptive des résultats d'insémination artificielle bovine en Algérie: cas de la région centre. Université de Blida.
67. *Repiquet* Journal of General Virology 2001; 82: 1893-1897. 39. ...
68. RIGAL Fabrice Benoît Guillaume, 2008 Comparaison de la qualité de la Semence de taureaux collectes a L'électro-éjaculateur ou au vagin Artificiel. Ecole vétérinaire Toulouse-
69. R.G.el more livre publie dans amazon .fr en 1996
70. ROSENBERGER, 1979. Appareil génital mâle. Examen clinique des bovins. P324-370.
71. RUKUNDO J.C., 2009. Evaluation des résultats de l'insémination artificielle bovine dans le département de Mbour au Sénégal : cas du projet GOANA. Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 23. 89.
72. SAACKE, J.M WHITE, 1972. Semen quality tests and their relationship to fertility.conf.AN Insem.Artif. and Report., NNAB. Chicago, Illinois.
73. SALISBURY G.W. et VANDEMARK N.L., 1961. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle- San Francisco: Freeman & co.-639p.
74. SCHALM O. W. et NOORLANDER B. S,1957. Experiments and observations leading ti development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc., 130, 199-210.
75. SEEGERS. H, 1997. Insémination artificielle : Des résultats pour une utilisation à bon escient. Le point vétérinaire, Volume 28 n°185, 1599-1600.
76. SEEGERS. H et MALHER. X, 1996. Analyse des résultats de reproduction d'un troupeau laitier. Le Point Vétérinaire, 28(Numéro spécial), 971-679.
77. SiGisin 1984. Seguin, BE 1984. Contrôle pharmacologique de gestion de la reproduction chez les vaches laitières. Proc. 10 Int. Congr. Anim. Reprod. et AI IV: 25-29.
78. SITE WEB ZOETIS ET partenaires des premieres rencontre de recherche en santé animal .
79. SOLTNER.D, 1993. La reproduction des animaux domestiques. Zootechnie générale, tome I 2eme édition : loire :collection science techniques agricoles.

Références bibliographiques :

80. SPIESER FLORIAN, 2012. Les examens complémentaires réalisables à la ferme et au cabinet en médecine des populations. Université Claude Bernard - LYON I.
81. STIEVENART.M, 1997. L'électro-éjaculation chez les mammifères. Revue bibliographique - Th. : Med.vet. : Lyon : n°6609.
82. TAINTURIER. D, BENCHARIF.D, BRIAND.L, TOPIE. E et KAMGA-WALADJO.A.R, 2013. Production et conservation de la semence animale. Revue Africaine de Santé et de Productions Animales. E.I.S.M.V. de Dakar
83. THIBAUT, C et LEVASSEUR, M-C, 2001. La Reproduction chez les mammifères et l'homme – nouvelle édition. Paris : INRA Editions ellipses, 256-289.
84. THIBIER. M; WAGNER. HG, 2002. World statistics for artificial insemination in cattle. Livestock Production Science, 74, 203-212
85. TOM HAMILTON, 1990- La fertilité du taureau de boucherie, Fiche technique originale
86. TRIMECHE A. ; RENARD P. ; LE LANNOU D. ; BARRIERE P. et TAINTURIER D, 1996. Nouvelles molécules pour la congélation du sperme. Modèle d'étude : le baudet du Poitou. In : Reproduction et production laitière. Tunis : SERVICED.-316p.- (actualité scientifique AUPELF- UREF).
87. UNCEIA, 2006. Union nationale des coopératives d'insémination animale. France.
88. **VIDAMENT. M ; VINCENT. P ; YVON .J.M ; BRUNEAU .B ; MARTIN .F.X, 2005.** Glycerol in semen extender is a limiting factor in the fertility in asine and equine species. Anim. Reprod. Sci.
89. **VISHWANATH, R., 2003.** Artificial insemination: the state of the art. Theriogenology .Volume 59, Issue 2, 571-584.
90. **WALL RJ, FOOTE R.H, 1999.** Fertility of bull semen frozen and store in clarified egg yolk-tris-glycerol extender. J. Dairy Sci., 82, 817-821
91. **Wattiaux ,2006** -WATTIAUX A. M., 2006. Détection des chaleurs, saillie naturelle et insémination artificielle. In : Reproduction et sélection génétique, Babcock Institute. [En ligne] accès Internet : http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de_html/ch09.fr.html (page consultée le 13 Janvier 2013).
92. **WATSON P.F., MARTIN C.A, 1975.** The influence of some fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5 °C. *Aust. J. Biol. Sci.*, **28**, 145-152.

Références bibliographiques :

93. **Web zaoetis france .**

94. **William et ali 1988 mc kenna et al 1990** William p.c.p et ward 1990 development of a coding système for recording clinical findings in farm animal practice .vet. Rec 124 :265-268

95. **WRIGHT ET AL 1992 CIT2 PAR BADIN ET AL 1992**

96. **YAHIMLA, 2003.** Evaluation de la fonction sexuelle de taureau reproducteur « race locale » et essai sur la cryoconservation du sperme.

Webographie

97. **Louisiana State University Department of Veterinary Clinical Sciences, 2005.** Semen. Evaluation. *Comparative Theriogenology*. Available at:<http://www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/semen%20anal.2.htm> (consulté 19/05/2015)

98. **Hélène HUET, Victoire DE MOUSTIER, 2009.** Site internet pour la thèse de doctorat vétérinaire « élaboration d'un site web à visée pédagogique sur la propédeutique médicale des bovins » école nationale vétérinaire d'Alfort http://theses.vet-alfort.fr/Th_multimedia/prope-bovine/index.php?rub=7&page=5 (consultée le 11/01/2015)

99. **R.G.Elmore,1996.** Bovine theriogenologyimages <http://www.vet.k-state.edu/images/therio/>(Page consultée le 03/03/2015).

100. **HASKOURI H., 2001.** Insémination artificielle et détection des chaleurs.-*In*: Gestion de la reproduction chez la vache. <http://fr.calameo.com/read/00039690400accdae9238> (consulté le 19/04/2015)

101. **Swissgenetics, toro magazine, 2009.** Maniement de la dose de semence. <http://www.die-fruchtbare-kuh.ch/Maniement-de-la-semence.151.0.html?&L=3> consulté le 12/08/2015