



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

**Gestion de la qualité en production de semence bovine congelée
en Algérie**

Présenté par

MEDJKOUNE Myra

Devant le jury :

Président(e) :	BOUGUESSA A.	MCA	ISV Blida
Examineur :	DJOUDI M.	MCB	ISV Blida
Promoteur :	BELALA R.	MCA	ISV Blida
Co-promoteur :	YAHIMI A.	MCA	ISV Blida

Année : 2021/2022



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

**Gestion de la qualité en production de semence bovine congelée
en Algérie**

Présenté par

MEDJKOUNE Myra

Devant le jury :

Président(e) :	BOUGUESSA A.	MCA	ISV Blida
Examineur :	DJOURI M.	MCB	ISV Blida
Promoteur :	BELALA R.	MCA	ISV Blida
Co-promoteur :	YAHIMI A.	MCA	ISV Blida

Année : 2021/2022

REMERCIEMENTS

Merci ALLAH de nous avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout et le bonheur de lever nos mains vers le ciel et dire ALHAMDOULLAH.

A Monsieur BELALA Redha,

Qui a dirigé ce travail et veillé à son aboutissement, qui a toujours su avoir les bons mots pour me conseiller et me rappeler à l'ordre lorsque je flanchais, qui m'a accordé toute l'attention et la bienveillance d'un père, qui m'a inspiré depuis le tout début et qui continuera à m'inspirer jusqu'à la fin. Mille fois merci à vous, vous sans qui rien tout ce que j'ai pu accomplir jusqu'ici n'aurait pu être possible.

A Monsieur YAHIMI Abdelkarim,

Pour m'avoir fait l'honneur de me co-encadrer, pour sa pédagogie, sa bienveillance, sa disponibilité, son implication et sa confiance.

Au Président du jury,

Dr. BOUGUESSA Amel, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

Hommage respectueux.

Au Dr. DJOUDI Mustapha,

Qui a bien voulu accepter d'examiner et de parfaire mon mémoire.

Sincères remerciements.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement et à la réalisation de ce travail d'une manière ou d'une autre.

DEDICACES

À mes parents,

Pour votre soutien tout au long de mes études, pour votre amour, votre patience et votre confiance. Maman pour ta douceur, ta prévenance, tes conseils et toutes tes attentions, Papa pour m'avoir toujours donné la force de me battre, pour ta bienveillance et ta confiance. Je n'en serais pas là sans vous et je ne serai pas qui je suis sans votre implication et votre éducation.

À mon petit frère,

*Ali, qui restera toujours petit à mes yeux du haut de ses 20ans ...
Je te souhaite tout le bonheur du monde, un brillant parcours scolaire et surtout une vie remplie de joie et d'aventures. Sache que je serai toujours là pour toi et merci d'avoir toujours été là pour moi.*

RESUME

Cette étude représente une synthèse bibliographique ainsi qu'une évaluation bibliométrique des données disponibles en littérature sur le contrôle de qualité de la semence bovine en Algérie. Malgré le nombre important d'études disponibles sur les causes d'échec et de réussite de l'Insémination Artificielle (IA) bovine en Algérie, très peu sont celles qui s'attellent aux facteurs tenant au taureau d'IA dont essentiellement la qualité de sa semence.

Les facteurs liés au taureau sont sa valeur génétique, son statut sanitaire et infectieux ainsi que l'évaluation de sa fonction reproductrice, viendront ensuite, les conditions et la technique de récolte du sperme.

La production de la semence bovine se fait dans des centres spécialisés suivant un organigramme de production (un process) adapté à chaque centre. En Algérie, cette production se fait exclusivement au niveau du centre national d'insémination artificielle et d'amélioration génétique (CNIAAG), qui est un établissement public sous la tutelle du ministère de l'agriculture.

Les données rapportées dans trois études réalisées entre 2015 et 2018 sur l'analyse de la semence bovine produite par le CNIAAG, montrent grossièrement une mauvaise qualité biologique avec des résultats s'inscrivant en dessous du seuil d'acceptation en IA.

Le contrôle de qualité (CQ) standard, basé sur les techniques d'analyse subjectives (microscopie) présente l'inconvénient d'être imprécis, variable, et chronophage. Ceci démontre l'intérêt d'un CQ basé sur des techniques d'analyse objectives offrant l'avantage de la précision et du gain de temps, à l'instar de l'analyseur de semence assistée par ordinateur (CASA) et la cytométrie en flux (CMF).

Au-delà du simple CQ, l'implémentation d'un système de gestion de la qualité, tel qu'un système HACCP est seul à même d'identifier les risques et de permettre ainsi leur correction préventive afin d'assurer la qualité plutôt que de simplement la contrôler en aval du process de production.

Mots-clés : IA, CNIAAG, Semence bovine, Contrôle de Qualité, CQ, CASA, CMF, HACCP.

ملخص

تمثل هذه الدراسة توليفاً ببيولوجياً وكذا تقييماً عن طريق القياس البيولوجي للبيانات المتوفرة في مراجع مراقبة جودة الأمشاج لدى الأبقار في الجزائر. على الرغم من كثرة الدراسات حول أسباب فشل ونجاح التلقيح الاصطناعي لدى الأبقار في الجزائر، فما أقل تلك التي تناولت العوامل المرتبطة بالثور عموماً، وجودة أمشاجه على وجه الخصوص. إن هذه العوامل تشمل القيمة الوراثية، الحالة الصحية والوبائية وكذلك تقييم وظيفة التكاثر لدى الثور. تأتي بعد ذلك شروط وطريقة تحصيل الأمشاج.

يتم إنتاج الأمشاج البقرية في مراكز متخصصة وفقاً لخريطة إنتاجية (عملية) تختلف من مركز إلى آخر. في الجزائر، يتم ذلك حصرياً على مستوى المركز الوطني للتلقيح الاصطناعي والتحسين الوراثي، وهو مؤسسة عمومية تابعة لوزارة الفلاحة.

لقد أظهرت البيانات الواردة في ثلاث دراسات أجريت بين عامي 2015 و2018 حول تحليل الأمشاج البقرية المنتجة في الجزائر، جودة بيولوجية رديئة إذ كانت نتائج التحاليل دون عتبة القبول في التلقيح الاصطناعي.

إن الطريقة الكلاسيكية لمراقبة الجودة، تستند إلى تقنيات ذاتية لتحليل الأمشاج (الفحص المجهرية) وهي بذلك تشكوا من قلة في الدقة وكثرة في الارتباب، كما أنها تستغرق وقتاً طويلاً. ومن هنا تتضح أهمية الاعتماد على نظام لمراقبة الجودة يقوم على أساس تقنيات موضوعية لتحليل الأمشاج، تمتاز عن الأولى بالدقة وتوفير الوقت، ومنها نذكر نظامي التحليل المعلوماتي للأمشاج و القياس الخلوي بالتدفق.

بالإضافة إلى نظام المراقبة المجردة للجودة، فإن تطبيق نظام كامل لإدارة الجودة، على غرار نظام "تحليل المخاطر ونقاط التحكم الحرجة"، يبقى الطريقة الوحيدة القادرة على تحديد مواقع تلك المخاطر والكفيلة بتفاديها بشكل وقائي من أجل ضمان الجودة بدلاً من مجرد مراقبتها في نهاية عملية الإنتاج.

الكلمات المفتاحية: التلقيح الاصطناعي – المركز الوطني للتلقيح الاصطناعي والتحسين الوراثي (م.ت.إ.ت.و) – الأمشاج البقرية – نظام مراقبة الجودة – نظام التحليل المعلوماتي للأمشاج – نظام القياس الخلوي بالتدفق – نظام "تحليل المخاطر ونقاط التحكم الحرجة" (ت.م.ن.ت.ح).

ABSTRACT

This study represents a bibliographic synthesis as well as a bibliometric evaluation of the data available in the literature on the quality control (QC) of bovine semen in Algeria. Despite the large number of studies available on the causes of failure and success of bovine Artificial Insemination (AI) in Algeria, very few are those that tackle the factors relating to the AI bull, mainly the quality of the semen.

The factors related to the bull are its genetic value, its health and infectious status as well as the evaluation of its reproductive function. And finally, the conditions and technique for collecting the sperm.

The production of bovine semen is done in specialized centers according to a production flowchart (a process) adapted to each center.

The data reported in three studies carried out between 2015 and 2018 on the analysis of bovine semen produced in Algeria, roughly show a poor biological quality with results falling below the acceptance threshold in AI.

Standard QC, based on subjective analysis techniques (microscopy) has the disadvantage of being imprecise, variable, and time-consuming. This demonstrates the interest of a QC based on objective analysis techniques offering the advantage of precision and time savings, such as the computer-assisted semen analyzer and flow cytometry.

Beyond simple QC, the implementation of a quality management system, like a HACCP system, is the only way to identify the risks and thus allow their preventive correction in order to ensure the quality rather than simply controlling it downstream of the production process.

Key-words: AI, CNIAAG, Bovine semen, Quality Control, CASA, CMF, HACCP.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	
DEDICACES.....	
RESUME.....	
ملخص.....	
ABSTRACT	
SOMMAIRE	
LISTES DES TABLEAUX.....	
LISTES DES FIGURES.....	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION	1
1. Le taureau d'insémination.....	2
1.1. Appareil génital mâle :	2
1.2.1. Production du sperme	3
1.2.2. Spermatogénèse.....	3
1.2.3. Structure du spermatozoïde.....	3
1.2. La sélection génétique des reproducteurs	5
1.2.1. Sélection sur la performance	5
1.2.2. Sélection sur l'ascendance et la descendance	5
1.2.3. Sélection assistée par marqueurs (SAM).....	6
1.2.4. La sélection génomique.....	6
1.2.5. Sélection assistée par les gènes	6
1.3. Gestion d'un taureau reproducteur :	6
1.3.1. Suivi du statut sanitaire et infectieux :	6
1.3.2. Evaluation de la fonction reproductrice.....	7
2- Production de semence bovine.....	10
2.1. Méthode de récolte du sperme par vagin artificiel.....	10
2.1.1. La préparation des taureaux dans les centres de collecte	10
2.1.2. Préparation et technique de récolte au vagin artificiel.....	10
2.2. Préparation et conservation de la semence :.....	11
2.2.1. Principe.....	11
2.2.2. Dilution	12
3. Gestion de qualité en production de semence bovine congelée	16

3.1. Techniques d'analyses de la qualité du sperme récolté	16
3.1.1. Examen microscopique	16
3.1.2. Analyse spermatique assistée par ordinateur et Cytométrie en flux.....	19
3.2. Contrôle de qualité et normes :	20
3.2.1. La semence fraîche (éjaculat).....	20
3.2.2. Paramètres biologiques et norme du CQ.....	21
3.3. Contrôle de qualité en production de semence bovine en Algérie :.....	24
3.3.1 Etudes bibliométrique :	24
3.3.2 Application des seuils d'acceptation en IA :.....	26
3.4. Assurance qualité et système HACCP.....	27
3.4.1. Points de contrôle critiques	28
3.4.2. Évaluation des risques et de la gravité des dangers.....	28
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	30
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	32

LISTES DES TABLEAUX

<u>TABLEAU 1</u> : LISTE DES PRINCIPALES MALADIES TRANSMISSIBLES PAR LA SEMENCE BOVINE CONGEELEE	7
<u>TABLEAU 2</u> : GRILLE DE NOTATION DE LA MOTILITE MASSALE	16
<u>TABLEAU 3</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 01	24
<u>TABLEAU 4</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 02	24
<u>TABLEAU 5</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 03	25
<u>TABLEAU 6</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 01 AVEC APPLICATION DES SEUILS.....	26
<u>TABLEAU 7</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 02 AVEC APPLICATION DES SEUILS.....	26
<u>TABLEAU 8</u> : RESULTATS DE L'ETUDE N° 03 AVEC APPLICATION DES SEUILS.....	27

LISTES DES FIGURES

<u>FIGURE 1</u> : SCHEMA DE L'APPAREIL GENITAL DU TAUREAU.....	2
<u>FIGURE 2</u> : SCHEMA DES DIFFERENTES ETAPES DE LA SPERMATOGENESE.....	3
<u>FIGURE 3</u> SCHEMA D'UN SPERMATOZOÏDE DE TAUREAU	4
<u>FIGURE 4</u> : EXAMEN DU SCROTUM ET DES TESTICULES ET MESURE DE LA CS	8
<u>FIGURE 5</u> : ESPACE DE RECOLTE ET PREPARATION DU TAUREAU	10
<u>FIGURE 6</u> : SECTION LONGITUDINALE D'UN VAGIN ARTIFICIEL ET TECHNIQUE DE COLLECTE DE LA SEMENCE BOVINE	11
<u>FIGURE 7</u> : REALISATION DU MELANGE POUR LE TEST HYPOTONIQUE	18
<u>FIGURE 8</u> : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES DIFFERENTES MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DES SPERMATOZOÏDES SOUMIS AU TEST HYPO-OSMOTIQUE. (GUIDE OMS 2010)	18
<u>FIGURE 9</u> : ANOMALIES MORPHOLOGIQUES DE SPERMATOZOÏDES DE TAUREAU,	19
<u>FIGURE 10</u> : MICROGRAPHIE DES CERTAINES ANOMALIES DE MALFORMATION MAJEURS DES SPERMATOZOÏDES BOVINS	23

LISTE DES ABREVIATIONS

CQ : Contrôle de Qualité

IA : Insémination Artificielle

CPS : Centre de Production de Semence

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

EPIC : Etablissement Public à caractère Industriel et Commercial

HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point

CCP : Points Critiques de Contrôle

CFM : Cytométrie en Flux

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SFT: Society for Theriogenology

CS: Circonférence Scrotale

SPZ: Spermatozoïdes

HOSSt: Hypo-Osmotic Swelling test

CASA: Computer Assisted Semen Analysis

DMR: Distal Mid-piece Reflex

MOT: Motile

PROG: Progressive

VCL: Curvilinear velocity

VAP: Average-path velocity

VSL: Straight-line velocity

ALH: Amplitude of lateral head displacement

BCF: Beat/cross frequency

STR: Straightness

LIN: Linearity

M: Millions

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

µl : Microlitres

ml : Millilitres

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'Insémination Artificielle (IA) représente à ce jour la méthode biotechnologique la plus utilisée au monde dans le domaine de la reproduction. L'IA est devenue un mode de reproduction à part entière (Oulebsir, 2015).

En Algérie, Les pourcentages de réussite à la première insémination oscille entre 30% à 44% pour un taux d'échec de 56% à 70% (Moussouni et Bordjihane, 2019 ; Bouzebda et *al.*,2006), alors que l'objectif fixé par l'ensemble des auteurs est de 60 % à la première insémination (Mimoune et *al.*, 2017).

Le succès de l'insémination artificielle dépend de plusieurs facteurs liés d'une part à la vache et aux différentes pathologies pouvant la toucher, aux conditions zootechniques, à l'alimentation, mais aussi à la prédisposition et aux performances génétiques, et d'autre part au taureau, principalement à la qualité de sa semence (Hopper, 2021).

En Algérie, beaucoup d'études se sont intéressées aux facteurs de réussite et d'échec de l'IA tenant à la vache (Djeralfia et Fadel, 2010 ; Chihani et Zerdani, 2013 ; Hammadi, 2016 ; Senoussi et Abdellaoui, 2018 ; Moussouni et Bordjihane, 2019 ; AitMahfoud et Maamri., 2020 ; Debbous et Rahmani, 2020 ; Hafsi et Labdani, 2020). Cependant, très peu d'études se sont penchées sur le facteur semence. En effet, durant la dernière décennie, et à la limite de notre connaissance, seulement trois études ont été réalisées en Algérie dans cet objectif.

En 2015, Oulebsir a analysé les paramètres cinétiques par un système SCA (Microoptics, Spain) sur 44 paillettes bovines produites entre 2014 et 2015 à partir de 4 taureaux de deux races différentes appartenant au CNIAAG (Oulebsir, 2015).

En 2016, Gacem a assisté à la récolte, la congélation et le contrôle de qualité de cinq taureaux appartenant au CNIAAG et a effectué une analyse de la semence réfrigérée et congelée-décongelée au moyen d'un système Guava EasyCyte « IMV-Technologies, France » (Gacem, 2016).

En 2018, Tahri et Djouabi ont analysé 14 paillettes prises au hasard à partir de 14 lots en stock au CNIAAG, au moyen des systèmes SCA et Guava EasyCyte (Tahri et Djouabi, 2018).

Ainsi, notre étude vise d'une part à synthétiser les données bibliographiques disponibles en littérature sur le contrôle de la qualité biologique de la semence bovine et d'autre part à effectuer une mesure bibliométrique de ces trois études réalisées en Algérie.

1. Le taureau d'insémination

1.1. Appareil génital mâle :

L'appareil génital du taureau est constitué par l'ensemble des organes responsables de l'élaboration du sperme et de son dépôt dans les voies génitales femelle (Barone, 2001). Le tractus génital du taureau comprend trois parties (Hazen, 2010) :

- Une partie glandulaire composée des testicules et des enveloppes testiculaires (scrotum, dartos, gaine vaginale et crémaster) (figure 01) (Constantinesca, 2004).
- Une partie excrétrice représentée par les voies génitales (épididymes et conduits déférents) et les voies uro-génitales (urètre, pénis).
- Les glandes annexes (prostate, glandes vésiculaires, glandes bulbo-urétrales) développées autour de la portion pelvienne de l'urètre. Ces glandes accessoires mêlent leurs produits de sécrétion au fluide testiculaire pour constituer le sperme.

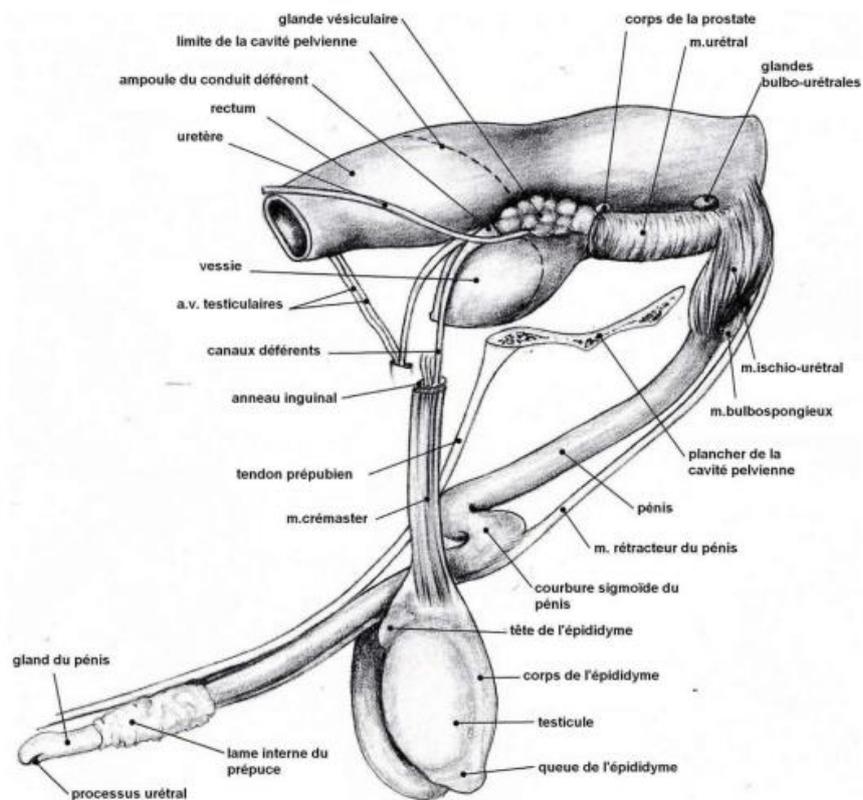


Figure 1 : Schéma de l'appareil génital du taureau (D'après Constantinesca, 2004)

1.2 Physiologie de la reproduction

1.2.1. Production du sperme

Le sperme est un liquide opaque, blanchâtre produit au cours de l'éjaculation. Il est composé de spermatozoïdes (élaborés dans les tubes séminifères qui sont l'unité fonctionnelle des testicules) en suspension dans le liquide séminal, qui est un mélange de sécrétions des différentes glandes annexes du tractus génital (prostate, vésicules séminales). Les spermatozoïdes représentent 20% et le liquide séminal 80% du liquide spermatique (Konfe, 2014).

1.2.2. Spermatogénèse

La spermatogénèse correspond au processus de différenciation cellulaire qui aboutit à la production des spermatozoïdes à partir des spermatogonies souches. Elle commence à la puberté, la production des spermatozoïdes est continue au cours de la vie de l'animal et nécessite la prolifération des spermatogonies souches par mitose (Figure 2) (Senger, 2012).

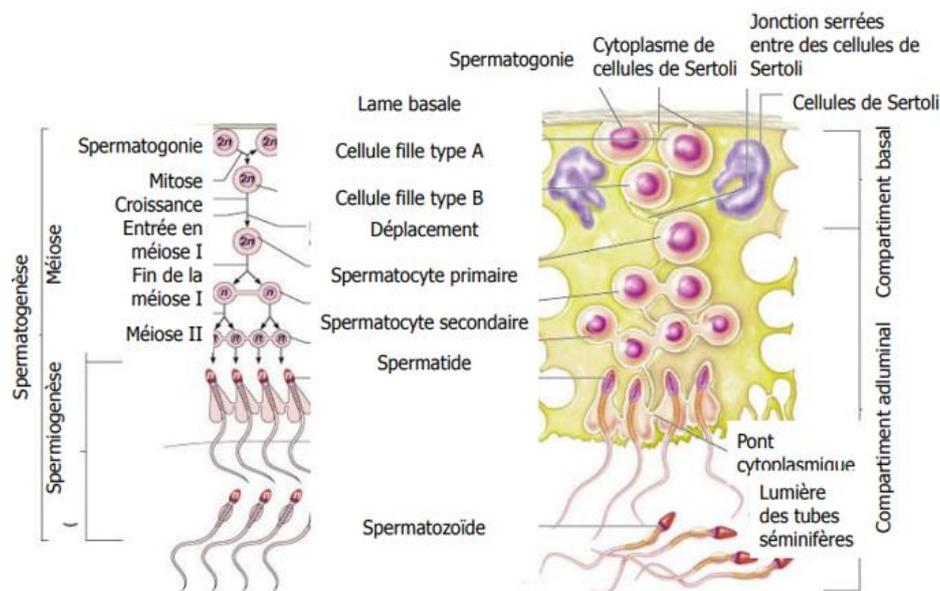


Figure 2 : Schéma des différentes étapes de la spermatogénèse (Senger, 2012).

1.2.3. Structure du spermatozoïde

Le spermatozoïde est une cellule (gamète mâle) de petite taille qui varie entre 70 à 80 μm de longueur, hautement différenciée et longuement flagellée (Barth et Oko, 1989), dont la caractéristique principale est la motilité (Frandsen et al., 2009).

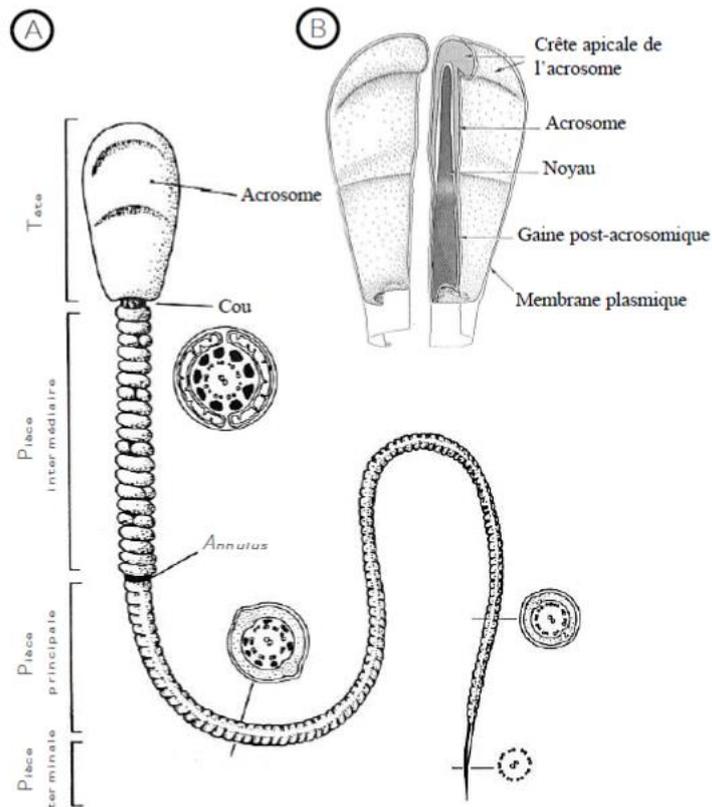


Figure 3 Schéma d'un spermatozoïde de taureau (Barth et Oko,1989)

Comme représenté sur la figure 3 ci-dessus, le spermatozoïde peut être divisé en trois parties caractéristiques :

- La tête : elle est composée de deux structures.
 - Le noyau, haploïde et de forme aplatie, qui occupe la quasi-entièreté de la tête (Barone, 2001). Il contient une chromatine très compacte grâce à des protéines spécifiques : les protamines spermatiques (Hafez et *al.*, 2000).
 - L'acrosome se situe dans la partie proximale du noyau, c'est un petit sac délimité par une double membrane qui contient des enzymes telles que l'acrosine, ainsi que de l'acide hyaluronique jouant un rôle important dans la fertilisation (Hafez et *al.*, 2000).
- Le col : Est une zone de rétrécissement cytoplasmique, très courte, qui unit la tête et la queue.

Il forme le flagelle avec la queue permettant la mobilité du spermatozoïde (Barone, 2001).

- La queue : elle est divisée structurellement en une pièce intermédiaire, une pièce principale et une pièce terminale. Elle est parcourue sur toute sa longueur par l'axonème qui représente un assemblage de microtubules protégé par une gaine fibreuse. Dans la pièce intermédiaire se trouve la gaine mitochondriale qui permet de fournir l'énergie nécessaire au spermatozoïde (Frandsen et *al.*, 2009).

1.2. La sélection génétique des reproducteurs

La sélection consiste à choisir les individus qui possèdent le plus haut potentiel héréditaire possible, transmis des parents aux générations suivantes. Un programme de sélection repose sur l'évaluation de la valeur génétique des individus supérieurs et de leur utilisation pour la reproduction (Bouquet, 2006).

1.2.1. Sélection sur la performance

La sélection sur la performance est une méthode efficace pour les caractères mesurables qui ne nécessite pas de connaître les généalogies. La performance d'un animal est la résultante de son potentiel génétique (génotype), mais aussi des conditions d'élevage (environnement). En effet, dans un milieu donné, plus la performance est élevée, plus la valeur génétique est élevée (Bouquet, 2006). Ainsi, chez les bovins laitiers, les caractères économiques et morphologiques dépendent de plusieurs gènes dont l'expression peut être influencée par l'environnement.

1.2.2. Sélection sur l'ascendance et la descendance

Avant l'emploi systématique du testage sur descendance, la sélection des reproducteurs était basée sur leur ascendance, c'est-à-dire sur la base des performances enregistrées de leurs parents et grands-parents. Tous les taureaux étaient enregistrés dans un livre généalogique appelé Herd Book, qui retraçait leur pedigree et leurs performances en production.

La sélection sur l'ascendance consiste à choisir un reproducteur sur la base de la valeur de ses parents et leur généalogie par contre la sélection sur la descendance consiste à choisir un reproducteur sur la base des performances de ses descendants, cette méthode nécessite de produire des descendants puis de les évaluer, elle est donc longue et coûteuse mais sa précision est très élevée (Bouquet, 2006 ; Labatut, 2009).

1.2.3. Sélection assistée par marqueurs (SAM)

Il s'agit d'une stratégie qui utilise l'information des caractères de performances liés à des QTL (Quantitative Trait Loci) (Eggen, 2000 ; Hayes et Goddard, 2001). Il existe de nombreux marqueurs, répartis tout le long des chromosomes, servant de repères pour retrouver ces régions. Les plus utilisés actuellement sont les microsatellites (séquence d'ADN formée par une répétition en tandem de 1 à 10 pb) et les SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (Lu et *al.*, 2013 ; Utsunomiya et *al.*, 2013). Chez le bovin de nombreux QTL en relation avec des performances à intérêt économique ont été cartographiés. Les estimations des effets de QTL sont réalisées désormais dans l'ensemble de la population bovine. Elles permettent d'évaluer, avec la même précision, tout individu portant le même haplotype (un groupe d'allèles de différents gènes situés sur un même chromosome), indépendamment de son origine (Fritz et *al.*, 2008)

1.2.4. La sélection génomique

Ce type de sélection consiste à estimer le niveau génétique global d'un animal à l'aide d'un modèle statistique de prédiction, n'utilisant pas l'information des QTL. Cette approche met au point des analyses par balayage du génome entier au moyen d'une puce à ADN identifiant d'infimes parcelles d'information génétique appelées SNP. Cette stratégie permet de prédire, avec précision, la valeur génétique d'un animal dès sa naissance (Herpin, 2009).

1.2.5. Sélection assistée par les gènes

Ce type de sélection est basé sur les études de génomique comparative en recherchant dans le génome bovin des gènes d'intérêt dits « candidats » qui sont déjà connus dans le génome d'autres espèces pour leurs effets sur le métabolisme (Jussiau et *al.*, 2006).

1.3. Gestion d'un taureau reproducteur :

1.3.1. Suivi du statut sanitaire et infectieux :

Tous les taurillons (plus les boute-en-train utilisés pour récolter la semence) doivent être indemnes de toute maladie réputée contagieuse, et officiellement indemnes des différentes maladies transmissibles par le coït ou par le sperme. Les principales maladies qui en l'absence de procédures de contrôle appropriées pourraient être transmises par la semence bovine congelée sont :

Tableau 1 : Liste des principales maladies transmissibles par la semence bovine congelée

Maladie	Agent causal	Durée d'incubation
BVD	<i>Pestivirus</i>	6 -21 J
La tuberculose	<i>Mycobacterium bovis/Tuberculosis</i>	2 Mois
La brucellose	<i>Brucella abortus</i>	2-4 semaines
La leptospirose	<i>Leptospire interrogans</i>	1-30 J
Rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR)	<i>Herpes virus bovin de type 1 (BHV-1) / Et 5(BHV-5)</i>	2 -6 jours
Leucose bovine enzootique	<i>Virus leucémogène bovin (BLV)--</i>	4-10 ans

Ainsi que les Campylobacteriose et Trichomonas, les Chlamydirose et certains Arbovirus comme le virus de la fièvre catarrhale du mouton (BTV) ou celui responsable de la maladie hémorragique épizootique (EHD) (Wrathall et *al.*, 2006).

Lorsque tous les contrôles sont satisfaisants, les taureaux sont acheminés vers les centres de production de semence. Simultanément à ce suivi sanitaire réglementaire, une prévention médicale classique (vaccinations, vermifuges...) doit être mise en place sous contrôle vétérinaire (Coursin, 2012). La prévention de la propagation et la dissémination des agents pathogènes est une responsabilité essentielle dans l'industrie de la production de semence et de l'insémination artificielle bovine. Dans ce cas, des stratégies et des tests appropriés sont mis en place pour minimiser le risque de transmission de ces maladies.

1.3.2. Evaluation de la fonction reproductrice.

1.3.2.1. Examen de l'appareil reproducteur :

Deux types d'examen peuvent être effectués :

Un examen externe qui consiste à inspecter méticuleusement le scrotum, les testicules, l'épididyme, le cordon spermatique ainsi que le pénis et le prépuce, en vérifiant et en

palpant chaque partie de l'appareil reproducteur afin de détecter toutes anomalies ou pathologies à son niveau.

Ainsi qu'un examen interne de l'appareil urogénital par fouiller transrectal. Le contrôle complémentaire par échographie ou thermographie, peut être utile pour approfondir l'exploration lors de la découverte d'anomalies à l'examen physique (Koziol et Armstrong, 2018).

Pour finir, la mesure de la circonférence scrotale (CS) est un paramètre indispensable dans l'examen de l'appareil reproducteur. Ce faisant lors de l'examen général du taureau (Alexander, 2008), elle peut être mesurée sur le côté ou à l'arrière de l'animal, selon les préférences, les installations et le tempérament du taureau. Si la circonférence scrotale est inférieure au minimum requis, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'examen.

Les jeunes taureaux ou les taureaux émaciés peuvent recevoir un classement différé dans certains cas.

Les seuils minimaux (Chenoweth, 1993) pour la CS en fonction de l'âge sont comme suit:

CS	Age
30 cm	<15 mois
31 cm	15 - 18 mois
32 cm	18 - 21 mois
33 cm	21 - 24 mois
34 cm	>24 mois.



Figure 4 : Examen du scrotum et des testicules et mesure de la CS (Bovine reproduction, 2021)

1.3.2.2. Examen de l'animal en action :

Il comporte l'appréciation du comportement sexuel du taureau, 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).

L'évaluation du saut renseigne aussi sur l'intégrité de l'appareil locomoteur car c'est sur les membres postérieurs (jarrets, colonne vertébrale) que reposera l'entièreté du poids de l'animal lors d'une saillit, et il permet également d'apprécier le degré d'érection du pénis (Huet et De Moustier, 2009).

Il est important aussi de veiller à identifier les lésions à caractère héréditaire telles que la contracture des gastrocnémiens (Hanzen, 2014-2015).

2- Production de semence bovine

2.1. Méthode de récolte du sperme par vagin artificiel

2.1.1. La préparation des taureaux dans les centres de collecte.

Avant la récolte une préparation passive du taureau se fait par une stimulation de sa libido par un conditionnement : la reconnaissance des bruits et des odeurs propres à la salle de monte. Une préparation active ultérieure se fait par la mise en contact du taureau reproducteur et du bœuf en train « 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 dans les centres de production de semence pour des raisons sanitaires et de sécurité ».

Lorsque le taureau présente des signes d'excitation (érection, flehmen...). Les taurelliers lui font réaliser en moyenne deux fausses montes qui consistent à le laisser monter sur le bœuf en train sans lui laisser le temps de donner le coup de rein concomitant de l'éjaculation avant d'être récoltés au vagin (Gérard et Khirredine, 2002).



Figure 5 : Espace de récolte et préparation du taureau (Bovine Reproduction 2021)

2.1.2. Préparation et technique de récolte au 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) (Dumont, 1997). L'ensemble du vagin lorsqu'il est prêt à être utilisé est lui-même isolé thermiquement. Après utilisation, il est entièrement démonté pour être lavé, séché et désinfecté. (Gérard et Khirredine, 2002).

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 d'environ 42 °C, lors de la collecte il est sorti de l'étuve au dernier moment. Le taurellier 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. (Dumont, 1997 ; Gérard et Khirredine, 2002).

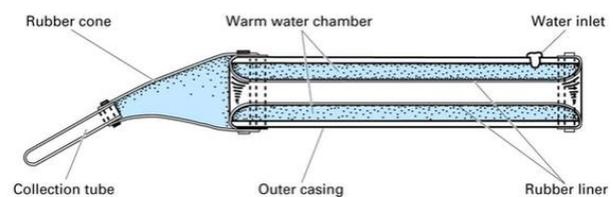
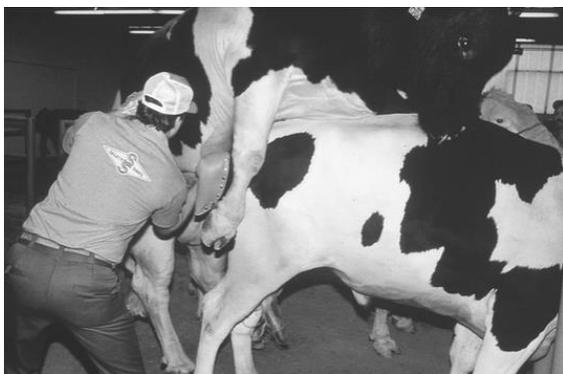


Figure 6 : Section longitudinale d'un vagin artificiel et technique de collecte de la semence bovine

2.2. Préparation et conservation de la semence :

2.2.1. Principe

La semence est le sperme préparé (dilué - conditionné - conservé) par une technique appropriée en vue de son emploi en insémination artificielle. En effet, un éjaculat contient un nombre de spermatozoïdes supérieur à ce qui est requis pour une insémination.

Selon plusieurs auteurs rapportés par Traore (1996), au moment de l'insémination, une paillette doit contenir au minimum 8-10 millions de spermatozoïdes mobiles après décongélation, selon le même auteur, il a été admis qu'une paillette de semence bovine peut contenir au moins 15 à 20 millions spermatozoïdes avant congélation. Prenant en compte les pertes liées à la congélation et à la décongélation, certains auteurs préconisent la concentration de 30 à 40 millions de spermatozoïdes par dose au conditionnement.

Ainsi, la préparation de la semence a pour objectifs :

- d'accroître le volume (dilution) de telle façon qu'un plus grand nombre de femelles puissent être inséminées,
- de protéger les spermatozoïdes pour qu'ils puissent supporter sans dégradation la succession des opérations de refroidissement, de congélation et de décongélation,
- de conditionner et conserver une dose individuelle qui servira à l'insémination d'une vache.

2.2.2. Dilution

Le milieu de dilution doit être non toxique pour les spermatozoïdes, cryoprotecteur et doit réduire le développement microbien. Ainsi, les substances bactéricides ou bactériostatiques : sulfanilamide (0,3 %), la pénicilline (500 à 1000 UI/ml), la streptomycine (1mg/ml) sont additionnées aux milieux de dilution. Les milieux les plus utilisés sont à base de lait préchauffé, écrémé et dont le pouvoir protecteur est accru avec addition de 10% de jaune d'œuf et d'antibiotique, ou à base de solution de citrate de sodium à 2,9% additionné au jaune d'œuf à 25%.

Dans l'optique de limiter tous les risques possibles de transmission des pathologies entre les espèces, l'utilisation des milieux de dilution synthétiques est de plus en plus courante. Le taux de dilution dépend de la concentration en spermatozoïdes souhaitée dans la dose de semence, du volume et de la concentration en spermatozoïdes de l'éjaculat prélevé (Kebera, 2008).

2.2.3. Refroidissement et équilibration de la semence

Pour éviter la détérioration de la qualité de la semence, la température est abaissée jusqu'à +4 °C, le métabolisme des spermatozoïdes est ainsi réduit.

Le refroidissement peut se faire pendant ou après la dilution. La vitesse de refroidissement doit être assez 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 +4 °C est obtenue après un refroidissement progressif en 30 minutes à une heure maximum, dans une vitrine réfrigérée.

Pour permettre aux spermatozoïdes de perdre une partie de l'eau de façon à réduire la cristallisation intra cellulaire, il faut laisser équilibrer de 3 à 5 heures, avant le

conditionnement et la congélation de la semence. Cette période dite « d'équilibration » est considérée comme le temps nécessaire aux spermatozoïdes pour s'adapter au milieu qui leur est imposé (contact avec le glycérol du dilueur).

2.2.4. Conditionnement de la semence

Il consiste à fractionner la semence en doses fécondantes destinées à être utilisées à court, moyen ou long terme. La forme de conservation la plus courante et la plus pratiquée reste les paillettes. Ce sont des tubules spéciaux en matière plastique creuses avec des volumes de 0,25 ou 0,5ml. Elles sont ouvertes sur un côté avec 2 boules de coton pour pousser la semence, l'autre côté est soudé automatiquement après le remplissage de la paillette par une machine de remplissage et de soudage (Kebera, 2008).

Les paillettes doivent être pré-identifiées avant leur remplissage et doivent porter les renseignements sur la traçabilité de la semence (le nom du géniteur, race, numéro de code, date de récolte, N° de récolte, centre ou lieu de production, etc.)

2.2.5. Cryoconservation

La conservation est en fonction du mode d'utilisation de la semence. Ainsi, pour une utilisation directe, la semence est maintenue dans un bain-marie à la température de 36 à 38 °C, pour une utilisation de la semence dans 24 à 48 h, la semence peut se conserver au frais, les dilueurs utilisés permettent la conservation du pouvoir fécondant des spermatozoïdes à + 4 °C pendant 46 à 72 h.

Pour une utilisation à long terme, après le conditionnement, la conservation de la semence se fait dans une bonbonne contenant de l'azote liquide à -196 °C, la congélation doit être 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 minutes, puis plonger dans l'azote liquide.

Après quelques jours, un test de congélabilité de la semence est réalisé avant sa conservation, et est représenté par l'évaluation de la vitalité des spermatozoïdes après décongélation et de l'examen de la motilité individuelle. Si la semence présente une bonne congélabilité, elle est retenue.

2.2.6. Décongélation

La décongélation doit prendre en compte trois paramètres : la température, le temps et la solution de décongélation.

En pratique, la température du bain marie utilisée est de 35 à 40 °C, la durée de décongélation est de l'ordre de 30 secondes à 2 minutes. Des lavages peuvent être envisager afin d'extraire le glycérol du milieu et de revenir à des conditions isotoniques pour éviter une altération des membranes des spermatozoïdes et le développement d'anomalies des flagelles (Hopskins *et al.*, 1988).

2.2.7. Mise en quarantaine

Après vérification de la qualité de la semence lors de la décongélation de deux paillettes représentatives du lot, ce dernier va être mis en quarantaine pendant 30 jours. En effet la semence congelée produite doit être conservée dans des bombonnes spécifiques au moins 30j avant le jour de son expédition (Prasad, 2020), ce qui correspond au temps nécessaire pour s'assurer de la non déclaration de toute maladie reconnue à transmission sexuelle chez le taureau à l'origine de cette semence. Après vérification de la mobilité post dégel, si elle est acceptable, la semence est conservée 7 jours supplémentaires puis elle est transférée dans les conteneurs ou tank de stockage définitif (Prasad, 2020).

2.2.8. Stockage

Dans la plupart du temps la semence bovine est toujours conditionnée dans des paillettes de 0,25 ml. La paillette est placée dans un gobelet avec quatre autres paillettes du même taureau. Deux gobelets sont mis dans un canister en métal qui porte le numéro de code du taureau imprimé sur le dessus, les canisters sont ensuite stockées dans une bombonne. Le stockage et la manipulation de paillettes de 0.25ml et de 0,5ml sont similaires. Le maintien des basses températures est la clé du succès du stockage de la semence congelé. Chaque composant chimique du sperme gèle ou se solidifie à une température différente (Vincent, 2021).

2.2.9. Transport et distribution

La semence doit être bien conservée en dessous des températures critiques où la recristallisation de la glace commence à se former entre -80 °C et -100 °C. Les températures fluctuent dangereusement du tiers inférieur au tiers supérieur du cou du réservoir (Saacke

and *al.*, 1997). De plus, les paillettes stockées peuvent être exposées à des températures élevées défavorables lorsqu'elles sont retirées du réservoir pour la décongélation, lors de leur transfert d'un réservoir à un autre ou lors de leur manipulation dans le col pour la localisation et de décongélation d'une paillette spécifique. La durée nécessaire pour atteindre la température critique de recristallisation de la glace (- 80 à -100 °C) est d'environ 10 à 20 secondes. Les lésions thermiques des spermatozoïdes sont permanentes et ne peuvent pas être corrigées en remettant les paillettes dans l'azote liquide. Ainsi, pour assurer le maintien de la viabilité des spermatozoïdes, les paillettes doivent être élevés dans le col du réservoir et maintenues sous la ligne de gel seulement pendant cinq à huit secondes.

3. Gestion de qualité en production de semence bovine congelée

3.1. Techniques d'analyses de la qualité du sperme récolté

3.1.1. Examen microscopique

L'examen microscopique du sperme regroupe l'évaluation de différents paramètres. La motilité et la morphologie des spermatozoïdes, en particulier, font partie des indicateurs les plus importants pour prédire la fertilité d'un taureau (Utt, 2016).

3.1.1.1. La concentration

Elle est évaluée par comptage direct des spermatozoïdes à l'aide d'une cellule hématimétrique ou par mesure au spectrophotomètre. En monte naturelle, une concentration minimale de 300000 spermatozoïdes/mL est nécessaire pour considérer le taureau comme fertile (Pietremont, 1995).

3.1.1.2. La motilité massale

La motilité massale est l'examen qualitatif le plus rapide et le plus informatif (Manciaux, Chambon, 2011). Il s'agit d'une observation au microscope à faible grossissement (x10) (Dumont, 1997) d'une goutte de sperme frais déposée sur une lame maintenue à une température de 37 °C. Elle évalue le mouvement de l'ensemble des spermatozoïdes (Bordas, 1988). L'échelle de notation varie de 0 à 5 en fonction des mouvements, l'objectif étant d'obtenir une note supérieure ou égale à 3 (tableau 2) (Kastelic et Thundathil, 2008).

Tableau 2 : Grille de notation de la motilité massale (Manciaux et Chambon,2011)

Note	Caractérisation des mouvements
0	Absence totale de mouvements
1	Mouvements légers
2	Mouvements nets sans vague
3	Début de vagues
4	Vagues très nettes
5	Tourbillons

3.1.1.3. La motilité individuelle ou progressive

Pour évaluer la motilité individuelle, le sperme est dilué entre 10 et 40 fois dans une solution de dilution. Contrairement à la motilité massale, l'observation microscopique doit se faire

avec un grossissement d'au moins (x40). La motilité progressive correspond aux spermatozoïdes doués d'une motilité propre et traçante c'est-à-dire ayant une trajectoire rectiligne et un déplacement rapide (Dumont,1997). L'objectif pour un sperme fertile est une motilité progressive d'au moins 30% (Tableau 3) (Kastelic et Thundathil, 2008).

3.1.1.4. Le pourcentage de spermatozoïdes vivant (vitalité)

L'évaluation de ce paramètre peut se faire par deux méthodes :

3.1.1.4.1. Coloration éosine/négrosine

Les spermatozoïdes morts perdent leur intégrité membranaire et de ce fait fixent le colorant dans leur cytoplasme (se colorent en rouge). Ceci permet de les différencier et de pouvoir les compter (Dumont, 1997). L'objectif est d'avoir moins de 25% de spermatozoïdes morts dans l'échantillon de sperme analysé (Manciaux et Chambon, 2011).

3.1.1.4.2. Test hypotonique :

Ce test permet de vérifier l'intégrité de la membrane plasmique. En effet la membrane plasmique intervient dans la capacitation, la réaction acrosomique et l'attachement des gamètes qui sont des phénomènes indispensables à la fécondation (Jeyendran et *al.*, 1984).

La semence est mélangée à une solution hypotonique de 50 et 150 mOsm/L puisque les spermatozoïdes réagissent à cette osmolarité, puis le mélange est incubé au bain-marie à 37°C. Des aliquotes de chaque solution (1ml) sont préparés.

La procédure utilisée pour le test HOS est similaire à celle décrite par Jeyendran et ses collaborateurs. Le dosage a été réalisé en ajoutant et en mélangeant 0.1ml de l'échantillon contenant les spermatozoïdes avec 1ml de chacune des différentes osmolalités des solutions hyposmotiques. Les solutions (mélange de sperme) ont été incubées à 37°C pendant 1 h.

Les spermatozoïdes sont ensuite observés au microscope optique à contraste de phase au grossissement x 40 en plaçant une goutte d'échantillon bien mélangé entre lame et lamelle pour évaluer le nombre des spermatozoïdes ayant répondu positivement par un gonflement. Un total de 200 spermatozoïdes doit être compté dans au moins 5 différents champs de vision. La proportion totale et les différents modèles de gonflement de spermatozoïdes sont calculés en divisant le nombre de cellules ayant réagi (x 100) par le total spermatozoïdes

comptés dans la même zone. La proportion de spermatozoïdes gonflés est exprimée en pourcentage. (Correa et Zavos, 1994).

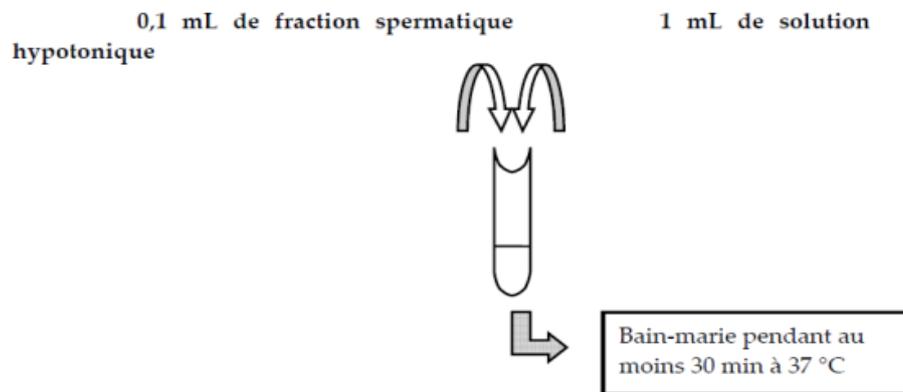


Figure 7 : Réalisation du mélange pour le test hypotonique

Les spermatozoïdes dont la membrane cytoplasmique est intègre, se déforment (figure 07). Selon la forme qu'ils prennent, ils sont classés en sept catégories de « a » à « g ». Les catégories les plus aisés à reconnaître sont les catégories b, e et g. (Guide OMS 2010)

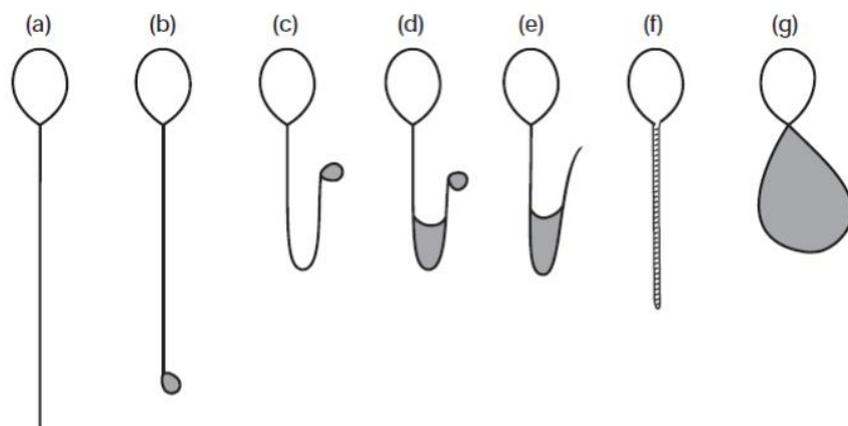


Figure 8 : Représentation schématique des différentes modifications morphologiques des spermatozoïdes soumis au test hypo-osmotique. (Guide OMS 2010)

3.1.1.5. La morphologie des spermatozoïdes

La morphologie est évaluée par observation microscopique à l'immersion d'un sperme préalablement coloré. Elle doit être réalisée sur au moins 100 spermatozoïdes voire plus de

300 si plusieurs malformations sont identifiées (Kastelic et Thundathil, 2008). Les malformations morphologiques des spermatozoïdes sont classées par site (tête, queue, pièce intermédiaire, acrosome), par origine (primaire : testicules, secondaires : épидидyme, tertiaire : glandes accessoires ou post éjaculation) et aussi selon leur impact sur la fertilité du taureau (Parkinson, 2004).

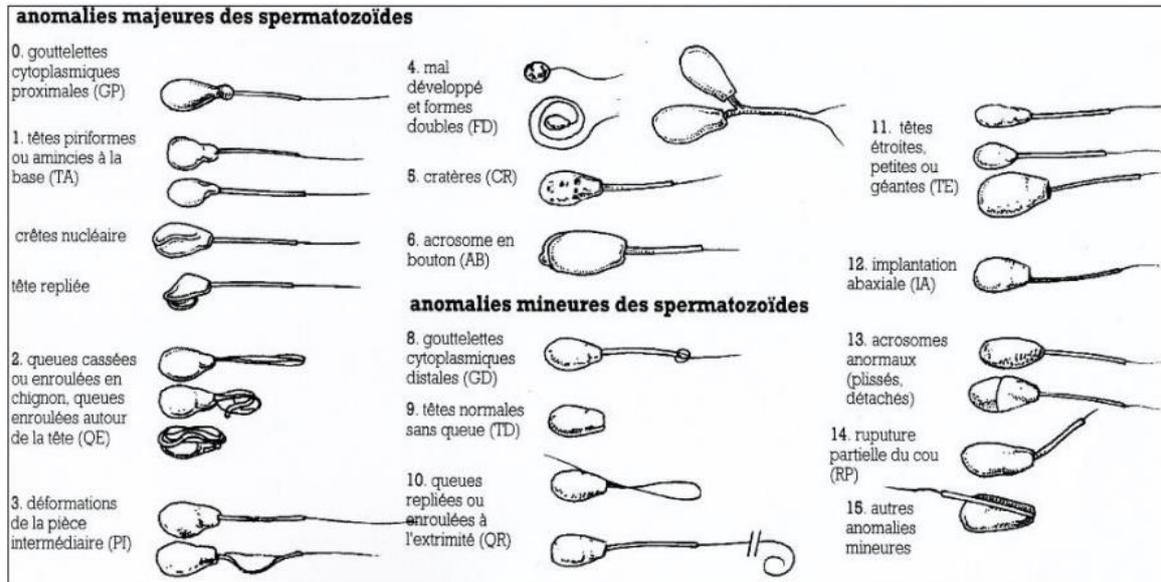


Figure 9 : Anomalies morphologiques de spermatozoïdes de taureau, classification de Blom (1973) simplifiée par Ott (1986) et modifiée par Dumont (1997).

3.1.2. Analyse spermatique assistée par ordinateur et Cytométrie en flux

3.1.2.1. Le système CASA (Computer Assisted Semen Analysis) :

Les importantes variations liées à l'évaluation subjective de la mobilité des spermatozoïdes au microscope ont incité les chercheurs à développer des systèmes d'évaluation objectifs et standardisés, les systèmes d'analyse de la semence assistée par ordinateur ou systèmes CASA. Le système CASA est une méthode d'analyse de sperme informatisée qui permet d'obtenir des informations objectives et précises sur la proportion de spermatozoïdes motiles et leur mouvement. Le système détecte les mouvements des spermatozoïdes et suit chacun des spermatozoïdes séparément dans le temps et l'espace. Cette méthode a donc l'avantage d'estimer plus précisément la mobilité d'un grand nombre de spermatozoïdes en un minimum de temps, et cela de façon assez simple, selon un paramétrage spécifique. De plus, elle peut être utilisée sur de la semence fraîche mais également sur semence réfrigérée ou encore congelée/décongelée (Allimant, 2010). Le système Hamilton-Thorn est un

analyseur d'image comprenant un éclairage stroboscopique par illumination de diode pour produire des images nettes et plus précises, un système d'enregistrement pour favoriser le suivi de l'analyse du sperme, une classification automatisée des mouvements des spermatozoïdes et l'utilisation facultative d'une illumination fluorescente et d'un fluorochrome de l'ADN spermatique afin de distinguer les cellules de tout autre objet ambigu.

3.1.2.2. Cytométrie en flux :

L'application de la cytométrie en flux minimise, en partie, plusieurs difficultés d'analyse rencontrées. La cytométrie en flux est une approche automatisée capable de mesurer la quantité d'un ou de plusieurs marqueurs fluorescents associés avec la cellule de manière non biaisée. Cet appareil offre une précision, une sensibilité et une rapidité incomparable, il permet également l'analyse multiparamétrique sur un nombre de cellules statistiquement approprié (Cordelli et *al.*, 2005). De plus, la découverte d'une variété de fluorochromes et de composants conjugués à une sonde fluorescente rend possible une grande gamme d'analyses pour l'évaluation de la semence à des niveaux biochimiques, ultra structuraux et fonctionnels (Gillan et *al.*, 2005).

3.2. Contrôle de qualité et normes :

Le contrôle de la qualité biologique d'une semence consiste en l'ensemble des procédures, analyses et normes utilisées tout au long de la chaîne de production de semence (paillettes congelées) dans le but de produire et de distribuer une semence de qualité, utilisée dans le programme d'IA et qui sera conforme aux normes régis pour cette dernière. Pour cela, il est important que les taureaux utilisés dans le programme d'IA répondent aux normes de qualité, ils doivent tout d'abord être indemnes de toute maladie réputée contagieuse pour voie sexuelle, que leur semence soit récoltée et traitée conformément aux protocoles standards (Anonyme, 2012).

3.2.1. La semence fraîche (éjaculat)

La décision de garder ou détruire le sperme récolté est en 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.

Afin de garantir une semence de bonne qualité, un contrôle doit être effectué avant et après congélation des paillettes. Le procédé initial utilisé dans la plupart des centres de production de semences consiste à estimer la concentration de la semence en spermatozoïdes par un hémocytomètre ou par un spectrophotomètre, mais aussi à estimer la viabilité des spermatozoïdes par la méthode classique de la coloration éosine/nigrosine. Cependant, des méthodes plus élaborées, telles que la cytométrie en flux, sont actuellement utilisées et permettent d'analyser un nombre plus important de paramètres liés à la concentration ainsi qu'à la viabilité des spermatozoïdes (Fernández-Gago et al., 2013).

3.2.2. Paramètres biologiques et norme du CQ

3.2.2.1. Concentration

Le nombre de spermatozoïdes par paillette est variable, avec quelques réductions du nombre commun aux taureaux d'élite à forte demande et des nombres sensiblement inférieurs pour le sperme trié par sexe.

Certains auteurs préconisent une norme de concentration des spermatozoïdes de 25 millions de spermatozoïdes par paillette pour des paillettes de 0,25 ml. La concentration minimale en spermatozoïdes des paillettes, au conditionnement, étant de 15 à 20 millions, cette concentration est satisfaisante. Elle donne une marge suffisante permettant d'espérer une survie de plus de 10 millions de spermatozoïdes par paillette, au moment de l'insémination. (Kabera, 2008). Alors que d'autre estime que la concentration en spermatozoïdes d'une paillette de 0.25ml est de 20 millions de spermatozoïdes/paillettes. (Prasad, 2020).

3.2.2.2. Mobilité

Le pourcentage de spermatozoïdes mobiles et leur motilité est déterminé par microscopie optique. Certains laboratoires équipés de CASA (Computer Assisted Semen Analyser) mesurent les paramètres de déplacement et de vitesse des spermatozoïdes. Les critères de qualité varient d'un centre de collecte à un autre, mais les acteurs de la filière ont validé des recommandations communes (« guide qualité » de l'UNCEIA, 1994). Après évaluation, la semence est diluée dans un milieu salin contenant du glycérol (cryoprotecteur), avec ou sans jaune d'œuf. L'ajout d'anti-oxydant (Oxyfree, ND) augmente in vitro les paramètres de vélocité des spermatozoïdes et pour certains taureaux améliorent la fertilité in vivo (Gérard et al., 2006 ; Grigal et al., 2008). Malgré des variations selon le taureau et la race, l'objectif est d'obtenir au moins 6 millions (est qui vaut à pas moins de 30%) de spermatozoïdes mobiles après décongélation (Gerard et al ; 2008). Selon plusieurs autres auteurs rapportés par TRAORE (1996), à l'insémination, une paillette doit contenir au minimum 8-10 millions de spermatozoïdes mobiles après décongélation ce qui correspond à au moins 40% de spermatozoïdes mobiles (fléchants) par paillette après décongélation.

3.2.2.3. Vitalité

Les normes de vitalité varient de 40 à 50 % de spermatozoïdes vivants dans les paillettes d'insémination après décongélation ; (Prasad, 2020) estime qu'une paillette doit contenir plus de 40% de spermatozoïdes vivants ayant réagis positivement au test de HOSt après décongélation ce qui vaut à 8 millions de spermatozoïdes vivants par paillette. Alors que (Pousga, 2002) affirme que les paillettes doivent contenir au moins 10 millions (50%) de spermatozoïdes normaux et vivants après décongélation.

3.2.2.4. Morphologie :

Le seuil maximal d'acceptation de malformation des spermatozoïdes après décongélation et de moins de 20 % (4 millions) de spermatozoïdes anormaux par paillette (Prasad, 2020)

Les anomalies les plus retrouvée chez les spermatozoïdes bovins sont généralement les gouttelettes proximales et distales les DMR, les dag defect et les enroulements de la pièce principale.



Figure 10 : Micrographie des certaines anomalies de malformation majeurs des spermatozoïdes bovins (Bovine reproduction 2014-2021)

La norme générale qui semble actuellement faire le consensus entre les auteurs ou laboratoires d'analyse impliqués dans le CQ de la semence bovine est comme suit :

Pour qu'une paillette soit acceptée en IA, elle doit contenir au moins 8 millions de spermatozoïdes mobiles (progressifs) après décongélation.

3.2.2.5. Autres paramètres établis par cytométrie :

La cytométrie en flux (CMF) est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative, de particules en suspension dans un liquide. Un appareil fait défiler des particules, molécules ou cellules, à grande vitesse dans le faisceau d'un laser. Elle permet de mettre en évidence plusieurs paramètres cellulaires dont la viabilité qui consiste à déterminer l'intégrité de la membrane cytoplasmique d'un spermatozoïde, elle est évaluée par la coloration avec l'iodure de propidium (PI) par une sonde fluorescente qui se lie à l'ADN ainsi que la concentration, mais aussi l'évaluation de l'intégrité de l'acrosome grâce à l'utilisation des lectines végétales liées à la fluorescéine isothiocyanate (FITC), ces lectines se lient de façon spécifique à des composés glycosylés de la membrane acrosomiale externe. Ou alors l'analyse de la fonction mitochondriale qui se fait par l'utilisation d'un colorant JC-1 (Mitochondrial Membrane Potential Probe), qui émet une fluorescence verte, ce colorant est utilisé pour séparer les spermatozoïdes possédant des mitochondries non fonctionnelles des spermatozoïdes possédant des mitochondries fortement fonctionnelles.

3.3. Contrôle de qualité en production de semence bovine en Algérie :

En Algérie, la semence bovine est produite au niveau du un centre national d'insémination artificielle et d'amélioration génétique (CNIAAG) situé à Baba Ali (Alger), constituant ainsi une banque nationale de semence congelée. Il s'agit d'un établissement public à caractère industriel et commercial (EPIC) relevant du ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, crée par décret Présidentiel n° 88-04 du 05 janvier 1988, dans le cadre de la politique nationale du développement de la production animale. Ce centre est chargé de la promotion de l'insémination artificielle et de l'amélioration génétique.

3.3.1 Etudes bibliométrique :

En compulsant la littérature universitaire en Algérie, notamment les mémoires de Master effectués durant les dix dernières années, il n'existe que trois (03) mémoires réalisés sur le contrôle de qualité de la semence bovine produite par le CNIAAG.

La première étude a porté sur 44 paillettes issues de 4 taureaux (OULEBSIR, 2015), la deuxième sur 5 taureaux (Gacem, 2016) et la troisième sur 14 taureaux (Tahri et Djouabi, 2018) appartenant au CNIAAG. Les résultats de ces études sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau 3: Résultats de l'étude n° 01 (Oulebsir, 2015)

Nom du taureau	Race	Viabilité % (Post dégel)
Happy Isi	NOR	31.79
Humar	NOR	32.7
Morly	Kleckvieh	27.39
Waldy	Kleckvieh	24.74

Tableau 4 : Résultats de l'étude n° 02 (Gacem, 2016)

Nom du taureau	Race	CQ1 (Etat frais)	Viabilité % (Etat réfrigéré)	Viabilité % (Post dégel)
JETSTREAM	Mont	65/40	53.84	27.68
JEFFREY	HO.PR	70/40	72.45	21.52
JOVIC	HO.PR	70/40	55.42	28.49
JOJOBA	Mont	70/40	54.12	20.67
WINZER	Kleckvieh	70/40	51.92	21.45

Les auteurs des études n° 01 et n° 02 n'ont pas exploité les pourcentages de spermatozoïdes mobiles (MOT% et PROG%) et se sont limités uniquement au pourcentage des spermatozoïdes vivants (vitalité), sans appliquer aux résultats obtenus les seuils (normes) standard d'acceptation d'une semence afin de réellement évaluer la qualité de cette dernière en la comparant aux standards exigés.

Cependant, et même en considérant, de façon exagérée, tous les spermatozoïdes vivants comme étant mobiles (Ce qui n'est jamais le cas), la qualité de la semence produite et contrôlée dans ces études demeure en dessous des normes d'acceptabilité en IA.

Tableau 5 : Résultats de l'étude n° 03 (Tahri et Djouabi, 2018)

Nom Du taureau	Date de récolte	Mobilité % (CASA : SCA).		Viabilité % (% des vivants)	
		MOT%	PROG%	(E/N)	CMF
RAMY	30/01/2018	23.04	6.37	19.5	8.05
JEZINA	08/02/2018	18.69	//	20.5	34.49
CHARLY	19/04/2017	36.25	7.59	12.5	8.48
REDY	03/12/2017	13.84	6.89	16.5	16.7
STRONG	17/01/2018	11.26	6.56	9	11.82
SYMBA	15/09/2017	16.8	4.44	23.5	11.62
SERVUS	03/12/2017	25.43	5.15	27	14.13
JEFRY	29/11/2017	15.57	13.94	12	28.28
IOTA	26/03/2018	16.89	3.12	16.5	41.85
MARBOUH	29/11/2017	20.1	12.07	29.5	38.41
MABROUK	27/03/2017	13.92	1.1	8	11.4
ISYJET	21/02/2017	37.67	12.77	31.5	16.62
GOTENGEN	28/11/2017	13.84	8.48	35	6.68
HEALTOP	28/11/2017	14.61	5.4	8	10.86

Dans l'études n° 03 l'évaluation de la concentration peut être un paramètre critiquable. En effet, le calcul de cette dernière a été établi par le système SCA qui donne une évaluation du nombre de spermatozoïdes par ml et non par dose et qui est en plus imprécis, nécessitant un paramétrage préétabli, de ce fait les valeurs de concentration exposée sont erronées. Même en prenant en considération ces valeurs il est nécessaire de les multiplier par le

volume utile d'une paillette fine qui est réellement de 0.21ml pour pouvoir obtenir le nombre de spermatozoïdes par paillettes (doses).

Une évaluation de la concentration par la technique standard de référence (numération par cellule de comptage) aurait été préférable dans ce cas-là.

3.3.2 Application des seuils d'acceptation en IA :

Tableau 6: Résultats de l'étude n° 01 (Oulebsir, 2015) avec application des seuils

Nom du taureau	Race	Viabilité % (Post dégel)	Nb spz vivants par dose (x10 ⁶ /paillette)	Norme d'acceptation en IA
Happy Isi	NOR	31.79	5.72	+08 millions spz progressifs par paillette.
Humar	NOR	32.7	5.89	
Morly	Kleckvieh	27.39	4.93	
Waldy	Kleckvieh	24.74	4.45	

Tableau 7: Résultats de l'étude n° 02 avec application des seuils (Gacem, 2016).

Nom du taureau	Race	CQ1 (Etat frais)	Viabilité % (Etat réfrigéré)	Viabilité % (Post dégel)	Nb spz vivants par dose (x10 ⁶ /paillette)	Norme d'acceptation en IA
JETSTREAM	Mont	65/40	53.84	27.68	4.98	+08 millions spz progressifs par paillette.
JEFFREY	HO.PR	70/40	72.45	21.52	3.87	
JOPIE	HO.PR	70/40	55.42	28.49	5.13	
JOJOBA	Mont	70/40	54.12	20.67	3.72	
WINZER	Kleckvieh	70/40	51.92	21.45	3.86	

Tableau 8: Résultats de l'étude n° 03 (Tahri et Djouabi, 2018) avec application des seuils

Nom du taureau	Date de récolte	Mobilité % (CASA : SCA).		Viabilité % (% des vivants)		Nb des spz par dose (Millions par paille)te)		Norme d'acceptation en IA
		MOT%	PROG%	(E/N)	CMF	Mobiles	Progressifs	
RAMY	30/01/2018	23.04	6.37	19.5	8.05	4.15	1.15	+08 millions spz progressifs par paille)te.
JEZINA	08/02/2018	18.69	//	20.5	34.49	3.36	//	
CHARLY	19/04/2017	36.25	7.59	12.5	8.48	6.60	1.37	
REDY	03/12/2017	13.84	6.89	16.5	16.7	2.49	1.24	
STRONG	17/01/2018	11.26	6.56	9	11.82	2.03	1.18	
SYMBA	15/09/2017	16.8	4.44	23.5	11.62	3.02	0.80	
SERVUS	03/12/2017	25.43	5.15	27	14.13	4.58	0.92	
JEFRY	29/11/2017	15.57	13.94	12	28.28	2.80	2.51	
IOTA	26/03/2018	16.89	3.12	16.5	41.85	3.04	0.56	
MARBOUH	29/11/2017	20.1	12.07	29.5	38.41	3.62	2.17	
MABROUK	27/03/2017	13.92	1.1	8	11.4	2.51	0.20	
ISYJET	21/02/2017	37.67	12.77	31.5	16.62	6.78	2.30	
GOTENGEN	28/11/2017	13.84	8.48	35	6.68	2.49	1.53	
HEALTOP	28/11/2017	14.61	5.4	8	10.86	2.63	0.97	

En appliquant les seuils d'acceptation en IA pour les résultats obtenus dans les trois études, les différents lots (31) de semence bovine congelée produite par le CNIAAG en dates différentes à partir de 23 taureaux reproducteurs sont pour certains (15) de mauvaise qualité biologique et non conformes aux normes d'acceptation en IA, et pour d'autres (16) de qualité douteuse nécessitant une vérification par décongélation d'autres paillettes de ces mêmes lots.

3.4. Assurance qualité et système HACCP

Dans les centres de production de semence, la surveillance de la qualité de la semence est fréquente et généralement efficace, mais le contrôle de la qualité des procédures hygiéniques menées pendant la collecte et le traitement de la semence est généralement défaillant. De nombreuses sources potentielles de variabilité pouvant affecter la qualité finale des doses de semence (Alvarez et al., 2005), le contrôle qualité des programmes capables de traiter un plus large éventail de facteurs de risque sont toujours nécessaires pour les taureaux en centre de production de semence (CPS). Un contrôle efficace de la qualité peut être réalisé grâce à des systèmes d'analyse des risques et de maîtrise des points critiques (HACCP), afin d'identifier, d'évaluer et de contrôler les dangers importants, en se

concentrant sur la prévention plutôt que sur des mesures d'inspection ou des mesures correctives (Goularte et *al.*, 2015).

3.4.1. Points de contrôle critiques

Bien que toutes les étapes du processus de traitement du sperme soient des points de contrôle, les étapes qui ne peuvent pas être contrôlées par la suite à des étapes ultérieures du processus sont considérées comme des points de contrôle critiques et leur danger doit être maîtrisé en permanence pour être réduit, prévenu ou éliminé jusqu'à un niveau acceptable (Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire, 1997).

Le système HACCP a classé les dangers identifiés comme suit : microbiologique ; chimique ; et physique.

- Les dangers microbiologiques comprenant les éléments suivants : bactéries, virus et protozoaires (Givens et Marley, 2008).
- Les risques chimiques comprenant les composants utilisés dans la préparation des dilueurs et les résidus des désinfectants utilisés lors de la préparation des taureaux et lors du nettoyage des ustensiles.
- Les risques physiques incluant la présence de saleté dans les échantillons, les différences de température entre les échantillons de sperme et le dilueur (choc dû au froid), les erreurs de mesure des volumes de dilueur et la présence de résidus d'eau dans l'équipement et les ustensiles utilisés pour la collecte du sperme.

3.4.2. Évaluation des risques et de la gravité des dangers

La sévérité des risques physiques consiste à surveiller les variations de la période de conditionnement, de la température pendant la cryoconservation de la semence et la présence de débris dans les éjaculats, ce qui entraînerait une élimination de l'échantillon.

En supposant qu'il soit impossible d'assurer que la production de doses de semence congelée ne puisse se faire sans aucune contamination, la gravité des risques microbiologiques considère que les numérations microbiologiques dans la semence traitée doivent être inférieures à 5000 UFC/ml (OIE, 2001).

La gravité des risques chimiques tient compte de leur toxicité spermatique et de la composition du dilueur, qui joue un rôle clé dans le succès de la cryoconservation du sperme

(Holt, 2000 ; Watson, 2000). Dans un centre de production de semence, les tampons ajoutés aux dilueurs ont été stérilisés par filtration (0,22µm) et ont été préparés avec de l'eau stérile autoclavée à 121°C pendant 30 min. Chaque fois qu'une source de protéines animales (telle que le lait ou le jaune d'œuf) est incluse dans le dilueur, elle doit provenir de sources fiables, être exempte d'agents pathogènes ou être stérilisée. Les dilueurs ne doivent pas être stockés plus de 72 h à des températures égales ou > 5 °C, bien que des périodes de stockage plus longues puissent être autorisées, les dilueurs doivent être stockés à -20°C (OIE, 2014).

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

A l'issue de cette étude, il est à conclure ce qui suit :

- Les facteurs liés au taureau sont sa valeur génétique, son statut sanitaire et infectieux ainsi que l'évaluation de sa fonction reproductrice. Viendront ensuite, les conditions et la technique de récolte du sperme.
- La production de la semence bovine se fait dans des centres spécialisés suivant un organigramme de production (un procès) adapté à chaque centre.
- Les données rapportées dans trois études réalisées entre 2015 et 2018 sur l'analyse de la semence bovine produite en Algérie, montrent grossièrement une mauvaise qualité biologique avec des résultats s'inscrivant en dessous du seuil d'acceptation en IA.
- Le CQ standard, basé sur les techniques d'analyse subjectives (microscopie) présente l'inconvénient d'être imprécis, variable, et chronophage. Ceci démontre l'intérêt d'un CQ basé sur des techniques d'analyse objectives offrant l'avantage de la précision et du gain de temps, à l'instar de l'analyseur de semence assistée par ordinateur et la cytométrie en flux.
- Au-delà du simple CQ, l'implémentation d'un système de gestion de la qualité, à l'instar d'un système HACCP est seul à même d'identifier les risques et de permettre ainsi leur correction préventive afin d'assurer la qualité plutôt que de simplement la contrôler en aval du procès de production.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alexander, J., 2008. Bull breeding soundness evaluation: a practitioner's perspective. *Theriogenology* 70: 469–472.
- Allimant M., 2010. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude- Bernard, Lyon, 138p.
- Anonyme 2012. Minimum Standards for Production of Bovine Frozen Semen. 56p.
- Amann, RP., Waberski D., 2014. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology* 81 :5–17.
- Anonyme 2012. Minimum Standards for Production of Bovine Frozen Semen. 56p.
- Ait Mahfoud, R. et Maamri, S., 2020. Contribution à l'étude des échecs de l'insémination artificielle dus aux mauvaises détections des chaleurs chez la vache. Mémoire de fin d'étude : Science vétérinaire, Institut des sciences vétérinaires, université Blida 1, 57p.
- Barth et Oko.,1989. Abnormal morphology of bovine spermatozoa.
- Barone, R., 2001. Anatomie comparée des mammifères domestique Vol 4, splanchnologie II, 3ème édition Edition Paris, France, 896 p.
- Bouquet, A., 2006. Amélioration de l'efficacité des programmes de sélection des bovins allaitants : de' nouveaux modèles d'évaluation génétique. Thèse de doctorat. Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (agroparis Tech).
- Bordas, C., 1988. L'examen microscopique du sperme et l'interprétation de ses résultats dans le contexte de la monte naturelle en zone charolaise. *Recl Médecine Vét.* 164 (6/7).
- Bouzebda, F., Guellati, M.A. et Grain, F., 2006. Evaluation des paramètres de la gestion de la reproduction dans un élevage du nord est algérien. *Sciences et Technologie C– N°24*, 13-16.
- Chenoweth, P., 1993. A new bull breeding soundness form. *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, Mathews, AL: Society for Theriogenology. 63–70.

- Correa, J.R. and Zavos, P.M., 1994. The hypoosmotic swelling test: Its employment as an assay to evaluate the functional of the frozen-thawed bovine sperm membrane, *Theriogenology* 42:351-360.
- Cordelli, E., Eleuteri, P., Leter, G., Rescia, M., Spano, M., 2005. Flow cytometry applications in the evaluation of sperm quality: semen analysis, sperm function and DNA integrity. *Contraception*; 72:273-289.
- CONTANTINESCA, G. Et I., 2004. Clinical dissection guide for large animals. Horse and Large Ruminants – 2ème édition. Iowa: Iowa State Press, p 321.
- Coursin, S., 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.
- Codex Committee on Food Hygiene, 1997: HACCP System and Guidelines for its Application, Annexe to CAC/RCP 1– 1969, Rev 3 in Codex Alimentarius Commission Food Hygiene Basic Texts, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, World Health Organisation, Rome.
- Chihani, S. et Zerdani, Z., 2013. Enquête sur les échecs de l'insémination artificielle dans les régions de Blida et Bouira. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, département des sciences vétérinaire, université Blida 1, 71p.
- Djeralfia, H. et Fadel, H., 2010. Enquête sur les facteurs limitant la réussite de l'insémination artificielle chez les bovins dans les régions de Médéa, Setif et Blida. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, département des sciences vétérinaire, université Blida 1, 86p.
- Dumont, P., 1997. Appréciation de la fonction sexuelle du taureau reproducteur. *Point Vét.* 28(185) : 19- 30.
- Debbous, N. et Rahmani, O., 2020. Contribution à l'étude des facteurs influençant le taux de réussite de l'insémination artificielle chez l'espèce bovine. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, Institut des sciences vétérinaires, université Blida 1, 69p.
- Eggen, A., 2000. Cartographie fine d'un gène et clonage positionnel. *INRA Prod. Anim.* Numéro hors-série « Génétique moléculaire : principes et application aux populations animales » : 133-136.

- Eustache, F., Jouannet, P., et Auger, J., 2003. Evaluation of flow cytometry methods to measure human sperm concentration. *Journal of andrology*, 22(4): 558-567.
- Fritz, S., Guillaume, F., Tarrès, J., Baur, A., Boussaha, M., Boscher, M.Y., Journaux, L., Malafosse, A., Gautier, M., Colleau, J.J., 2008. Utilisation des résultats de cartographie fine de QTL en sélection chez les bovins laitiers. *Renc. Rech. Ruminants*, 15: 423-426.
- Fernández-Gago, R., Dominguez, JC, Martmez-Pastor, F., 2013. Séminal plasma applied postthawing affects boar sperm physiology: A flow cytometry study. *Theriogenology*, 1 -11.
- Frandson, RD., Wilke, WL., Fails, AD., (2009). *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. 7th Edition. Ames: Wiley-Blackwell; 512 p.
- Kabera, F., 2008. Application de la qualité de la semence bovine produite au centre nation d'amélioration génétique (CNAG) DE DAHRA AU SENEGAL. P24.
- Gerard, O. et Khirredine, B., 2002. Production de semence bovine Didacticiel de Maîtrise de la reproduction des bovins. 73 p.
- Gillan, L, Evans, G, Maxwell, WM., 2005. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. *Theriogenology*, 63 :445-570.
- Gérard, O., Druard, X., Sellem, E., Humblot, P., 2006, 18th European AI Vets Meeting. Boras, 12-14.
- Givens, MD., Marley, MSD., 2008: Pathogens that cause infertility of bulls or transmission via semen. *Theriogenology* 70, 504–507.
- Gerard, O., Ponsar, C., Petit, M., Humblo, P., 2008. Evolution des techniques de préparation de la semence et d'insémination artificielle chez les bovins, *Renc. Rech. Ruminants* 351-354.
- Grigal, M., Nehring, H., Leiding, C., 2008. XXV World Buiatric Congress 6-11 July 2008 Budapest, Hungary. p 297.
- Goularte, K.L., Madeira, E.M., Ferreira, CER., Duval, E.H., Vieira, A.D., Mondadori, R.G and Lucia Jr, T., 2015. Hazard Analysis and Critical Control Points System for a Bull Semen Production Centre; *Reprod Dom Anim* 50, 972–979.
- Gacem, A., 2016. Etude des paramètres spermatiques : Comparaison entre la viabilité des spermatozoïdes réfrigérés et spermatozoïdes décongelés. Mémoire de master :

Génétique et reproduction animale, Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, 59p.

- Goularte, K.L., Ferreira, CER., Madeira, E.M., Duval, E.H., Vieira, A.D., Mondadori, R.G., Lucia Jr, T., 2018. The implementation of a HACCP system improved the efficiency of a bull semen collection and processing center; *Anim. Reprod.*, v.15, n.2, p.108-113.
- Hopkins, S.M., Armstrong, D.L., Hummel, SKC., Junior, S., 1988. Successful Cryopreservation of Gaur (*Bos gaurus*) epididymal spermatozoa. *Journal of Zoo Animal Medicine.*, P: 19, 195-201.
- Hopper, R.M., 2021. *Bovine Reproduction*. 2nd edition. John Wiley et Sons Inc. Honoken, USA, 1214p.
- Hafez, B., Hafez, ESE., 2000. *Reproduction in farm animals*. 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 509 p.
- Huet, H., De Moustier, V., 2009. *Élaboration d'un site web à visée pédagogique sur la propédeutique médicale des bovins*. Thèse de doctorat : école nationale vétérinaire d'Alfort, 32p.
- Hayes, H. et Goddard, M., 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock. *Genét. Sel. Evol.*, 33: 209-229.
- Hanzen, C., 2009-2010. *Rappels anatomophysiologiques relatifs à la reproduction du taureau*. ORBI. Université de Liège, 8 P.
- Herpin, P., 2009. *La génomique animale*. *INRA Prod. Anim.*, 16: 1-4.
- Hanzen, C., 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.
- Hammadi M., 2016. *Insémination artificielle bovine dans la région de blida*. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, institut des sciences vétérinaire, université Blida 1, 59p.
- Holt, WV., 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci* 62, 3–22.
- Hafsi, N. et Labdani, M., 2020. *ÉTUDE STATISTIQUE DE L'INSEMINATION ARTIFICIELLE BOVINE DANS LA RÉGION D'OUM EL BOUAGHI*. Mémoire de master : Biologie et Physiologie de la Reproduction, Département des sciences de la nature et de la vie Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, 90p.

- Jeyendran, R.S., Van der Ven, H.H., Perez-Pelaez, M., Grabo, B.G., Zaneveld, W.D., 1984. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil* ;70 :219-225.
- Jussiau, R., Montmeas, L. et Papet, A., 2006. Amélioration génétique des animaux d'élevage. Bases scientifiques, sélection et croisement. Chapitre II. Edition Educagri : p290-300.
- Kastelic, JP, Thundathil, J.C., 2008. Breeding soundness evaluation and semen analysis for predicting bull fertility. *Reprod Domest Anim Zuchthyg.* 43 Suppl 2 :368- 373.
- Konfe, H., 2014. Etude spermiologique 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 :87.
- Koziol, J.H., and Armstrong, C.L., 2018. Society for Theriogenology Manual for Breeding Soundness Examination of Bulls, 2e, 5–70.
- Labatut, J., 2009. Gérer des biens communs : Processus de conception et régimes de coopération dans la gestion des ressources génétiques. Thèse de doctorat : Sciences de Gestion. ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DES MINES DE PARIS. 382p.
- Lu, D., Miller, S., Sargolzaei, M., et al., 2013. Genome-wide association analyses for growth and feed efficiency traits in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 91 : 3612-3633.
- Louisiana State University Department of Veterinary Clinical Sciences 2005.
- Manciaux, L., Chambon, G., 2011. Santé reproductive et conduite du taureau en monte naturelle. *Nouv Prat Vét.* 4(18) :23- 9.
- Moussouni, B. et Bordjihane, L., 2019. Facteurs d'échec de l'insémination artificielle bovine. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, Institut des sciences vétérinaires, université Blida 1, 67p.
- Mimoune, N., Messai, C.R., Khelef, D., Salhi, O., Azzouz, M.Y. and Kaidi, R. 2017. Reproductive parameters and metabolic profile of repeat breeder cows. *Livestock Researchfor Rural development*, 29 (8).
- Oulebsir, E.A., 2015. Evaluation de la fonction reproductrice chez quatre taureaux reproducteurs de deux races différentes : Normande et Fleckvieh. Mémoire de master : Reproduction Animale. Université Blida 1. 107p.

- Parez, M. et Thibier, M., 1983 Contrôle de la fonction sexuelle chez le jeune taurillon. *Elevage et Insémination*, 197 : 3-16.
- Pietremont, J.L., 1995. Testage du taureau. Appréciation de son aptitude aux fonctions de reproduction, appréciation de la qualité de son éjaculat. *Bull GTV*, (2):33-7.
- Prasad, J.K., 2020: Minimum standard protocol for production of bovine frozen semen p 39-41.
- Parkinson, T.J., 2004. Evaluation of fertility and infertility in natural service bulls. *Vet J Lond*. 68(3):215- 29.
- Pousga, S., 2002. Analyse des résultats de l'insémination artificielle bovine dans des projets d'élevage laitier : Exemple du BURKINA FASO, du MALI et du SENEGALE. Thèse de doctorat : Science et Médecine vétérinaire. Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaire, université Cheikh-Anata-Diop, Dakar, 112p.
- Saacke, R, Lineweaver, J, Aalseth, E., 1997. Procedures for handling frozen semen. *Proceedings of the 12th Conference on AI in Beef Cattle of the NAAB*, p. 49. (Bovine reproduction 2021).
- Senoussi, A. et Abdellaoui, O., 2018. L'insémination artificielle chez les bovins. Mémoire de fin d'étude : Sciences vétérinaires, Institut des sciences vétérinaires, université Blida 1, 79p.
- Traore, 1996. Les méthodes d'évaluation du sperme du taureau destiné à l'insémination artificielle. These: Méd. Vét.: Rabat (IAV Hassan II).
- Tahri, S. et Djouabi, S., 2018. Caractérisation de la semence bovine (paillettes) par méthode CASA et cytométrie en flux. Mémoire de master : Sciences de la Nature et de la Vie. Université Saad Dahlab blida 1. 69p.
- Utt, A., Quirin, T., Saul, S., Hellström, K., Ahola, T., Merits, A., 2016. Versatile Trans-Replication Systems for Chikungunya Virus Allow Functional Analysis and Tagging of Every Replicase Protein. *PLOS ONE* 11(3): e0151616.
- Utsunomiya Y.T., Do Carmo, A.S., Carvalheiro, R., Neves H., Matos, M.C., Zavarez, L.B., Pérez O'Brien, A.M., Sölkner, J., McEwan, J.C., Cole, J.B., et *al.* 2013. Genome-wide association study for birth weight in Nellore cattle points to previously described orthologous genes affecting human and bovine height. *BioMed Central*, 1-12.

- Vincent, P., Underwood, S.L., Dolbec, C., Bouchard, N., Kroetsch, T., Blondin, P., 2021. *In: Bovine Reproduction, 2nd Ed.*, Hopper R.M. (Edited by), Wiley-Blackwell, Hoboken, N.J., USA, pp. 1019-1031.
- Wrathall, A., Simmons, H., and Van Soom, A., 2006. Evaluation of risks of viral transmission to recipients of bovine embryos arising from fertilisation with virusinfected semen. *Theriogenology* 65 : 247–274.
- World Health Organization, 2010 (OMS 2010). WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen “FIFTH EDITION”. 978 92 4 154778 9, NLM classification: QY 190, 271p.
- Watson, P.F., 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 60–61, 481–492.