

Quatre facteurs déterminent le pourcentage de gestation dans un troupeau à savoir le pourcentage d'utilisation des chaleurs, la fertilité des vaches, la fertilité de la semence et l'efficacité de la mise en place. L'AWE a pris une série de nouvelles initiatives pour poursuivre l'optimisation de ces deux derniers points à savoir:

- la certification ISO 9001 de ses services production, marketing, vente, insémination et transfert d'embryons;
- l'achat d'un cytomètre en flux, une technique ultra-moderne d'analyse de la semence,

L.S.

Qualité de la semence

L'AWE franchit
de nouvelles étapes

Intérêt de la cytométrie en flux

L'analyse classique de la qualité de la semence commence dès le premier prélèvement du taureau. Elle est réalisée lors de chaque collecte et sur chaque éjaculat. Le contrôle porte sur le volume éjaculé, la concentration en spermatozoïdes et leur mobilité. Un monitoring des anomalies morphologiques des spermatozoïdes est également réalisé lors des premières récoltes, puis tous les mois. La congélation des premiers éjaculats permettra d'évaluer la "congélabilité" de la semence et donc le potentiel du taureau comme mâle reproducteur au sein du centre de production.

La congélation est en effet une étape critique car elle détruit 50% des spermatozoïdes. En race Blanc-Bleu, l'objectif est de produire des paillettes contenant de 25 millions de spermatozoïdes.

L'AWE réalise également un contrôle de qualité post-congélation sur deux paillettes de chaque lot de chaque taureau afin d'écarter les lots qui ne sont pas aptes à l'IA. Depuis 2004, le contrôle de la mobilité

après congélation est réalisé via un analyseur de semence (SpermVision). Le mouvement des spermatozoïdes (rectitude de la trajectoire, vitesse de progression) est analysé par un programme informatique qui a l'avantage d'être plus précis et plus objectif qu'une analyse visuelle classique

La semence importée, fait également l'objet de contrôles réguliers afin de détecter d'éventuels problèmes, par exemple lié à la manipulation des paillettes.

Afin d'augmenter la qualité du contrôle du pouvoir fécondant de la semence, l'AWE vient d'investir dans une nouvelle technologie rendue possible suite aux avancées de la physique, de la biochimie et de l'informatique. Il s'agit de la cytométrie en flux (fig. 1).

Un cytomètre en flux se compose:

- d'un système fluide permettant de séparer les spermatozoïdes présents dans un fluide et de les orienter selon l'axe d'écoulement du fluide. Celui qui a été acquis par l'AWE ne possède pas de système fluide mais un capillaire qui aspire le li-

quide se trouvant dans un puits ou tube. Cela a l'avantage de produire moins de déchets que les cytomètres traditionnels, passant de quelques litres à quelques millilitres seulement.

- d'un système optique visant à exciter les cellules marquées à l'aide de réactifs aux propriétés fluorescentes spécifiques aux types cellulaires et/ou aux organites;
- d'un système informatique qui analyse, quantifie et représente les données.

Les spermatozoïdes circulant dans un flux liquide sont soumis à un faisceau lumineux. L'interaction entre le laser et le spermatozoïde marqué à l'aide d'un ou de plusieurs fluorochromes (intensité de la lumière diffusée, absorption de la lumière UV,...) permet d'obtenir rapidement une série d'informations précises sur l'état physiologique des spermatozoïdes et de leurs organites. Cette technique permet par exemple de mesurer la concentration de la semence, la viabilité des spermatozoïdes, mais aussi l'estimation de l'énergie disponible pour la fécondation (intégrité des mitochondries), ou la qualité de l'ADN (fig. 2).

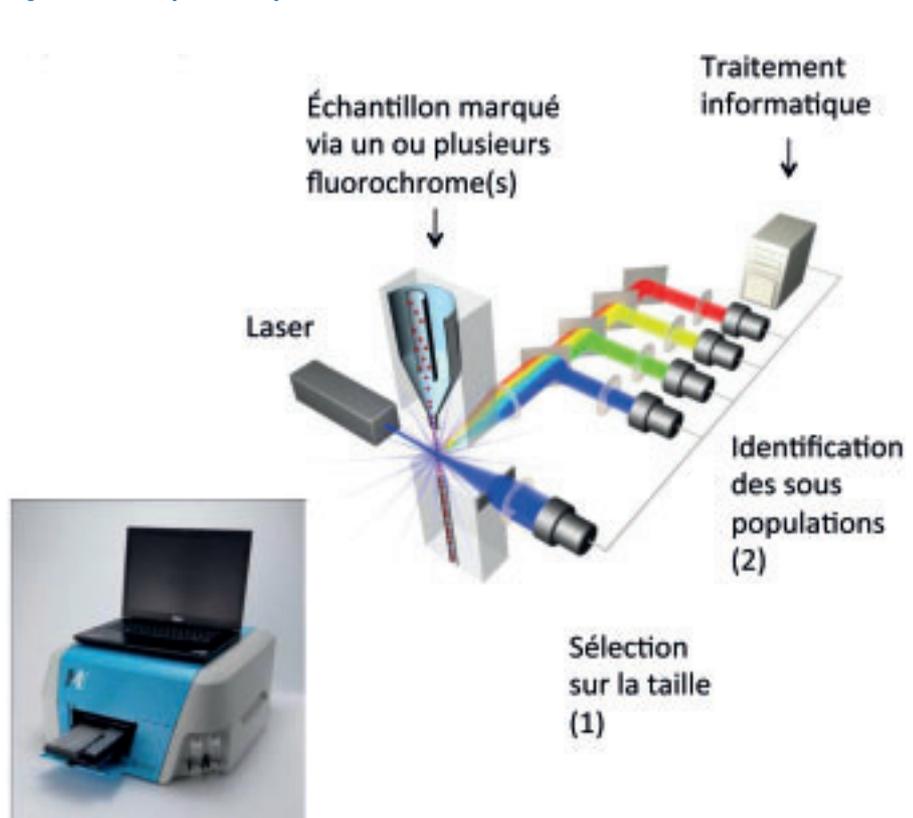
Il est également possible de les trier en catégories homogènes. Cette technique est ainsi à la base du sexage de la semence (séparation des spermatozoïdes X et Y).

Plus de 120 paramètres peuvent être actuellement analysés. Pris isolément, aucun d'entre eux ne permet de prédire le pouvoir fécondant d'un éjaculat. Par contre la combinaison de différents paramètres relevés via le cytomètre ou les contrôles classiques, comme, par exemple la condensation de la chromatine (une des formes de l'ADN dans le noyau), les anomalies morphologiques observées au microscope, la vitesse linéaire des spermatozoïdes, le pourcentage de progressifs et de progressifs droits, qualité des mouvements,...) permet une estimation de cette dernière avec un bon niveau de précision.

Dans les centres de production de semence (CPS) qui commencent à exploiter tout son potentiel, la cytométrie en flux va contribuer largement à cette prédiction de la fertilité. Elle peut représenter jusqu'à 60% de l'ensemble des paramètres pris en compte pour qualifier le sperme.

L'AWE vient de finaliser la mise en place d'un premier test viabilité des spermatozoïdes, via le contrôle de l'intégrité de la membrane de la tête du spermatozoïde (fig. 3). Le nombre de paramètres mesurés au sein du laboratoire va progressivement augmenter de sorte que la précision de l'évaluation de la qualité de la semence en rapport avec son pouvoir fécondant sera encore renforcée.

Figure 1: Principe de la cytométrie en flux



- 1) Sélection des cellules d'intérêt sur base de leur taille (par exemple les spermatozoïdes)
- 2) Identification des sous-populations sur base de l'interaction entre le laser et un fluorochrome spécifique à un type cellulaire et/ou un organite pour un critère défini (cfr figure 3)

Figure 2: Exemple de sous-populations identifiées via la cytométrie en flux



Analyse de la viabilité des spermatozoïdes marqués à l'aide de deux fluorochromes=

- La première fenêtre permet de cibler les cellules d'intérêt sur base de leur taille: les spermatozoïdes.
- La deuxième fenêtre permet de séparer les sous-populations de spermatozoïdes sur base de leur état physiologique: les morts et moribonds émettant de la lumière rouge, les vivants émettant de la lumière verte.

Perspectives à plus long terme

La cytométrie de flux va permettre à l'AWE de mieux comprendre les mécanismes responsables de la détérioration de la semence suite à la congélation et ainsi d'améliorer le processus. La recherche de nouveaux marqueurs (associés à des anomalies morphologiques, à l'interaction avec l'ovule, etc) permettant de qualifier la semence est également prévue.

Rôle de l'insémination

La technique d'IA joue un rôle très important. La formation et l'expérience des vétérinaires inséminateurs, les formations proposées par l'AWE aux éleveurs qui optent pour le do-it-your-self sont donc des éléments très importants. La certification ISO 9001 garantit le respect des procédures et des bonnes pratiques via les audits internes et externes et les processus d'amélioration continue. Celui permet d'accorder une place importante à la revue et amélioration des pratiques afin d'assurer un service de qualité et une satisfaction maximale du client.

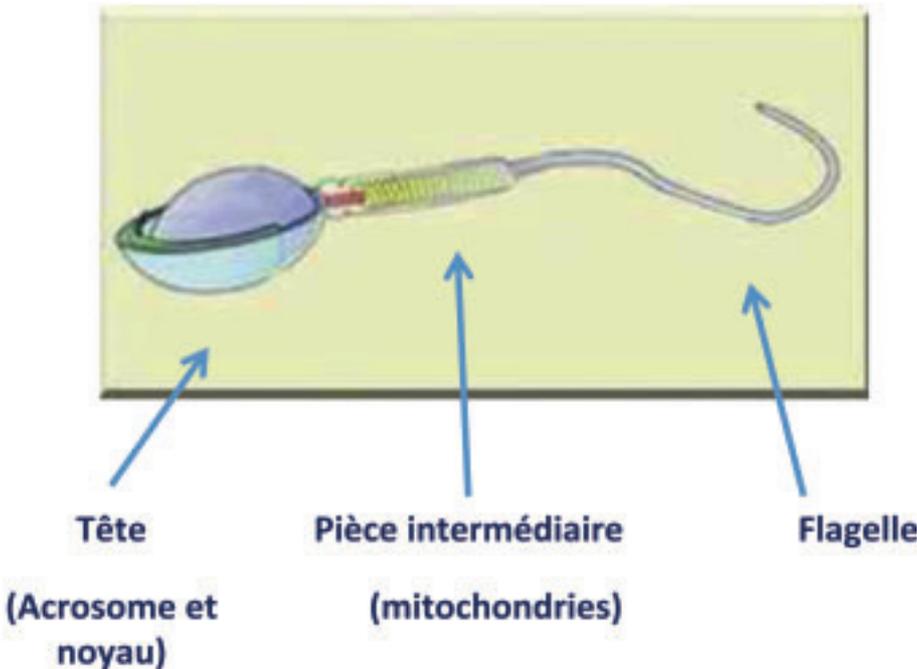
Outre la mise en place, la décongélation joue en effet un rôle essentiel. Tout comme la congélation, elle peut être très dangereuse pour la survie des spermatozoïdes. Le maintien de la chaîne du froid et la façon dont on décongèle les paillettes influencent en effet fortement leur pouvoir fécondant. Les inséminateurs de l'AWE disposent désormais de décongélateurs portables afin de garantir le réchauffement correct de la paillette (fig. 4)

L'AWE a réalisé une série de test afin de vérifier l'impact:

- du système de décongélation;
- du temps de manipulation en dehors de la cuve;
- du nombre de manipulations de la paillette, et notamment, du fait de la "frotter" plusieurs fois pendant sa conservation afin de l'identifier.

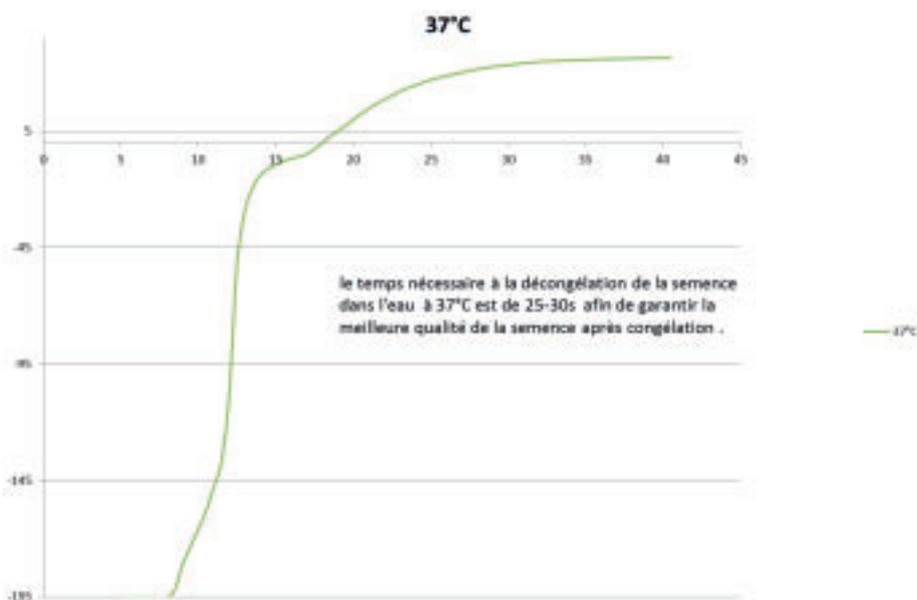


La façon dont on décongèle les paillettes influence fortement leur pouvoir fécondant. Les inséminateurs de l'AWE disposent désormais de décongélateurs portables afin de garantir le réchauffement correct de la paillette.

Figure 3: Structure d'un spermatozoïde

Le spermatozoïde est composé de trois parties indispensables au déroulement de la fécondation.

- La tête comprenant le noyau et le matériel génétique. Son sommet est recouvert de l'acrosome qui renferme les enzymes qui lui permettront de pénétrer dans l'ovule pour le féconder.
- La pièce intermédiaire contenant les mitochondries produisant l'énergie nécessaire au déplacement du spermatozoïde.
- Le flagelle permettant la progression du spermatozoïde.

Figure 4

Augmentation de la température à l'intérieur de la paillette lorsqu'on plonge celle-ci dans l'eau chauffée à 37° C

Ces tests montrent que le pourcentage de mobiles et de progressifs est significativement différent selon qu'on décongèle les paillettes dans un bain marie à 37° C durant 30 secondes ou dans les mains. Nous avons pu remarquer que des paillettes décongelées dans l'eau à 37° C présentaient 50% de mobiles et 38% des mobiles progressifs tandis que les mêmes paillettes décongelées dans les mains n'avaient que 30% de mobiles et 23% de progressifs.

La qualité de la semence diminue significativement quand on dépasse les 10 secondes d'exposition à l'extérieur de l'azote. Les éleveurs pratiquant eux-mêmes l'insémination doivent être attentifs à identifier clairement la localisation des paillettes des différents taureaux dans la cuve afin de le manipuler le moins possible et mieux garantir la qualité lors de l'insémination. Une paillette inclinée plongée dans l'azote ne se couvre pas de givre.

Conclusion

La fertilité de la semence et l'efficacité de la mise en place sont des éléments importants de la réussite d'une fécondation. Vu le recul continu de la fertilité des troupeaux, l'AWE met tout en œuvre pour assurer un service de qualité à sa clientèle. Mais le pourcentage d'utilisation des chaleurs et la fertilité des vaches sont également des clés essentielles de la réussite. Ici aussi, le respect des bonnes pratiques permet d'enregistrer des progrès notables.