

Animaux de compagnie

>> Reproduction

L'AUTEUR
Aurélien GRELLET

Récolter et évaluer la semence chez le chien : accessible techniquement

AL'analyse de la semence est un examen peu onéreux, très accessible techniquement au praticien et qui peut être réalisé dans de multiples situations en reproduction canine : réfrigération ou congélation de semence, insémination en semence fraîche, suspicion d'infertilité ou de subfertilité, examen de routine avant la mise à la reproduction.

Récolte de la semence

Le matériel (lire encadré)

La récolte se fait dans une pièce calme en présence ou non du propriétaire (en fonction du comportement du chien en sa présence). L'utilisation d'une chienne en pro-œstrus ou en œstrus est recommandée lors de la récolte. Des phéromones synthétiques de chiennes en chaleur ou des compresses imprégnées de sécrétions vaginales issues d'une chienne en chaleur (conservation à -20°C pour une utilisation future) peuvent être appliquées sur la base de la queue et la région vulvaire de chienne en œstrus de manière à stimuler le mâle.

La méthode

Plusieurs techniques sont utilisables pour effectuer la récolte du sperme : la technique manuelle, l'électro-éjaculation et la technique employant des vagins artificiels. La récolte manuelle est la méthode classiquement utilisée en pratique.

La chienne utilisée pour stimuler le mâle est tenue par un aide de manière à ce que la vulve soit présentée au mâle. Le propriétaire du mâle, placé du côté opposé à l'opérateur, maintient son chien. Si le manipulateur est droitier, celui-ci sera placé du côté gauche du chien (la main gauche tenant le tube de récolte et la main droite stimulant le pénis).

Dans un premier temps, le pénis du chien est vigoureusement massé, au travers du fourreau, au niveau du bulbe érectile jusqu'au développement d'une érection partielle (engorgement initial du bulbe érectile) (photo n° 5). Cette étape n'est cependant pas nécessaire si le mâle présente dès le début du prélèvement une érection.

Le fourreau est alors rapidement rétracté en arrière du bulbe et une pression ferme et constante est appliquée au niveau du pénis en arrière du bulbe érectile (striction exercée par le pouce et l'index) (photo n° 6).

Suite à la complète érection, le mâle peut vouloir se retourner (tentative de soulèvement de son membre au dessus du bras du manipulateur) (photo n° 7). Une rotation caudale à 180°, tout en maintenant la striction, peut alors être réalisée (ce retournement de la verge vers l'arrière n'est pas nécessaire mais rend souvent le chien plus calme) (photo n° 8).

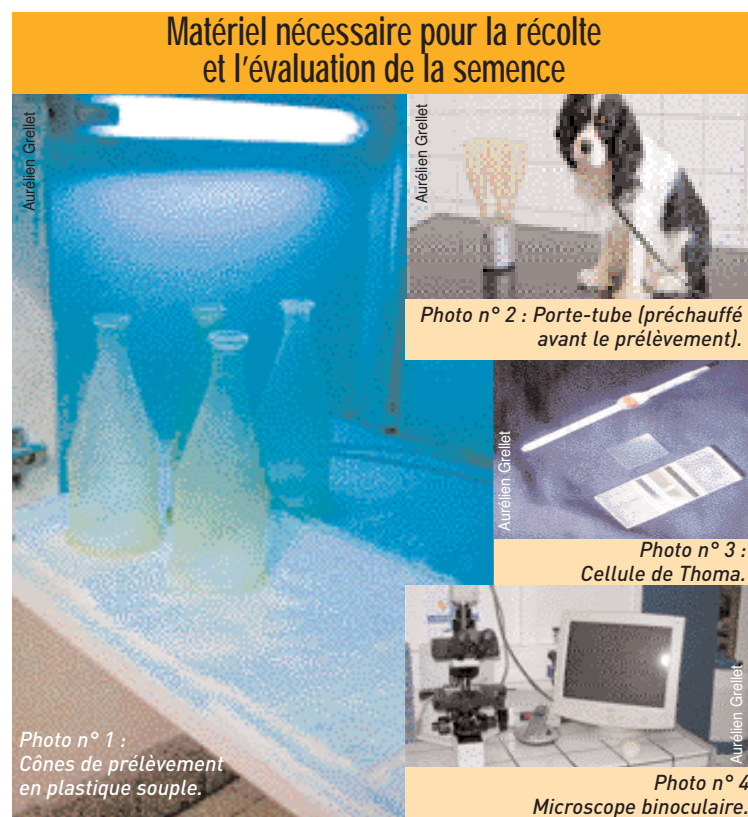
Après la récolte, la chienne est sortie de la pièce. Le chien peut continuer à produire de la fraction prostatique encore quelques minutes après l'arrêt de la stimulation. Une observation de l'animal est nécessaire jusqu'à ce qu'il « recalotte ».

L'éjaculat est constitué de trois fractions (photo n° 9). La première fraction, aussi appelée fraction préspermatique ou frac-

>> GROS PLAN

Matériel nécessaire pour la récolte et l'évaluation de la semence

- Cônes en plastique souple (photo n° 1)
- Tubes de centrifugation en plastique (polystyrène cristal) gradués et incassables
- Porte-tube préchauffé (photo n° 2)
- Lames et lamelles
- Pipettes
- Colorant (éosine-nigrosine, Giemsa modifié, spermac)
- Cellule de comptage (cellule de Thoma) (photo n° 3)
- Microscope binoculaire (photo n° 4)
- Gants à usage unique



tion urétrale, est originaire de la prostate. Elle est normalement claire ou légèrement trouble.

La deuxième fraction, aussi appelée fraction spermatique, est la fraction riche en spermatozoïdes. Elle est normalement opaque à laiteuse. Ces deux fractions sont éjaculées durant et immédiatement après les mouvements de bassin du chien.

La troisième fraction, ou fraction prostatique, est normalement claire. Son volume dépend du temps de stimulation par l'opérateur. L'étalon peut présenter un temps d'arrêt de l'éjaculation avant l'émission de cette phase.

Evaluation de la semence

Evaluation macroscopique

Le volume de la semence récoltée doit être noté. Le volume de phase 3 a peu d'importance sachant que celui-ci est variable et dépendant du temps de récolte de cette phase.

La couleur des différentes fractions est également intéressante. Une couleur jaune peut être synonyme d'urine ou de pus dans le prélèvement.

Une couleur rouge ou brune indique du sang frais ou hémolysé dans la semence (photo n° 10). Les deux causes les plus fréquentes de sang dans la semence sont les lésions péniennes lors du prélèvement et les pathologies prostatiques.

Evaluation de la mobilité

L'évaluation de la mobilité des spermatozoïdes doit être réalisée immédiatement après le prélèvement. Une goutte de semence est placée sur une lame et recouverte par une lamelle. Une observation au microscope binoculaire est alors réalisée au grossissement x 20 ou x 40. Normalement, 70 % des spermatozoïdes doivent être fléchants. Si la semence est trop concentrée, une goutte de semence peut être diluée avec une goutte de fraction prostatique ou de dilueur pour semence réfrigérée.

Numération des spermatozoïdes

Le nombre de spermatozoïdes dans l'éjaculat peut être réalisé à l'aide d'une cellule de Thoma (lire encadré). Ce nombre est variable suivant la taille et l'âge du chien (lire encadré). Les grands chiens produisent d'avantage que les petits chiens. Les vieux et les très jeunes chiens produisent moins de spermatozoïdes que les chiens d'âge moyen. Enfin, la fréquence d'éjaculation modifie la numération.

Morphologie (lire encadré et photos n° 14 à 18)

La morphologie est évaluée en examinant 100 à 200 spermatozoïdes au grossissement x 100. Deux techniques peuvent être utilisées pour cette analyse morphologique. La première technique consiste à mélanger une goutte de semence à une goutte

Etapes de la récolte de semence



Photo n° 5 : Massage vigoureux du pénis au travers du fourreau.



Photo n° 7 : Tentative de soulèvement du membre pour se retourner.



Photo n° 6 : Rétraction rapide du fourreau en arrière des bulbes érectiles.



Photo n° 8 : Rotation caudale à 180° de la verge

>> GROS PLAN

Critères pour une semence de bonne qualité

- Aspect macroscopique des trois phases :
 - Phase urétrale : transparente à trouble
 - Phase spermatique : trouble à laiteuse
 - Phase prostatique : transparente
- Mobilité : > 60 à 70 % de spermatozoïdes fléchants
- Concentration :
 - Petites races : environ 250 millions de spermatozoïdes / éjaculat
 - Races moyennes : environ 750 millions de spermatozoïdes / éjaculat
 - Grandes races : environ 2 milliards de spermatozoïdes / éjaculat
- Pourcentage de formes anormales < 30 à 40 %
- pH éjaculat : 6,3 à 6,7

Aspect macroscopique de la semence

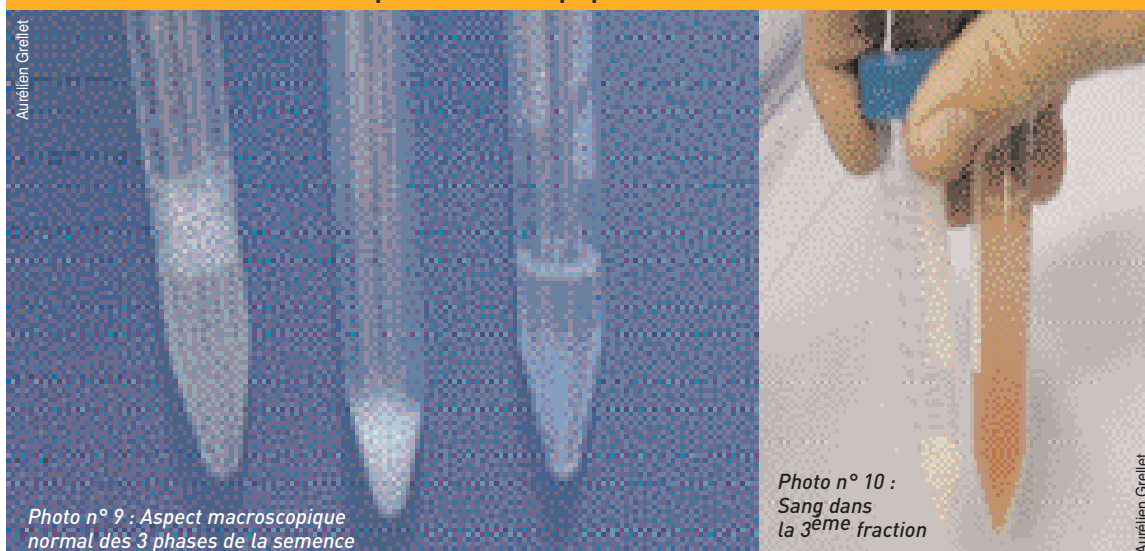


Photo n° 9 : Aspect macroscopique normal des 3 phases de la semence

Photo n° 10 : Sang dans la 3^{ème} fraction

d'éosine nigrosine. Le mélange est alors étalé sur la lame à l'aide d'une seconde lame (photos n° 11 à 13). Une seconde technique consiste à étaler une goutte de semence puis à colorer l'étalement *via* une coloration rapide Diff-Quick. Sur une semence normale, le taux d'anomalies doit être inférieur à 20-30 %.

Autres examens réalisables sur la semence

D'autres examens peuvent être réalisés lors de situations particulières. Ainsi, une cytologie ou une culture de la semence peut être réalisée lors de suspicion d'infection prostatique. Lors d'azoospermie, un dosage de phosphatases alcalines (PAL) est un examen essentiel pour déterminer si l'azoospermie est liée à un problème de libido, un problème testiculaire ou un blocage au niveau des canaux génitaux. Une semence normale présente un dosage de PAL supérieur à 5 000. Une récolte incomplète présente un taux de PAL inférieur. Les laboratoires mesurant les PAL sériques peuvent mesurer les PAL dans la semence. ■

>> GROS PLAN

Calcul de la concentration en spermatozoïdes dans l'éjaculat

- Dilution au 1/100 de la phase spermatique avec du NaCl à 3 % (10 µl de semence diluée avec 990 µl de NaCl à 3 %)
- Placer la solution entre une lamelle et la cellule de Thoma
- Réaliser une somme des spermatozoïdes sur cinq carrés de la cellule (quatre carrés des angles + un carré central)
- Appliquer la formule :

$$N = n \times V \times 5 \times 10^6$$

N = nombre de spermatozoïdes dans la phase 2

n = nombre de spermatozoïdes décomptés sur les 5 carrés de la cellule de Thoma

V = volume de la phase 2 (en ml)

Technique de coloration pour observation microscopique

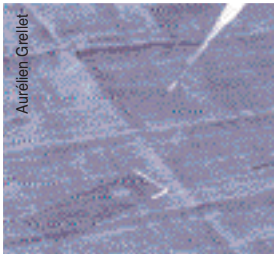


Photo n° 11 : Goutte de semence déposée sur une lame

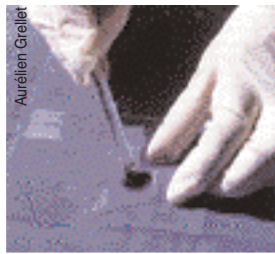


Photo n° 12 : Mélange avec une goutte d'éosine nigrosine

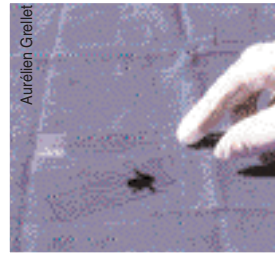


Photo n° 13 : Etalement du mélange

>> GROS PLAN

Les anomalies possibles de la semence

- Anomalies macroscopiques
 - Présence de sang (photo n° 10)
 - Présence d'urine
 - Présence de pus
 - Pas de spermatozoïdes
- Anomalies au niveau de la mobilité
 - Diminution de la mobilité (asthénozoospermie)
- Anomalie au niveau des spermatozoïdes
 - Anomalies de tête
 - Macro/microcéphale
 - Double (photo n° 14)
 - Décapité (photo n° 15)
 - Flamèche
 - Piriforme (photo n° 16)
 - Anomalies de pièce intermédiaire
 - Gouttelette proximale (photo n° 17)
 - Gouttelette distale
 - Épaissi
 - Coudée (photo n° 16)
 - Anomalies de flagelle
 - Enroulé (photo n° 18)
 - Coudé
 - Noué
 - Double

Anomalie des spermatozoïdes

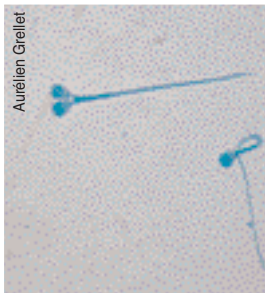


Photo n° 14 : Double tête

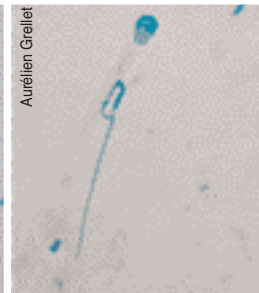


Photo n° 15 : Tête décapitée



Photo n° 16 : Pièce intermédiaire coudée et tête piriforme

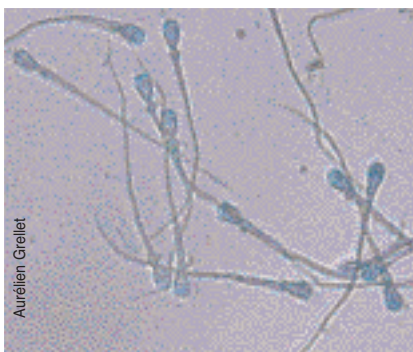


Photo n° 17 : Gouttelettes proximales



Photo n° 18 : Flagelles enroulés