

QUARANTE ANS DE RECHERCHES SUR L'INTERACTION ENTRE EMBRYONS ET AGENTS PATHOGÈNES. POURQUOI LES EMBRYONS SONT-ILS LE MOYEN LE PLUS SÛR D'ÉCHANGES DE GÈNES DANS LE MONDE (MODÈLE BOVIN) ?

FORTY YEARS OF RESEARCH ON THE INTERACTION BETWEEN EMBRYOS AND PATHOGENS. WHY ARE EMBRYOS THE SAFEST WAY OF EXCHANGING GENETIC MATERIAL IN THE WORLD (CATTLE MODEL)?

Par Michel THIBIER¹ 

Moment scientifique de la section Enseignement et recherche du 16 mai 2024, manuscrit accepté le 29 mai 2024

Mots-clefs : Transfert Embryonnaire animal, interaction embryons-agents pathogènes, Embryons fécondés *in vivo*, Embryons fécondés *in vitro*, contrôle sanitaire vétérinaire international

Keywords: *Animal embryo transfer, embryo-pathogen interaction, In vivo fertilized embryos, In vitro fertilized embryos, international veterinary health control*

1. Professeur honoraire AgroParisTech, Académie d'agriculture de France, Académie vétérinaire de France.
Courriel : michel.thibier@outlook.fr



Le transfert des embryons (TE) des mammifères domestiques de ferme a commencé son développement dans les années 1970, notamment chez les bovins. La mise au point de la congélation des embryons collectés *in vivo*, les seuls types d'embryons manipulés à l'époque (en anglais *In vivo Derived*, IVD) au début des années 1980, a offert la possibilité d'échanges de gènes dans le temps et dans l'espace par l'intermédiaire de cette nouvelle biotechnologie de la reproduction en complément de l'insémination artificielle dont le développement s'était mis en place 20 ans plus tôt. Soulignons la contribution française à cette mise au point de la cryopréservation de tels embryons notamment par les équipes de JP Renard (INRA, Institut National de la Recherche Agronomique) et M Nibart (UNCEIA, Union Nationale des Coopératives d'Élevage et d'Insémination animale). Le potentiel considérable du transfert d'embryons congelés portant les génomes parentaux issus d'une sélection intensive préalable n'avait aucune chance d'accomplir son rôle privilégié d'amélioration génétique nationale ou internationalement s'il y avait le moindre risque de dissémination d'agents pathogènes. La communauté vétérinaire s'est alors mobilisée dès le début des années 1980 au plan collectif et international au sein d'une société savante, l'IETS (*International Embryo Technology Society*) et, dont le bilan 40 ans plus tard est un plein succès. Cette note rapporte les points clefs, de cette démarche de 40 ans de collaboration vétérinaire internationale de spécialistes de l'interaction entre embryons et agents pathogènes, présentés lors de la réunion de la section 1 de l'Académie vétérinaire de France le 16 mai 2024 et s'intéresse à l'espèce bovine prise ici comme modèle 1.

CONTEXTE ÉCONOMIQUE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE

La figure 1, rédigée en 1990, résume la place du TE dans les Biotechnologies de la Reproduction. Si la structure demeure semblable 35 ans plus tard, les nombres et le type d'embryons transférés ont considérablement évolué (Figure 2), indiquant en particulier une augmentation importante des embryons produits *in vitro* (*In vitro Produced*, IVP) depuis une dizaine d'années liée à l'activité prépondérante de transfert de ces embryons IVP au Brésil.

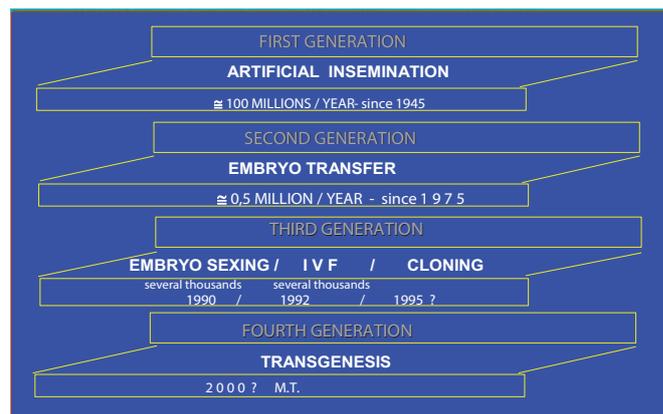


Figure 1 : Les quatre générations de Biotechnologies de la Reproduction (Thibier 1990)

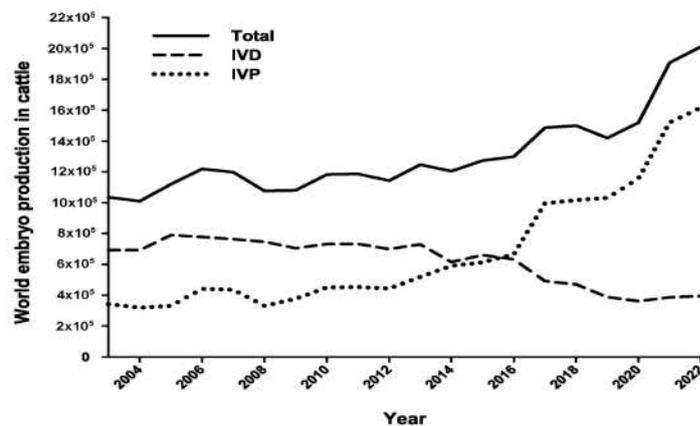


Figure 2 : Évolution du nombre d'embryons IVD et IVP produits dans le monde au cours des années 2002 -2022 (Thibier & Perry 2023)



UN ÉLÉMENT CLEF DANS L'ÉLABORATION DE RÈGLES CONDUISANT À LA SÉCURITÉ SANITAIRE DU TRANSFERT EMBRYONNAIRE : LA SOCIÉTÉ INTERNATIONALE DE TECHNOLOGIE EMBRYONNAIRE

Une première réunion à Urbana (Ill, USA) en juillet 1984 rassemblait des vétérinaires intéressés par l'étude de cette interaction entre embryons et agents pathogènes, sous la Présidence de D Hare, Professeur à l'École vétérinaire de Guelph (Canada). Participaient à cette première réunion essentiellement des confrères américains du Nord et deux Européens, A E Wrathall chercheur à Weybridge (UK) et l'auteur de cette note (France). Ce groupe fut ensuite sollicité pour s'inclure dans le comité de l'IETS appelé alors Comité Import/Export de l'IETS composé de chercheurs, de praticiens et de parties prenantes commerciales. Ce comité ensuite légèrement modifié dans sa composition s'appela le HASAC (*Health and Safety Advisory Committee*) jouant le rôle de conseil scientifique de la Société. Le but de l'IETS est (traduction française) « *de promouvoir la science de la technologie des embryons animaux en promouvant une recherche plus efficace, en diffusant des informations scientifiques et éducatives, en encourageant des normes élevées d'éducation, en maintenant des normes élevées d'éthique, et la coopération avec d'autres organisations qui ont des objectifs similaires* ». Ce comité (HASAC) se structura ensuite en sous-comités chargés des différents aspects à traiter entre autres : sous-comité de la recherche scientifique, de la réglementation, de la certification et du Manuel pour ne présenter que les principaux. Cette méthode dure depuis 40 ans. Elle s'est montrée particulièrement efficace, rassemblant au cours de ces quatre décennies, chercheurs et praticiens vétérinaires de différents pays de la planète à charge pour eux de s'accorder sur des consensus et de diffuser par l'intermédiaire du Manuel de l'IETS les lignes directrices élaborées et éprouvées en étroite relation avec l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA, ex-OIE). Ces réunions se tenaient annuellement lors du congrès annuel de l'IETS ou certaines années biennuellement lorsque la quantité de données à traiter l'exigeait.

LES ÉTAPES SUCCESSIVES ET ESSENTIELLES CONDUISANT À DES STANDARDS OPÉRATOIRES ET LIGNES DIRECTRICES, À L'ORIGINE DU SUCCÈS DE CETTE DÉMARCHE

La stratégie globale fut définie initialement après la prise en compte que le transfert embryonnaire ne peut se réaliser sur le terrain que si les vaches donneuses demeurent dans leur exploitation à l'inverse de la stratégie en vigueur dans les centres d'insémination artificielle où les taureaux sont maintenus en confinement.

Première étape : Elle fut de définir une règle de travail. Le premier et principal point discuté et affirmé fermement par le comité en tant que principe, et approuvé par la gouvernance de l'IETS, était que toutes les propositions ou déclarations, toutes les discussions et tous les débats devraient et reposeront sur **une base scientifique solide**. Cela signifie que seules les données pertinentes fondées sur de solides protocoles de recherche et des publications évaluées par des pairs devraient être utilisées dans la prise de décisions.

Seconde étape : L'établissement d'un document intitulé « *The IETS/HASAC RESEARCH UPDATE* » : un document unique et stratégique d'une grande valeur scientifique pour le transfert embryonnaire de l'embryon. Le sous-comité de la recherche examine chaque année tous les articles scientifiques pertinents publiés et revus par les pairs lors de la réunion annuelle de l'IETS. Il comprend tous les articles scientifiques publiés dans le monde, les originaux et les revues sur les interactions embryon – agents pathogènes avec les observations des membres du sous-comité recherche et ainsi mis à jour chaque année. Plus de 600 articles ont été recensés en 2009, soit 25 ans après sa mise en place ainsi que l'illustre le tableau 1 (Thibier et Perry 2023).

Année 2009 (25 ans après le début)	Embryons fécondés <i>in vivo</i>	Embryons fécondés <i>in vitro</i>
Nombre d'agents pathogènes étudiés	64	35
Nombre d'articles publiés avec résumé disponible	352	240
Nombre total de références	615	

Tableau 1: Nombre d'articles et d'agents pathogènes objets de l'étude du sous-comité recherche de l'IETS (Thibier & Perry 2023)



Troisième étape : « *Le concept de catégorisation* » des maladies ou des agents pathogènes pour les embryons IVD a été un résultat très important de ce sous-comité de la recherche en lien avec celui de la réglementation (voir ci-dessous). Il visait à relever le défi de fournir une vision claire du statut de chaque agent pathogène pour les transferts d'embryons. Le comité a approuvé l'établissement de quatre catégories.

La première catégorie se définit ainsi : « *Les maladies ou les agents pathogènes de catégorie 1 sont celles pour lesquelles il y a suffisamment de preuves pour démontrer que le risque de transmission est négligeable, à condition que les embryons possèdent une zone pellucide intacte et qu'ils soient manipulés correctement entre le prélèvement et le transfert* ». La fièvre aphteuse et la brucellose (*Brucella abortus*) par exemple se rangent dans cette catégorie.

Quatrième étape : Le défi du sous-comité « réglementation » était double : d'une part établir un consensus entre les besoins des autorités vétérinaires officielles pour garantir la sécurité sanitaire de ces transferts et les possibilités sur le terrain pour les praticiens et, d'autre part, d'uniformiser les exigences d'importation dans les divers pays. « *Les règlements devaient s'appuyer sur des données scientifiques solides produites par les scientifiques et approuvées par le sous-comité de la recherche* ». Ces objectifs furent atteints grâce à la réalisation de la cinquième étape résumée ci-dessous.

Cinquième étape : Cette réalisation majeure a été effectuée en étroite coopération de l'IETS avec l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OMSA/OIE) et officiellement lancée lors d'une réunion à Paris 1985 (sous la présidence de R Mapletoft (Canada) pour l'IETS) ; cela depuis trente-neuf ans grâce aux interactions du représentant de l'IETS avec l'OMSA/OIE. Ceci a eu pour résultat fondamental pour le développement du TE, la rédaction collaborative puis l'approbation officielle par l'OMSA et l'IETS de tous les chapitres du Code Sanitaire pour les animaux terrestres de l'OMSA relatifs aux embryons. Ces lignes directrices ont ainsi permis de faciliter les mouvements internationaux d'embryons, grâce à des précautions sanitaires bien définies offrant un haut degré de confiance, y compris les exigences relatives à l'agrément officiel des équipes de prélèvement d'embryons et du vétérinaire responsable.

Sixième étape : La diffusion des modes opératoires recommandés et les éléments de la réglementation validées par l'OMSA à toutes les parties prenantes a été réalisée très efficacement par la publication régulièrement mise à jour du Manuel de l'IETS. La première édition publiée en 1987 comprenait 67 pages, la 5^{ème} édition disponible sur le site web et sortie en 2023 intègre deux volumes et 426 pages. Il couvre de nombreuses espèces dont les cervidés etc.

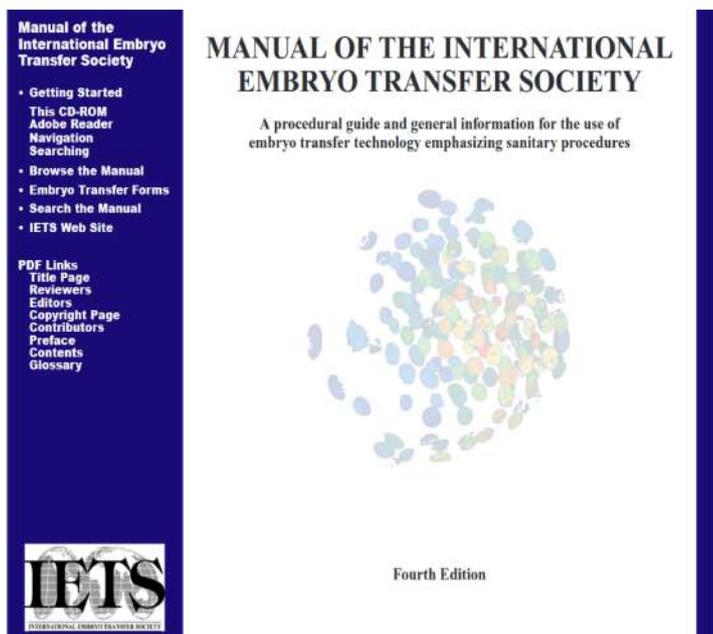


Figure 3 : Photo de la couverture du Manuel de l'IETS (https://www.iets.org/LinkClick.aspx?fileticket=g_YuoUmFBu0%3d&portalid=0)



CONCLUSION

Le principe fondamental, de conduire tous les travaux effectués pendant ces quatre décennies et de fonder des décisions sur une base scientifique solide, a été la première clef pour proposer avec intégrité les protocoles opérationnels et les lignes directrices pour les procédures de prélèvement et de traitement des embryons. Cette démarche originale conduite au sein de cette Société savante a accompagné avec succès le développement du transfert embryonnaire dans le monde qui eut été impossible sans cette approche rigoureuse et collective de la communauté vétérinaire membre de l'IETS.

Ainsi peut-on conclure : « *Le transfert de plusieurs millions d'embryons au fil des ans, à travers tous les continents, de plusieurs espèces animales n'a entraîné aucune transmission de maladies sur une période de quatre décennies. Au plan sanitaire, les embryons animaux se sont avérés être le moyen le plus sûr d'échanger le matériel génétique animal dans le monde entier* » (Thibier & Perry 2023).

RÉFÉRENCES

- Thibier M. New Biotechnologies in cattle Reproduction. Proceedings of the 7th Congress of the Federation of Asian Veterinary Associations (FAVA), Pattaya (Thailand). 4-7 november 1990. pp 513- 524.
- Thibier M, Perry G. IETS management of the challenges associated with embryo pathogen interaction. *Reprod Fertil Dev.* 2023; 36: 16-26. doi: [10.1071/RD23144](https://doi.org/10.1071/RD23144).

QUESTIONS

Question de Jean Derégnacourt

Merci de ton intervention. Tu nous as bien rapporté le rôle essentiel des ressources humaines, cette communauté vétérinaire internationale, mais en regard de celles-ci, quelles ont été les ressources financières ?

Réponse de Michel Thibier

Distinguons deux phases :

Première phase

Les premières deux décennies (1980 - 2000). Concernant l'Amérique du Nord, l'essentiel des ressources proviennent des commerciaux, le plus souvent des sociétés privées investissant sur le transfert embryonnaire pour diffuser les gènes de haute valeur zootechnique issus des populations de leur zone commerciale. Celles-ci finançaient les travaux de recherche dans les Établissements universitaires vétérinaires. En Europe c'étaient essentiellement des coopératives d'insémination artificielle ou de leurs unions qui investissaient. Leur objectif était de financer des recherches pour assurer la sécurité sanitaire de ces transferts sans laquelle la technologie était condamnée. La contribution publique en Europe fut faible à part celle de l'Agence de Weybridge (UK) qui fut déterminante en particulier lors des crises d'encéphalopathie spongiforme bovine (années 1990). Les travaux de Tony Wrathall financés par cette Agence et démontrant d'une manière extrêmement rigoureuse qu'il n'y avait aucun risque de contamination d'embryons par les prions furent un véritable bol d'air pour l'activité de TE de par le monde.

Deuxième phase (2000 - 2020). Les financements furent considérablement réduits ces vingt dernières années car il apparaissait qu'il n'y avait pas de risques sanitaires en respectant scrupuleusement des recommandations et donc qu'il n'y avait plus de besoin d'investir. Il y eut alors bien moins de travaux et de publications en particulier concernant les interactions avec les embryons Produits *in vitro* (IVP), ainsi que l'illustre la figure 3. Nous pouvons citer quand même quelques fonds publics universitaires, pour quelques publications de l'équipe d'Auburn (Alabama, USA) sous la direction de Julie Gard (2014) ainsi que ceux en Europe de Francis Fieni à Oniris, Nantes (2016-2018) jusqu'à l'arrêt brutal du financement au milieu des années 2010 ou de l'équipe de Tiina Autio (2023) en Finlande (Finish Food Authority, Animal Health Diagnostic Unit, FI-70210, Kuopio, Finland).

La figure 4 ci-dessous (Thibier & Perry 2023) illustre bien la réduction drastique de publications scientifiques sur ce sujet et objet de discussions par le comité HASAC de l' IETS à partir de 2010.



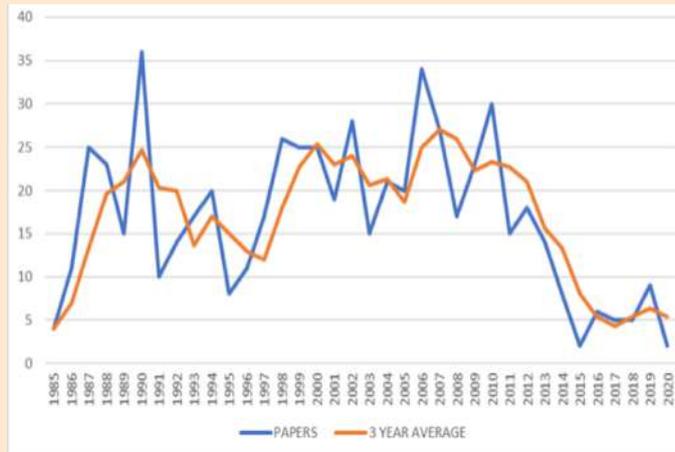


Figure 4 : Nombres d'études annuelles publiées sur la recherche d'interactions embryo/agent pathogène.

Ceci est un des grands chantiers de l'IETS, car il y a besoin de recherches sur l'interaction des embryons Produits *in vitro* (IVP) pour documenter les risques éventuels et renforcer la qualité de la catégorisation de agents pathogènes quant à leur interaction avec ces embryons IVP.

Question de Jean Dupouy Camet

Pour un non spécialiste quels sont les taux de gestation après transfert d'embryons espérés, chez les bovins ?

Réponse de Michel Thibier

Les taux de gestation moyens sont de l'ordre de 50% après transfert mais avec des modulations des moyennes selon le mode de conservation de l'embryon ou selon qu'ils sont issus d'une fécondation *in vivo* (IVD) ou produits en laboratoire par fécondation *in vitro* (IVP).

Le tableau 2 ci-dessous précise ces taux qui sont retenus pour les calculs des investissements.

Tableau 2 : Taux moyens de gestation après transfert d'embryons selon leur mode de fécondation et de conservation (Lacaze 2024, communication personnelle, <https://auriva-elevage.com/>)

	Embryons transférés « en frais »	Embryons transférés congelés	Observation
Fécondation <i>in vivo</i> (IVD)	60%	50%	
Fécondation <i>in vitro</i> (IVP)	55%	45%	Réduction mineure après IA avec semence sexée - 5%

Question de Xavier Montagutelli

Pour être également pragmatique, deux courtes questions : - quels sont les coûts de ces transferts chez les bovins? et - l'activité actuelle en 2024 en France est-elle stable ou en augmentation comme le schéma général présenté dans tes diapositives semblait l'illustrer mais pour le monde entier ?

Réponse de Michel Thibier

Pour les prix, voici les coûts moyens actuels en 2024 en France :

- transfert dans la ferme d'un embryon : 200 € (collecte et transfert),
- mise en place d'un embryon acheté à l'extérieur par l'éleveur : 70 €,
- prix d'achat d'un embryon de haute valeur génétique sur le marché, de l'ordre de 400 à 500 €.

Pour mémoire le prix de la mise en place de l'IA est de l'ordre de 35 €, une dose de semence de haute valeur génétique : 40 à 100 € et le prix moyen de la semence sexée : 70 - 80 €. Quant à l'activité actuelle du TE en France, elle est en augmentation annuelle de 10% grâce au progrès génétique induit. Les dernières statistiques (AETE 2023) pour la France et les bovins en 2022 sont de : 6 322 collectes, 29 827 IVD embryons transférés (avec un taux de 5,3 embryons/collecte) et 4 719 IVP embryons transférés. La France est le premier pays européen en nombre de transferts (<https://www.aete.eu/publications/statistics/>).

