

## Transfert embryonnaire chez les bovins avec référence particulière à l'interaction embryons-agents pathogènes \*

M Thibier, M Nibart

UNCEIA, 13, rue Jouët, BP 65, 94703 Maisons-Alfort, France

(Reçu le 31 mai 1991; accepté le 17 juillet 1991)

**Résumé** — Le transfert d'embryons chez les bovins constitue la deuxième génération de biotechnologies de la reproduction après celle de l'insémination artificielle. Elle a atteint désormais sa maturité et son développement se chiffre de par le monde par centaines de milliers, mettant ainsi cet «outil» à la disposition potentielle de tous les éleveurs où qu'ils se trouvent. Son développement est cependant radicalement limité par son «rapport qualité-prix» défavorable, comparé à celui de l'IA. L'Europe voit néanmoins la mise en œuvre de cette technique croître régulièrement d'année en année. Ainsi en 1989 et selon les statistiques de l'AETE (1990), plus de 25 000 femelles ont été collectées en Europe et plus de 105 000 embryons transférés, non comprises les données d'URSS. La France représente à elle seule plus du quart de l'activité européenne. En regard de ce développement quantitatif, les résultats mesurés, par exemple en termes de veaux nés par transfert, ne progressent plus, et sur le terrain, c'est à peine 3 veaux en moyenne par vache donneuse et par traitement qui naissent. La limite moyenne et la variabilité du nombre d'embryons collectés constituent toujours le facteur limitant majeur de cette activité. La technique du transfert embryonnaire a, en revanche, 2 avantages majeurs à son actif :

- elle a contribué à engendrer les biotechnologies de la reproduction de 3<sup>e</sup> génération (sexage d'embryons, fécondation *in vitro* et reprogrammation nucléaire) et
- elle permet l'échange de gènes à travers le monde dans des conditions de haute sécurité sanitaire. Pour atteindre cette dernière qualité, un certain nombre de règles doivent être appliquées. En particulier pour donner toute garantie à l'éleveur de l'absence d'apport d'éléments pathogènes concomitamment aux embryons, garantie qu'il exige légitimement, il est impératif que seules des équipes agréées par les services vétérinaires officiels aient la responsabilité de telles opérations. Ces équipes engagent ainsi leur compétence, leur parole et le diplôme de leurs responsables. Divers travaux effectués récemment ou en cours, montrent que la surveillance sanitaire des embryons produits par FIV puis transplantés, doit aussi être assurée. De tels embryons, dans des conditions expérimentales particulières sont en effet susceptibles d'adsorber des agents pathogènes tels que le BHV1. En conclusion, la transplantation embryonnaire permet désormais de fournir à un quelconque éleveur n'importe quel gène de son choix, où qu'il se trouve sur la planète sans risques sanitaires. L'outil technique doit cependant être encore amélioré pour engendrer un nombre de veaux par femelle et par traitement plus élevé afin que la population bovine puisse plus pleinement profiter de cette deuxième génération de biotechnologies de la reproduction.

**bovin / manipulation / transfert d'embryon / agent pathogène**

---

\* Une partie de la présente communication provient de la revue de Thibier M (1990)

**Summary — Embryo transfer in the bovine, with special reference to embryo–pathogen interaction.** Embryo transfer (ET) constitutes the second generation of reproductive biotechnologies, artificial insemination (AI) being the first generation. In the bovine, ET has reached its maturity and its development is now in the order of hundreds of thousands around the world. This "tool" is now potentially at the disposal of every breeder in the world. However, its further development is limited by its unfavourable cost effectiveness ratio when compared to AI. In spite of this, the ET industry is steadily increasing in Europe. In 1989, according to the figures released by the AETE (1990), over 25 000 females were collected in Europe and > 105 000 embryos transferred; these figures did not include data from the former USSR, which were not available. On its own, France ranks first with > 25% of the European activity. When compared to the above-mentioned figures, it is striking to note that the numbers of, so-called transferable embryos and calves born per donor cow have remained almost identical for the last 10 yr or so. This mean limitation, combined with a wide and unpredictable variability in the number of calves per donor, is still the major limiting factor of this industry. By contrast, ET has made 2 types of major achievement:

– a critical contribution to the third generation of reproductive biotechnologies (embryo sexing, in vitro fertilization, nuclear reprogramming, etc); and

– it has allowed gene exchange all over the world, under strict sanitary supervision, ie provided that a certain number of conditions at the time of embryo collection and embryo in vitro processing are fulfilled. The basic concept of this sanitary surveillance is that of an officially approved embryo transfer team. Such a team is committed to a certain number of actions, related to competence, equipment, procedures and quality controls. Several recent studies have shown that in vitro fertilized and produced embryos should also be submitted to strict sanitary control. Under particular experimental circumstances, it has been shown that such IVF embryos could be associated with BHV1. In conclusion, ET allows, from now on, any farmer around the world to have access to any gene present on earth with no fear or restriction due to health hazards. This indeed is a major achievement. However, it is clear that some progress remains to be made in order to improve the number of offsprings per donor. It is the only condition to a further implementation of this technology, the second generation of reproductive biotechnologies.

#### **embryo transfer / bovine / manipulation / pathogen**

## **INTRODUCTION**

Le transfert d'embryons constitue la deuxième génération de biotechnologies de la reproduction après celle de l'insémination artificielle. Le début de son utilisation sur le terrain remonte à la première moitié des années 1970, elle a donc à ce jour une quinzaine d'années d'existence.

## **ÉVOLUTION ET FACTEURS LIMITANTS**

Sa diffusion s'est désormais élargie à l'ensemble de la planète (Thibier, 1987) et représente environ 300 000 transferts en

1990. L'Europe occidentale transfère approximativement autant d'embryons que l'Amérique du Nord, les statistiques de l'AETE montrent qu'un peu plus de 105 000 embryons ont été transférés en Europe (URSS exclue) en 1989 (tableau I). La France occupe la première place de ce dernier ensemble, avec plus de 25 000 embryons transplantés dont 55 % à l'état frais.

En regard de cette évolution, les résultats du nombre moyen d'embryons produits par vache et par traitement ne progressent plus. Dans des conditions très favorables, on peut espérer en moyenne 6 embryons transférables par traitement conduisant alors à près de 4 veaux nés.

**Tableau I.** Nombre d'embryons transférés et taux de transfert d'embryons frais (AETE, 1990). Ce taux a été calculé en excluant les embryons congelés importés. Le nombre de transferts conduit à environ 4,11 embryons transférés par donneuse collectée.

Pays	Nombre de transferts	Taux de transfert en frais (%)
Allemagne ex-RFA	17 564	67
Allemagne ex-RDA	7 547	100
Belgique	2 196	56
Danemark	3 718	74
Espagne	663	68
Finlande	370	45
France	25 788	55
Grèce	47	57
Irlande	3 384	47
Italie	3 297	63
Lituanie	280	30
Norvège	471	54
Pays-Bas	10 045	44
Pologne	2 216	83
Royaume-Uni	7 231	51
Tchécoslovaquie	21 682	89
Total	106 499	67

Mais il s'agit là de conditions exceptionnelles. Sur le terrain, il en va différemment; plus cette technique tend à diffuser, plus les résultats moyens tendent à régresser, c'est ainsi qu'une enquête en cours portant sur près de 4 000 femelles collectées, laisse apparaître un nombre d'embryons utilisables de 4,2 par traitements soit à peine plus des 2/3 des 6 espérés, en regard d'une valeur de 4,7 pour un échantillonnage voisin une année auparavant.

Ces observations pèsent de tout leur poids sur la «rentabilité» de cette technique et il faut bien admettre qu'il n'y a pas d'espoir de progrès importants sur cette superovulation *in vivo*.

Un des moyens de dépasser ces facteurs limitants est de recourir aux techniques de troisième génération que le trans-

fert embryonnaire a contribué à faire progresser et dans le cas présent, celle relative à la fécondation *in vitro* (Marquant-LeGuienne et Humblot, 1992).

Au plan sanitaire et dès le début des années 1970, alors même que l'activité de transfert embryonnaire naissait à peine, la communauté scientifique vétérinaire s'est interrogée sur les risques de dissémination d'agents pathogènes liés à ces déplacements originaux d'êtres vivants que constituent les embryons. Il est tout à fait remarquable qu'en moins de 15 ans, et grâce à l'excellence de la plupart des travaux portant sur ce sujet, la communauté scientifique vétérinaire ait pu établir une doctrine recueillant un consensus quasi général. Sous certaines conditions, économiquement supportables, le transfert embryonnaire constitue bien le moyen le

plus sûr au plan sanitaire d'échanges de gènes. Ceci est un argument très favorable, au développement de la technique et il nous apparaît essentiel de bien maîtriser cet aspect sanitaire des manipulations.

Nous développerons dans la deuxième partie de cet exposé quelques points relatifs aux questions sanitaires.

### **INTERACTION EMBRYONS – AGENTS PATHOGÈNES**

Les propriétés biologiques de l'embryon au cours de son début de développement, dans l'oviducte puis dans l'utérus jusqu'à son éclosion, lui confèrent un statut tout à fait particulier vis-à-vis des agents externes. C'est ainsi qu'on peut qualifier l'embryon, d'entité propre et distincte des collections gamétiques tel que le sperme ou des animaux vivants, en termes épidémiologiques.

Les risques de contamination de l'embryon sont de 6 ordres et sont illustrés sur la figure 1. La période dite «*in vitro*» de son cheminement entre l'utérus de la femelle donneuse et celui de la receveuse constitue la phase «sensible». Elle doit permettre tout à la fois d'éliminer toute présence éventuelle d'agents saprophytes ou pathogènes et surtout d'éviter d'en apporter de l'extérieur.

La considération de ces règles épidémiologiques conduit logiquement à «focaliser» la surveillance sanitaire sur cette phase *in vitro* qui devient alors directement sous la responsabilité de l'homme, en l'occurrence le praticien chargé de ces manipulations. C'est, on le voit, un véritable changement d'attitude dont il s'agit en matière de surveillance sanitaire et vétérinaire où l'essentiel de l'attention a toujours porté jusqu'ici sur l'individu animal, vivant ou carcasse.

Pour s'assurer de l'efficacité de cette surveillance sanitaire, le concept d'un «agrément officiel d'équipes de transfert embryonnaire» apparaît particulièrement séduisant. C'est ce qui a été retenu par les instances internationales compétentes, par le législateur français et plus récemment par les autorités de tutelle de la CEE.

Les 4 conditions que doivent remplir de telles équipes pour être agréées sont les suivantes:

- compétence, un docteur-vétérinaire doit être le responsable technique de l'équipe,
- adéquation du matériel et séparation nette des locaux dits «propres» (manipulation des embryons) de ceux dits «sales» (contacts avec les animaux),
- engagement personnel et solennel de suivre toutes les recommandations de manipulation des embryons (lavages, etc.),
- accord formel de soumission de l'équipe à un contrôle de qualité *a posteriori* portant sur la recherche des éléments pathogènes éventuellement présents dans l'environnement immédiat des embryons.

Pour le cas particulier des embryons fécondés *in vitro*, il a été montré récemment que la surveillance sanitaire était également indispensable car on pouvait retrouver dans des circonstances certes expérimentales, du virus BHV1 associé à des embryons au stade de blastocystes issus de fécondation *in vitro* (Guérin *et al*, 1989; 1990).

### **CONCLUSION**

Cette technique de deuxième génération présente donc un certain nombre d'atouts qui expliquent sa diffusion. Ses avantages sanitaires, aussi sensibles au plan national (cas de sauvegarde de gènes dans des troupeaux affectés de maladies entraînant l'abattage des animaux) qu'international

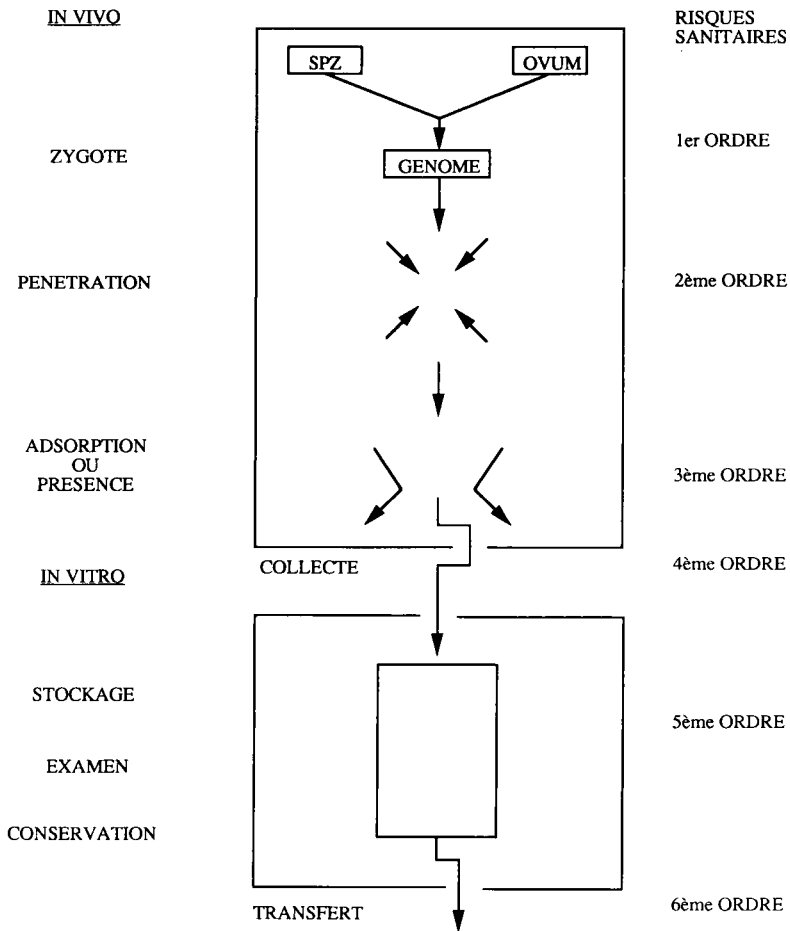


Fig 1. Types de risques de contamination sanitaire des embryons.

(non justification des barrières protectionnistes) constituent les vertus cardinales de cette technique. Elle a, parmi d'autres qualités, celle d'avoir aussi engendré un ensemble d'autres biotechnologies de la reproduction qui constituent la troisième génération, capables d'élargir encore le choix des modes de reproduction futurs.

## RÉFÉRENCES

- Guérin B, Le Guenne B, Chaffaux S, Harlay T, Allietta M, Thibier M (1989) Contamination des ovocytes et des embryons fécondés *in vitro* après infection expérimentale de vaches donneuses par le virus herpes bovin 1 (BHV1). *Rec Med Vet* 165, 827-833

- Guérin B, Marquant-Le Guienne B, Allietta M, Harlay T, Thibier M (1990) Effet de la contamination par le BHV1 sur la maturation et la fécondation *in vitro* des ovocytes de bovins. *Rec Med Vet* 166, 911-917
- Marquant-Le Guienne B, Humblot P (1992) Test de fertilité chez l'animal domestique par fécondation *in vitro*. *Ann Zootech* 41, 359-368
- Thibier M (1987) Diffusion et intérêt du transfert embryonnaire en Europe occidentale - *In: International embryo movement Proc symp IETS in conjunction with 33rd World Vet Congr*, Montréal, 103-112
- Thibier M (1990) Le transfert embryonnaire : le moyen le plus sûr, au plan sanitaire, d'échanges de gènes. *In : 6<sup>e</sup> réunion AETE*, Fond. M Mérieux, Lyon, 67-81