

Le directeur général

Maisons-Alfort, le 13 juillet 2017

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif aux conditions sanitaires des juments donneuses, requises pour satisfaire les conditions d'agrément des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons équins hors échanges.

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses a été saisie le 1^{er} février 2017 par la Direction générale de l'Alimentation (DGAL) d'une demande d'avis relatif aux conditions sanitaires des juments donneuses, requises pour satisfaire les conditions d'agrément des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons équins hors échanges.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Actuellement des dispositions spécifiques existent dans les centres de collecte de sperme dont le sperme est destiné au marché national, telles que décrites dans l'arrêté du 4 novembre 2010 fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme d'équidés et les conditions sanitaires d'échanges intra-communautaires de sperme d'équidés. Les protocoles de dépistage de l'anémie infectieuse des équidés (AIE), de l'artérite virale des équidés (AVE) et de la métrite contagieuse des équidés (MCE) sont moins exigeants que ceux qui sont conformes aux dispositions prévues par l'annexe D de la directive 92/65/CEE du Conseil du 13 juillet 1992. Ils conduisent à la délivrance d'agrément nationaux, ne permettant pas les échanges de sperme au niveau intracommunautaire.

Ces dispositions spécifiques, bien que n'ayant pas fait l'objet de saisine formelle à l'Anses, sont historiques et prévues par le code rural et de la pêche maritime dans son article R.222-11. Elles avaient été validées par la DGAL à la demande des professionnels au regard de la situation sanitaire en France vis-à-vis des 3 maladies citées plus haut, tant pour alléger la charge économique des tests que pour simplifier les conditions d'agrément.

Une réunion avec la DGAL, la Direction générale de la performance économique et environnementale des entreprises (DGPE), l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation (IFCE), l'Anses, des représentants des haras et des professionnels de la production des produits germinaux équin s'est tenue le 18 février 2016 à la DGAL dont l'objectif premier était de discuter des propositions de révision de l'arrêté équin fixant les conditions d'agrément sanitaire de centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés et d'échanges intracommunautaires de produits germinaux d'équidés.

Lors de cette réunion, les professionnels ont demandé que dans ce projet, soient introduits des dispositions du même type pour les agréments des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons, à savoir des agréments à des fins d'échanges, et des agréments à des fins nationales, pour les mêmes raisons que celles évoquées plus haut.

Pour mémoire, l'arrêté du 11 mars 1996 fixant les conditions sanitaires requises pour les échanges intracommunautaires d'ovules et d'embryons de l'espèce équine reprenaient bien l'ensemble des dispositions prévues par l'annexe D de la directive 92/65/CEE, jusqu'à ce que le règlement (UE) N°176/2010 de la Commission du 2 mars 2010 introduise deux nouvelles dispositions sanitaires pour les juments donneuses, l'une quant à la recherche de l'AIE et l'autre quant au dépistage de la MCE.

L'arrêté du 11 mars 1996 est toujours en vigueur, alors que le règlement (UE) N°176/2010 de la Commission s'applique. Il convient donc pour la DGAL de réviser à court terme l'arrêté équin fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés et d'échanges intra-communautaires de produits germinaux d'équidés. Les dispositions de l'arrêté du 11 mars 1996 seront reprises dans ce projet d'arrêté. Toutefois, si en miroir des agréments de centres de collecte de sperme, des agréments distincts « échanges » et « marché national » pour les équipes de collecte ou de production d'ovules et d'embryons sont prévus, des dispositions sanitaires pour les juments donneuses restent à définir dans ce cadre sur le plan national.

Il est à noter que les agréments de type « marché national » pour les équipes de collecte ou de production d'ovules et d'embryons, s'ils sont validés par la DGAL, permettront de recourir à des doses de sperme d'étalon destinés au marché national. A cet égard, les protocoles de dépistage de l'AIE et de la MCE de ces étalons donneurs définis dans l'arrêté du 4 novembre 2010 sont moins exigeants que ceux qui sont définis dans l'annexe D de la directive 92/65/CEE.

La demande faite à l'Anses vise à :

- Evaluer la pertinence des protocoles de dépistage actuellement requis pour les étalons dans le cadre du marché national de semences quant à la recherche de l'AIE, AVE et la MCE au regard des exigences imposées pour les échanges.
- Recommander des dispositions sanitaires minimales pour les juments donneuses, dont les ovules et les embryons sont destinés uniquement au marché national, quant à la recherche de l'AIE et la MCE, au regard des exigences imposées pour les échanges.

Ces questions sont posées en vue de la révision de l'arrêté fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés et d'échanges intra-communautaires de produits germinaux d'équidés.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

Cette expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) ».

L'expertise collective a été réalisée par le comité d'experts spécialisé (CES) « Santé et bien-être des animaux » (CES SABA) sur la base d'un rapport initial rédigé par trois rapporteurs entre mars et juin 2017. Les rapporteurs ont échangé à plusieurs reprises par téléphone entre avril et juin 2017. Les travaux ont été présentés au CES SABA tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques les 13 juin et 4 juillet 2017.

L'Anses analyse les liens d'intérêts déclarés par les experts avant leur nomination et tout au long des travaux, afin d'éviter les risques de conflits d'intérêts au regard des points traités dans le cadre de l'expertise.

Les déclarations d'intérêts des experts sont rendues publiques *via* le site internet de l'Anses (www.anses.fr).

Pour leur expertise, les experts se sont appuyés sur :

- les données sanitaires contenues dans la base du Système d'Information Relatif aux Equidés (SIRE) gérée par l'Institut Français du Cheval et de l'Équitation (IFCE)
- les données sanitaires détenues par les Laboratoires Nationaux de Référence (LNR) pour l'Anémie Infectieuse des Equidés (AIE), l'Artérite Virale Equine (AVE) et la Métrite Contagieuse Equine (MCE)
- les informations obtenues par l'IFCE et/ou les LNRs suite à la réalisation d'enquêtes épidémiologiques dans des foyers détectés d'AIE, AVE ou MCE
- les informations obtenues par le Réseau d'Epidémiologie-Surveillance en Pathologie Equine (RESPE) suite à la mise en place d'une cellule de crise dans des foyers détectés d'AVE
- les arrêtés et autres textes réglementaires cités en fin d'Avis
- la bibliographie citée en fin d'Avis.

3. ANALYSE ET CONCLUSIONS DU CES SABA

3.1. Réponse à la première question de la saisine

Dans la première question, il est demandé à l'Anses d'évaluer la pertinence des protocoles de dépistage actuellement requis dans le cadre du marché national de semences quant à la recherche de l'anémie infectieuse des équidés, l'artérite virale équine et la métrite contagieuse équine au regard des exigences imposées pour les échanges (chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE).

L'objectif des experts est de vérifier l'adéquation des protocoles de dépistage actuellement en vigueur avec la situation épidémiologique connue en France chez les reproducteurs pour les 3 maladies contrôlées AIE, AVE et MCE. Ils formuleront si nécessaire des recommandations afin d'améliorer les garanties sanitaires mais sans viser le même niveau d'exigences que celui requis pour les échanges intracommunautaires.

3.1.1. Analyse des textes réglementaires

Dans un premier temps, il est apparu utile d'analyser les textes réglementaires européens (Directive 92/65/CEE, Règlement (UE) N°846/2014) et national (arrêté du 4 novembre 2010) afin d'identifier les principales différences entre ces textes.

Les différences d'intérêt relevées sont :

- Selon les dispositions de l'arrêté du 4 novembre 2010 (alinéas a), b) et c), paragraphe 2, chapitre B de l'annexe II), les méthodes suivantes sont autorisées pour le contrôle des étalons avant leur admission dans le centre de collecte :
 - pour l'AIE, une seule méthode sérologique, l'immunodiffusion en gélose ou test de Coggins ;
 - pour l'AVE, une méthode sérologique, la séroneutralisation, et une méthode de détection du virus, l'isolement viral ; par ailleurs, tout autre épreuve sérologique ou virologique autorisée par le Ministère en charge de l'agriculture peut être utilisée ;
 - pour la MCE, une épreuve de diagnostic bactériologique (culture bactérienne selon la norme AFNOR U47-108).

Le règlement (UE) N°846/2014 dans le paragraphe 2, alinéa a) de son annexe modifie le paragraphe 1.5, point I, chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE et autorise les méthodes diagnostiques supplémentaires suivantes :

- pour l'AIE, l'ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) en tant que méthode de diagnostic sérologique,
 - pour l'AVE, la PCR (*polymerase chain reaction*) conventionnelle ou temps réel pour la détection du génome viral,
 - pour la MCE, la PCR conventionnelle ou temps réel pour la détection du génome de la bactérie.
-
- Les exigences sanitaires pour l'admission des étalons dans les centres de collecte sont allégées (nombre de tests diagnostiques, nombre d'échantillons, fréquence des tests) dans l'arrêté du 4 novembre 2010 (chapitre B de l'annexe II) relativement au règlement (UE) N°846/2014 (alinéa a) paragraphe 2 de l'annexe modifiant le paragraphe 1.5 point I chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE).
 - En ce qui concerne l'AVE, l'arrêté du 4 novembre 2010 (alinéa b), paragraphe 2, chapitre B de l'annexe II) prévoit deux dérogations relatives aux étalons positifs à l'un des deux tests diagnostiques autorisés : l'une concerne les étalons séropositifs valablement vaccinés qui ne sont pas soumis aux épreuves sérologique et virologique et l'autre, certains étalons excréteurs qui peuvent être utilisés en insémination artificielle (IA) sous réserve du caractère non pathogène de la souche et d'un protocole technique précis qui prévoit notamment la mise en place des doses dans un groupe fermé de juments séropositives. Ces dérogations ne sont pas autorisées par les textes européens.
 - Contrairement à la disposition de l'alinéa a) du paragraphe 2 de l'annexe du règlement (UE) N°846/2014 modifiant le paragraphe 1.5, point I, chapitre II, annexe D de la directive

92/65/CEE, l'arrêté du 4 novembre 2010 ne donne aucune précision en ce qui concerne le statut des laboratoires qui sont autorisés à réaliser les analyses prévues aux alinéas a), b) et c) du paragraphe 2 du chapitre B de l'annexe II.

- En raison de l'exclusion de l'alinéa a), paragraphe 1.1, partie II, chapitre I de l'annexe D de la directive 92/65/CE, l'arrêté du 4 novembre 2010 n'impose aucune condition vis-à-vis de l'AVE et la MCE pour les exploitations dans lesquelles sont détenus, au cours des trente jours précédant l'entrée dans le centre de collecte, aussi bien les étalons donneurs que les équidés utilisés dans le cadre de la monte naturelle qui peuvent être hébergés en même temps que lui dans le centre de collecte.
- L'arrêté du 4 novembre 2010, contrairement aux dispositions à l'alinéa b) du paragraphe 2 de l'annexe du règlement (UE) N°846/2014 modifiant le paragraphe 1.6, point I, chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE, n'impose aucune restriction en ce qui concerne les mouvements des étalons hors du centre de collecte pendant la saison de monte et leur durée, et n'impose pas non plus de mesures de contrôle lors du retour des étalons dans le centre de collecte en cours de saison de monte ; le protocole de tests n'étant pas modifié en conséquence.
- Dès lors que le résultat de l'un des tests réalisés avant la première collecte ou la saison de monte, est positif pour un étalon, l'arrêté du 4 novembre 2010, contrairement aux dispositions de la directive 92/65/CE, chapitre II, point I, paragraphe 1.7, n'impose aucune mesure en ce qui concerne le devenir des lots de sperme de cet étalon et des lots de sperme des autres étalons stationnés dans le même centre de collecte, produits entre la date du dernier test négatif pour la maladie considérée et le test positif.
- Dans l'arrêté du 4 novembre 2010 (annexe I, chapitre B, paragraphe 2), l'exclusion de l'alinéa a), paragraphe 1.1, partie II, chapitre I de l'annexe D de la directive 92/65/CEE et le maintien de l'alinéa b) paragraphe 1.2, partie II, chapitre I de l'annexe D de la directive 92/65/CEE, introduisent une ambiguïté sur la possibilité ou non, pour les équidés destinés à la monte naturelle et stationnés dans le centre de collecte, d'avoir été utilisés en monte naturelle dans les trente jours précédant la collecte et d'être utilisés en monte naturelle pendant la période de collecte.

Après avoir analysé les principales différences entre les textes réglementaires européens (directive 92/65/CEE, règlement (UE) N°846/2014) et l'arrêté national du 4 novembre 2010, les experts ont souhaité évaluer l'impact sanitaire des dispositions de dépistage allégées pour les étalons dont la semence est destinée au marché national et étudier la pertinence de leur maintien ou leur évolution au regard de la situation sanitaire des reproducteurs et des pratiques de monte en France.

3.1.2. Evaluation de l'efficacité des protocoles actuels de dépistage de l'AIE, l'AVE et la MCE au regard de la probabilité d'infection des étalons entre deux contrôles sanitaires et de la situation épidémiologique

De manière générale, pour les trois maladies, l'infection des étalons entre deux contrôles peut résulter, d'une part, des contacts avec des équidés de statut sanitaire inférieur lors de leurs sorties du centre de collecte et, d'autre part, des contacts avec les autres équidés de statut sanitaire inférieur qui sont hébergés en même temps qu'eux dans le centre de collecte et qui peuvent également se déplacer sans contrainte et sans condition de réadmission.

Les experts ont examiné les conséquences sanitaires de ces situations et également, pour l'AVE, de dangers plus spécifiques liés aux dérogations prévues dans l'arrêté du 4 novembre 2010 (annexe II, chapitre B, paragraphe 2, alinéa b)) en analysant les données épidémiologiques disponibles pour les trois maladies dans la population des reproducteurs français.

- **En ce qui concerne l'AIE**, l'intervalle entre deux tests sérologiques est de 3 ans.

Dans la mesure où le portage inapparent du virus est fréquent, y compris suite à une primo-infection, la réintroduction d'un étalon infecté dans un centre de collecte est possible.

Cependant, les données collectées semblent montrer que cette situation ne s'est jamais produite au moins au cours des dix dernières années.

Chaque année, environ 25% d'étalons sont testés vis-à-vis de l'AIE dans le cadre de la monte et 37% en 2016 (2 483/6 799). Au cours des dix dernières années, un seul étalon a été identifié comme séropositif suite à un dépistage initial dans le cadre de la monte par insémination artificielle. Il s'agissait d'un étalon de race Frison diagnostiqué en 2014 dans le Var (données du LNR).

Ce dépistage obligatoire a permis d'éviter l'admission de cet étalon infecté dans un centre de collecte. Par ailleurs, au cours de la même période, aucun des étalons testés à un rythme triennal suite à un dépistage initial négatif, n'a été diagnostiqué positif pour l'AIE (données du LNR).

En conclusion, les données disponibles chez les étalons testés dans le cadre de la monte par insémination artificielle au cours des dix dernières années semblent montrer que les exigences sanitaires du dispositif national sont en adéquation avec la situation sanitaire de la population équine française vis-à-vis de l'AIE et ont permis d'éviter l'introduction d'étalons infectés par l'AIE dans les centres de collecte de semence, ainsi que la collecte et la commercialisation de leur sperme.

- **En ce qui concerne l'AVE**, les tests sérologiques et/ou virologiques sont réalisés annuellement.

Seuls les étalons valablement vaccinés contre l'AVE (vaccination réalisée par un vétérinaire sanitaire selon les prescriptions de l'autorisation de mise sur le marché du vaccin) ne sont pas soumis à l'obligation de tests sérologique et virologique annuels.

Cependant, la probabilité de diffusion virale dans le cadre de la monte par IA du fait de cette dérogation est apparue très faible. En effet, le nombre d'étalons vaccinés et dont le sperme n'est pas contrôlé malgré leur séropositivité, est limité. Entre 2012 et 2017, seulement 50 étalons exploités en IA ont été enregistrés comme vaccinés contre l'AVE dont environ 30% ont fait l'objet de tests sérologique ou virologique annuels. Plus précisément, en 2016, sur 169 étalons vaccinés contre l'AVE, seuls 26 appartenaient à des races dont le studbook autorise la monte par IA (soit 0,04% de la population d'étalons pouvant servir en IA). Par ailleurs, selon les données disponibles en France à ce jour, aucun cas d'excrétion virale dans le sperme chez un étalon correctement vacciné n'a été identifié.

L'autre dérogation prévue par l'arrêté du 4 novembre 2010 concerne certains étalons excréteurs qui sont autorisés à faire la monte dans des conditions particulières, mentionnées dans l'arrêté mais précisées par note de service (caractère non pathogène de la souche virale établi par le LNR, mises en place dans un groupe fermé de juments séropositives). Compte tenu de la lourdeur des conditions de monte à mettre en place, cette dérogation n'a été appliquée jusqu'à présent qu'à un petit nombre d'étalons, principalement des mâles de haute valeur génétique, et aucune dérogation n'a été accordée depuis au moins 4 ans. Par ailleurs, chaque demande de dérogation fait l'objet d'un examen au cas par cas impliquant à la fois la commission de stud-book de la race de l'étalon et les autorités sanitaires. Ces dérogations ont donc vocation à rester exceptionnelles ; les experts ont estimé que leur rôle dans la diffusion virale était très limité.

En ce qui concerne les autres étalons non vaccinés et soumis à un dépistage annuel, tout cas d'infection contractée en cours de saison de monte, notamment à l'occasion d'une sortie du centre de collecte, ne sera pas diagnostiqué avant le début de la saison de monte suivante et après le 1^{er} décembre. Si l'étalon est réintroduit dans le centre de collecte au cours de la même saison de monte, il peut faire l'objet d'une nouvelle collecte avant cette date. Les lots de semence produits avant le dépistage suivant peuvent être considérés comme potentiellement contaminés et, le cas échéant, pourraient ainsi favoriser la transmission virale. Actuellement, aucune mesure n'est prévue pour éviter la commercialisation et la mise en place de ces lots de semence qui peuvent être considérés comme potentiellement contaminés.

Pour vérifier la capacité des dispositions réglementaires actuelles à contrôler la transmission virale par le sperme dans le contexte de ces situations et pratiques, les experts se sont appuyés sur les données épidémiologiques disponibles. Ces données sanitaires sont principalement issues de la base du Système d'Information Relatif aux Equidés (SIRE) gérée par l'IFCE ou ont été fournies par le LNR.

Au cours des quarante dernières années, une seule véritable épizootie d'AVE touchant le secteur de l'élevage s'est produite en 2007 dans l'ouest de la France. A cette occasion, un dépistage systématique a été effectué sur les étalons des Haras Nationaux. Seize étalons situés dans la zone géographique touchée par l'épizootie (grand ouest, notamment Haute et Basse Normandie) ont été dépistés excréteurs dont 12 qui n'étaient pas de race PS. Sur 568 étalons qui n'étaient pas stationnés dans cette zone, 26% (150) étaient séropositifs et chez 5% (29), le virus était présent dans la semence. Ces derniers regroupaient des chevaux de trait (48%), des poneys (14%) et des chevaux de sang (38%). Ils ont été interdits de monte et une

majorité d'entre eux a été définitivement exclue de la reproduction suite à leur castration (Ferry *et al.* 2008).

Depuis cette épizootie et l'introduction d'un dépistage annuel obligatoire de l'AVE dans les exigences sanitaires relatives aux étalons servant en IA et en monte naturelle dans de nombreuses races françaises, environ 3 000 étalons subissent chaque année des tests diagnostiques pour l'AVE soit 37,5% des étalons en service. En 2016, ce pourcentage a atteint 58% (3 945/ 6 799).

Au cours des 6 dernières années, et à l'exception de 2015, un à plusieurs (maximum 5) étalons ont été détectés positifs chaque année, soit un total de 11 étalons (0,2% maximum d'étalons positifs par an). Sur ces 11 étalons, 7 étaient utilisés pour l'insémination artificielle (0,1%).

Ces résultats montrent que, depuis 2011, au moins un étalon est diagnostiqué séropositif et excréteur du virus de l'AVE dans sa semence, tous les deux ans. Aussi, est-il apparu utile d'examiner l'impact sanitaire de ces cas positifs dans la population des poulinières contrôlées vis-à-vis de l'AVE dans le cadre de la monte.

Avec environ 10 000 juments testées chaque année sur environ 80 000 poulinières en service, le taux de dépistage de l'AVE chez les juments mises à la reproduction est estimé à 12,5%.

L'étude de Amat *et al.* a mis en évidence 239 cas et 177 foyers détectés d'AVE chez les poulinières entre 2006 et 2013 (soit environ 30 cas par an) (Amat *et al.* 2016). Les juments testées pour l'AVE dans le cadre de la monte sont en grande majorité de races Pur-Sang (PS) et Autre Que Pur-Sang (AQPS, chevaux de course de galop issus des croisements entre le PS et d'autres races). Ces juments sont saillies en monte naturelle par des étalons PS qui sont contrôlés annuellement vis-à-vis de l'AVE. Malgré la mise en place d'un contrôle strict des reproducteurs dans ces races vis-à-vis de l'AVE, ces résultats témoignent de la circulation du virus chez les juments PS et AQPS et en particulier, du rôle joué par la voie respiratoire dans la contagion dans la mesure où la probabilité de transmission par la semence est réduite dans cette population. Plus globalement, ils confirment la nécessité du contrôle des étalons, principaux acteurs de la diffusion virale, pour limiter le nombre de cas d'AVE enregistrés chaque année.

Par ailleurs, depuis 2007, un seul foyer clinique d'AVE a été identifié : il a été observé dans les Bouches-du-Rhône en 2011, s'est traduit par des résorptions embryonnaires, un cas de mortalité néonatale et un œdème des organes génitaux externes chez un étalon, et concernait des chevaux de race Lusitanien. La transmission virale était associée à la monte naturelle (données du RESPE et du LNR). Il convient de souligner que le règlement de stud-book de cette race n'impose aucun contrôle sanitaire pour les étalons servant en monte naturelle.

Malgré une circulation virale identifiée chez les juments PS et AQPS et vraisemblablement présente chez les poulinières des autres races, les foyers cliniques d'AVE demeurent rares.

Ce constat favorable peut être une conséquence du contrôle de tous les étalons servant en IA et des étalons d'un grand nombre de races françaises servant en monte naturelle.

En effet, les travaux de Hedges *et al.* suggèrent que les souches d'AVE évoluent significativement au plan génétique et phénotypique chez les étalons infectés de façon persistante alors qu'une relative stabilité génétique du virus est observée au cours des épizooties impliquant une transmission par voie respiratoire (Hedges *et al.* 1999). C'est donc chez le mâle que l'émergence de souches virales pathogènes a le plus de chance de se produire par accumulation de mutations au sein du génome viral lors des cycles réplicatifs

successifs. Ces résultats soulignent l'importance du contrôle de l'AVE chez les reproducteurs mâles pour limiter l'émergence et la diffusion de souches pathogènes.

En conclusion, ces données tendent à montrer que la situation épidémiologique de l'AVE chez les équidés utilisés pour la reproduction en France est satisfaisante et que le système de dépistage actuel de cette maladie pour le contrôle sanitaire de la monte par insémination artificielle est toujours adapté.

Certaines améliorations pourraient néanmoins y être apportées, notamment pour éviter i) la réadmission dans le centre de collecte et en cours de saison de monte d'un étalon malade et excréteur, et sa collecte et ii) la commercialisation et la mise en place des lots de semence qui auraient pu être produits entre le dernier test négatif et le test de dépistage positif d'un même étalon.

- **En ce qui concerne la MCE,** les tests diagnostiques bactériologiques sont réalisés annuellement avant la période de collecte et après le 1^{er} décembre précédant la saison de monte. La collecte et la commercialisation de semence infectée pourraient être consécutives à l'infection de l'étalon en cours de saison de monte à la faveur d'une sortie du centre de collecte. L'utilisation en monte naturelle est interdite à tout étalon admis dans un centre de collecte et pendant toute la période de collecte. L'infection, si elle a lieu, ne pourrait donc résulter que d'une contamination indirecte via du matériel, ou tout autre support, inerte ou non, ce qui reste une mode de contamination beaucoup moins efficace que la monte naturelle.

Cette probabilité d'infection semble limitée et maîtrisée. En effet, l'examen de la situation sanitaire des reproducteurs français, mâles et femelles, vis-à-vis de la MCE, montre une absence totale de cas positifs depuis février 2012 même si, selon les années, seulement 3,1 à 4,8% des étalons contrôlés dans le cadre de la monte entre 2012 et 2016 ont subi le protocole de tests exigé pour les échanges intracommunautaires de sperme (données SIRE et LNR).

Cependant, avant 2012, des échecs dans le protocole de dépistage de la MCE ont été identifiés chez des étalons Trotteur-Français (TF). L'enquête épidémiologique conduite alors par la Commission du Stud-Book du Trotteur Français dans les foyers survenus en 2008 et 2009 a montré que l'échec du dispositif de dépistage avait résulté de carences dans les modalités de traitement et de contrôle après traitement, chez des étalons précédemment détectés positifs et admis dans le centre de collecte suite à un test diagnostique négatif réalisé selon les dispositions de l'arrêté du 4 novembre 2010 (une seule épreuve diagnostique sur un seul site) (données IFCE).

En conclusion, compte-tenu de cette situation sanitaire favorable et de l'interdiction de monte naturelle pendant la période de collecte pour les étalons servant en IA, la probabilité d'infection par l'agent de la MCE en cours de période de collecte peut être considérée comme très faible.

Cependant, à la lumière des constats de l'enquête conduite par la Commission du Stud-Book du Trotteur Français dans les foyers identifiés en 2008 et 2009 chez des étalons TF, des modifications du dépistage de la MCE avant admission dans le centre de collecte pourraient être proposées pour des mâles précédemment identifiés comme infectés et traités.

3.1.3. Conclusions et recommandations des experts

3.1.3.1 Recommandations relatives à la pertinence des protocoles de dépistage et propositions de modification de l'arrêté (réponse à la question 1)

Après avoir examiné les dispositions de l'arrêté du 4 novembre 2010 relatives aux conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme d'équidés destiné au marché national au regard des exigences imposées pour les échanges par les textes européens (directive 92/65/CEE, règlement (UE) N°846/2014) et analysé la situation épidémiologique de l'AIE, AVE et MCE dans la population des étalons français, les experts n'ont pas jugé opportun de renforcer les conditions actuelles de dépistage de ces 3 maladies chez les étalons dont le sperme est destiné au marché national pour atteindre le même niveau d'exigences que celui requis pour les échanges intracommunautaires.

Ils considèrent en particulier que les dérogations admises pour l'AVE et relatives aux étalons séropositifs et vaccinés, et à certains étalons excréteurs dans des conditions définies, paraissent pouvoir être maintenues.

Néanmoins, ils ont identifié des points d'amélioration relatifs aux modalités de mise en œuvre de ces dépistages.

1- A la lumière des résultats de l'enquête épidémiologique conduite pour la Commission du Stud-Book du Trotteur Français suite à plusieurs foyers de MCE impliquant des étalons TF en 2008 et 2009, ils recommandent de modifier les conditions du dépistage annuel de la MCE chez les étalons ayant été détectés positifs lors du contrôle précédent et traités.

Ainsi, les mesures de dépistage de la MCE décrites à l'alinéa c) du paragraphe 2 chapitre B de l'annexe II devraient être complétées comme suit : *« les étalons ayant été détectés positifs pour la MCE lors d'un précédent contrôle et ayant reçu consécutivement un traitement, font l'objet d'un dépistage renforcé avant leur admission dans le centre de collecte selon les modalités décrites dans le paragraphe 2 de l'annexe du règlement (UE) N°846/2014 modifiant le paragraphe 1.5, point I, Chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE. »*

2- Dans un souci d'harmonisation avec les dispositions des textes réglementaires européens relatives aux méthodes diagnostiques autorisées et aux laboratoires agréés pour les pratiquer, ils formulent les recommandations suivantes :

- Dans le paragraphe 2, il conviendrait de modifier les alinéas a), b) et c) comme suit:
 - Pour le diagnostic de l'AVE, remplacer la mention « ou à toute autre épreuve virologique autorisée par le ministère chargé de l'agriculture » par « *ou de détection de son génome par PCR ou PCR temps réel...* »
 - pour le diagnostic de la MCE, ajouter les tests PCR et PCR temps réel comme des alternatives possibles au diagnostic bactériologique,
 - pour le diagnostic de l'AIE, ajouter le test ELISA comme méthode de diagnostic sérologique pouvant être autorisée en alternative à l'IDG,

En ce qui concerne la MCE et l'AIE, les ajouts respectifs des PCR/PCR temps réel et de l'ELISA sont motivés par un besoin d'harmonisation des techniques autorisées dans

l'Union Européenne (UE) mais également parce que ces méthodes présentent de réels avantages en matière de fiabilité, rapidité d'obtention et facilité de lecture des résultats relativement aux méthodes diagnostiques officielles de ces deux maladies.

La démarche de création d'un réseau français de laboratoires agréés pour le dépistage de la MCE par PCR est bien avancée avec une méthode PCR temps réel validée par le LNR et pouvant être transférée aux laboratoires candidats à l'agrément, la rédaction en cours d'un cahier des charges pour l'appel à candidature des laboratoires et la programmation par le LNR d'un essai inter-laboratoires d'aptitude (EILA) avant la prochaine saison de monte.

En revanche, en ce qui concerne le test ELISA pour le diagnostic sérologique de l'AIE, aucune démarche n'a été initiée par les autorités sanitaires. Il convient de préciser que le LNR AIE, également en charge des activités de Laboratoire de Référence de l'Union Européenne (LRUE) pour cette maladie, a déjà effectué dans ce cadre une évaluation comparative de différents kits diagnostiques ELISA et obtenu des résultats favorables pour plusieurs d'entre eux.

- Il conviendrait de préciser que les analyses de dépistage effectuées sur les étalons dans le cadre du contrôle de la monte par insémination artificielle sont réalisées par des laboratoires et avec des techniques et des kits diagnostiques agréés par le Ministère en charge de l'agriculture.

L'ajout de cette mention a paru utile car, sur le terrain, les détenteurs d'étalons font parfois l'objet d'un démarchage par des laboratoires non agréés pour des techniques diagnostiques non autorisées.

3.1.3.2. Recommandations ne portant pas sur les protocoles de dépistage mais visant à améliorer le niveau de garantie sanitaire

Le travail d'expertise conduit a souligné la possibilité d'infection associée aux sorties des étalons du centre de collecte et aux contacts avec les autres équidés de statut sanitaire inférieur qui sont hébergés en même temps qu'eux dans le centre de collecte et qui peuvent également se déplacer sans contrainte et sans condition de réadmission.

Il a également mis en évidence que, lorsque le résultat de l'un des tests réalisés avant la première collecte ou la saison de monte, est positif pour un étalon, l'arrêté du 4 novembre 2010 n'impose aucune mesure quant au devenir des lots de sperme de l'étalon concerné et des lots de sperme des autres étalons stationnés dans le même centre de collecte, produits entre la date du dernier test négatif pour la maladie considérée et le test positif.

Les experts ont estimé que ces lots de semence pouvaient être considérés comme potentiellement contaminés et donc que leur commercialisation et mise en place devaient être évitées.

Ainsi, les experts du CES SABA proposent les modifications suivantes de l'arrêté du 4 novembre 2010.

1- En ce qui concerne les étalons qui sont amenés à sortir du centre de collecte, le paragraphe 1 du chapitre B de l'annexe II pourrait être complété comme suit :

- « Dans le cas où des étalons sont amenés à sortir du centre de collecte, ils feront l'objet, à leur retour dans le centre, d'une surveillance clinique particulière de façon à garantir la

qualité sanitaire de la semence sous la responsabilité du vétérinaire sanitaire tout au long de la période de collecte ».

- A ce paragraphe 1 ainsi modifié, ajouter la disposition supplémentaire suivante :
« Si un étalon ou tout autre équidé présente des signes cliniques d'une maladie infectieuse lors du séjour au centre, cela est signalé au vétérinaire responsable du centre ».

2- Il conviendrait de rajouter un paragraphe sur les mesures à prendre sur les lots de semence dès lors que le résultat de l'un des tests réalisé sur un étalon est positif :

« En cas de résultat positif à l'un des tests décrits dans le paragraphe 2, chapitre B de l'annexe II :

- *L'étalon est isolé.*
- *Les propriétaires des doses de semence éventuellement produites depuis la dernière analyse négative en sont informés immédiatement.*
- *Ils sont tenus de détruire ces doses, à l'exception, pour l'AVE, des lots de doses (doses issues d'un même éjaculat) qui seraient reconnus exempts de virus suite à l'obtention d'un résultat négatif par l'un des tests virologiques autorisés.*
- *Le sperme collecté chez tous les autres étalons du centre de collecte de sperme à partir de la date de prélèvement du dernier échantillon ayant réagi négativement à l'un des tests prévus aux alinéas a) b) et c) paragraphe 2 chapitre B annexe II, est stocké dans des containers séparés et clairement distingués. Il ne fait pas l'objet d'expédition tant que le statut sanitaire du centre de collecte de sperme n'a pas été rétabli et que le sperme stocké n'a pas fait l'objet des enquêtes officielles appropriées permettant d'écartier toute risque de transmission par son intermédiaire des maladies mentionnées au paragraphe 2 du chapitre B de l'annexe II. »*

Les experts rappellent que si les paillettes congelées sont utilisées, car seuls échantillons disponibles, pour le contrôle rétroactif des lots de semence suite à un résultat positif à l'un des tests décrits dans le paragraphe 2, chapitre B de l'annexe II, ce conditionnement peut entraîner des difficultés de détection virale à la fois par isolement viral et par PCR. Il est donc incompatible avec la réalisation des tests diagnostiques de l'AVE avant l'admission des étalons dans les centres de collecte.

3.1.3.3 Autres recommandations

L'analyse de l'arrêté du 4 novembre 2010 (annexe I, chapitre B, paragraphe 2) a montré que l'exclusion de l'alinéa a), paragraphe 1.1, partie II, chapitre I de l'annexe D de la directive 92/65CEE alors que l'alinéa b), paragraphe 1.2, partie II, chapitre I de cette même annexe était maintenu, introduisait une ambiguïté sur la possibilité ou non, pour les équidés destinés à la monte naturelle et stationnés dans le centre de collecte, d'avoir été utilisés en monte naturelle dans les trente jours précédant la collecte et d'être utilisés en monte naturelle pendant la période de collecte.

Ainsi, les experts proposent, par souci de cohérence, d'exclure également l'alinéa b), paragraphe 1.2, partie II, chapitre I de l'annexe D de la directive 92/65/CEE.

3.2. Réponse à la seconde question de la saisine

La seconde question de la saisine vise à recommander des dispositions sanitaires minimales pour les juments donneuses, dont les ovules et les embryons sont destinés uniquement au marché national, quant à la recherche de l'AIE et la MCE, au regard des exigences imposées pour les échanges. Les experts ont étendu la réponse à la question à l'AVE.

3.2.1. Analyse des textes réglementaires européens et belges relatifs aux conditions applicables aux ovules et embryons et aux juments donneuses

Afin de formuler des recommandations sanitaires minimales pour les juments donneuses dont les ovules et les embryons sont destinés au marché national, les experts ont tout d'abord examiné les principales dispositions relatives aux juments donneuses inscrites dans les textes réglementaires, européens et belges.

- **Directive 92/65/CEE du Conseil (annexe D) et Règlement d'exécution (UE) N°846/2014 de la Commission du 4 août 2014**
 - Les embryons collectés *in vivo* doivent avoir été conçus par insémination artificielle à partir d'un sperme conforme aux exigences de la directive 92/65/CEE (annexe D Chapitre III paragraphe II Conditions applicables aux ovules et embryons, Point 1 Collecte et traitement des embryons collectés *in vivo*).
 - Le matériel de collecte, manipulation, lavage, congélation et conservation des embryons doit répondre aux recommandations du manuel de l'IETS (International embryo transfer society 2012) ; de même les modalités de traitement des embryons (annexe D Chapitre III paragraphe II Conditions applicables aux ovules et embryons, Point 1 Collecte et traitement des embryons collectés *in vivo* 1.1 à 1.14 et règlement d'exécution (UE) N°846/2014 annexe, paragraphe 3) alinéas a) et b)).
 - Les femelles donneuses, de même que leurs exploitations de provenance, doivent répondre aux dispositions des directives régissant les échanges d'animaux vivants d'élevage et de rente au sein de l'UE applicables dans l'espèce équine (annexe D de la directive 92/65/CEE Chapitre IV paragraphe 1).
 - Les juments donneuses doivent ne pas avoir été utilisées en monte naturelle pendant 30 jours au moins avant la première collecte, ni entre la date de réalisation des tests diagnostiques AIE et MCE et la date de collecte des embryons (règlement d'exécution (UE) N°846/2014 annexe, paragraphe 4).
 - Les exigences vis-à-vis de l'AIE sont les suivantes : les juments doivent présenter un résultat négatif à un test d'IDG (immunodiffusion en gélose) ou à un test ELISA réalisé au moins 14 jours après le démarrage de la période minimale de 30 jours (14 jours au moins

après une éventuelle saillie en monte naturelle) et maximum 90 jours avant la collecte d'embryons. Ce test sera donc renouvelé tous les 3 mois si plusieurs collectes ont lieu au cours de la saison de monte (règlement d'exécution (UE) N°846/2014 annexe, paragraphe 4).

- En ce qui concerne l'AVE, aucun test diagnostique n'est exigé chez les juments donneuses d'embryons destinés au marché européen.
- Les exigences vis-à-vis de la MCE sont les suivantes : les juments doivent présenter un résultat négatif à un test d'identification de l'agent responsable de la MCE pratiqué soit par examen bactériologique (culture dans des conditions micro-aérophiles), soit par PCR conventionnelle ou temps réel, sur 2 sites (fosse et sinus clitoridiens), avec 2 analyses, à au moins 7 jours d'intervalle pour l'examen bactériologique, et 1 seule analyse pour les méthodes PCR (règlement d'exécution (UE) N°846/2014 annexe, paragraphe 4). Par ailleurs, ces tests diagnostiques sont effectués par un laboratoire reconnu par l'autorité compétente et accrédité en application du règlement (CE) N°882/2004 (règlement d'exécution (UE) N°846/2014 annexe, paragraphe 4, alinéa 4.3 renvoyant au paragraphe 2 alinéa a) de ce même règlement modifiant le point 1.5, point I, chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE).

➤ **Analyse des exigences sanitaires pour les juments donneuses d'embryons destinés au marché national belge (Arrêté royal du 22 juin 2016 et circulaire de l'Afsca du 19 août 2016 relative aux conditions pour le commerce national, les échanges et les importations de sperme, des ovules et des embryons d'équidés).**

Il a paru utile aux experts d'examiner les dispositions mises en place par les autorités sanitaires belges pour les juments donneuses d'ovules ou d'embryons destinés au marché national. En effet, l'activité de transfert d'embryons d'équidés est importante en Belgique et concentrée dans des structures de grande taille, et, par ailleurs, les embryons français destinés aux échanges intra-communautaires sont principalement dirigés vers la Belgique.

Les exigences sanitaires relatives aux juments donneuses d'embryons pour le marché national belge sont définies dans le chapitre II alinéa d) du corps de l'arrêté royal du 22 juin 2016, dans l'annexe I chapitre III Section II point 1 du même arrêté et dans le paragraphe 5.3 de la circulaire :

- Les embryons ont été conçus par insémination à partir d'un sperme qui est au moins conforme aux exigences requises par le marché national (chapitre II, annexe I de l'arrêté royal du 22 juin 2016 et paragraphe 5.2 de la circulaire).
- Aucun test de dépistage d'une maladie infectieuse n'est exigé pour ces juments.

Les articles 3 à 9 de la section II, chapitre III, annexe I de l'arrêté royal du 22 juin 2016, présentent les exigences relatives aux installations, matériel, modalités de traitement des embryons (conformes aux recommandations de l'IETS), modalités d'identification des embryons et d'enregistrement des activités.

3.2.2. Evaluation de la probabilité de transmission de maladies ou d'agents pathogènes via le transfert d'embryons

Dans un objectif d'évaluation de la probabilité de transmission d'agents pathogènes via le transfert d'embryons, les experts ont examiné dans un premier temps la catégorisation des maladies faite par l'IETS en fonction de cette probabilité. En effet, l'IETS est une société savante faisant référence dans le domaine du transfert embryonnaire et dont les recommandations sont reprises à la fois dans les textes réglementaires européens et dans les documents produits par l'OIE (code sanitaire des animaux terrestre de l'OIE¹).

3.2.2.1 Catégorisation des maladies ou agents pathogènes en fonction du risque de transmission par le transfert d'embryon selon l'IETS

En se fondant sur les données de recherche et de terrain disponibles, le sous-comité Recherche du Comité consultatif sur la santé et la sécurité (HASAC) de l'IETS a catégorisé certaines maladies selon le risque relatif de dissémination par des embryons produits *in vivo*, collectés et manipulés de manière appropriée (International embryo transfer society 2012).

L'IETS distingue 4 catégories de maladies ou agents pathogènes :

- Catégorie 1 : les preuves réunies sont suffisantes pour affirmer que le risque de transmission est négligeable à condition que les embryons aient été manipulés correctement depuis la collecte jusqu'au transfert conformément aux recommandations du manuel de l'IETS. Aucune maladie équine n'est classée en catégorie 1.
- Catégorie 2 : des preuves substantielles sont réunies indiquant que le risque de transmission est négligeable à condition que les embryons aient été manipulés correctement depuis la collecte jusqu'au transfert conformément aux recommandations du manuel de l'IETS mais les données existantes doivent être vérifiées. Aucune maladie équine n'est classée en catégorie 2.
- Catégorie 3 : les résultats préliminaires indiquent que le risque de transmission est négligeable à condition que les embryons aient été manipulés correctement depuis la collecte jusqu'au transfert conformément aux recommandations du manuel de l'IETS mais ces constatations préliminaires doivent être confirmées par des données expérimentales complémentaires *in vivo* et *in vitro*. Aucune maladie équine n'est classée en catégorie 3.
- Catégorie 4 : des études ont été réalisées ou sont en cours indiquant :
 - qu'aucune conclusion n'est possible sur le risque de transmission, ou
 - que le risque de transmission pourrait ne pas être négligeable même si les embryons ont été manipulés correctement depuis la collecte jusqu'au transfert conformément aux recommandations du manuel de l'IETS.

L'IETS inclut trois maladies équines dans cette catégorie : la MCE, l'AVE et l'herpèsvirose due à l'herpèsvirus équin de type 1.

¹ Code sanitaire pour les animaux terrestres - Chapitre 4.7 Collecte et manipulation des embryons du bétail et d'équidés collectés *in vivo* – 13 juin 2016.

http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahc/current/chapitre_coll_embryo_equid.pdf

En conclusion, le classement de l'IETS place en catégorie 4 (maladies pour lesquelles la possibilité de transmission par les embryons est non négligeable ou ne peut être exclue) la MCE, l'AVE et l'herpèsvirose due à l'herpèsvirus équin de type 1.

Sur la base de ces constats, les experts ont décidé d'inclure dans leur travail d'expertise la MCE et l'AVE. Par ailleurs, bien que le classement de l'IETS n'en fasse mention dans aucune de ses catégories, les experts ont choisi d'examiner également le rôle de l'AIE.

En effet, cette maladie est prise en compte dans les textes européens définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans l'Union européenne d'animaux, de spermatozoïdes, d'ovules et d'embryons et dans le contrôle de la reproduction par IA tel qu'organisé par les textes réglementaires nationaux.

En revanche, ces différents textes ne prennent pas en considération l'infection par l'herpèsvirus équin de type 1 dans les conditions applicables aux équidés. Aussi, les experts n'ont-ils pas jugé utile de faire rentrer cette maladie dans le champ de l'expertise.

3.2.2.2 Analyse de la littérature scientifique

Les experts ont ensuite complété leur évaluation de la probabilité de transmission d'agents pathogènes via le transfert d'embryons par une analyse des données scientifiques disponibles en ce qui concerne les agents de l'AIE, AVE et MCE et en considérant les différentes étapes critiques pour le statut sanitaire de l'embryon depuis la fécondation jusqu'au transfert.

En ce qui concerne les modalités de transmission par transfert d'embryons produits *in vivo* de maladies infectieuses dans l'espèce équine, la littérature scientifique est peu abondante contrairement aux espèces bovines et porcines (Bruyas 2014, International embryo transfer society 2012).

➤ Anémie infectieuse des équidés

Des publications anciennes ont précisé le rôle de la semence des étalons infectés dans la transmission du virus.

Le virus de l'AIE a été détecté dans le sperme d'étalons infectés (Stein et Mott 1942, 1946, Tashjian 1984) mais encore aujourd'hui, il n'existe pas de preuve d'une transmission vénérienne de la maladie (Tashjian 1984, Bruyas 2014, Metcalf 2001) si ce n'est un cas de transmission par un étalon infecté à l'occasion d'une blessure vaginale lors de la saillie (Tashjian 1984, The Center for Food Security & Public Health last update 2009)

Les données disponibles semblent donc montrer que le rôle de la semence contaminée dans la transmission virale à la jument et dans l'infection de l'embryon pourrait être limité.

En ce qui concerne le rôle de l'infection maternelle, aucune étude disponible ne porte sur l'infection de l'ovocyte ou de l'embryon par le virus de l'AIE.

En l'absence d'études spécifiques, certains auteurs se sont appuyés sur les résultats d'études réalisées sur d'autres lentivirus pour évaluer la probabilité de transmission du virus à l'ovocyte mais également la capacité du protocole de traitement recommandé par l'IETS (lavages avec ou sans traitement à la trypsine) à éliminer le virus de l'AIE des embryons infectés.

Considérant que le virus de l'AIE est un rétrovirus proche d'autres lentivirus affectant des mammifères domestiques ou l'homme, comme le HIV (*human immunodeficiency virus*), le BIV (*bovine immunodeficiency virus*), le FIV (*feline immunodeficiency virus*), le MVV (*Maedi-Visna virus*) et le CAEV (*caprine arthritis encephalitis virus*), Gregg et Polejaeva ont examiné, au travers des connaissances disponibles, la probabilité de transmission virale aux ovocytes chez des femelles infectées par ces virus (Gregg et Polejaeva 2009).

Ces auteurs concluent que les lentivirus HIV, BIV, FIV, MVV et CAEV n'infectent pas les ovocytes. Ils considèrent que ces observations, même si elles ne garantissent pas qu'il en soit de même pour le virus de l'AIE chez les équidés, suggèrent par extrapolation « un risque faible d'infection des ovocytes » par ce virus.

Asseged *et al.*, dans une étude visant à évaluer quantitativement la possibilité d'introduction du virus de l'AIE aux Etats Unis via des embryons équins clonés importés du Canada (Asseged *et al.* 2012), aboutissent à une conclusion similaire : la probabilité qu'un ovocyte issu d'une femelle infectée soit infecté serait limitée (de 0 à 6,4% (estimation fondée sur des observations relatives au CAEV contenues dans une étude (Al Ahmad *et al.* 2005)).

Ces auteurs ont également estimé la probabilité que le protocole de lavage n'élimine pas le virus de l'AIE des embryons infectés. Cette probabilité serait de 0 à 8,2% (le plus probablement 2,3%) (estimation fondée sur des observations relatives au CAEV, MVV et BIV contenues dans trois études (Al Ahmad *et al.* 2006, Bielanski *et al.* 2001, Vainas *et al.* 2006).

Si la littérature scientifique n'apporte aucune information sur le statut sanitaire vis-à-vis de l'AIE des ovocytes et embryons produits par des juments infectées, plusieurs études ont examiné celui des poulains issus de poulinières infectées.

Les études par infection expérimentale de juments gestantes (5,5 mois et 8 mois de gestation) ont confirmé que le virus pouvait traverser le placenta et que la maladie pouvait ainsi être transmise de la mère à son produit, avec la survenue possible d'avortement (Stein et Mott 1946, 1947). Le contenu utérin des juments infectées renferme le virus (Stein et Mott 1946).

Des travaux ultérieurs sont venus préciser ces résultats : la probabilité de transmission verticale est reliée à l'intensité de la virémie maternelle. Ainsi, Kemen et Coggins montrent que si la transmission semble inévitable chez les juments en phase aiguë (7 poulains issus de 7 juments ayant exprimé des signes cliniques pendant la gestation se sont révélés infectés), sa fréquence serait inférieure à 11% si les juments sont porteuses inapparentes (5 poulains infectés issus de 45 juments séropositives mais avec une possibilité transmission horizontale non exclue pour ces 5 poulains) (Kemen et Coggins 1972).

Ces observations ont été confirmées par McConnico *et al.* qui constatent que 12 poulains issus de juments séropositives et séparés de leur mère dès la naissance, sont restés indemnes du virus (McConnico *et al.* 2000).

En revanche, Uppal et Yadav obtiennent des résultats supérieurs avec 10 poulains qui restent séropositifs sur 33 issus de juments infectées inapparentes (soit 30%) (Uppal et Yadav 1999). Ces résultats sont néanmoins à considérer avec réserve car, dans cette étude, les poulains sont restés 3 jours au contact de leur mère pour assurer la prise colostrale et il n'est pas précisé si les poulains ont été placés après la naissance dans des conditions supprimant toute possibilité de transmission horizontale vectorielle.

En bilan, les résultats des études disponibles concernant l'AIE semblent montrer que i) les poulinières malades transmettent le virus de l'AIE à leur fœtus *via* the placenta et ii) la probabilité de transmission du virus par des reproducteurs porteurs inapparents à leur produit serait réduite (Gregg et Polejaeva 2009).

En ce qui concerne les conditions d'infection de l'ovocyte ou de l'embryon par le virus de l'AIE, aucune donnée n'est disponible. Par extrapolation des résultats obtenus sur d'autres lentivirus, certains auteurs considèrent que cette probabilité est limitée pour l'ovocyte. Par ailleurs, et toujours par extrapolation, ils considèrent que le protocole de traitement des embryons recommandé par l'IETS devrait permettre l'élimination du virus de l'AIE.

Ces conclusions sont cependant, à prendre avec réserve. En effet, le classement IETS des lentivirus considérés (catégorie 2 pour le CAEV et catégorie 3 pour le BIV et le MVV) témoigne d'un niveau de preuve insuffisant quant aux résultats disponibles sur ces virus en ce qui concerne la transmission virale *via* les embryons et vient donc nuancer l'interprétation que ces auteurs en ont faite dans leurs études et de fait, les conclusions relatives à l'AIE tirées par extrapolation.

➤ Artérite virale équine

Le rôle du sperme dans la diffusion du virus de l'AVE a été largement documenté. La transmission virale se produit aussi bien lors de monte naturelle que lors d'insémination artificielle (Timoney 2016).

Chez les juments en phase aiguë de l'infection, le virus est présent dans les sécrétions utérines et vaginales mais également dans l'oviducte, l'ovaire et les ovocytes (Holyoak et MacAllister 2017, The Center for Food Security & Public Health January 2008).

Une seule étude (Sherod *et al.* 1998) a évalué l'efficacité du protocole de lavage des embryons recommandé par l'IETS dans l'élimination du virus de l'AVE présents dans des ovocytes équins. Cette étude montre que ce protocole ne garantit pas une élimination totale du virus pour des ovocytes exposés *in vitro* au virus de l'AVE et souligne ainsi le rôle potentiel des cellules du *cumulus oophorus*² associées à l'ovocyte qui peuvent contenir des agents pathogènes intracellulaires.

Par ailleurs, la possibilité de transmission du virus *via* l'embryon infecté et son transfert a été démontrée (Broaddus *et al.* 2011). L'essai a été réalisé en conditions *in vivo* naturelles. Les résultats indiquent que les embryons issus de donneuses inséminées avec de la semence contaminée ont transmis l'infection aux juments receveuses et ce malgré un traitement des embryons incluant le passage dans un bain de trypsine avant la réalisation des dix lavages standards.

En conclusion, les données de la littérature montrent que, chez les juments en phase aiguë d'infection par l'AVE, la probabilité d'infection des ovocytes et des embryons produits est élevée et que le traitement des embryons conforme aux recommandations de l'IETS ne permet pas l'élimination du virus. Ces résultats confirment le classement de l'AVE par l'IETS en catégorie 4.

² Les cellules du *cumulus oophorus* font partie de la granulosa et entourent l'ovule dans le follicule de de Graaf. Lors de l'ovulation, elles sont expulsées avec l'ovule.

➤ **Mérite contagieuse équine**

Les étalons porteurs de *Taylorella equigenitalis* jouent un rôle majeur dans sa diffusion. Chez eux, la bactérie peut être retrouvée en surface du tractus génital externe (pénis, prépuce, fourreau), sur les muqueuses urogénitales (fosse urétrale, sinus urétral, urètre distal) et dans le sperme (Timoney 2011).

La probabilité de transmission par monte naturelle est maximale du fait du contact génital direct et du caractère infectieux de la semence. Même si la contagion est possible et démontrée par insémination artificielle avec du sperme réfrigéré, ou dilué avec un diluant contenant des antibiotiques appropriés, sa probabilité de survenue dans ces conditions serait cependant moindre que lors de monte naturelle (Schulman *et al.* 2013, Timoney 2011). Elle serait encore plus faible avec le recours à de la semence congelée, sans que cela ait été prouvé (Timoney 2011).

Aucune donnée relative à la détection de *Taylorella equigenitalis* sur des ovocytes équins n'est actuellement disponible. Il en est de même pour les embryons (Schulman *et al.* 2013).

En ce qui concerne le rôle du transfert embryonnaire dans la transmission de *Taylorella equigenitalis*, les experts n'ont identifié qu'une seule publication (Hayna, Syverson, et Dobrinsky 2008). L'essai a été réalisé en conditions *in vivo* naturelles. Les résultats montrent que i) des juments indemnes de MCE inséminées avec de la semence renfermant *Taylorella equigenitalis* et traitée avec un diluant contenant des antibiotiques, n'ont pas été infectées et ii) les embryons collectés suite à la fécondation de ces juments, lavés avec un milieu contenant des antibiotiques (dont un antibiotique auquel la souche était sensible), n'ont pas infecté les juments receveuses. 71% des transferts ont conduit à une gestation à 14 jours et 50% à la naissance d'un poulain vivant.

Dans la mesure où, dans cet essai, les juments donneuses n'ont pas été infectées et donc vraisemblablement pas non plus les embryons, les résultats ne permettent pas de conclure sur l'efficacité du protocole de traitement des embryons à éliminer la bactérie.

Enfin, si la littérature scientifique n'apporte aucun éclairage sur le statut sanitaire des ovocytes et embryons produits par des juments infectées par *T. equigenitalis*, des observations relatives à l'infection congénitale du fœtus sont disponibles. Chez un faible pourcentage de juments gestantes infectées, la bactérie peut persister dans l'utérus tout au long de la gestation. L'avortement est rare suite à l'infection congénitale du fœtus. Plus souvent, le poulain est expulsé vivant et en bonne santé, si ce n'est qu'il est porteur de la bactérie au niveau du tractus génital externe (Timoney 2011).

En conclusion, l'analyse de la littérature scientifique ne permet pas d'exclure une possible infection de l'embryon par *T. equigenitalis* chez les juments infectées. Elle ne permet pas non plus de conclure quant à la capacité du protocole de traitement des embryons recommandé par l'IETS à éliminer la bactérie si elle était présente sur les embryons.

3.2.3. Conclusion sur la transmission de maladies ou d'agents pathogènes via le transfert d'embryons

La possibilité de transmission du virus de l'AVE via le transfert d'embryons est avérée.

En ce qui concerne les agents pathogènes de la MCE et l'AIE, la pauvreté de la littérature scientifique ne permet pas d'exclure leur possible transmission par ce mode de reproduction.

A l'issue de ces constats fondés sur les avis de l'IETS et la littérature scientifique et relatifs aux dangers de diffusion des agents infectieux de l'AIE, AVE et MCE par le transfert embryonnaire, les experts ont souhaité confronter ces données théoriques à la situation française de terrain qui résulte à la fois des caractéristiques des reproducteurs concernés, de leur statut sanitaire et des pratiques de monte.

3.2.4. La production d'embryons destinés au transfert en France : caractéristiques des reproducteurs, types de monte et données sanitaires (données SIRE)

3.2.4.1 Caractéristiques des reproducteurs et types de monte

➤ Les juments donneuses

La production d'ovocytes destinés à de la fécondation *in vitro* ou au clonage reste confidentielle en France.

Entre 2014 et 2016, le nombre de juments donneuses d'embryons, que les embryons soient destinés au marché national ou européen, est passé de 568 à 642.

Les juments donneuses d'embryons sont le plus souvent des équidés de grande valeur, encore en compétition, et bénéficiant d'un suivi médical régulier et de haut niveau. Les juments impliquées dans la production d'embryons destinés au marché européen seraient minoritaires. Les grands centres spécialisés dans le transfert d'embryons équins hébergent les deux catégories de juments donneuses d'embryons (Elodie Cholet présidente de la FADETEQ³, communication personnelle).

Chez les juments, les races les plus représentées sont les Selle-Français (SF) et apparentés (SF section A et B, Cheval de selle et Cheval de selle facteur de SF) avec 68,6%, les Arabes (AR) et demi-sang arabe (DSA) avec 8,5%, viennent ensuite les Belgisch Warmbloedpaarden (BWP) avec 4,1% et les Cheval de sport belge (SBS) avec 2,7%.

Les stud-books des races de juments donneuses d'embryons n'imposent pas de contrôle des juments vis-à-vis de l'AIE, l'AVE et la MCE pour l'accès à la monte, sauf pour les juments de race AR et DSA dont la production est destinée à la course. Même si les chevaux de race AR issus de transfert embryonnaire sont autorisés à participer à des courses au galop (sous réserve de ne pas courir en même temps que des produits frères ou sœurs de la même année), l'activité de transfert d'embryons en France dans la race AR vise très majoritairement les chevaux d'endurance qui sont donc issus de juments qui n'ont pas l'obligation d'être contrôlées.

³ FADETEQ :Fédération des acteurs du développement des techniques modernes de reproduction équine

➤ **Les étalons et les types de monte**

Entre 2013 et 2016, dans un objectif de production d'embryons destinés au transfert, 2 649 saillies ou mises en place de semence ont été effectuées sur un total de 1 471 juments par 462 étalons différents.

Parmi ces 462 étalons, les races les plus représentées sont les SF et apparentés (42,9%), les AR/DSA (13,4%), les Holsteiner (9,1%), les Koninklijk Warmbloed Paard Nederland (KWPN) (6,3%), les BWP (5,2%) et les Oldenburg (4,1%).

Sur les 2 649 saillies ou mises en place de semence réalisées entre 2013 et 2016, seulement 51 cas (1,9%) de monte naturelle ont été enregistrés (50 cas de monte en main et 1 cas de monte en liberté). Ces saillies ont été effectuées principalement par des étalons de races AR/DSA (70,6%), SF et apparentés (9,8%) et Anglo-arabe (AA) et apparentés (Anglo-European Sport Horse, Anglo-arabe de complément, Anglo-arabe de croisement) (9,8%).

La majorité des stud-books des races des étalons servant en monte naturelle en France pour la production d'embryons imposent des dépistages vis-à-vis des trois maladies d'intérêt.

Les étalons de races SF, AR/DSA et AA sont responsables de 90% environ des saillies en monte naturelle. Bien que ces étalons soient testés avant le début de la saison de monte selon un protocole identique à celui exigé pour les étalons servant en IA et dont la semence est destinée au marché national, ils peuvent être contaminés en cours de saison de monte à l'occasion des saillies de juments qui ne sont pas contrôlées.

En conclusion, dans leur grande majorité, les juments donneuses d'embryons ne sont pas soumises à un dépistage régulier de l'AIE, l'AVE et la MCE car elles appartiennent à des stud-books qui n'imposent aux juments aucun contrôle vis-à-vis de ces maladies dans le cadre de la reproduction.

Dans 98% des cas, la semence reçue est mise en place par IA. Le recours à la monte naturelle pour la production d'embryons destinés au transfert est rare (1,9% de l'ensemble des saillies et mises en place entre 2013 et 2016) et l'utilisation en monte naturelle d'étalons dont le stud-book n'exige aucun contrôle sanitaire pour la monte est exceptionnelle (0,2% de l'ensemble des saillies et mises en place entre 2013 et 2016).

Cependant, il existe un danger particulier de transmission des agents infectieux de l'AIE, l'AVE et la MCE aux juments donneuses via des étalons utilisés en monte naturelle même si ce type de monte reste très minoritaire relativement à l'insémination artificielle.

3.2.4.2 Analyse de la situation épidémiologique relative à l'AIE, l'AVE et la MCE dans la population des juments reproductrices françaises (données SIRE)

Pour compléter leur expertise, les experts ont examiné les données disponibles sur la situation épidémiologique de la MCE, AIE et AVE dans la population des poulinières françaises.

Pour la MCE, 4 juments (2 SF et 2 TF) ont été dépistées positives entre 2009 et 2011. Entre 2012 et 2017, de 9 673 à 12 985 (en moyenne 11 228) juments ont été testées annuellement vis-à-vis de la MCE soit environ 14% de la totalité des poulinières. En 2016, un total de 21 233 dépistages de la MCE a été réalisé sur des juments. Aucun cas positif n'a été détecté depuis 2011.

Environ 1 200 juments sont contrôlées chaque année vis-à-vis de l'AIE depuis 2012. En 2016, 1 747 dépistages ont été effectués sur des juments (environ 2,4% de la totalité des poulinières). Aucun cas positif n'a été détecté au cours des 6 dernières années.

En ce qui concerne l'AVE, de 9 864 à 12 295 (moyenne 10 979) juments sont contrôlées annuellement soit un taux de dépistage des poulinières d'environ 14%. Entre 2012 et 2017, on observe une décroissance régulière du pourcentage de juments séropositives, de 5,2% (515 juments) à 1,4% (142 juments). En 2016, 13 938 dépistages sérologiques ont été réalisés sur des juments dont 435 positifs (3,1%).

Suite à une primo-infection, les anticorps persistent plusieurs années de sorte que la séropositivité d'une seule analyse ne permet pas de conclure à un cas d'infection récent. A partir des données contenues dans la base SIRE, l'étude de Amat *et al.* a mis en évidence 239 cas sur la base d'une séroconversion, et 177 foyers d'AVE chez les poulinières entre 2006 et 2013 (soit environ 30 cas (0,3%) par an) (Amat *et al.* 2016).

En conclusion, ces données indiquent une situation sanitaire favorable vis-à-vis de l'AIE et de la MCE dans la population des reproductrices françaises puisqu'aucun cas n'a été détecté depuis les 6 dernières années. La situation paraît différente pour l'AVE avec une trentaine de cas enregistrés par an en moyenne entre 2006 et 2013, témoignant d'une circulation virale. Il faut néanmoins souligner que, depuis 2011, les cas d'infection n'ont pas été associés à une expression clinique grave comme des avortements, des mortinatalités ou des mortalités néonatales, ce qui suggère la circulation de souches virales peu pathogènes.

3.2.5. Conclusions et recommandations pour les juments donneuses d'embryons destinés au marché national (réponse à la question 2)

La production d'embryons destinés au transfert concerne un petit nombre de juments donneuses qui sont, par ailleurs, le plus souvent des juments compétitrices de grande valeur et qui bénéficient d'une surveillance médicale étroite.

Les données disponibles chez les juments reproductrices sur la situation épidémiologique des maladies habituellement contrôlées dans le cadre de la monte tendent à montrer que cette situation est satisfaisante même si ces données restent partielles (données excluant certaines populations d'équidés).

Ainsi, les experts n'ont pas estimé opportun de proposer des tests de dépistage vis-à-vis de l'AIE et de la MCE pour les juments donneuses.

Ils soulignent cependant que, selon la littérature scientifique, la transmission de l'agent pathogène de la jument donneuse à la jument receveuse via l'embryon a été formellement démontrée pour l'AVE.

Suite à leur analyse, les experts recommandent que :

- Les embryons collectés *in vivo* doivent avoir été conçus exclusivement par IA. En effet, lors de la saillie d'une jument donneuse d'embryons par un étalon servant régulièrement en

monte naturelle, il est impossible de limiter le danger de transmission des trois maladies infectieuses contrôlées dans le cadre de la monte.

- Les juments doivent ne pas avoir été utilisées en monte naturelle pendant les 30 jours précédant chaque collecte d'embryons.
- A l'admission dans le centre et au moment de la collecte, les femelles donneuses doivent être soumises à un examen clinique effectué par le vétérinaire de l'équipe ou par un vétérinaire responsable devant le vétérinaire de l'équipe, lequel certifiera que ces femelles sont indemnes de tout signe clinique de maladies infectieuses.
- Lorsque des juments donneuses d'embryons destinés aux échanges et des juments donneuses d'embryons destinés au marché national sont hébergées dans le même centre de collecte, les étapes de collecte, traitement, conservation, stockage et transport devront être réalisées séparément pour les deux catégories d'embryons.

4. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail endosse les conclusions du CES Santé et bien-être des animaux relatives aux conditions sanitaires des juments donneuses, requises pour satisfaire les conditions d'agrément des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons équins hors échanges.

DR ROGER GENET

MOTS-CLES

Anémie infectieuse des équidés, artérite virale équine, métrite contagieuse équine, jument donneuse, ovule, transfert d'embryon

Equine infectious anemia, equine arteritis virus, contagious equine metritis, donor mare, oocyte, embryo transfer

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES - LEGISLATION ET REGLEMENTATION

Arrêté du 4 novembre 2010 fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme d'équidés et les conditions sanitaires d'échanges intracommunautaire de sperme d'équidés.

<https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=LEGITEXT000023101666&dateTexte=20170522>

Arrêté du 11 mars 1996 relatif aux règles sanitaires et aux contrôles vétérinaires applicables aux produits d'origine animale provenant d'un autre Etat membre de la Communauté européenne et ayant le statut de marchandises communautaires. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM:I12012>

Arrêté royal Belge du 22 juin 2016 définissant les conditions de police sanitaire régissant le commerce national, les échanges et les importations de sperme, des ovules et des embryons d'équidés et définissant les conditions pour les centres de collecte et de stockage de sperme, les équipes de collecte et de production d'embryons et les conditions applicables aux équidés donneurs.

Directive 92/65/CEE du Conseil définissant les conditions de police sanitaire régissant les échanges et les importations dans la Communauté d'animaux, de spermes, d'ovules et d'embryons non soumis, en ce qui concerne les conditions de police sanitaire, aux réglementations communautaires spécifiques visées à l'annexe A section I de la directive 90/425/CEE. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM:I12012>

Règlement (UE) N°176/2010 de la Commission du 2 mars 2010. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=OJ:L:2010:052:TOC>.

Règlement (CE) n° 882/2004 du Parlement européen et du Conseil du 29 avril 2004 relatif aux contrôles officiels effectués pour s'assurer de la conformité avec la législation sur les aliments pour animaux et les denrées alimentaires et avec les dispositions relatives à la santé animale et au bien-être des animaux. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A32004R0882>.

Règlement d'exécution (UE) N 846/2014 de la Commission du 4 août 2014 modifiant l'annexe D de la directive 92/65/CEE du Conseil en ce qui concerne les conditions applicables aux animaux donneurs de l'espèce équine. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/ALL/?uri=OJ:L:2010:052:TOC>

AFSCA Circulaire du 19 août 2016 relative aux conditions pour le commerce national, les échanges et les importations de sperme, des ovules et des embryons d'équidés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES - PUBLICATIONS

- Al Ahmad, MZ Ali, F Fieni, F Guiguen, M Larrat, JL Pellerin, C Roux, et Y Chebloune. 2006. "Cultured early goat embryos and cells are susceptible to infection with caprine encephalitis virus." *Virology* 353 (2):307-315.
- Al Ahmad, MZ Ali, F Fieni, L Martignat, G Chatagnon, G Baril, F Bouvier, et Y Chebloune. 2005. "Proviral DNA of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is detected in cumulus oophorus cells but not in oocytes from naturally infected goats." *Theriogenology* 64 (7):1656-1666.
- Amat, JP, T Vergne, J Tapprest, B Ferry, A Hans, P Hendrikx, B Dufour, et A Leblond. 2016. "Estimating the incidence of equine viral arteritis and the sensitivity of its surveillance in the French breeding stock." *Veterinary microbiology* 192:34-42.
- Asseged, BD, Tsegaye Habtemariam, Berhanu Tameru, et David Nganwa. 2012. "The risk of introduction of equine infectious anemia virus into USA via cloned horse embryos imported from Canada." *Theriogenology* 77 (2):445-458.
- Bielanski, A, S Nadin-Davis, C Simard, P Maxwell, et J Algire. 2001. "Experimental collection and transfer of embryos from bovine immunodeficiency virus (BIV) infected cattle." *Theriogenology* 55 (2):641-648.
- Broaddus, CC, UBR Balasuriya, PJ Timoney, JLR White, C Makloski, K Torrissi, M Payton, et GR Holyoak. 2011. "Infection of embryos following insemination of donor mares with equine arteritis virus infective semen." *Theriogenology* 76 (1):47-60.
- Bruyas, JF. 2014. "Maladies infectieuses équine : quels risques de transmission sexuelle par le sperme ?" *Pratique Vétérinaire Équine* n° spécial:44-51.
- Ferry, B, G Fortier, S Pronost, D Burger, et M Vidament. 2008. "Lutte contre l'artérite virale chez l'étalon: dépistage, vaccination et traitement anti-GnRH." *34e Journée de la recherche équine*:195-204.
- Gregg, K, et I Polejaeva. 2009. "Risk of equine infectious anemia virus disease transmission through in vitro embryo production using somatic cell nuclear transfer." *Theriogenology* 72 (3):289-299.
- Hayna, JH, CM Syverson, et JR Dobrinsky. 2008. "155 embryo transfer success during concurrent contagious equine metritis infection." *Reproduction, Fertility and Development* 20 (1):157-158.
- Hedges, Jodi F, Udeni BR Balasuriya, Peter J Timoney, William H McCollum, et N James MacLachlan. 1999. "Genetic divergence with emergence of novel phenotypic variants of equine arteritis virus during persistent infection of stallions." *Journal of virology* 73 (5):3672-3681.
- Holyoak, GR, et C MacAllister. 2017. "Equine viral arteritis." *Oklahoma State University, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources*.
- International embryo transfer society. 2012. "Research update - embryo transfer - infectious disease transmission." ; .
- Kemen, MJ, et Leroy Coggins. 1972. "Equine infectious anemia: transmission from infected mares to foals." *Amer Vet Med Ass J*.
- McConnico, RS, CJ Issel, SJ Cook, RF Cook, C Floyd, et H Bisson. 2000. "Predictive methods to define infection with equine infectious anemia virus in foals out of reactor mares." *Journal of Equine Veterinary Science* 20 (6):387-392.
- Metcalf, Elizabeth S. 2001. "The role of international transport of equine semen on disease transmission." *Animal reproduction science* 68 (3):229-237.

- Schulman, Martin Lance, Catherine Edith May, Bronwyn Keys, et Alan John Guthrie. 2013. "Contagious equine metritis: artificial reproduction changes the epidemiologic paradigm." *Veterinary microbiology* 167 (1):2-8.
- Sherod, JA, S Wang, D Barnard, CW Robinson, DS Hammon, et GR Holyoak. 1998. "In vitro exposure of equine oocytes to equine arteritis virus." *Theriogenology* 49 (1):260.
- Stein, CD, et LO Mott. 1942. "Studies on congenital transmission of equine infectious anemia." *Veterinary medicine* 37:37-77.
- Stein, CD, et LO Mott. 1946. "Equine infectious anemia in brood mares and their offspring." *Veterinary medicine* 41:274-278.
- Stein, CD, et LO Mott. 1947. "Equine infectious anemia in the United States with special reference to the recent outbreak in New England." *Proc US Livestock Sanitary Association* 37:52.
- Tashjian, RJ. 1984. "Transmission and clinical evaluation of an equine infectious anemia herd and their offspring over a 13-year period." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 184 (3):282-288.
- The Center for Food Security & Public Health. January 2008. "Equine viral arteritis, APHIS Factsheet." *Published by the United Department of Agriculture - Animal and Plant Health Inspection Service* Oklahoma State University, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources.
- The Center for Food Security & Public Health. last update 2009. "Equine Infectious Anemia Animal, Disease Factsheets (www.cfsph.iastate.edu)." *Published in IVIS with the permission of the Center for Food Security & Public Health, Iowa State University.*
- Timoney, Peter J. 2016. "Overview of Equine Viral Arteritis." Dans *MSD Veterinary Manual*.
- Timoney, PJ. 2011. "Horse species symposium: contagious equine metritis: an insidious threat to the horse breeding industry in the United States." *Journal of animal science* 89 (5):1552-1560.
- Uppal, PK, et MP Yadav. 1999. *Equine Infectious Diseases VIII: Proceedings of the Eighth International Conference, Dubai, 23rd-26th March 1998*. Traduit par. Edité, *Status of the equine infectious anaemia in the progeny of serp-positive reactors*: R & W Publications.
- Vainas, E, D Papakostaki, V Christodoulou, U Besenfelder, GS Amiridis, B Kuehholzer, F Samartzi, et G Brem. 2006. "Exploitation of embryos collected from Maedi-Visna seropositive ewes during eradication programs." *Small Ruminant Research* 62 (1):129-134.

ANNEXE 1 : PRESENTATION DES INTERVENANTS

PREAMBULE : Les experts, membres de comités d'experts spécialisés, de groupes de travail ou désignés rapporteurs sont tous nommés à titre personnel, *intuitu personae*, en fonction de leur domaine de compétence, et ne représentent pas leur organisme d'appartenance.

RAPPORTEURS

Mme Bénédicte FERRY ABITBOL – Institut Français du Cheval et de l'Équitation – Compétences en pathologie des équidés.

M. Aymeric HANS – Anses Laboratoire de pathologie équine de Dozulé - Compétences en virologie et maladies contagieuses des équidés.

Mme Claire LAUGIER – Anses Laboratoire de pathologie équine de Dozulé – Compétences en pathologie équine, diagnostic de laboratoire.

COMITE D'EXPERTS SPECIALISE

Les travaux, objets du présent rapport, ont été suivis et adoptés par le CES suivant :

- CES SANT du 4 juillet 2017

Président

M. Etienne THIRY – Faculté de médecine vétérinaire de Liège (BE) – Compétences en virologie, immunologie.

Membres

Mme Suzanne BASTIAN – ONIRIS Nantes – Compétences en épidémiologie, bactériologie, parasitologie.

Mme Catherine BELLOC - ONIRIS Nantes – Compétences en Médecine des animaux d'élevage, monogastriques.

M. Alain BOISSY – INRA – Compétences en éthologie, bien-être animal, ruminants, zootechnie.

M. Jordi CASAL - Universitat Autònoma de Barcelona (ES) – Compétences en zoonose, épidémiologie quantitative, maladies animales exotiques, analyse quantitative des risques.

M. Christophe CHARTIER – ONIRIS Nantes – Compétences en parasitologie, pathologie des petits ruminants, technique d'élevage, épidémiologie.

M. Eric COLLIN – Vétérinaire praticien – Compétences en pathologie des ruminants.

M. Frédéric DELBAC – CNRS – Compétences en abeilles, épidémiologie, parasitologie, microbiologie.

Mme Barbara DUFOUR – ENV Alfort – Compétences en épidémiologie, maladies infectieuses, pathologie des ruminants.

M. Guillaume FOURNIÉ - Royal Veterinary College (UK) – Compétences en évaluation des risques quantitative et qualitative, modélisation, épidémiologie.

M. Jean-Pierre GANIÈRE – ONIRIS Nantes – Compétences en maladies contagieuses, réglementation, zoonoses.

M. Dominique GAUTHIER - Laboratoire départemental 05 – Compétences en faune sauvage, lagomorphes, méthodes de diagnostic.

- M. Etienne GIRAUD – INRA – Compétences en antibiorésistance, environnement, approche globale de la santé animale.
- M. Jacques GODFROID - Université Arctique de Norvège (NO) – Compétences en évaluation des risques, zoonose, épidémiologie, tuberculose, bactériologie, faune sauvage marine.
- M. Jean-Luc GUÉRIN – ENVT – Compétences en pathologie des volailles et lagomorphes, immunologie, virologie, zoonose et santé publique.
- M. Jean GUILLOTIN – Laboratoire départemental 59 – Généraliste, compétences en méthodes de diagnostic, porcs, faune sauvage.
- Mme Nadia HADDAD – Anses UMR BIPAR, ENV Alfort – Compétences en microbiologie, épidémiologie, maladies contagieuses.
- M. Jean HARS – Office national de la chasse et de la faune sauvage – Compétences en pathologie de la faune sauvage libre, épidémiologie.
- Mme Véronique JESTIN – Compétences en virologie aviaire, parasitologie aviaire, franchissement de la barrière d'espèce.
- Mme Elsa JOURDAIN – INRA – Compétences en zoonoses, épidémiologie quantitative, faune sauvage.
- Mme Claire LAUGIER – Anses Dozulé – Compétences en pathologie équine, diagnostic de laboratoire.
- Mme Monique L'HOSTIS – Oniris – Généraliste, compétences en parasitologie, abeilles, faune sauvage.
- Mme Coralie LUPO – IFREMER – Compétences en épidémiologie, pathologies aviaire et aquacole.
- M. Gilles MEYER – ENV Toulouse – Compétences en pathologie des ruminants, virologie.
- M. Pierre MORMÈDE – INRA Toulouse – Compétences en génétique du stress, endocrinologie, bien-être animal.
- Mme Carine PARAUD – Anses – Compétences en statistiques, pathologie des petits ruminants, parasitologie de terrain.
- Mme Claire PONSART – Anses – Compétences en épidémiologie, bactériologie, statistiques, virologie, pathologie de la reproduction.
- Mme Nathalie RUVOEN – ONIRIS Nantes – Compétences en maladies contagieuses, zoonoses, réglementation
- M. Claude SAEGERMAN – Faculté de médecine vétérinaire de Liège – Compétences en épidémiologie, maladies contagieuses, maladies émergentes.
- M. Stéphan ZIENTARA – Anses Laboratoire de santé animale de Maisons-Alfort – Compétences en virologie.

PARTICIPATION ANSES

Coordination scientifique

Mme Florence ÉTORÉ - Adjointe Chef d'unité UERSABA – Anses

Secrétariat administratif

M. Régis MOLINET - Anses

ANNEXE 2 : LETTRE DE SAISINE

COURRIER ARRIVE

01 FEV. 2017

DIRECTION GENERALE



2017 -SA- 0 0 2 1

0090

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'AGROALIMENTAIRE ET DE LA FORÊT

Direction générale de l'alimentation
Service de la prévention des actions
sanitaires en production primaire

Sous-direction de la santé et
protection animales

Bureau de la santé animale

Adresse : 251, rue de Vaugirard
75 732 PARIS CEDEX 15

Suivi par : Patrice CHASSET
Tél : 01 49 55 84 97

Courriel institutionnel :
bsa.sdspa.dgal@agriculture.gouv.fr

DESSEIN : 2016/10003

PJ : - arrêté du 11 mars 1996
- arrêté du 4 novembre 2010
- note de l'IFCE du 24 octobre 2016

Le directeur général de l'alimentation

à

Monsieur le Directeur Général de l'Agence
nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

27-31, avenue du Général Leclerc
BP 19
94701 MAISONS-ALFORT cedex

Paris, le

30 JAN. 2017

Objet : Saisine de l'Anses relative à aux conditions sanitaires des juments donneuses, requises pour satisfaire les conditions d'agrément des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons équins hors échanges

Conformément aux articles L. 1313-1 et 1313-3 du Code de la santé publique, j'ai l'honneur de saisir l'Anses afin de recommander des dispositions sanitaires minimales pour les juments donneuses, requises pour satisfaire les conditions d'agrément des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons équins hors échanges.

1 Contexte

Actuellement des dispositions spécifiques existent dans les centres de collecte de sperme pour lesquels le sperme est destiné au marché national, telles que décrites dans l'arrêté du 4 novembre 2010 fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme d'équidés et les conditions sanitaires d'échanges intracommunautaires de sperme d'équidés. Les protocoles de dépistage de l'anémie infectieuse, de l'artérite virale et de la métrite contagieuse sont moins exigeants que ceux qui sont conformes aux dispositions prévues par l'annexe D de la directive 92/65/CEE du Conseil du 13 juillet 1992. Ils conduisent à la délivrance d'agrément nationaux, ne permettant pas les échanges de sperme au niveau intracommunautaire.

Ces dispositions spécifiques, bien que n'ayant pas fait l'objet de saisine formelle à l'ANSES, sont historiques et prévues par le code rural et de la pêche maritime dans son article R.222-11. Elles avaient été validées par la DGAL à la demande des professionnels au regard de la situation sanitaire en France vis-à-vis des 3 maladies ciblées que sont l'anémie infectieuse, l'artérite virale et la métrite contagieuse, tant pour alléger la charge économique des tests que pour simplifier les conditions d'agrément.

Une réunion avec la DGAL, la DGPE, l'IFCE, l'ANSES, des représentants des haras et des professionnels de la production des produits germinaux équins s'est tenue le 18 février à la DGAL, dont l'objectif premier était de discuter des propositions de révision de l'arrêté équin fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés, et d'échanges intracommunautaires de produits germinaux d'équidés.

Lors de cette réunion, les professionnels ont demandé que, dans ce projet, soit introduit des dispositions du même type pour les agréments des équipes de collecte et de production d'ovules et d'embryons, à savoir des agréments à des fins d'échanges, et des agréments à des fins nationales, pour les mêmes raisons que celles évoquées plus haut.

Pour mémoire, l'arrêté du 11 mars 1996 fixant les conditions sanitaires requises pour les échanges intracommunautaires d'ovules et d'embryons de l'espèce équine reprenait bien l'ensemble des dispositions prévues par l'annexe D de la directive 92/65/CEE, jusqu'à ce que le règlement (UE) N° 176/2010 de la Commission du 2 mars 2010 introduise 2 nouvelles dispositions sanitaires pour les juments donneuses, l'une quant à la recherche de l'anémie infectieuse, et l'autre quant au dépistage de la métrite contagieuse (paragraphes 4.2 et 4.3 du chapitre IV de l'annexe D de la directive 92/65/CEE).

L'arrêté du 11 mars 1996 est toujours en vigueur, alors que le règlement (UE) N° 176/2010 de la Commission s'applique. Il convient donc pour la DGAL de réviser à court terme l'arrêté équin fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés, et d'échanges intracommunautaires de produits germinaux d'équidés. Les dispositions de l'arrêté du 11 mars 1996 seront reprises dans ce projet d'arrêté. Toutefois, si en miroir des agréments de centres de collecte de sperme, des agréments distincts « échanges » et « marché national » pour les équipes de collecte ou de production d'ovules et d'embryons sont prévus, des dispositions sanitaires pour les juments donneuses restent à définir dans ce cadre sur le plan national.

Il est à noter que les agréments de type « marché national » pour les équipes de collecte ou de production d'ovules et d'embryons, s'ils sont validés par la DGAL, permettront de recourir à des doses de sperme d'étalons destinées au marché national. À cet égard, les protocoles de dépistage de l'anémie infectieuse et la métrite contagieuse de ces étalons donneurs, définies dans l'arrêté du 4 novembre 2010, sont moins exigeants que ceux qui sont définis dans l'annexe D de la directive 92/65/CEE.

Une note de l'IFCE, jointe à cette saisine résume l'historique et les enjeux relatifs aux protocoles distincts pour le dépistage des 3 maladies visées en vue du marché national ou des échanges, tant pour les donneurs de semence équine que pour les donneuses d'embryons équins.

2 Questions

Il est demandé à l'Anses :

1. d'évaluer la pertinence des protocoles de dépistage actuellement requis pour les étalons dans le cadre du marché national de semences quant à la recherche de l'anémie infectieuse, de l'artérite virale et de la métrite contagieuse au regard des exigences imposées pour les échanges (chapitre II de l'annexe D de la directive 92/65/CEE);
2. de recommander des dispositions sanitaires minimales pour les juments donneuses, dont les ovules et embryons sont destinés uniquement au marché national, quant à la recherche de l'anémie infectieuse et de la métrite contagieuse, au regard des exigences imposées pour les échanges (chapitre IV de l'annexe D de la directive 92/65/CEE).

La réponse de l'Anses est attendue si possible pour le 31 mars 2017 ; celle-ci permettra à la DGAL, de réviser l'arrêté fixant les conditions d'agrément sanitaire des centres de collecte de sperme et des équipes de transplantation embryonnaire d'équidés, et d'échanges intracommunautaires de produits germinaux d'équidés.

Mes équipes se tiennent à votre disposition pour vous fournir tout complément d'information nécessaire pour traiter cette saisine.

Je vous remercie de bien vouloir accuser réception de la présente demande.



Le Directeur Général de l'Alimentation,
Patrick DESHAUMONT