



HAL
open science

La cystoscopie percutanée pour le traitement des calculs vésicaux chez le chien : étude rétrospective sur 103 cas

Salomé Carbonnier

► To cite this version:

Salomé Carbonnier. La cystoscopie percutanée pour le traitement des calculs vésicaux chez le chien : étude rétrospective sur 103 cas. Sciences du Vivant [q-bio]. 2024. dumas-04879562

HAL Id: dumas-04879562

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04879562v1>

Submitted on 10 Jan 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Année 2024 – Thèse n° 105

**RISQUES DE TRANSMISSION DE PATHOGENES VIA
LES EMBRYONS : ENQUETE INTERNATIONALE ET
POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PATHOGENES
D'INTERET**

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VETERINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de Nantes

Le 25/10/2024

par

Hugo, François, Xavier, Michel DE MORI

Sous la direction de

Professeur Lamia BRIAND-AMIRAT

Président du jury : Mr Jean-Michel Cappelier, Professeur à Oniris VetAgroBio Nantes

Membres du jury : Mme Lamia Briand-Amirat, Professeur à Oniris VetAgroBio Nantes

Mme Suzanne Bastian, Maitre de conférences à Oniris VetAgroBio Nantes

Année 2024 – Thèse n° 105

RISQUES DE TRANSMISSION DE PATHOGENES VIA LES EMBRYONS : ENQUETE INTERNATIONALE ET POINT BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES PATHOGENES D'INTERET

THÈSE

pour l'obtention du diplôme d'État de

DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

présentée et soutenue publiquement devant

l'UFR de Médecine de l'Université de Nantes

Le 25/10/2024

par

Hugo, François, Xavier, Michel DE MORI

Sous la direction de

Professeur Lamia BRIAND-AMIRAT

Président du jury : Mr. Jean-Michel Cappelier, Professeur à Oniris VetAgroBio Nantes
Membres du jury : Mme Lamia Briand-Amirat, Professeur à Oniris VetAgroBio Nantes
Mme Suzanne Bastian, Maître de conférences à Oniris VetAgroBio Nantes

Liste des enseignants d'Oniris

Département BPSA Biologie, Pathologie et Sciences de l'Aliment		
Responsable : Emmanuel JAFFRES – Adjointe : Frédérique NGUYEN		
Pharmacologie et Toxicologie	Jean-Claude DESFONTIS (Pr) Yassine MALLEM (Pr) Hervé POULIQUEN (Pr)	Antoine ROSTANG (MC) Meg-Anne MORICEAU (MC Stagiaire) Martine KAMMERER (Pr émérite) Marc GOGNY (Pr émérite)
Physiologie fonctionnelle, cellulaire et moléculaire	Jean-Marie BACH (Pr) Lionel MARTIGNAT (Pr)	Julie HERVE (Pr) Grégoire MIGNOT (MC)
Histologie et anatomie pathologique	Marie-Anne COLLE (Pr) Jérôme ABADIE (MC) Florian CHOCTEAU (MC stagiaire)	Laetitia JAILLARDON (MC) Frédérique NGUYEN (MC) Pierre CORDIER (CERC)
Biochimie alimentaire industrielle	Carole PROST (Pr) Joëlle GRUA (MC)	Clément CATANEO (MC) Alix KHALIL (MC) Laurent LE THUAUT (MC)
Microbiotech	Hervé PREVOST (Pr) Géraldine BOUE (MC) Nabila HADDAD (MC HDR) Emmanuel JAFFRES (MC HDR)	Mathilde MOSSER (MC) Boris MISERY (MC) Raouf TAREB (MC) Judith LORANT (MC stagiaire)
PACENV = VET1	Eléonore BOUGUYON (PRAG) Nicolas BROSSAUD (PRAG)	Charlotte MOCQUARD (PRAG) Aurore CALVEL (PRAG)
Département SAESP Santé des Animaux d'Élevage et Santé Publique		
Responsable : Raphaël GUATTEO – Adjoint : Jean-Michel CAPPELIER		
Élevage, nutrition et santé des animaux domestiques	Nathalie BAREILLE (Pr) François BEAUDEAU (Pr) Christine FOURICHON (Pr)	Juan Manuel ARIZA CHACON (MC) Ségoène CALVEZ (Pr) Aurélien MADOUASSE (MC HDR) Nora NAVARRO-GONZALES (MC)
Infectiologie	Alain CHAUVIN (Pr) Emmanuelle MOREAU (Pr) Nathalie RUVOEN-CLOUET (Pr) Pauline MAISONNASSE (CERC)	Albert AGOULON (MC) Suzanne BASTIAN (MC HDR) Léa LOISEL (AERC) Kenny OBERLE (MC) Nadine RAVINET (MC)
Médecine des animaux d'élevage	Catherine BELLOC (Pr) Raphaël GUATTEO (Pr) Anne RELUN (MC) Aurore BOISHARDY (CERC)	Sébastien ASSIE (MC) Isabelle BREYTON (MC) Mily LEBLANC MARIDOR (MC) Maud ROUAULT (AERC)
Hygiène et qualité des aliments	Jean-Michel CAPPELIER (Pr) Louis DELAUNAY (MC) Bruno LE BIZEC (Pr)	Sofia STRUBBIA (MC) Marie-France PILET (Pr)

Liste des enseignants d'Oniris

Département DSC Sciences cliniques		
Responsable : Olivier GAUTHIER – Adjoint : Marion FUSELLIER		
Anatomie comparée	Eric BETTI (MC) Claude GUINTARD (MC)	
Pathologie chirurgicale et anesthésiologie	Eric AGUADO (Pr) Olivier GAUTHIER (Pr) Eric GOYENVALLE (Pr)	Pierre MAITRE (MC) Caroline TESSIER (MC) Claire DEFOURMSTRAUX (MC)
Dermatologie, parasitologie des carnivores et des équidés, mycologie	Jacques GUILLOT (Pr) Emmanuel BENSIGNOR (Pr Ass) Vincent BRUET (MC)	Sabrina VIEU (AERC) Maria Dolores SANCHEZ (CERC)
Médecine interne, imagerie médicale et législation professionnelle vétérinaire	Anne COUROUCE (Pr) Jack-Yves DESCHAMPS (Pr) Françoise ROUX (Pr) Juan HERNANDEZ-RODRIGUEZ (Pr Ass) Nora BOUHSINA (MC)	Nicolas CHOUIN (MC) Amandine DRUT (MC) Marion FUSELLIER-TESSON (Pr) Catherine IBISCH (MC HDR) Aurélia LEROUX (MC) Odile SENECAT (MC)
Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Jean-François BRUYAS (Pr) François FIENI (Pr)	Djemil BENCHARIF (Pr) Lamia BRIAND (Pr)
Département GPA Génie des procédés alimentaires		
Responsable : Vanessa JURY – Adjointe : Cyril TOUBLANC		
Lionel BOILLEREAUX (Pr) Sébastien CURET-PLOQUIN (Pr) Marie DE LAMBALLERIE (Pr) Francine FAYOLLE (Pr) Michel HAVET (Pr)	Alain LEBAIL (Pr) Olivier ROUAUD (Pr) Kévin CROUVISIER-URION (MC) Vanessa JURY (Pr) Emilie KORBEL (MC)	Jean-Yves MONTEAU (MC HDR) Eve-Anne NORWOOD (MC) Raphaël PORYLES (MC) Laurence POTTIER (MC) Cyril TOUBLANC (MC)
PAC-ING	Cyril Gaillard (PCEA)	
Département MSC Management, statistiques et communication		
Responsable : Jean-Michel GALHARRET – Adjointe : Sibylle DUCHAINE		
Mathématiques, statistiques, informatique	Chantal THORIN (Pr Ag) Evelyne VIGNEAU (Pr) Jean-Michel GALHARRET (MC)	Véronique CARIOU (Pr) Benjamin MAHIEU (MC) Michel SEMENOU (MC)
Economie, gestion, législation	Jean-Marc FERRANDI (Pr) Pascal BARILLOT (MC) Ibrahima BARRY (MC) Florence BEAUGRAND (MC) Franck INSGNARES (IE)	Sibylle DUCHAINE (MC) Sonia MAHJOUB (MC) Samira ROUSSELIERE (MC) Christophe PAPINEAU (Ens. Cont.)
Langues et communication	Marc BRIDOU (PLPA) David GUYLER (Ens. Cont.) Nathalie GOODENOUGH (PCEA) Patricia JOSSE (Ens. Cont.)	Shaun MEEHAN (Ens. Cont.) Linda MORRIS (PCEA) Ian NICHOLSON (ENS. Cont.)
Formations Techniciens supérieurs		
Responsable : Laurence FRERET		
	Laurence FRERET (PCEA) Françoise BRICHET (IAE) Christophe CARON (PLPA) Virginie MAGIN (Ens.cont.)	

Pr Ag : Professeur Agrégé, Pr : Professeur, MC : Maître de Conférence, MCC : MC contractuel,
 PLPA : Professeur Lycée Professionnel Agricole, PCEA : Professeur Certifié Enseignement Agricole,
 HDR : Habilité à Diriger des Recherches, CERC : Chargé d'Enseignement et de Recherche Contractuel, Ens.
 Cont. : Enseignant Contractuel

Protection des droits d'auteur et plagiat

La reproduction d'extraits de cette thèse est autorisée avec mention de la source. Toute reproduction partielle doit être fidèle au texte utilisé. Cette thèse devra donc être citée en incluant les éléments bibliographiques suivants :

- Nom et prénom de l'auteur : De Mori Hugo
- Année de soutenance : 2024
- Titre de la thèse : Risque de transmission de pathogènes via les embryons : enquête internationale et point bibliographique sur les pathogènes d'intérêt
- Intitulé du diplôme : Thèse de doctorat vétérinaire
- Université de soutenance : Faculté de Médecine de Nantes
- Ecole de soutenance : Oniris – Ecole Nationale Vétérinaire, Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique
- Nombre de pages :

Remerciements

A mon jury

A Monsieur Jean-Michel Cappelier

Professeur à Oniris

Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,
Pour m'avoir accompagné lors de mes années à l'école en tant qu'enseignant référent,
Hommages respectueux

A Madame Lamia Briand-Amirat

Professeur à Oniris

Pour avoir m'avoir encadré au cours de ce travail,
Pour votre temps, vos conseils et vos relectures,
Sincères remerciements

A Madame Suzanne Bastian

Maitre de conférences à Oniris

Pour avoir accepté d'être membre de mon jury,
Pour vos nombreux conseils afin d'améliorer mon travail,
Sincères remerciements

Aux interrogés de mon enquête

A l'ensemble des répondants

Sans votre temps je n'aurais pas été en mesure de réaliser ce travail
Sincères remerciements

Table des matières

Liste des annexes.....	12
Listes des figures.....	12
Listes des tableaux.....	13
Listes des abréviations et sigles.....	14
Introduction	15
Partie 1 : Hiérarchisation des dangers pour les échanges internationaux d’embryon via une enquête internationale	22
1. Matériels et méthodes.....	22
1.1. Conception de l’enquête	22
1.1.1. Le répondant.....	22
1.1.2. Les agents pathogènes étudiés.....	23
1.2. Méthodes d’envoi	23
1.2.1. Envoi par mail : liste.....	23
1.2.2. Partage depuis la liste initiale.....	23
2. Analyses des résultats.....	24
2.1. Données sur les répondants	24
2.1.1. Nationalité des répondants	24
2.1.2. Travail des répondants.....	26
2.1.3. Espèces étudiées par les répondants	28
2.2. Données sur les maladies.....	28
2.2.1. Maladies restreignant les échanges d’embryons produits in vivo et in vitro.....	28
2.2.2. Maladies à risque pour le transfert d’embryons produits in vivo et in vitro.....	31
2.2.3. Maladies à risque pour l’exportation de sperme.....	33
2.2.4 Agents pathogènes à catégoriser en priorité selon les répondants travaillant avec le gouvernement	33
3. Bilan de l’enquête.....	34
Partie 2 : Essai de catégorisation des principaux pathogènes retenus via des ressources bibliographiques	35
1. Matériels et méthodes.....	35
1.1 Présentation des maladies sélectionnées.....	35
1.2. Présentation du modèle de fiche fourni par l’IETS	36
1.3. Recherches bibliographiques.....	37
2. Résultats	40
2.1. La fièvre catarrhale ovine.....	41
2.1.1. Sources utilisées	41
2.1.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	41

2.1.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	42
2.2. Le virus de la diarrhée virale bovine	43
2.2.1. Sources utilisées	43
2.2.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	43
2.2.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	44
2.3. L'herpesvirus bovin de type 4	45
2.3.1. Sources utilisées	45
2.3.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	45
2.3.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	46
2.4. <i>Mycoplasma bovis</i>	46
2.4.1. Sources utilisées	46
2.4.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	47
2.4.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	47
2.5.1. Sources utilisées	48
2.5.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	48
2.5.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	49
2.6. La leptospirose serovar <i>Hardjo</i>	49
2.6.1. Sources utilisées	49
2.6.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo.....	50
2.6.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro	50
3. Bilan de la recherche bibliographique.....	51
Partie 3 : Discussion générale.....	52
1. Limites de l'enquête	52
1.1. Nombre de répondants.....	52
1.2. Lieu d'exercice	52
1.3. Espèce de travail.....	53
2. Limites de la recherche bibliographique	53
2.1. Site utilisé pour la recherche d'articles.....	53
2.2. Temps de recherche	54
2.3. Choix des mots clés	54
2.4. Difficulté à la catégorisation de certains agents pathogènes	54
2.5. Manque de données et de financement de la recherche.....	55
Conclusion.....	56
Bibliographie.....	57
Annexes.....	69
Propositions de recatégorisation des pathogènes	83

I. Fièvre catarrhale ovine.....	84
II. Diarrhée virale bovine	94
III. Herpesvirose bovine de type 4	109
IV. Mycoplasmosse à <i>Mycoplasma bovis</i>	115
V. Leucose enzootique bovine.....	122
VI. Leptospirose serovar <i>Hardjo</i>	128

Liste des annexes

Annexe 1 : Liste des maladies catégorisées par l'IETS.....	70
Annexe 2 : Enquête envoyée sous format Word.....	71
Annexe 3 : Liste des maladies étudiées dans l'enquête.....	77
Annexe 4 : Liste des maladies restreignant les échanges d'embryons produits in vivo obtenue grâce à l'enquête internationale	78
Annexe 5 : Liste des maladies restreignant les échanges d'embryons produits in vitro obtenue grâce à l'enquête internationale	79
Annexe 6 : Modèle d'étude des pathogènes a recatégoriser proposé par l'HASAC	80
Annexe 7 : Résumé accepté pour le congrès de l'IETS 2025	82

Listes des figures

Figure 1 : Nombre d'embryons bovins (produits in vivo [IVD], produits in vitro [IVP], et total) enregistré sur la période de 2003 à 2022 (IETS, 2023).....	15
Figure 2 : Schéma de la production in vivo d'embryons.....	16
Figure 3 : Schéma de la production in vitro d'embryons	16
Figure 4 : Chronologie du développement embryonnaire (J0–J9) (Winterberger et al., 1987).....	17
Figure 5 : Les 10 bains de lavage des embryons recommandés par l'International Embryo Technology Society (Stringfellow, 1998).....	18
Figure 6 : Frise chronologique de l'envoi et des relances de l'enquête.....	24
Figure 7: Nombre de réponses par pays (n=23)	25
Figure 8 : Pourcentage d'interrogés travaillant avec d'autres pays que leur pays d'exercice (n=22) ...	26
Figure 9 : Type de pratiques des répondants (n=23).....	26
Figure 10 : Types d'embryons étudiés par les interrogés (n=21)	27
Figure 11 : Espèces étudiées par les répondants (n=23).....	28
Figure 12: Maladies restreignant les échanges d'embryons produits in vivo (n=23). N'est indiquée qu'une maladie sur deux (liste complète en annexe 4).....	29
Figure 13 : Maladies les plus restrictives pour le transfert d'embryons produits in vitro. N'est indiquée qu'une maladie sur deux (liste complète en annexe 5) (n=23).....	30
Figure 14: Maladies les plus à risque concernant les embryons produits in vivo (n=19)	31
Figure 15: Maladies les plus à risque concernant les embryons produits in vitro (n=19).....	32
Figure 16: Maladies les plus à risque pour les exportations de sperme (n=13).....	33
Figure 17: Maladies les plus à risque pour les répondants travaillant pour le gouvernement (n=8)	33
Figure 18 : Méthode d'évaluation du risque de transmission.....	37
Figure 19 : Sérotypes de la FCO (ou BTV) sur le pourtour méditerranéen de 1999 à 2004 (Gerbier et al., 2004)	85

Figure 20 : Evolution des foyers de FCO-8 (ou BTV-8) en Europe de 2014 à 2017 (Lorusso et al., 2018).....	85
Figure 21 : Virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO), schématisation (gauche) et résumé des caractéristiques (droite) (Ministère de l’agriculture, 2011).....	86
Figure 22 : Culicoides imicola femelle. Photo : B. Mathieu (Source : Ministère de l’agriculture et de la souveraineté alimentaire, 2011).....	90
Figure 23 : Prévalence du BVD dans le monde (Scharnbock, 2018). a, b, c, prévalence sur animaux ; d, e, f, prévalence sur troupeaux ; PI, infectés permanents ; Ab, anticorps.....	95
Figure 24 : Schéma de la structure morphologique du virus du BVD (Chi et al., 2022)	96
Figure 25 : Mécanismes liant l’infection au BVD et l’infertilité chez les bovins (Oguejiofor, 2019) ..	97
Figure 26 : Lésions provoquées par le BVD, forme maladie des muqueuses (Brodersen, 2014)	100
Figure 27 : Méthodes de diagnostic du BVD (OMSA, 2015).....	104
Figure 28 : Particule virale de l’herpesvirus (Markine-Gariynoff et al., 2003).....	109
Figure 29 : Cycle de l’herpesvirus (Flint, 2000)	111
Figure 30: Coopération entre bactérie utérine et BHV-4 dans le développement d’inflammation post-partum de l’utérus (Chastant-Maillard, 2013).....	112
Figure 31: Date des premières détections de Mycoplasma bovis dans le monde (Dudek et al., 2020).....	115
Figure 32 : Colonies de Mycoplasma bovis (x 40) (Maunsell et Donovan, 2009).....	116
Figure 33 : Synthèse des différents facteurs de virulence actuellement connus chez les mycoplasmes. (Janis et Blanchard, 2007).....	117
Figure 34 : Schéma de la particule virale du virus de la leucémie bovine (Marawan et al., 2021).....	122
Figure 35 : Distribution mondiale de la leucose bovine entre 2014 et 2019 (Marawan et al., 2021).....	123
Figure 36 : Représentation schématique du cycle de réplication d’un rétrovirus (Coffin et al., 1997).....	124
Figure 37: Méthode d’identification de l’agent pathogène (OMSA, 2023a).....	126
Figure 38 : Schéma d’un spirochète (gauche) et d’un leptospire (droit) (Moreau, 2023)	128
Figure 39 : Devenir de Leptospira après avoir pénétré dans l’hôte (Moreau, 2023).....	130
Figure 40 : Signes cliniques due à la leptospirose en fonction du serovar (Moreau, 2023)	131
Figure 41 : Voies de contamination par la leptospirose (Moreau, 2023).....	132
Figure 42 : Méthodes de diagnostic de la leptospirose (Moreau, 2023).....	133

Listes des tableaux

Tableau 1 : Différences et similitudes entre les embryons produits in vivo et produits in vitro (Viana et al., 2020).....	18
Tableau 2 : Récapitulatif des 10 premières maladies restreignant les échanges d’embryons selon l’enquête (in vivo et in vitro).....	30
Tableau 3 : Maladies d’intérêt selon les répondants.....	34
Tableau 4 : Mots clés et ressources utilisées pour la recherche bibliographique	39
Tableau 5 : Nombre de sources concernant le BHV-4 trouvées grâce à PubMed et Web of Science....	45
Tableau 6 : Nombre de sources concernant Mycoplasma bovis trouvées grâce à PubMed et Web of Science	46
Tableau 7 : Nombre de sources concernant la leucose bovine enzootique trouvées grâce à PubMed et Web of Science.....	48
Tableau 8 : Nombre de sources trouvées concernant la leptospirose serovar Hardjo grâce à PubMed et Web of Science.....	49
Tableau 9 : Récapitulatif de l’essai de catégorisation des maladies étudiées	51
Tableau 10 : List of diseases of importance regarding trade international respondents n=23	82
Tableau 11 : Exemples des manifestations cliniques dues à M. bovis	118

Listes des abréviations et sigles

IETS : International Embryo Technology Society

AETE : Association of Embryo Technology in Europe

AETA : American Embryo Transfer Association

CETA : Canadian Embryo Transfer Association

OMSA : Organisation Mondiale de la Santé animale (ex-OIE)

HASAC : The Health And Safety Advisory Committee

USDA : United State Departement of Agriculture

FCO : Fièvre catarrhale ovin = BTV : BlueTongue Virus

BEF : virus de la fièvre éphémère bovine

BHV-4 : herpesvirus bovin type 4

EHD : maladie hémorragique enzootique

CFU : Colony-forming unit

BVD : Diarrhée Virale Bovine

BVDV : Virus de la Diarrhée Virale Bovine

CFSPH : Center For Food Security and Public Health

NCP : non cytopathogène

CP : cytopathogène

Introduction

Le transfert d'embryons consiste en la production d'embryons provenant d'une femelle donneuse et à leur implantation chez une femelle receveuse. Aujourd'hui le transfert d'embryons est un des moyens avec l'insémination artificielle d'améliorer la génétique des animaux d'élevage, notamment chez les bovins. Dans le cas de l'insémination artificielle, l'amélioration de la génétique du troupeau se faisait essentiellement par le père et par le choix de conservation des génisses, le rôle de la mère était plus faible. Grâce au transfert d'embryons, il est possible de transmettre plus rapidement et de façon plus efficace les particularités génétiques de certaines mères (production laitière, conformation de la mamelle...). Le transfert d'embryons est principalement utilisé en intra-troupeau pour assurer un renouvellement de qualité (Gene Diffusion, 2024) mais il peut aussi servir à introduire certaines qualités dans un troupeau sans avoir besoin de réaliser d'introduction d'animaux.

Place du transfert d'embryon dans le monde :

Dans le monde, le nombre d'embryons produits est en augmentation. Cette augmentation est surtout liée à l'augmentation de la production d'embryon *in vitro* comme on peut le voir sur la Figure 1 (IETS, 2023). L'Europe représente 33 % des embryons produits *in vivo* et 3 % des embryons produits *in vitro*. La France représente 10 % des embryons produits *in vivo* et 0.4 % des embryons produits *in vitro* (AETE, 2023).

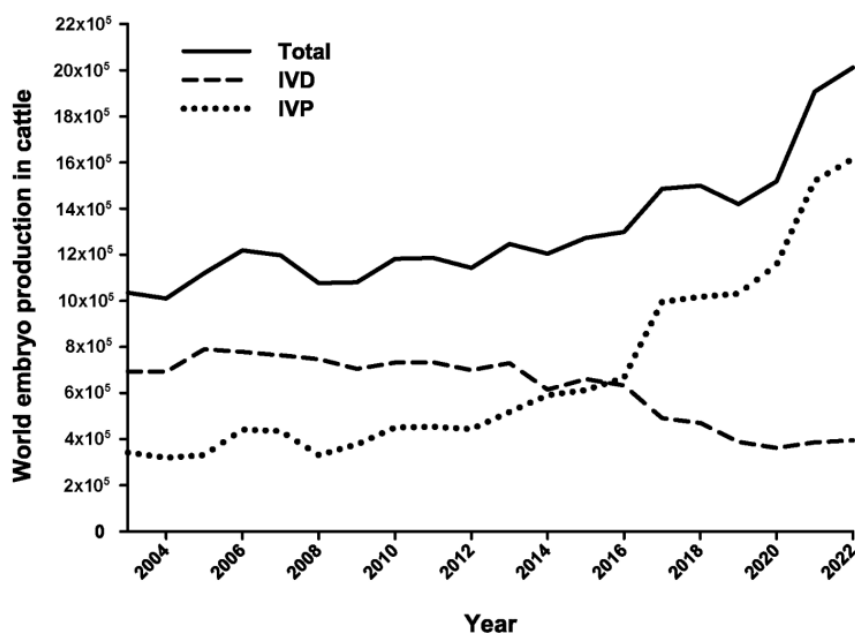


Figure 1 : Nombre d'embryons bovins (produits *in vivo* [IVD], produits *in vitro* [IVP], et total) enregistré sur la période de 2003 à 2022 (IETS, 2023)

Ces embryons sont également échangés à l'international. En 2022, 49 966 embryons étaient exportés dans le monde. Le risque sanitaire de ces échanges n'étant pas nul, il est important de les sécuriser. Dans la suite de notre introduction, après avoir fait un point sur la technique du transfert d'embryons et sur les différences entre embryons produits *in vivo* et *in vitro*, nous ferons un point sur les organismes qui encadrent la production des embryons ainsi que leurs échanges.

Principe du transfert d'embryon :

Le transfert d'embryons est une technique développée entre les années 1960 et 1980 qui a dans un premier temps concerné les humains mais qui s'est rapidement développée chez les animaux notamment les équidés (1^{er} transfert en 1972) et plus récemment chez les animaux de production. Il consiste à produire des embryons issus d'un ovocyte d'une femelle donneuse avec du sperme d'un mâle sélectionné et à les implanter dans l'utérus d'une femelle receveuse. Il existe **2 techniques** pour obtenir des embryons : soit *in vivo*, soit *in vitro*. Les 2 techniques sont schématisées dans les Figures 2 et 3. *In vivo*, les embryons se développent dans les voies génitales femelles avant d'être collectés. *In vitro*, les ovocytes prélevés sur la donneuse sont fécondés dans des milieux de culture en laboratoire. Avec cette technique, les cellules du cumulus qui entourent l'ovocyte sont retirées.

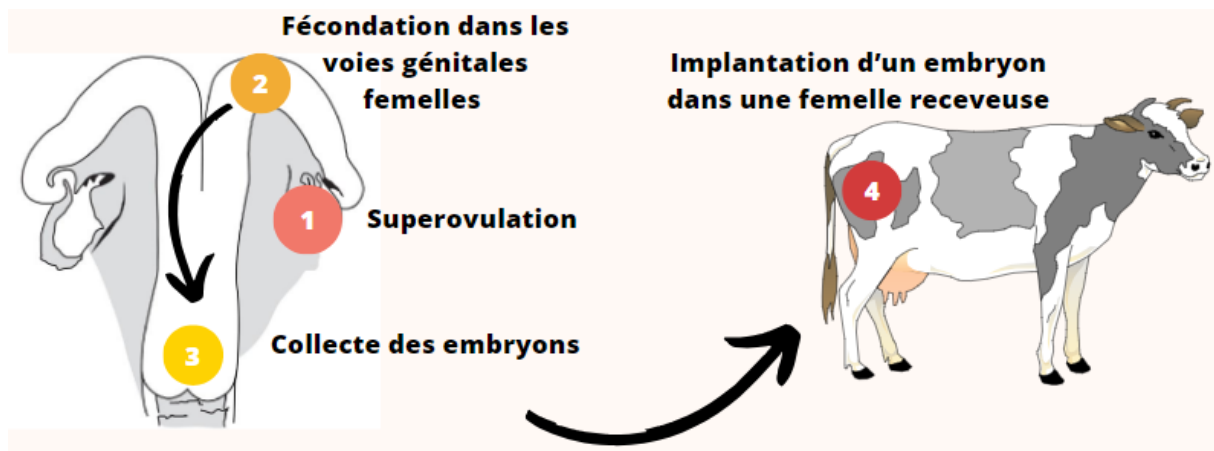


Figure 2 : Schéma de la production *in vivo* d'embryons

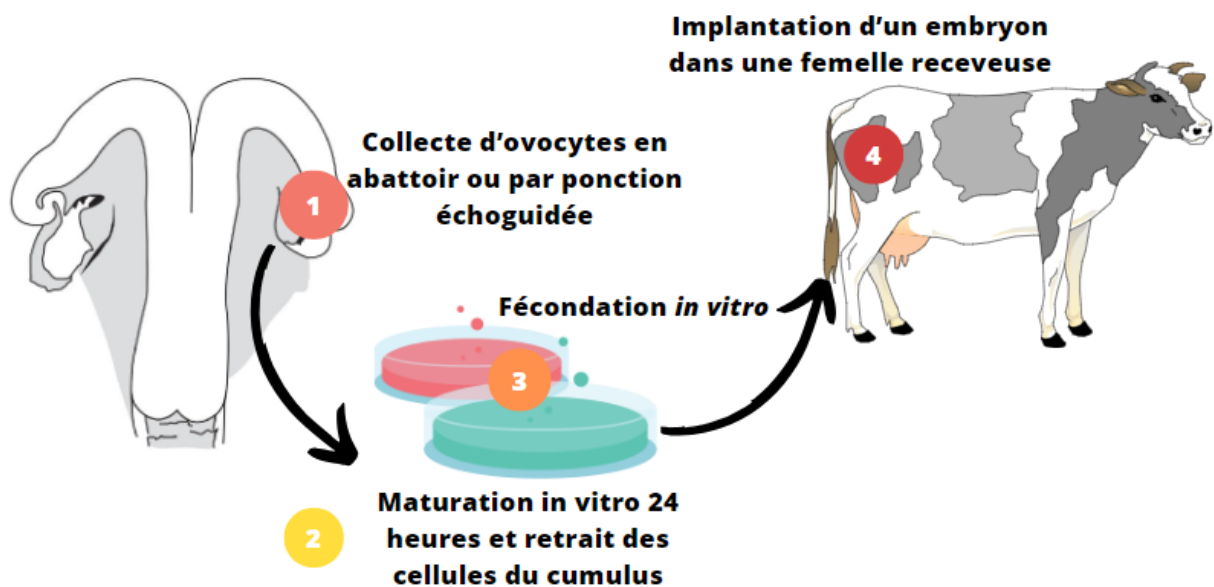


Figure 3 : Schéma de la production *in vitro* d'embryons

Lorsque l'embryon se développe, il conserve sa zone pellucide qui le protège de la contamination par des agents pathogènes. Sur la Figure 4, on peut voir que la zone pellucide est toujours bien présente autour de l'embryon jusqu'à J7 puis l'embryon éclos et sort de sa zone pellucide.

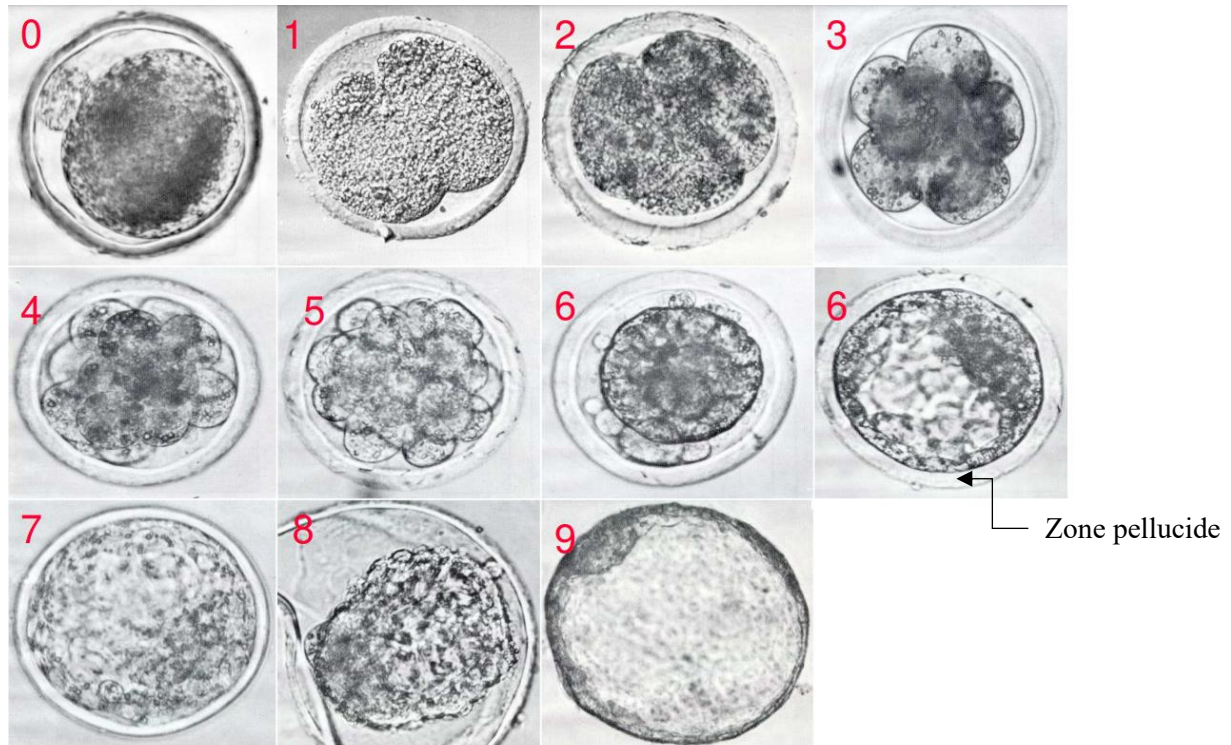


Figure 4 : Chronologie du développement embryonnaire (J0-J9) (Winterberger et al., 1987)

Les différentes techniques pour la production d'embryons induisent des différences entre les embryons produits. Les embryons ne présentent alors pas les mêmes risques de contamination par des agents pathogènes. Les différences entre les 2 types d'embryons et les risques de contaminations associés sont résumés dans le Tableau 1.

	Embryons produits <i>in vivo</i>	Embryons produits <i>in vitro</i>
Différences pour produire l'embryon	Développement dans les voies génitales femelles	Développement dans des milieux de culture (exemple : sérum d'albumine bovine, sérum de veau foetal) Retrait des cellules du cumulus
Similitude sur le risque de contamination des embryons	Utilisation de sperme potentiellement contaminé Contamination primaire du complexe oocyte-cumulus	
Différences sur le risque de contamination de l'embryon	Contamination dans les voies génitales de la donneuse Conservation des cellules du cumulus	Contamination par les milieux de culture et lors du prélèvement Contamination croisée dans le laboratoire

Tableau 1 : Différences et similitudes entre les embryons produits *in vivo* et produits *in vitro* (Viana et al., 2020)

Réglementation et agrément :

Les embryons produits *in vivo* et *in vitro* peuvent être **source de transmission de pathogènes** afin de minimiser ce risque le transfert d'embryon est règlementé. C'est pourquoi les établissements ainsi que les praticiens réalisant des transferts d'embryons sont soumis à un **agrément pour garantir les bonnes pratiques**. Ces bonnes pratiques concernent les animaux donneurs ainsi que la production des embryons. Les donneuses d'embryons sont notamment testées pour être considérées comme indemnes de maladies. Les embryons doivent être lavés 10 fois afin d'éliminer les éventuels agents pathogènes présents sur les embryons. Les différents bains de lavage sont représentés dans la Figure 5. En complément de la trypsine, un antibiotique peut également être utilisé.

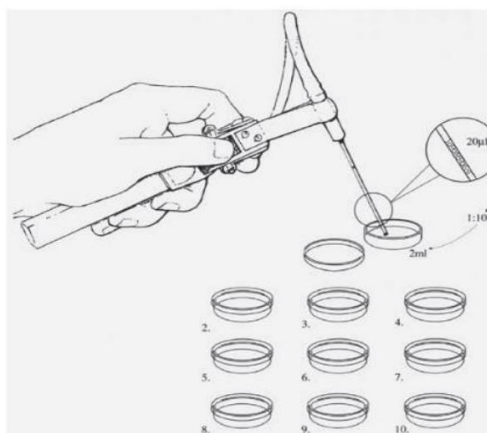


Figure 5 : Les 10 bains de lavage des embryons recommandés par l'International Embryo Technology Society (Stringfellow, 1998)

La collecte, la manipulation et le transport d'embryons sont soumis à la **réglementation d'organismes à la fois internationaux et nationaux**. C'est l'Organisation Mondiale de la Santé animale (OMSA) qui fournit des recommandations dans le code terrestre (OMSA - Organisation mondiale de la santé animale, 2023) sur les maladies et sur les contraintes réglementaires que doivent suivre les établissements de collecte d'embryons. L'OMSA délègue son rôle de police administrative à des groupes nationaux. L'établissement ainsi que le praticien doivent être habilités par une autorité compétente qui dépend du pays d'exercice. L'équipe travaillant au sein de l'établissement de collecte se doit de suivre des procédures spécifiques, et de travailler dans des locaux agréés présentant les équipements nécessaires pour assurer la collecte des embryons, leur traitement et leur manipulation ainsi que leur stockage. L'équipe doit être supervisée par un vétérinaire qui sera en charge des examens cliniques des animaux prélevés et du respect des conditions sanitaires.

Il existe **différents groupes à l'échelle nationale et internationale** qui sont en charge du respect de ces bonnes pratiques. En Europe, il s'agit de l'Association of Embryo Technology in Europe (AETE), aux Etats-Unis l'American Embryo Transfer Association (AETA) et au Canada le Canadian Embryo Transfer Association (CETA). L'AETE est un groupe permettant l'échange d'informations sur le transfert d'embryons au sein de l'Union Européenne. Cependant, chaque état membre est responsable individuellement de la délivrance de l'agrément ainsi que du respect des conditions décrites dans le règlement (UE) 2016/429 (AETE, 2024). En revanche, l'AETA et le CETA sont à la fois des groupes de recherche concernant le transfert d'embryons mais sont également responsables de la délivrance des agréments auprès des professionnels vétérinaires.

En **France**, les praticiens et les centres de transfert sont soumis à l'agrément fourni par la Direction Départementale de la Protection des Populations (DDPP) du département d'exercice. C'est donc la DDPP qui assure le bon fonctionnement et le respect la loi. L'agrément des établissements est maintenu grâce à des prélèvements tous les ans envoyés au Laboratoire National du Contrôle des Reproducteurs.

Aux **Etats-Unis**, les établissements sont contrôlés par l'United State Department of Agriculture (USDA) et les professionnels par l'AETA (USDA délègue ce rôle à l'AETA). L'AETA cherche à maintenir un niveau d'excellence pour son agrément. C'est pourquoi ce groupe organise un examen rigoureux et exige une formation continue de leurs adhérents (formation payante) (AETA, 2024).

Le **Canada** partage les mêmes pratiques que les Etats-Unis : c'est le CETA qui donne l'agrément aux professionnels et le ministère de l'agriculture et de l'agroalimentaire qui certifie les centres de transfert d'embryons (CETA, 2024).

Tous ces organismes suivent les **recommandations de l'International Embryo Technology Society (IETS)** qui a été fondée en 1974 à Denver au Colorado (Etats-Unis). L'IETS est conçue comme un forum dont le but est de permettre aux professionnels travaillant sur les technologies de l'embryon d'échanger avec des personnes de leur domaine d'expertise et de garantir de bonnes pratiques à l'échelle internationale. Pour cela, elle encourage la recherche, l'éducation, l'échange d'informations, le maintien de normes éthiques élevées et la coopération avec des organisations ayant des objectifs similaires (IETS,2024a) (IETS, 2024b). L'IETS dispose d'un **sous-comité**, le *Health And Safety Advisory Committee (HASAC)*, spécialisé dans les **biotechnologies de la reproduction**, la **santé animale** et la **sécurité**

alimentaire. Il répond aux questions et demandes de conseils de la part des membres de l'IETS dans ce domaine.

Catégorisation des agents pathogènes :

L'IETS est à l'origine d'une recommandation de la classification des agents pathogènes selon **4 catégories** (OMSA - Organisation mondiale de la santé animale, 2023) pour le transfert d'embryons produits *in vivo* (liste des maladies en Annexe 1). Ces recommandations sont essentielles pour éviter la diffusion et l'introduction d'agents pathogènes au sein des élevages ou des pays. Les pathogènes ont été classés selon les risques de transmission par les embryons en 4 catégories. Le risque de transmission lié à un agent pathogène dépend de ses caractéristiques biologiques, de la probabilité de transmission de l'agent ainsi que de la gravité liée aux conséquences de son introduction. Les différentes catégories sont :

- Catégorie 1 : maladies dont les **preuves** réunies sont **suffisantes** pour affirmer que le risque de transmission est négligeable. Exemple : *Brucella abortus*
- Catégorie 2 : maladies dont des **preuves substantielles** ont été réunies, indiquant que le risque de transmission est négligeable, à condition que les embryons soient manipulés correctement entre la collecte et la transplantation. Exemple : Fièvre catarrhale ovine
- Catégorie 3 : maladies dont les **résultats préliminaires** indiquent que le risque de transmission est négligeable, à condition que les embryons soient correctement manipulés entre la collecte et la transplantation, mais pour lesquels ces constatations préliminaires doivent être corroborées par des données expérimentales complémentaires *in vitro* et *in vivo*. Exemple : Fièvre aphteuse
- Catégorie 4 : **aucune conclusion** ne peut encore être tirée quant au niveau de risque de transmission, ou le risque de transmission par transfert d'embryons pourrait **ne pas être négligeable**, même si les embryons sont correctement manipulés entre la collecte et la transplantation. Exemple : Fièvre Q

Cependant, dans un but de simplification et de clarification, l'IETS a décidé de changer cette catégorisation de 4 catégories à **3 catégories** et de l'étendre aux embryons produits *in vitro*. L'IETS a missionné l'HASAC pour ce changement de catégories. Ces nouvelles catégories sont :

- Catégorie 1 : risque de transmission **négligeable**.
- Catégorie 2 : risque de transmission **inconnu** (nécessité de réaliser des recherches supplémentaires).
- Catégorie 3 : risque **non négligeable** même si l'embryon est manipulé dans de bonnes conditions.

Objectifs de l'étude :

C'est dans ce contexte que notre étude se situe, dans le but de contribuer à la re-catégorisation des pathogènes (principalement placer les agents dans les catégories soit 1 avec risque négligeable de transmission ou 3 avec risque) et face aux nombreux pathogènes à étudier, nous avons opté pour une stratégie visant à identifier les agents pathogènes les plus à risque. Nous avons structuré notre travail en 2 parties :

Partie 1 : Hiérarchisation des pathogènes majeurs d'intérêt pour les échanges internationaux en utilisant un travail d'enquête internationale à destination de professionnels du transfert d'embryons.

Partie 2 : Essai de re-catégorisation de 6 agents pathogènes ressortis de la partie 1 de l'étude selon la bibliographie.

Partie 1 : Hiérarchisation des dangers pour les échanges internationaux d'embryon via une enquête internationale

Dans cette partie, nous présenterons l'enquête réalisée avec les modalités d'envois aux professionnels et les résultats obtenus.

1. Matériels et méthodes

1.1. Conception de l'enquête

L'enquête a été conçue sous **2 formats**. Le premier est un document Google Form, et le second un document Word qui a également été envoyé sous format PDF. Le document Word a été créé car certains des interrogés ne pouvaient pas ouvrir le lien Google Form en raison de politique de sécurité de leurs ordinateurs (Annexe 2).

Afin de présenter notre enquête, nous avons réalisé une courte introduction en anglais qui explique clairement les objectifs de l'étude et présente l'HASAC et ses missions ainsi que sur la nouvelle catégorisation prévue par l'IETS.

L'enquête se découpe en 2 parties, une partie concernant le répondant et une partie qui se concentre sur les agents pathogènes que nous souhaitons étudier.

1.1.1. Le répondant

Comme il est possible de le voir dans l'annexe 2, la première partie de l'enquête se concentre sur le répondant :

- Son **identité** avec la possibilité de rester anonyme, les résultats de l'enquête pouvant servir à une publication lors de conférence de l'IETS ou de l'HASAC
- Son **pays d'exercice**
- Les **pays avec lesquels il travaille**
- La nature de son **travail**
- Les **types d'embryons** avec lesquels il travaille
- Les **espèces** avec lesquelles il travaille

Ces différentes questions vont nous servir à interpréter correctement nos résultats et nous permettre de déterminer si nos résultats sont représentatifs.

1.1.2. Les agents pathogènes étudiés

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux **agents pathogènes**. Nous avons demandé aux interrogés quels étaient pour eux les agents pathogènes les plus à risque pour le transfert d'embryons et pour le sperme. Les objectifs nationaux vont également jouer dans **l'appréciation de ce risque**. En effet, le souhait d'éradiquer une maladie d'un territoire augmente la volonté de ne pas introduire l'agent pathogène et donc accroît le risque associé. Comme visible en annexe 2, cette partie regroupe plusieurs questions :

- Une première question concernait les agents pathogènes **restreignant les échanges d'embryons**. Parmi une liste de maladies, les interrogés devaient indiquer lesquelles présentaient des restrictions aux échanges d'embryons produits *in vivo* ou *in vitro*. Cette liste d'agents pathogènes (Annexe 3) comprend des agents qui étaient courants ou représentaient un enjeu particulier pour le transfert d'embryons.
- En lien avec cette question, les interrogés devaient indiquer 5 agents pathogènes qu'ils considéraient comme les plus à **risque pour le transfert d'embryons** produits *in vivo* et *in vitro*.
- Une autre question concernait les **agents à risque vis à vis du sperme**.
- Une dernière question était destinée spécifiquement aux **interrogés travaillant en lien avec le gouvernement** pour connaître les 5 agents pathogènes à catégoriser en priorité selon eux.

1.2. Méthodes d'envoi

L'enquête a été envoyée sous 3 formats différents, un lien Google Form, un document Word et un PDF, les documents Word et PDF étant identiques.

1.2.1. Envoi par mail : liste

Nous avons décidé d'envoyer cette enquête par mail à un **réseau de scientifiques** connus du Pr. Lamia Briand avec des relances. Cette liste contenait une dizaine de scientifiques travaillant en France, Australie, Afrique du Sud, Inde, et au Royaume-Uni, Brésil, Japon, Etats-Unis et Canada. Le premier mail a été envoyé le 10 octobre 2023.

1.2.2. Partage depuis la liste initiale

En plus de répondre à l'enquête, nous avons initialement demandé aux scientifiques de la partager à leurs éventuels contacts dans leur pays ou dans d'autres pays afin d'augmenter au maximum le nombre de réponses et ainsi avoir des résultats les plus interprétables et représentatifs possibles.

Nous avons également reçu l'aide de Fabienne Ruaux de Synetics, une entreprise européenne travaillant sur la génétique des bovins et des chèvres. Elle a accepté de partager notre enquête auprès de ses contacts dans le domaine du transfert d'embryons.

Les dates d'envois de l'enquête ainsi que les différentes relances sont résumées dans la Figure 6.

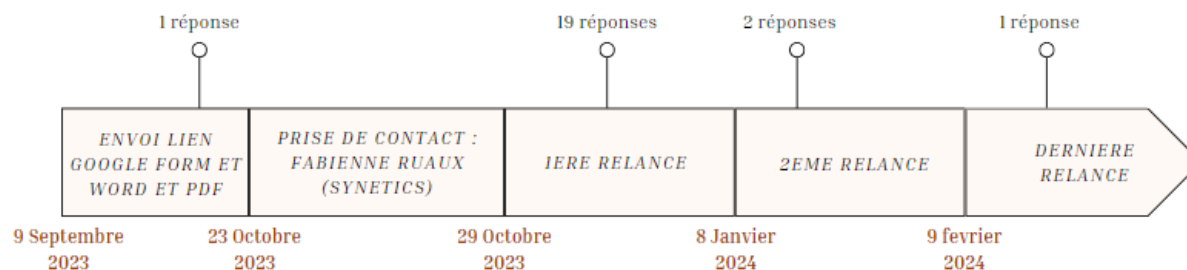


Figure 6 : Frise chronologique de l'envoi et des relances de l'enquête

2. Analyses des résultats

Nous avons obtenu au total **23 réponses** à notre enquête (n = 23) et certains répondants n'ont pas répondu à toutes les questions.

2.1. Données sur les répondants

Vingt-trois personnes ont répondu à notre questionnaire. Plus de 57.1% des interrogés ont préféré rester anonymes. Nous ne présenterons donc pas l'identité des répondants mais seulement les informations générales les concernant à savoir leur nationalité, leur travail et les espèces avec lesquelles ils travaillent.

2.1.1. Nationalité des répondants

Les 23 répondants ont indiqué leur pays d'exercice, ce qui nous a permis de réaliser le graphique ci-dessous (Figure 7).

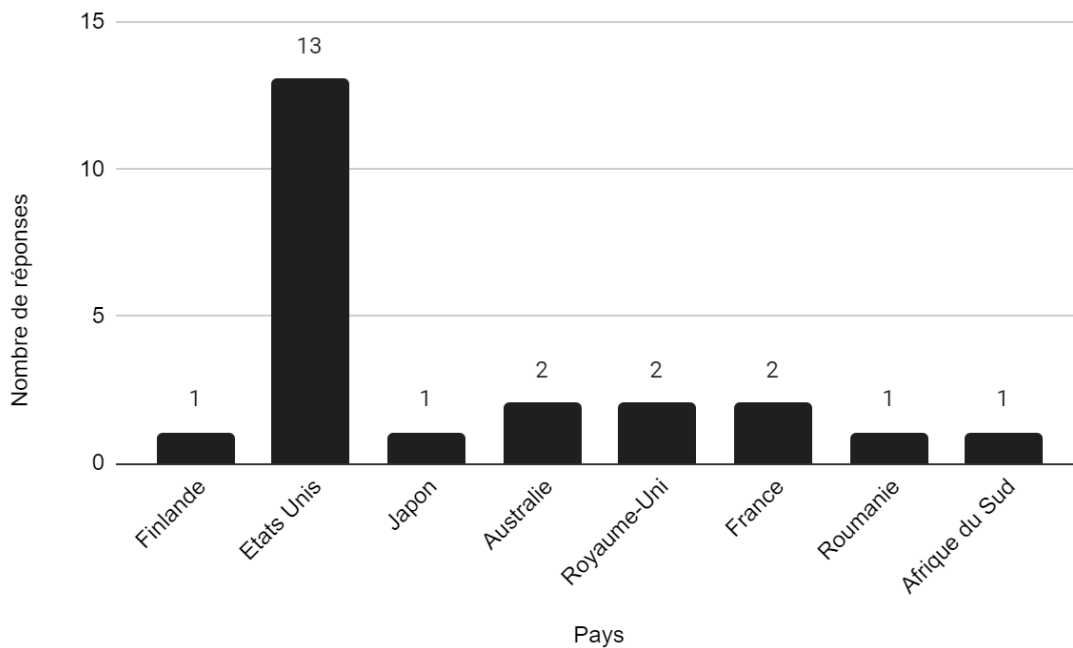


Figure 7: Nombre de réponses par pays (n=23)

Nous observons que **56.5%** des réponses proviennent des **Etats-Unis**. Il y a donc une surreprésentation des Etats-Unis dans notre étude. De plus, sur les réponses restantes **6** proviennent d'**Europe** (Finlande, Royaume-Uni, France et Roumanie) et seulement **4 réponses des régions hors Europe** (Australie, Japon et Afrique du Sud). Ainsi, on peut s'attendre à ce que les maladies ressortant de notre étude soient principalement représentatives de la législation occidentale et plus particulièrement celle des Etats-Unis. Nous n'avons malheureusement eu aucune réponse d'Amérique du Sud et seulement une d'Asie et une d'Afrique du Sud.

Sur les 22 interrogés ayant répondu à la question sur les pays avec lesquels ils interagissaient, **54.5% d'entre eux travaillent à l'international** (Figure 8). Parmi eux, 8% travaillent explicitement avec des pays africains, 17% avec des pays d'Amérique du Sud et 26% avec des pays d'Asie. Ainsi, on peut espérer que les résultats soient tout de même en partie représentatifs de la situation internationale. On retrouve la même proportion en étudiant uniquement les répondants provenant des Etats-Unis avec 57.1% d'entre eux qui interagissent avec d'autres pays. Ainsi, malgré la surreprésentation des Etats-Unis pour ce paramètre il n'y a pas d'influence sur le résultat final.

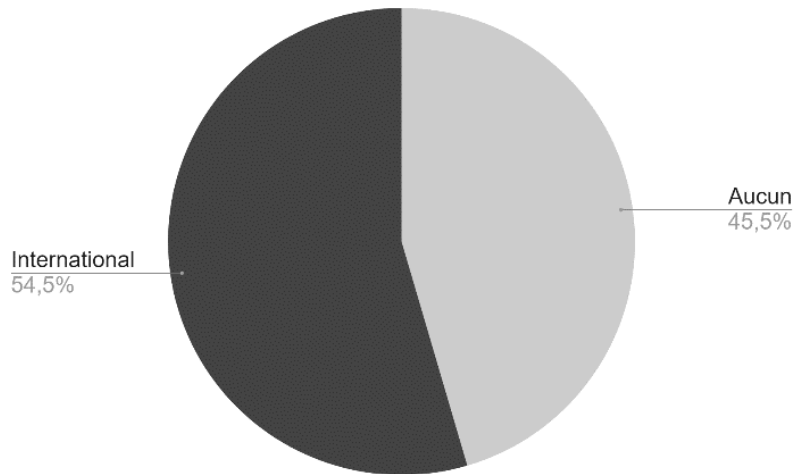


Figure 8 : Pourcentage d'interrogés travaillant avec d'autres pays que leur pays d'exercice (n=22)

2.1.2. Travail des répondants

La totalité des interrogés ont répondu concernant leur type de travail. Les informations obtenues sont représentées à la Figure 9.

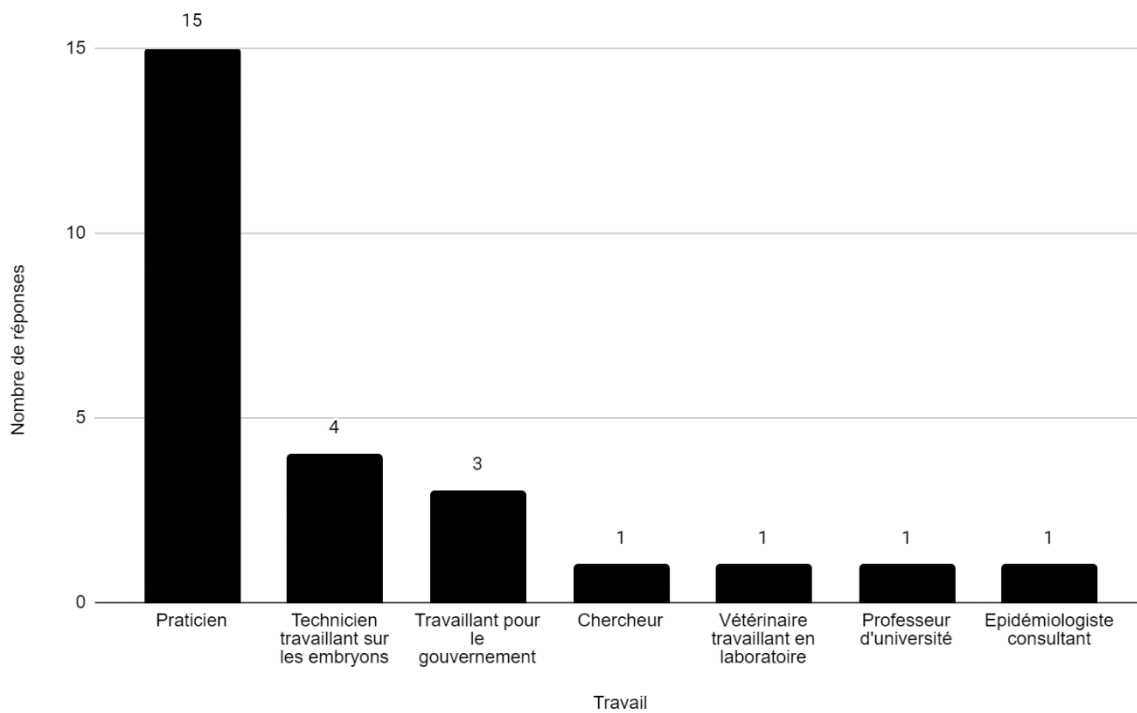


Figure 9 : Type de pratiques des répondants (n=23)

Nous constatons que **65%** des interrogés sont des **praticiens**. Cette tendance vient surtout des répondants travaillant aux Etats-Unis. En effet, 85% d'entre eux sont des praticiens et seulement 37% des répondant hors Etats-Unis le sont. Les réponses sont donc très influencées par les répondants des Etats-Unis.

Sur les 21 personnes ayant répondu concernant le type d'embryon étudié (figure 10) 63.6% indiquent travailler sur des embryons aussi bien produits *in vitro* que *in vivo*. Les répondants qui ne travaillent que sur un seul type d'embryons sont tous originaires des Etats-Unis.

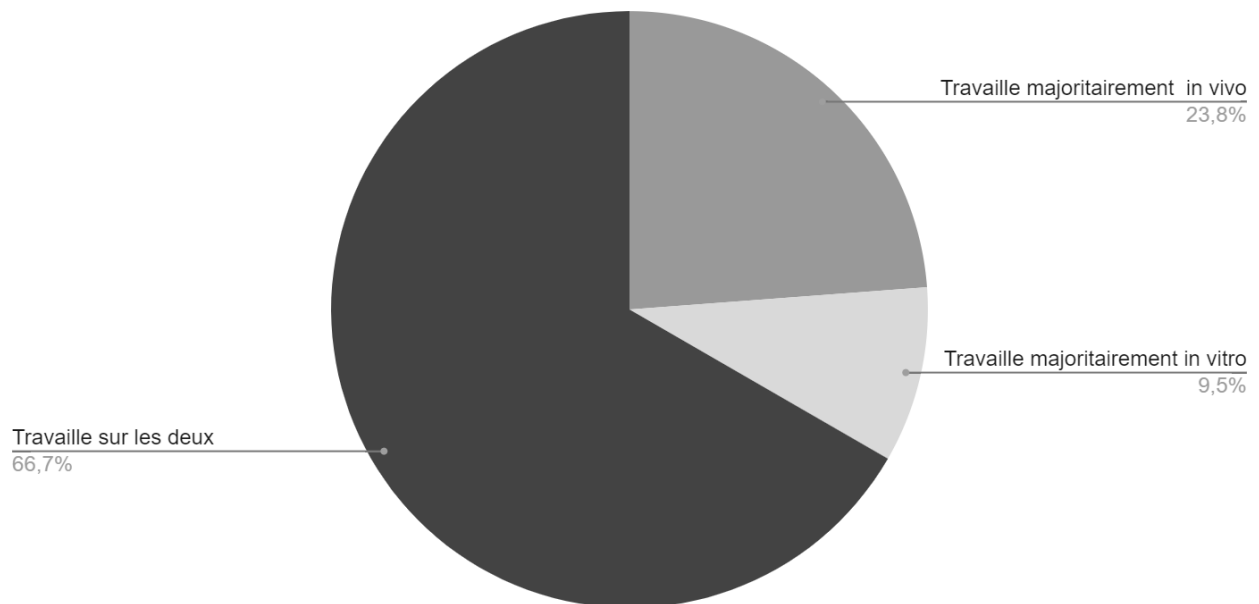


Figure 10 : Types d'embryons étudiés par les interrogés (n=21)

Ainsi, la majorité des répondants est apte à répondre à des questions aussi bien sur des maladies affectant les embryons produits *in vivo* que *in vitro*.

2.1.3. Espèces étudiées par les répondants

L'ensemble des interrogés a indiqué les espèces avec lesquelles ils travaillent (Figure 11).

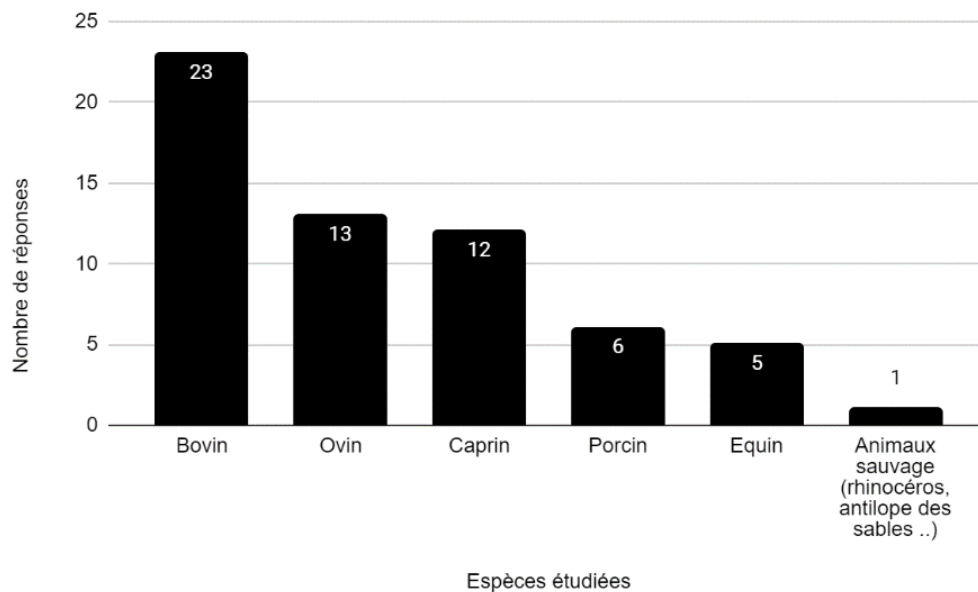


Figure 11 : Espèces étudiées par les répondants (n=23)

Ils travaillent **tous** avec des **bovins**, **56 %** travaillent sur les **ovins**, **52 %** sur les **caprins**, **26 %** sur les **porcins** et **21 %** sur les **équins**. Un seul d'entre eux travaille avec des espèces sauvages (Afrique du Sud). On retrouve approximativement le même pourcentage de réponses pour les répondants originaires des Etats-Unis même s'ils travaillent moins avec les équins et les porcins (14%). On peut s'attendre à un biais dans les réponses avec une sous-représentation des maladies touchant les porcins et les équins.

2.2. Données sur les maladies

2.2.1. Maladies restreignant les échanges d'embryons produits *in vivo* et *in vitro*

Concernant les maladies restreignant les échanges pour le transfert d'embryons produits *in vivo*, nous avons compilé les résultats obtenus sur la Figure 12. La liste totale des maladies avec le nombre de réponses associées se trouve en Annexe 4. La totalité des interrogés ont répondu à cette question.

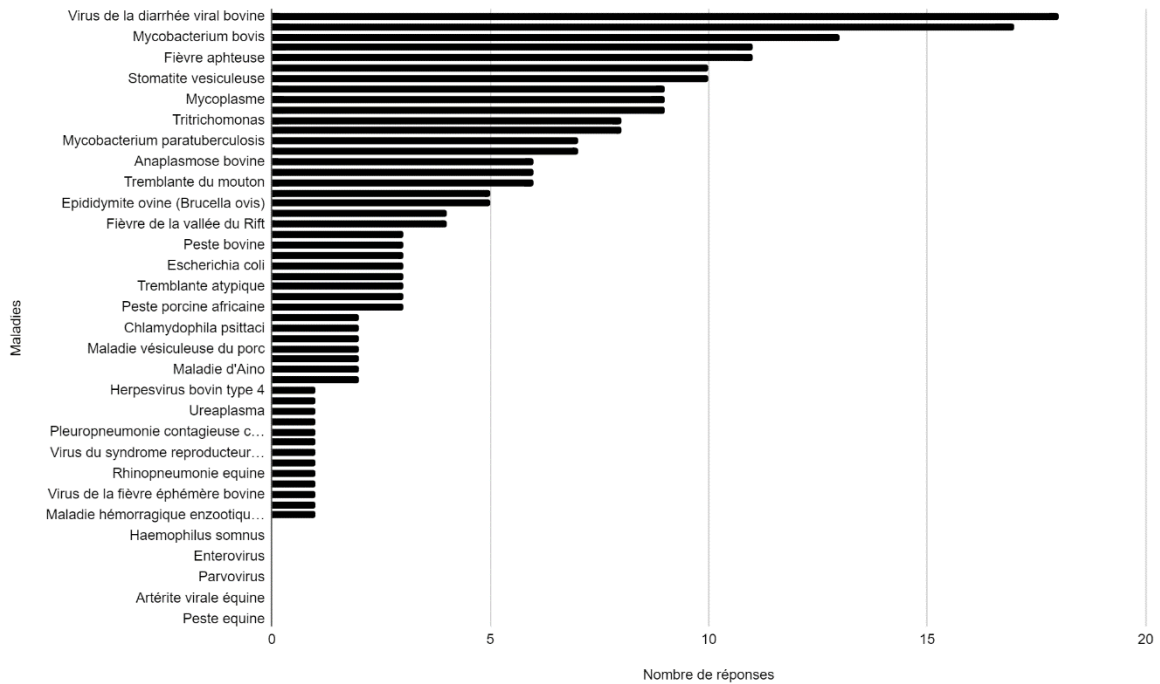


Figure 12: Maladies restreignant les échanges d'embryons produits *in vivo* (n=23). N'est indiquée qu'une maladie sur deux (liste complète en annexe 4)

Ce graphique (Figure 12) et le tableau associé (Annexe 4) répondent à notre volonté de hiérarchisation des maladies afin de prioriser la recherche sur ces maladies. Les 10 premières maladies qui en ressortent seront présentées dans le tableau 2.

Concernant les maladies restrictives pour le transfert d'embryons produits *in vitro*, les résultats obtenus sont compilés dans la Figure 13. La liste exacte des maladies avec le nombre de réponses associées se trouve en Annexe 5. La totalité des interrogés ont répondu à cette question.

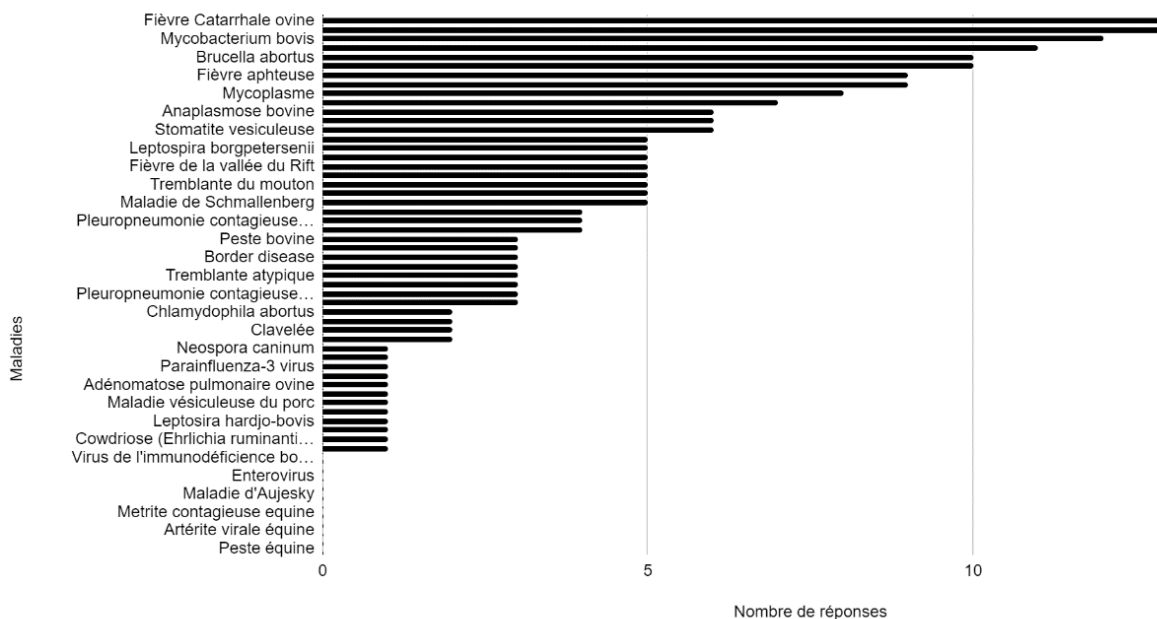


Figure 13 : Maladies les plus restrictives pour le transfert d'embryons produits in vitro. N'est indiquée qu'une maladie sur deux (liste complète en annexe 5) (n=23)

De même que précédemment les 10 premières maladies ressortant de l'enquête sont présentées dans le tableau 2.

Maladies	Nombre de réponses pour les embryons produits <i>in vivo</i>	Nombre de réponses pour les embryons produits <i>in vitro</i>
Diarrhée virale bovine	18	13
Fièvre Catarrhale ovine	17	13
Tuberculose	13	12
Rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1)	10	11
Brucellose à <i>Brucella abortus</i>	9	10
Leucose enzootique bovine	11	10
Fièvre aphteuse	11	9
Stomatite vésiculeuse	10	0
Paratuberculose	0	9
Mycoplasmose	9	8
Fièvre Q	9	0
Campylobacteriose à <i>Campylobacter fetus subsp. venerealis</i>	0	7

Tableau 2 : Récapitulatif des 10 premières maladies restreignant les échanges d'embryons selon l'enquête (in vivo et in vitro)

2.2.2. Maladies à risque pour le transfert d'embryons produits in vivo et in vitro

Concernant l'avis des interrogés sur ces maladies à risque pour les embryons produits *in vivo*, 19 personnes ont répondu, ce qui a permis de réaliser le graphique ci-dessous (Figure 14).

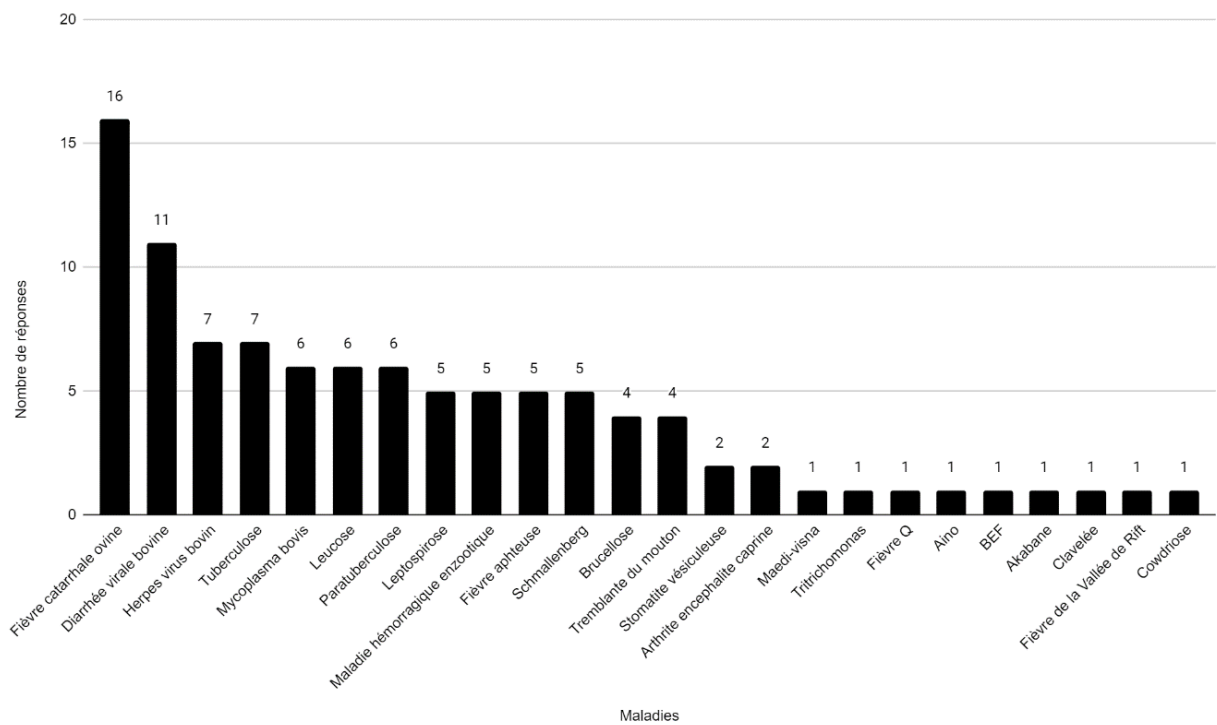


Figure 14: Maladies les plus à risque concernant les embryons produits in vivo (n=19)

Ce graphique révèle que les interrogés ne priorisent pas les maladies à étudier tout à fait de la même manière que dans la question précédente (Figure 12 et Annexe 4). Les principales maladies qui ressortent de ce graphique sont présentées dans le tableau 3 (§2.3. Bilan de l'enquête, page 30).

Pour les embryons produits *in vitro*, nous avons procédé de la même manière et les résultats sont présentés en Figure 15.

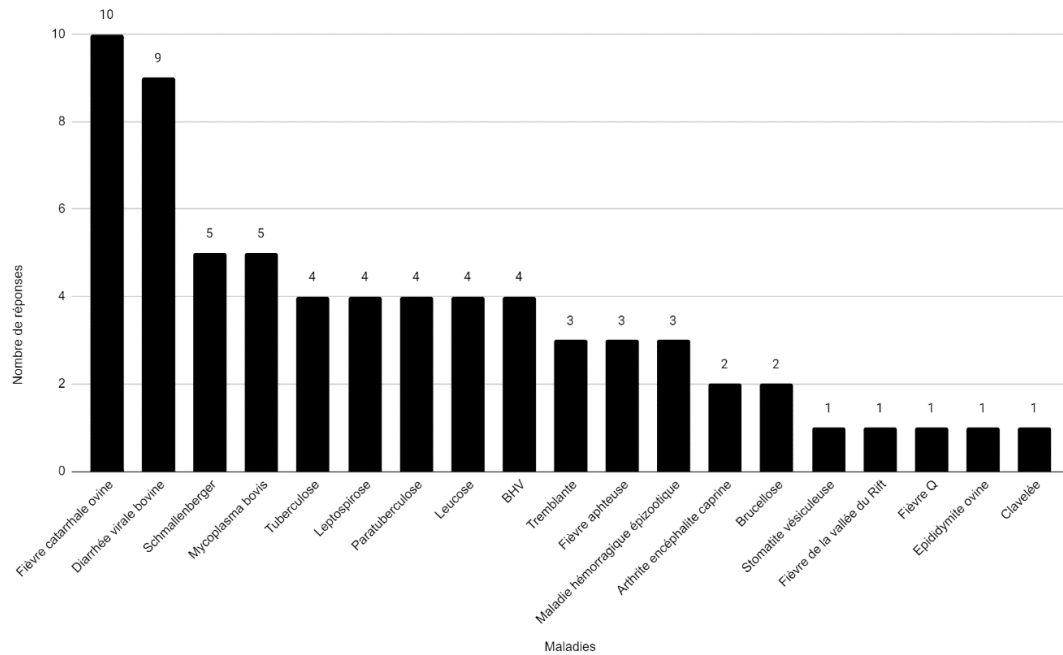


Figure 15: Maladies les plus à risque concernant les embryons produits *in vitro* (n=19)

Comme précédemment, les maladies les plus à risque pour les interrogés ne sont pas prioritaires tout à fait de la même manière que dans la liste des maladies les plus restrictives pour le transfert d'embryons (Annexe 5 et Figure 13). Les principales maladies qui ressortent de ce graphique sont présentées dans le tableau 3 (§2.3. Bilan de l'enquête, page 30).

2.2.3. Maladies à risque pour l'exportation de sperme

Treize personnes ont répondu à la question concernant les maladies à risque pour le sperme. Les résultats sont synthétisés dans la figure 16. Les maladies les plus à risque sont présentées dans le tableau 3 (§2.3. Bilan de l'enquête, page 30).

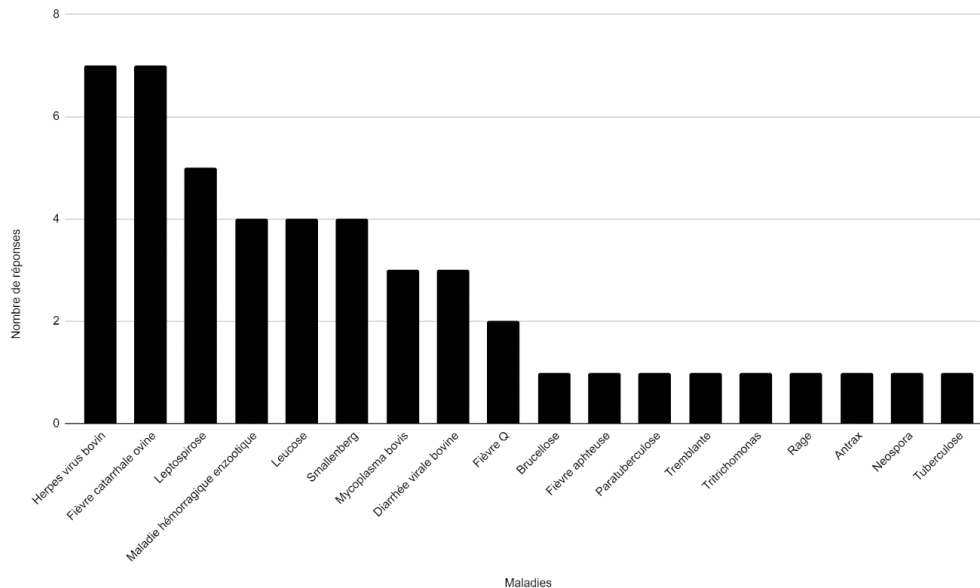


Figure 16: Maladies les plus à risque pour les exportations de sperme (n=13)

2.2.4 Agents pathogènes à catégoriser en priorité selon les répondants travaillant avec le gouvernement

Huit personnes ont répondu à cette question, soit moins de 50 % des répondants ce qui est relativement peu. Les résultats sont indiqués dans la Figure 17.

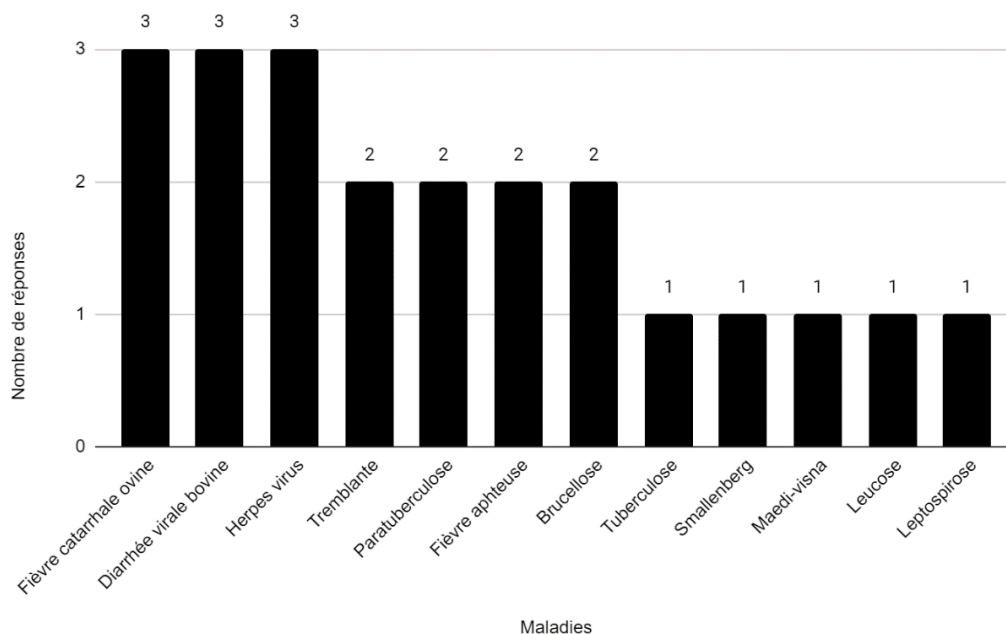


Figure 17: Maladies les plus à risque pour les répondants travaillant pour le gouvernement (n=8)

Les maladies principales ressortant de ce graphique sont présentées dans le tableau 3 (§2.3. Bilan de l'enquête, page 30).

3. Bilan de l'enquête

Les répondants sont principalement des praticiens qui travaillent à la fois sur des embryons *in vitro* et *in vivo*. Ils travaillent majoritairement aux Etats-Unis mais plus de la moitié d'entre eux travaillent avec d'autres pays. L'espèce la plus étudiée par les répondants est le bovin.

Les tableaux obtenus en Annexes 4 et 5 permettent de répondre à nos questions concernant la priorisation de l'ensemble des maladies auxquelles nous nous sommes intéressés. Notre enquête nous a également permis d'obtenir l'avis plus précis des interrogés sur ces maladies et de savoir lesquelles étaient les plus à risque (Tableau 3).

	Embryons produits <i>in vivo</i>	Embryons produits <i>in vitro</i>	Sperme	Avis gouvernement
Maladies		Fièvre catarrhale ovine		
	Fièvre catarrhale ovine	Diarrhée virale bovine	Fièvre catarrhale ovine	Fièvre catarrhale ovine
	Diarrhée virale bovine	Mycoplasmoses	Diarrhée virale bovine	Diarrhée virale bovine
	Herpesviroses bovines	Maladie de Schmallenberg	Leptospirose	Herpesvirose bovine
	Tuberculose	Leptospirose	Maladie hémorragique enzootique	Tremblante
	Mycoplasmoses	Leucose enzootique bovine	Leucose bovine	Paratuberculose
	Leucose enzootique bovine	Paratuberculose	Schmallenberg	Fièvre aphteuse
	Paratuberculose	Tuberculoses		Brucellose
		Herpesviroses bovines		

Tableau 3 : Maladies d'intérêt selon les répondants

Pour étudier certaines maladies de façon plus précise nous avons décidé de choisir celles qui étaient communes aux différentes colonnes du tableau 3. Ainsi, les maladies qui vont nous intéresser plus particulièrement pour le reste de notre étude sont :

- La fièvre catarrhale ovine (FCO)
- La diarrhée virale bovine (BVD)
- Les herpesviroses
- Les mycoplasmoses
- La leucose enzootique bovine
- La leptospirose

Partie 2 : Essai de catégorisation des principaux pathogènes retenus via des ressources bibliographiques

1. Matériels et méthodes

Dans cette partie nous allons présenter nos méthodes de recherche afin de catégoriser les maladies. Pour rappel, les différentes catégories sont les suivantes :

- **Catégorie 1** : risque de transmission **négligeable**.
- **Catégorie 2** : risque de transmission **inconnu** (nécessité de réaliser des recherches supplémentaires).
- **Catégorie 3** : risque **non négligeable** même si l'embryon est manipulé dans de bonnes conditions.

Pour chaque maladie étudiée une fiche sera réalisée selon un modèle fourni par l'IETS (Annexe 6) afin de réaliser une catégorisation la plus précise possible. La partie « Résultats » comprend les fiches récapitulatives de nos recherches et de notre décision de classification. Les fiches détaillées seront présentées en Annexe.

1.1 Présentation des maladies sélectionnées

L'enquête internationale nous a permis de sélectionner 6 maladies à étudier afin de les re-catégoriser pour les embryons produits *in vivo* et *in vitro* :

1. La **fièvre catarrhale ovine**
2. La **diarrhée virale bovine**
3. Les **herpesviroses** ; la rhinotrachéite bovine ayant déjà été étudiée par les chercheurs de l'IETS, nous ne nous concentrerons que sur l'herpesvirus bovin de type 4 (BHV-4)
4. Les **mycoplasmoses** ; dans ce cas nous avons décidé de nous concentrer sur *Mycoplasma bovis*.
5. La **leucose enzootique bovine**
6. La **leptospirose** ; en raison des différences entre les différents serovar (pathogénicité, biologie ...) nous nous sommes principalement concentrés sur le serovar *Hardjo*.

1.2. Présentation du modèle de fiche fourni par l'IETS

Nous avons utilisé un modèle de fiche fourni par l'IETS pour analyser chacune de nos maladies. Ce modèle est disponible en Annexe 6.

Ce modèle se découpe en 4 parties :

1. Des **généralités** sur l'agent pathogène
2. Des **données techniques** plus précises qui nous permettent d'aborder des aspects concernant la reproduction et le transfert d'embryons
3. La **conclusion** sur le risque de transmission et de contamination par l'agent pathogène
4. Les **recommandations** choisies pour les embryons produits *in vitro* et *in vivo*.

Dans les différentes parties de ce modèle de fiche, des données étaient demandées afin de permettre une classification objective en ayant le plus possible d'éléments à notre disposition. Elles sont indiquées en gras dans l'annexe.

Des modifications de présentation des fiches ont parfois été apportées. On peut par exemple citer la suppression de la partie « 2.1. L'agent pathogène » dans toutes les fiches à l'exception des fiches du BHV-4 et de la FCO, ou le déplacement des informations demandées dans la partie « 3. Conclusions » dans une autre partie « 2.5. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon et méthode de réduction » afin d'avoir une conclusion qui reprend vraiment les éléments déjà abordés sans ajouter de nouvelles données.

Grâce aux informations rassemblées dans ces fiches, nous serons capables d'évaluer le risque et donc de catégoriser l'agent pathogène. Pour cela, nous utiliserons la méthode présentée dans la Figure 18.

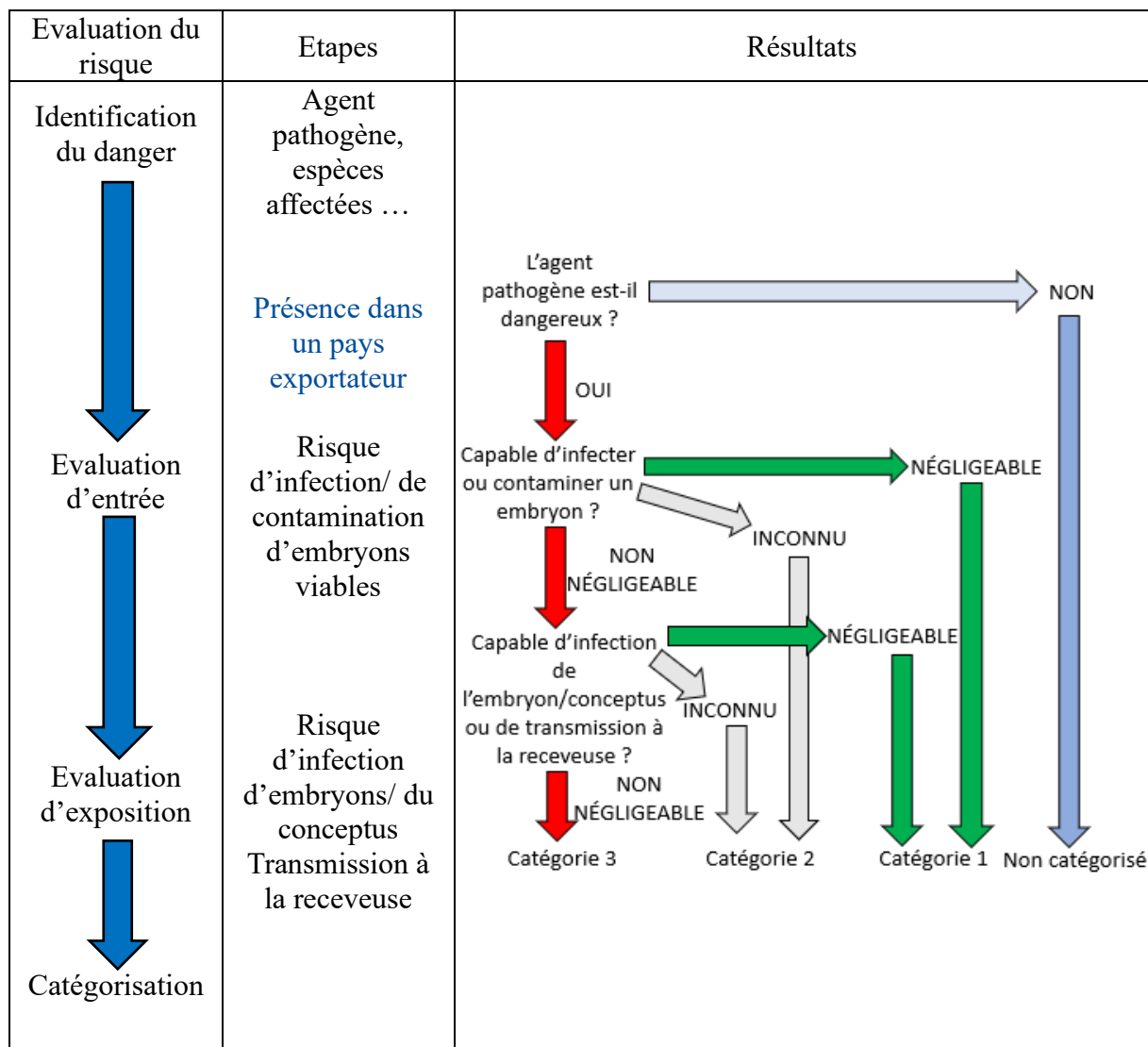


Figure 18 : Méthode d'évaluation du risque de transmission

1.3. Recherches bibliographiques

Pour notre recherche bibliographique sur nos différentes maladies, nous avons suivi les recommandations de l'IETS et plus particulièrement de l'HASAC (IETS, 2024b). Ce document conseille l'utilisation de **PubMed** ou de *Web of Science*. Dans le cadre de notre étude nous avons principalement utilisé PubMed. Nous avons également vérifié sur *Web of Science* si le nombre de références pour un même mot clé était similaire que sur PubMed. Cette vérification sur *Web of Science* avait pour but de nous assurer que nous n'étions pas passé à côté de références intéressantes.

Pour compléter les premières parties de la fiche (généralités, caractéristiques de l'agent pathogène...), nous avons cherché des **articles de synthèse** sur l'agent pathogène. Pour cela, nous avons utilisé comme mot clé uniquement le nom de l'agent. Le mot clé étant imprécis, notre recherche générait un grand nombre de références. Nous avons donc fait le choix de n'étudier que les **20 premières références** qui ressortaient en privilégiant les sources les plus récentes.

Pour le reste de la fiche, nous avons utilisé des **mots clés plus spécifiques**. Dans les références que nous avons étudiées, les articles sans résumé ou ne comportant pas d'information utile sur notre sujet étaient écartés. Lorsque l'article n'était pas disponible sur PubMed, nous le cherchions sur Google Scholar ou sur d'autres bases de données (Science Direct ...). Lorsque l'article complet n'était pas disponible, il était écarté. Cette méthode a été utilisée pour la plupart des maladies étudiées. Si, suite à cette recherche initiale des données manquaient pour remplir la fiche, une seconde recherche plus spécifique était réalisée.

Le tableau 4 résume les mots-clés ainsi que les ressources utilisées dans le cadre de notre recherche bibliographique. A l'exception de la fièvre catarrhale ovine et de la diarrhée virale bovine, les recherches ont été réalisées selon la méthode présentée plus haut.

Dans le cas de la fièvre catarrhale ovine, nous avons repris les travaux de recherches réalisés par les **chercheurs du sous-comité de recherche** de l'IETS et nous leur sommes reconnaissants du partage de leurs données. Leur travail étant très complet nous n'avons pas fait de recherches supplémentaires.

Dans le cas de la diarrhée virale, nous avons utilisé une recherche bibliographique conduite en 2022 par des **étudiants de l'école d'Oniris VetAgroBio** Nantes dans le cadre du cours de Reproduction. Nous avons réalisé une recherche bibliographique complémentaire à ce travail mais aucun article nouveau ou supplémentaire n'est ressorti.

Maladie	Mots-clés utilisés	Moteur de recherche utilisé	Ressources supplémentaires utilisées
Fièvre catarrhale ovine	Aucun	Aucun	Travaux de recherches réalisés par des chercheurs de l'HASAC
Diarrhée virale bovine	Bovine viral diarrhea Bovine viral diarrhea pathogenesis Bovine viral diarrhea embryo transfert	PubMed	Travaux de recherches réalisés par des étudiants de l'école d'Oniris VetAgroBio Nantes
Herpesvirose bovine type 4	BHV-4 BHV-4 transmission BHV-4 embryo BHV-4 embryo <i>in vivo</i> BHV-4 embryo <i>in vitro</i> BHV-4 embryo transfert BHV-4 trypsine embryo	PubMed	Aucun
Mycoplasmoses à <i>Mycoplasma bovis</i>	Mycoplasma bovis Mycoplasma bovis transmission Mycoplasma bovis embryo Mycoplasma bovis embryo transfert	PubMed	Ouvrage sur les principales maladies du bétail de la bibliothèque universitaire de Oniris - Site de la Chanterie sur les (Lefèvre et al., 2003a)
Leucose enzootique bovine	Bovine leucosis Bovine leucosis incubation Bovine leucosis transmission Bovine leucosis embryo	PubMed	Ouvrage sur les principales maladies du bétail (Lefèvre et al., 2003b) Cours du Docteur Ruvoen d'Oniris sur les maladies réglementées (Ruvoen et al., 2023) Fiche de l'OMSA sur la leucose (OMSA, 2023b)
Leptospirose à <i>Leptospira</i> serovar <i>Hardjo</i>	Leptospirosis Hardjo Leptospirosis Hardjo embryo Leptospirosis Hardjo embryo <i>in vivo</i> Leptospirosis Hardjo embryo <i>in vitro</i> Leptospirosis Hardjo transmission	PubMed	Ouvrage sur les principales maladies du bétail (Lefèvre et al., 2003c) Cours du Docteur Moreau d'Oniris sur les spirochètes (Moreau, 2023).

Tableau 4 : Mots clés et ressources utilisées pour la recherche bibliographique

2. Résultats

Dans cette partie, nous présenterons les résultats de notre recherche bibliographique de manière synthétique en indiquant le nombre de ressources trouvées, le nombre de ressources que nous avons utilisées pour remplir la fiche et le nombre de ressources qui abordent l'appareil reproducteur ou le transfert d'embryons. Nous proposerons également la catégorisation que nous recommandons en la justifiant à partir de nos recherches.

2.1. La fièvre catarrhale ovine

Une fiche récapitulant les données compilées sur la fièvre catarrhale est disponible en annexe 7. La fièvre catarrhale ovine était listée comme une **catégorie 2** (preuve d'un risque transmission négligeable) selon l'**ancienne catégorisation** de l'IETS.

2.1.1. Sources utilisées

Ici, nous présentons les résultats du travail bibliographique des membres du sous-comité de recherche de l'IETS. Pour la réalisation de cette fiche :

- **41 sources** ont été **utilisées**
- Dont **26 sources concernant** plus particulièrement l'effet de la fièvre catarrhale ovine (FCO) sur l'**appareil reproducteur** ou portant sur le **transfert d'embryons**

2.1.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo

Le virus de la FCO présente des différences en fonction du sérotype. En effet, la plupart des sérotypes ont des propriétés similaires à l'exception du BTV-8 qui présente des propriétés particulières. Pour l'ensemble des souches, l'utilisation de sperme provenant de taureaux contaminés est à risque de transmission (Melville, 1994 ; Vanbinst, 2010 ; Clercq, et al., 2021).

Chez le bovin à l'exception du BTV-8, la bibliographie indique que même si le virus est capable d'adhérer à l'embryon, les **lavages permettent d'éliminer le virus** (Gillespie, 1990 ; Acree, 1991 ; Bowen, 1983a ; Bowen, 1983b). Le risque de contamination est donc **négligeable** dans ce cas.

Chez les bovins (à l'exception du BTV-8), comme proposé par des membres l'HASAC, nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 1** - Risque négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il n'y a pas de preuve de transmission, lorsque les procédures de manipulation sont respectées.

Le **BTV-8** en revanche adhère à l'embryon et n'est **pas éliminé par les lavages** ou la trypsine même en utilisant les recommandations de l'IETS. De plus, il a été montré que le transfert d'un embryon contaminé provoque une virémie chez la receveuse (Vandaele, 2011). Ce sérotype est donc **à risque de transmission**.

Dans le cas du BTV-8, nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

Chez les **ovins**, bien que certaines études montrent que des embryons correctement lavés ne provoque pas la séroconversion des receveuses (Hare, 1988 ; Singh, 1997 ; Venter, 2011), d'autres montrent que si le lavage n'est pas correct une séroconversion de la receveuse est possible (Gilbert, 1987) et que les lavages et l'utilisation de trypsine ne suppriment pas l'agent

pathogène (Singh et al., 1997 ; Venter, 2011). A l'heure actuelle, il n'y a **pas de consensus** sur la question et des recherches complémentaires sont donc nécessaires.

Chez les ovins, nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.1.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro

Chez les bovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 18 articles examinés traitant de cette espèce.

Donc, chez les bovins (à l'exception du BTV-8), nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

Dans le cas du BTV-8 chez les bovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 5 articles examinés traitant de ce sérotype.

Donc dans le cas du BTV-8 chez les bovins, nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

Chez les ovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 7 articles examinés traitant de cette espèce.

Dans cette espèce, nous avons décidé de catégoriser la FCO en **catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.2. Le virus de la diarrhée virale bovine

Une fiche récapitulant les données compilées sur le virus de la diarrhée virale bovine (BVD) est disponible en annexe 8. La BVD était listée comme une maladie de **catégorie 3** selon **l'ancienne catégorisation** de l'IETS (une étude préliminaire indique un risque transmission négligeable si les embryons sont correctement manipulés).

2.2.1. Sources utilisées

Le travail bibliographique des étudiants vétérinaires étant très complet, la recherche Pubmed n'a pas permis de trouver des références supplémentaires. Pour la rédaction de la fiche :

- **50 sources** ont été utilisées
- Dont **30 sources** concernant plus particulièrement l'effet de la BVD sur **l'appareil reproducteur** ou portant sur le **transfert d'embryons**

2.2.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo

Selon la bibliographie, le BVD se retrouve dans l'environnement utérin des animaux contaminés et des embryons viables peuvent être obtenus malgré sa présence (Bielanski, 1993 ; Brownlie, 1997 ; Fray, 1998 ; Daniel, 1998 ; Bielanski, 1998a ; Daniel Givens, 2013 ; Oguejiofor, 2019). Les embryons ainsi obtenus peuvent cependant être contaminés par l'agent pathogène. Le BVD peut également adhérer à la zone pellucide (Bielanski, 2003 ; Waldrop, 2004 ; Gard, 2006 ; Vanroose, 2013) et les procédures de lavage ne semblent pas assez efficaces pour éliminer totalement le virus (Trachte, 1998 ; Gard, 2007 ; Gard, 2006 ; Lalonde, 2011). Les embryons semblent également être capables de contaminer les receveuses (Waldrop, 2004 ; Waldrop, 2006 ; Bielsanski, 2008 ; Bielanski, 2009 ; Gard, 2010). Il existe donc un **risque de contamination** de l'embryon et que l'embryon **contamine la receveuse**.

Avec l'ancienne catégorisation, le BVD était en catégorie 3 donc considéré comme peu à risque de contamination. Cependant, notre étude semble indiquer que le BVD est à risque. Cette discordance est liée au fait que la catégorisation reposait principalement sur une étude de Singh et al. (1982) qui montrait que les lavages permettaient de supprimer l'effet cytopathogène du BVD sur les embryons.

Avec ces recherches, nous avons donc décidé de catégoriser le BVD en **catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

2.2.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro

Comme dit précédemment, le BVD peut adhérer à la zone pellucide et il semble que cette adhésion soit plus forte avec des embryons produits *in vitro* (Bielanski, 2003 ; Waldrop, 2004 ; Gard, 2006 ; Vanroose, 2013). Les procédures de lavage ne semblent pas assez efficaces pour éliminer totalement le virus (Trachte, 1998 ; Gard, 2006 ; Gard, 2007 ; Lalonde, 2011) et la trypsine permet de réduire le nombre de pathogènes mais pas de les éliminer (Bielanski, 1996a ; Trachte, 1998 ; Waldrop, 2004). Il existe un **risque de contamination** de la receveuse si on utilise un **embryon** produit *in vitro* **contaminé** par le BVD (Waldrop, 2004 ; Waldrop, 2006 ; Bielsanski, 2008 ; Bielanski, 2009 ; Gard, 2010). En revanche, le sperme n'est pas à risque dans la production d'embryons *in vitro* (Bielanski, 2013).

En raison du risque existant de transmission du BVD par transfert d'embryons, nous avons décidé de catégoriser le BVD en **catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

2.3. L'herpesvirus bovin de type 4

Une fiche récapitulant les données compilées sur le BHV-4 est disponible en annexe 9. Selon l'**ancienne catégorisation** de l'IETS le BHV-4 était de **catégorie 4** (présence d'un risque ou données insuffisantes).

2.3.1. Sources utilisées

Le nombre de sources trouvées grâce aux mots-clés concernant l'herpesvirus bovin de type 4 est présenté dans le Tableau 5.

Mots clés	Sources trouvées sur PubMed	Sources trouvées sur <i>Web of Science</i>
BHV-4	295	116
BHV-4 transmission	22	5
BHV-4 embryo	15	4
BHV-4 embryo <i>in vivo</i>	0	0
BHV-4 embryo <i>in vitro</i>	3	3
BHV-4 embryo transfert	0	0
BHV-4 trypsine embryo	1	0

Tableau 5 : Nombre de sources concernant le BHV-4 trouvées grâce à PubMed et Web of Science

On constate que le nombre de sources trouvées sur PubMed et *Web of Science* est similaire voire légèrement inférieur sur *Web of Science*. A partir des articles trouvés sur PubMed:

- **61 sources** ont été étudiées.
- **14 sources** ont été **utilisées** pour la rédaction de la fiche.
- Dont **7 sources** utilisées concernant plus particulièrement l'effet du BHV-4 sur **l'appareil reproducteur** ou portant sur **le transfert d'embryons**.
-

2.3.2. Recommandations pour les embryons produits *in vivo*

Le BHV-4 possède la capacité de se réactiver lorsque l'animal subit un stress (mise-bas, insémination, procédure de transfert) (Lefèvre et al., 2003b) et peut se retrouver dans l'environnement utérin (Wathes et al., 2020). Des études ont montré que le virus était capable de contaminer des embryons si la zone pellucide n'est pas intacte (Donofrio et al, 2003). Ainsi un **risque de contamination** de l'embryon lors de la production d'embryon est **possible**. Cependant, au cours de nos recherches, nous n'avons pas trouvé d'études réalisées avec des embryons produits *in vivo*. Ainsi bien qu'un risque puisse exister, il ne s'agit que d'une

hypothèse et des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer ou infirmer ce risque.

Pour les embryons produits *in vivo*, nous avons donc décidé de catégoriser ce virus en **catégorie 2** : Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.3.3. Recommandations pour les embryons produits *in vitro*

Les études que nous avons trouvées indiquent que si la zone pellucide est intacte le virus ne peut pas pénétrer dans l'embryon (Donofrio et al, 2003). De plus, les lavages et l'utilisation de trypsine étaient efficaces pour éliminer le virus (Stringfellow et al., 1990). Ainsi, **le risque de contamination d'un embryon est faible** si l'embryon présente un zone pellucide intacte et s'il est lavé et traité avec de la trypsine.

Pour les embryons produits *in vitro*, nous avons donc décidé de classer le BHV-4 en **catégorie 1** : Risque négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il n'y a pas de preuve de transmission, lorsque les procédures de manipulation sont respectées.

2.4. *Mycoplasma bovis*

Une fiche récapitulant les données compilées sur *Mycoplasma bovis* est disponible en annexe 9. Selon l'**ancienne catégorisation**, *Mycoplasma bovis* ainsi que tous les Mycoplasmes appartenaient à la **catégorie 4** (présence d'un risque ou données insuffisantes).

2.4.1. Sources utilisées

Les résultats de notre recherche bibliographique se trouve dans le Tableau 6.

Mots clés	Sources trouvées sur PubMed	Sources trouvées sur <i>Web of Science</i>
<i>Mycoplasma bovis</i>	1098	1340
<i>Mycoplasma bovis</i> transmission	62	101
<i>Mycoplasma bovis</i> embryo	18	19
<i>Mycoplasma bovis</i> embryo transfert	0	0

Tableau 6 : Nombre de sources concernant *Mycoplasma bovis* trouvées grâce à PubMed et *Web of Science*

On constate que le nombre de sources trouvées sur PubMed et *Web of Science* est similaire. *Web of Science* propose sur les mots-clés généraux plus de références mais avec des mots-clés plus précis le nombre de références est quasi identique. A partir des articles trouvés sur PubMed:

- **58 sources** ont été étudiées.
- **19 sources** ont été utilisées pour la rédaction de la fiche.
- Dont **5 sources** utilisées concernant plus particulièrement l'effet de *Mycoplasma bovis* sur l'appareil reproducteur ou portant sur le transfert d'embryons.

2.4.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo

Les études que nous avons trouvées sont parfois contradictoires en ce qui concerne la possibilité de l'agent pathogène à se fixer sur l'embryon. En effet, certaines études montrent que l'agent pathogène peut se fixer sur la zone pellucide (Riddell et al., 1989 ; Bielanski et al., 1989) et une autre indique que l'agent se fixe uniquement sur les cellules du cumulus et que sans la présence de ces dernières il n'y a pas de fixation (Pohjanvirta et al., 2023). De plus, le sperme peut être porteur de l'agent infectieux (Hirth et al., 1966). Cependant, les veaux produits avec du sperme contaminé n'étaient pas contaminés (Hirth et al., 1966) et les femelles inséminées étaient contaminées uniquement au niveau génital (Dudek et al., 2020) (Hirth et al., 1966). Nous n'avons pas trouvé d'études concernant des embryons produits *in vivo*.

Ainsi, une contamination d'un embryon produit *in vivo* serait possible mais nous ne disposons **pas de preuves** pour pouvoir l'affirmer. Nous ne disposons pas non plus de preuves suffisantes pour dire si un embryon contaminé serait capable de contaminer l'animal receveur ou si le produit serait contaminé par *Mycoplasma bovis*. Des recherches supplémentaires sont donc nécessaires pour permettre la catégorisation définitive de l'agent.

Pour les embryons produits *in vivo*, nous avons donc décidé de catégoriser *M. bovis* en **catégorie 2** : Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.4.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro

Dans les articles que nous avons trouvés les données anciennes ont montré un risque de contamination par *M. bovis* avec une inefficacité des lavages. Cependant dans une étude plus récente (Pohjanvirta et al., 2023) utilisant un vortex pour retirer les cellules du cumulus avant exposition, les Mycoplasmes ne contaminent pas l'embryon. Ainsi cette étude indiquerait que *M. bovis* se fixerait préférentiellement aux cellules du cumulus et que leur retrait limiterait la contamination. Pour pouvoir conclure définitivement, il faudrait un **plus grand nombre d'études** concernant les cellules du cumulus et sur le lieu de fixation de *M. bovis*.

Pour les embryons produits *in vitro*, nous avons décidé de catégoriser *M. bovis* en **catégorie 2** : Risque inconnu - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.5. La leucose bovine enzootique

Une fiche récapitulant les données compilées sur la leucose est disponible en annexe 10. Selon l'**ancienne classification** de l'IETS, la leucose était classée en **catégorie 1** (absence de risque de transmission).

2.5.1. Sources utilisées

Le nombre de sources trouvées sur PubMed et *Web of Science* est présenté dans le Tableau 7.

Mots clés	Sources trouvées sur PubMed	Sources trouvées sur <i>Web of Science</i>
Bovine leucosis	212	162
Bovine leucosis incubation	6	4
Bovine leucosis transmission	24	28
Bovine leucosis embryo	3	4

Tableau 7 : Nombre de sources concernant la leucose bovine enzootique trouvées grâce à PubMed et Web of Science

On constate que le nombre de sources trouvées sur Pubmed et *Web of Science* est similaire. A partir des articles trouvés sur Pubmed :

- **53 sources** ont été étudiées.
- **10 sources** ont été utilisées pour la rédaction de la fiche.
- Dont **3 sources** utilisées concernant plus particulièrement l'effet de la leucose bovine enzootique sur **l'appareil reproducteur** ou portant sur **le transfert d'embryons**.

2.5.2. Recommandations pour les embryons produits in vivo

Lors de nos recherches, nous n'avons **pas trouvé de référence** portant sur le risque de transmission de la leucose par transfert d'embryons. Cependant, nous avons considéré que l'ancienne catégorisation était toujours valable pour les embryons produits *in vivo*. Donc, pour ce paramètre nous suivrons l'ancienne catégorisation.

Pour les embryons produits *in vivo*, nous avons donc décidé de classer le virus de la leucose bovine en **catégorie 1** : Risque négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il n'y a pas de preuve de transmission, lorsque les procédures de manipulation sont respectées.

2.5.3. Recommandations pour les embryons produits in vitro

Lors de nos recherches, nous n'avons **pas trouvé de référence** portant sur le risque de transmission de la leucose par transfert d'embryons. Cependant, le virus étant principalement transmis par un contact lymphocyte – lymphocyte (Ruvoen et al., 2023), nous pensons que le risque de transmission est faible mais nous avons besoin de plus de données pour pouvoir prendre une décision.

Pour les embryons produits *in vivo*, nous avons classé la leucose bovine en **catégorie 2** : Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.6. La leptospirose serovar *Hardjo*

Une fiche récapitulant les données compilées sur la leptospirose est disponible en annexe 11. Selon l'**ancienne classification**, les leptospiroses étaient catégorisées en **catégorie 4** (risque de transmission ou données insuffisantes).

2.6.1. Sources utilisées

Les résultats de l'utilisation des mots-clés concernant la leptospirose sont présentés dans le Tableau 8.

Mots clés	Sources trouvées sur PubMed	Sources trouvées sur <i>Web of Science</i>
Leptospirosis Hardjo	601	588
Leptospirosis Hardjo embryo	9	4
Leptospirosis Hardjo embryo <i>in vivo</i>	0	1
Leptospirosis Hardjo embryo <i>in vitro</i>	0	1
Leptospirosis Hardjo transmission	73	74

Tableau 8 : Nombre de sources trouvées concernant la leptospirose serovar *Hardjo* grâce à PubMed et Web of Science

On constate que le nombre de sources trouvées sur PubMed et *Web of Science* est similaire. Grâce à la recherche sur *Web of Science* un article supplémentaire a pu être utilisé dans la fiche. A partir des articles trouvés sur PubMed et de *Web of Science* :

- **50 sources** ont été étudiées.
- **9 sources** ont été utilisées pour la rédaction de la fiche.
- Dont **4 sources** utilisées concernant plus particulièrement l'effet de la leptospirose sur **l'appareil reproducteur** ou portant sur **le transfert d'embryons**.

2.6.2. Recommandations pour les embryons produits *in vivo*

Malgré nos recherches nous n'avons pas été en mesure de trouver de référence concernant le risque de transmission de cet agent par un transfert d'embryons *in vivo*. Cependant, l'agent pathogène peut se retrouver dans les voies génitales femelles (Aymée, 2024) et les leptospiroses sont capables de s'accrocher et pénétrer les embryons (Bielanski, 1998b). Le risque est donc possible mais afin de le confirmer ou l'infirmier des **recherches supplémentaires sont nécessaires**.

Pour les embryons produits *in vivo*, nous avons décidé de classer la bactérie en **catégorie 2** : Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

2.6.3. Recommandations pour les embryons produits *in vitro*

Au cours de nos recherches, nous n'avons pas trouvé de référence évaluant le risque de transmission de *Leptospira* via des embryons produits *in vitro* à une receveuse. Cependant, la capacité de la bactérie à s'accrocher et à pénétrer les embryons représente un risque notamment parce que les lavages ne semblent pas efficaces pour éliminer l'agent pathogène (Bielanski, 1998b). Cependant, l'utilisation d'antibiotiques permet d'éliminer la bactérie ce qui limite le risque de production embryon contaminé (Bielanski, 1996b). Ainsi, des **recherches supplémentaires semblent nécessaires** pour pouvoir conclure notamment en ce qui concerne le risque de transmission à la receveuse.

Pour les embryons produits *in vitro*, nous avons décidé de classer la bactérie en **catégorie 2** : Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant).

3. Bilan de la recherche bibliographique

Nos recherches bibliographiques ont permis de proposer une re-catégorisation de 6 maladies sélectionnées à partir de l'enquête. Le tableau 9 récapitule les anciennes catégories de chaque maladie étudiée. Ce tableau indique également la nouvelle catégorie à laquelle nous avons décidé d'associer chaque maladie. On constate que beaucoup d'agents sont classés en catégorie 2 en raison d'un manque de données. Ce travail n'est cependant qu'une proposition liée à nos recherches ainsi qu'à notre analyse des données obtenues.

Dans la majorité des cas le nombre de sources obtenues sur PubMed et *Web of Science* était similaire notamment lorsque nous utilisions des mots-clés précis. Donc, dans le cadre de notre étude, il y a globalement les mêmes sources sur les 2 moteurs de recherche.

Maladie	Ancienne catégorie	Nouvelle catégorie	
		<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Fièvre catarrhale ovine	Catégorie 2	Bovin : Catégorie 1	Bovin : Catégorie 2
		BTV-8 : Catégorie 3	BTV-8 : Catégorie 2
		Ovins : Catégorie 2	Ovins : Catégorie 2
Diarrhée virale bovine	Catégorie 3	Catégorie 3	Catégorie 3
Herpesvirose bovine type 4	Catégorie 4	Catégorie 2	Catégorie 1
Mycoplasme à <i>Mycoplasma bovis</i>	Catégorie 4	Catégorie 2	Catégorie 2
Leucose enzootique bovine	Catégorie 1	Catégorie 1	Catégorie 2
Leptospirose serovar <i>Hardjo</i>	Catégorie 4	Catégorie 2	Catégorie 2

Tableau 9 : Récapitulatif de l'essai de catégorisation des maladies étudiées

Partie 3 : Discussion générale

A présent nous allons nous intéresser aux différentes limites de notre étude que ce soit concernant l'enquête réalisée ou notre recherche bibliographique.

1. Limites de l'enquête

Nous avons identifié **3 points principaux** qui ont pu biaiser nos résultats :

- Le nombre de réponses
- Le lieu d'exercice des répondants
- Et les espèces sur lesquelles ils travaillent

1.1. Nombre de répondants

Dans notre enquête nous avons besoin de répondants qui soient aptes à répondre à nos questions. C'est pourquoi, nous avons fait le choix d'envoyer notre questionnaire à un faible nombre de personnes choisies et de compter sur leur aide pour diffuser l'enquête auprès de leurs contacts. Cependant, bien que cette méthode nous ait permis de n'avoir que des gens capables de répondre à notre enquête, elle limitait également la diffusion de notre enquête, ce qui a engendré un **faible nombre de réponses**, seulement 23.

Ce faible nombre de réponses est un biais puisqu'il engendre un poids plus important des réponses de chaque répondant. Ainsi, une erreur ou un oubli aura un impact plus important que si le nombre de répondants était plus important. Nos résultats sont donc moins représentatifs de la situation réelle. Cependant, la technicité de nos répondants **limite le risque d'erreur** ce qui évite d'avoir des résultats très différents de ce que la réalité pourrait être.

1.2. Lieu d'exercice

Les répondants de notre enquête travaillent pour plus des trois-quarts aux Etats-Unis et en Europe. A l'inverse, nous n'avons pas de réponses provenant d'Asie ou d'Amérique du Sud alors que ce sont des territoires où des transferts d'embryons sont réalisés (IETS, 2023). Ainsi, on peut s'attendre à ce que nos résultats soient plutôt **représentatifs de la situation aux Etats-Unis et en Europe**.

Cependant, plus de la moitié des répondants travaillent avec d'autres pays notamment des pays d'Amérique du Sud et d'Asie, ce qui permet **d'améliorer la représentativité** de ces régions. En effet, les répondants doivent connaître les maladies réglementées dans ces pays et également la réglementation des échanges avec ces pays.

La surreprésentation des répondants provenant des Etats-Unis explique également le nombre important de praticiens ayant répondu à notre enquête. En effet aux Etats-Unis, les praticiens se spécialisent dans le transfert d'embryons ce qui n'est pas le cas dans d'autres régions du monde comme en France par exemple.

1.3. Espèce de travail

Les espèces avec lesquelles les répondants travaillent ne sont pas représentées de la même manière. Alors que la totalité des répondants travaillent avec des bovins, la moitié travaille avec des petits ruminants (ovins et caprins) et seulement un quart avec des porcins et équins. On peut alors s'attendre à une sous-estimation de l'importance des maladies qui touchent les porcs et les chevaux. Cette **sous-estimation** est probablement visible dans nos résultats (Annexe 3 et 4) avec les **maladies touchant les équins** (ex : artérite virale équine, métrite contagieuse équine) et **porcins** (ex : maladie d'Aujesky, virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin) qui ne sont pas du tout représentées.

Ainsi, nos résultats ne sont surement pas représentatifs en ce qui concerne les maladies qui touchent ces espèces. En revanche, **nos résultats le sont surement beaucoup plus en ce qui concerne les maladies affectant les bovins et les petits ruminants.**

2. Limites de la recherche bibliographique

Nous avons identifié **5 points principaux** qui ont pu influencer nos résultats :

- Le site de recherche des articles
- Le temps nécessaire pour nos recherches
- Le choix des mots clés
- La difficulté à catégoriser
- Le manque global de références sur certains agents pathogènes

2.1. Site utilisé pour la recherche d'articles

A l'exception de la fièvre catarrhale ovine et de la diarrhée virale bovine, nos recherches reposent principalement sur l'utilisation de PubMed. PubMed est un site très complet avec de très nombre références, notamment en ce qui concerne le domaine de la médecine, cependant, il ne référence pas l'ensemble des articles publiés. Ainsi, pour une recherche plus exhaustive nous aurions pu utiliser les publications référencées dans le site *Web of Science*. Cependant, le nombre de références étant en moyenne le même sur les deux moteurs de recherche, et les premiers articles étant également similaires, nous avons estimé qu'une recherche détaillée sur *Web of Science* n'apporterait pas un gain réel car les mêmes références ressortiraient.

2.2. Temps de recherche

Afin de faciliter nos recherches, nous avons fait le choix de n'étudier que les 20 premiers articles que nous trouvions sur PubMed pour avoir des données générales sur la maladie. Ce choix a été fait afin d'optimiser notre temps de recherche et d'étude des documents. En effet, parfois le nombre de résultats était très important et nous ne disposions pas du temps nécessaire pour analyser de façon exhaustive l'ensemble des résultats de nos recherches. A cause de ce choix, nous avons pu passer à côté de certaines références intéressantes.

Cependant, lorsque des éléments manquaient pour remplir la fiche de l'IETS, des recherches complémentaires sur PubMed étaient réalisées pour trouver les éléments manquants et ce n'est que lorsque la seconde recherche était infructueuse que nous concluions sur l'absence de données. Cette deuxième recherche nous a permis d'obtenir un maximum de données en optimisant notre temps de recherche, et en évitant l'absence d'analyse de certaines données.

2.3. Choix des mots clés

Les mots-clés que nous avons utilisés sont globalement similaires entre les différents agents pathogènes afin de réaliser une recherche la plus uniforme possible. Ces mots-clés nous ont permis d'obtenir une information claire et précise sur la plupart des agents étudiés. Cependant, ces mots-clés ne sont **pas des termes MeSH**. Les termes MeSH étant des termes officiels pour les recherches sur PubMed. Il est également possible qu'avec un choix d'autres mots-clés nous ayons pu trouver d'autres sources.

2.4. Difficulté à la catégorisation de certains agents pathogènes

Afin de réaliser notre essai de catégorisation nous avons fait en sorte d'avoir une recherche bibliographique la plus précise possible et d'utiliser une méthode objective (utilisation de la fiche de l'IETS et Méthode d'analyse du risque Figure 18). Cependant, la décision de placer les agents pathogènes en catégorie 1 ou 3 reste difficile. En effet, bien souvent on dispose de preuves qui indiquent un risque, mais pas de l'ensemble des éléments nécessaires pour classer dans une catégorie définitive. C'est par exemple le cas de la Leptospirose où on dispose de preuves que l'embryon peut être contaminé, il existe donc un risque, mais pas de preuve qu'un embryon contaminé puisse infecter la receveuse. Ainsi, bien qu'il existe un risque, il n'est pas possible de prendre une décision définitive.

2.5. Manque de données et de financement de la recherche

Pour certaines maladies, nous n'avons pas trouvé de données ou très peu, ce qui nous a empêché d'aboutir à une catégorisation précise. C'est pourquoi nous avons dû classer plusieurs maladies en catégorie 2 comme la leptospirose et la leucose. Ce manque de données est lié au manque de recherche sur le transfert d'embryons et plus particulièrement sur certaines des maladies. En effet, les recherches expérimentales pour étudier les interactions entre embryons et agents pathogènes ainsi que des essais de contamination de receveuses sont pour la plupart assez anciens (beaucoup de références datant d'avant les années 2000). Récemment les publications disponibles sont plutôt des revues de synthèse. Ce manque de recherches expérimentales peut s'expliquer par un manque de financement et par les difficultés éthiques que représentent ce type de recherche. Pourtant c'est ce type de données dont nous avons besoin pour pouvoir aboutir à une catégorisation précise.

Conclusion

Le transfert d'embryons a une grande importance aussi bien en France qu'à l'échelle internationale. Il permet d'améliorer la génétique des troupeaux en propageant les gènes de femelles présentant des caractéristiques utiles pour l'élevage (production de lait, bonne conformation, facilité à la mise bas ...). Afin de sécuriser les transferts d'embryons d'un point de vue sanitaire, il est essentiel que les prélèvements et implantations d'embryons soient encadrés. C'est là que prend toute sa place le rôle de la nouvelle catégorisation des maladies entreprise par l'IETS.

L'enquête réalisée nous a permis d'obtenir un tableau global de la situation actuelle sur les maladies pour lesquelles une restriction des échanges d'embryons est justifiée. Nous avons obtenu une liste hiérarchisée des maladies (Annexes 4 et 5) afin de réaliser la re-catégorisation des maladies en commençant par les plus préoccupantes et en finissant par celles qui le sont moins, et ce aussi bien pour le transfert d'embryons produits *in vivo* et *in vitro*. Malgré le manque de diversité des répondants et leur faible nombre, cette liste donne tout de même une bonne idée de la situation à l'échelle internationale même si elle aurait pu mériter une plus grande diffusion. Cependant, elle est uniquement représentative des maladies d'intérêt des bovins et des petits ruminants.

Avec cette enquête, nous avons pu également identifier six maladies particulièrement préoccupantes : la fièvre catarrhale ovine, la diarrhée virale bovine, l'herpesvirus de type 4, la mycoplasmosse à *Mycoplasma bovis*, la leucose et la leptospirose serovar Hardjo. La recherche bibliographique nous a permis de catégoriser ces maladies d'intérêt selon la nouvelle catégorisation de l'IETS. Cependant, certaines d'entre elles comme la leptospirose ou la mycoplasmosse se trouvent dans la catégorie 2, une catégorie intermédiaire qui indique que des recherches sont nécessaires pour aboutir à une véritable conclusion. Cependant, la recherche notamment expérimentale est limitée par les besoins financiers et les préoccupations éthiques que peuvent représenter ce type de recherche.

Ainsi, notre étude représente une étape préliminaire afin d'évaluer le risque des agents infectieux pour le transfert d'embryons. Elle se concentre sur 2 aspects de cette évaluation, la caractérisation de l'agent et l'appréciation du risque. L'appréciation du risque repose principalement sur notre enquête qui nous a permis de mettre en évidence les agents pathogènes les plus à risque. Et la recherche bibliographique nous a permis de caractériser certains agents d'intérêt. Des recherches supplémentaires sont encore nécessaires pour aboutir à l'évaluation de l'ensemble des agents pathogènes. Grâce à cette évaluation précise, il sera alors possible d'améliorer les mesures de gestion du risque afin de sécuriser au mieux les échanges d'embryons.

Les résultats de notre enquête vont faire l'objet d'un poster qui sera présenté lors de la prochaine conférence de l'IETS qui aura lieu à Fort Worth au Texas du 18 au 22 Janvier 2025. Le résumé accepté pour le congrès est présenté en Annexe 13.

Bibliographie

- ACREE, J. E., 1991. Failure of embryos from bluetongue infected cattle to transmit virus to susceptible recipients or their offspring. *Theriogenology*. Octobre 1991. Vol. 36, N° 4, pp. 689-697. DOI: 10.1016/0093-691x(91)90406-4.
- AETA - American Embryo Transfer Association, 2024. What is AETA Certification? - American Embryo Transfer Association. 2024 [en ligne]. [Consulté le 20/02/24]. Disponible à l'adresse : <https://www.aeta.org/>
- AETE - ASSOCIATION OF EMBRYO TECHNOLOGY IN EUROPE, 2023. Commercial Embryo Transfer Activity in Europe 2022 - Statistics - Association of Embryo Technology in Europe [en ligne] (Consulté le 13/07/2024). Disponible à l'adresse : <https://www.aete.eu/publications/statistics/>
- ALBERTI, A., FILIPPA ADDIS, M., CHESSA, B., CUBEDDU, T., PROFITI, M., ROSATI, S., RUIU, A., PITTAU, M., 2006. Molecular and antigenic characterization of a *Mycoplasma bovis* strain causing an outbreak of infectious keratoconjunctivitis. *J. Vet. Diagn. Invest.* Janvier 2006. Vol. 18, N°1, pp. 41–51. DOI: 10.1177/104063870601800106
- ANDOH, K., NISHIMORI, A., SAKUMOTO, R., HAYASHI, K.-G., HATAMA, S., 2020. The chemokines CCL2 and CXCL10 produced by bovine endometrial epithelial cells induce migration of bovine B lymphocytes, contributing to transuterine transmission of BLV infection. *Veterinary Microbiology*. Mars 2020. Vol. 242. DOI : 10.1016/j.vetmic.2020.108598
- AYLING, R., NICHOLAS, R., HOGG, R., WESSELS, J., SCHOLE, S., BYRNE, W., HILL, M., MORIARTY, J., O'BRIEN, T., 2005. *Mycoplasma bovis* isolated from brain tissue of calves. *Vet. Rec.* Mars 2005. Vol. 156, N°12, pp. 391–392. DOI : 10.1136/vr.156.12.391-b
- AYMEE, L., MENDES, J., LILENBAUM, W., 2024. Bovine Genital Leptospirosis: An Update of This Important Reproductive Disease. *Animals*. 20 Janvier 2024. Vol. 14, pp. 12. PMID : 38275782. DOI : 10.3390/ani14020322
- BACHOFEN, C., HANS-RUDOLF, V., STALDER, H., MATHYS, T., ZANONI, R., HILBE, M., SCHWEIZER, M., PETERHANS, E., 2013. Persistent infections after natural transmission of bovine viral diarrhoea virus from cattle to goats and among goats. *Veterinary Research*. 15 Mai 2013, Vol. 44, N° 32. DOI: 10.1186/1297-9716-44-32
- BARRATT-BOYES, S.M., MACLACHALAN, N., 1995. Pathogenesis of bluetongue virus infection of cattle. *Journal of the American Veterinary Association*. 1er Mai 1995. Vol. 206, N° 9, pp. 1322-1329. PMID : 7775242
- BIELANSKI, A., EAGLESOME, M.D., RUHNKE, H.L., HARE, W.C.D., 1989. Isolation of *Mycoplasma bovis* from intact and microinjected preimplantation bovine embryos washed or treated with trypsin or antibiotics. *J Assist Reprod Genet*. Août 1989. Vol. 6, pp. 236–241. DOI : 1007/BF01132872
- BIELANSKI, A., LOEWEN, K.S., DEL CAMPO, M. R., SIRARD, M. A., WILLADSEN, S., 1993. Isolation of Bovine Herpesvirus-1 (BHV-1) and Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Association with the in Vitro Production of Bovine Embryos. *Theriogenology*. 1 Septembre 1993. Vol. 40, N° 3, pp. 531-538. DOI: 10.1016/0093-691X(93)90406-U
- BIELANSKI, A., JORDAN, L., 1996a. Washing or Washing and Trypsin Treatment Is Ineffective for Removal of Noncytopathic Bovine Viral Diarrhea Virus from Bovine Oocytes or Embryos after Experimental Viral Contamination of an in Vitro Fertilization System. *Theriogenology*. Decembre 1996. Vol. 46, N°8, pp.1467-1476. DOI: 10.1016/S0093-691X(96)00324-X
- BIELANSKI, A., SURUJBALLI, O., 1996b. Association of *Leptospira borgpeterseni* serovar hardjo type hardjobovis with bovine ova and embryos produced by in vitro fertilization. *Theriogenology*. Juillet 1996. Vol 46, N°1, pp. 45–55. DOI: 10.1016/0093-691X(96)00140-9

- BIELANSKI, A., SAPP, T., LUTZE-WALLACE, C., 1998a. Association of bovine embryos produced by in vitro fertilization with a noncytopathic strain of bovine viral diarrhoea virus type II. *Theriogenology*. 15 Avril 1998. Vol. 49, N° 6, pp. 1231-1238. DOI: 10.1016/S0093-691X(98)00070-3
- BIELANSKI, A.B., SURUJBALLI, O., 1998b. *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo type hardjobovis in bovine embryos fertilized in vitro. *Canadian Journal of Veterinary Research*. Juillet 1998. Vol. 62, N°3, pp. 234–236. PMID: 9684055.
- BIELANSKI A., CHERYL L. LUTZE-WALLACE, ET S. NADIN-DAVIS, 2003. Adherence of Bovine Viral Diarrhoea Virus to Bovine Oocytes and Embryos with a Hardened Zona Pellucida Cultured in Vitro. *Canadian Journal of Veterinary Research /Revue Canadienne De Recherche Veterinaire*. Janvier 2003. Vol. 67, N°1, pp. 48-51. PMID: 12528828
- BIELANSKI, A., ALGIRE, J., LALONDE, A., NADIN-DAVIS, S., 2009. Transmission of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) via in vitro-fertilized embryos to recipients, but not to their offspring. *Theriogenology*. Février 2009. Volume 71, N° 3, pp. 499-508. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2008.08.015
- BIELANSKI, A., ALGIRE, J., LALONDE, A., GARCEAC, A., 2013. Embryos Produced from Fertilization with Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV)-Infected Semen and the Risk of Disease Transmission to Embryo Transfer (ET) Recipients and Offspring, *Theriogenology*. 15 Septembre 2013. Vol. 80, N° 5, pp. 451-455. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.04.028
- BOOTH, P.J., STEVENS, D.A., COLLINS, M.E., & BROWNLIE, J., 1995. Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus Antigen and RNA in Oviduct and Granulosa Cells of Persistently Infected Cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*. Septembre 1995. Vol. 105, N°1, pp. 17-24. DOI: 10.1530/jrf.0.1050017
- BOURNEZ, L., CAVALERIE, L., SAILLEAU, C., BREARD, E., ZANELLA, G., SERVAN DE ALMEIDA, R., PEDARRIEU, A., GARIN, E., TOURETTE, I., DION, F., HENDRIKX, P., CALAVAS, D., 2018. Estimation of French cattle herd immunity against bluetongue serotype 8 at the time of its re-emergence in 2015. *BMC Veterinary Research*. 2 mars 2018. Vol. 14, pp. 65. DOI: 10.1186/s12917-018-1388-1
- BOWEN, R. H., 1983a. Embryo transfer from cattle infected with bluetongue virus. *American Journal of Veterinary Research*. Septembre 1983. Vol. 44, N° 9, pp. 1625-1628. PMID: 6312854
- BOWEN, R. H., 1983b. Transfer of embryos from cattle infected with bluetongue virus. *Theriogenology*, vol. 19, N° 1, p. 115.
- BROCK, K.V., REDMAN, D.R., VICKERS, M.L., IRVINE, N.E., 1991. Quantitation of Bovine Viral Diarrhoea Virus in Embryo Transfer Flush Fluids Collected from a Persistently Infected Heifer. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. Janvier 1991. Vol. 3, N°1, pp. 99-100. DOI: 10.1177/104063879100300127
- BROCK K.V., LAPIN, D.R., SKRADE, D.R., 1997. Embryo Transfer from Donor Cattle Persistently Infected with Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Theriogenology*. Mars 1997. Vol.47, N°4, pp. 837-844. DOI: 10.1016/s0093-691x(97)00039-3
- BROCK, K. V., 2003. The Persistence of Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization*. Juin 2003, Vol. 31, N°2, pp. 133-135. DOI: 10.1016/s1045-1056(03)00029-0.
- BRODERSEN, B.W., 2014. Bovine Viral Diarrhoea Virus Infections: Manifestations of Infection and Recent Advances in Understanding Pathogenesis and Control. *American college of Veterinary Pathologists*. 29 Janvier 2014. Vol. 51, N°2, pp. 453–464. DOI: 10.1177/0300985813520250
- BROWNLIE, J., BOOTH, P. J., STEVENS, D. A., COLLINS, M. E., Expression of Non-Cytopathogenic Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) in Oocytes and Follicles of Persistently Infected Cattle. *Veterinary Record*. 27 Septembre 1997. Vol.141, N°13, pp. 335-337 DOI : 10.1136/vr.141.13.335

- CETA - Canadian Embryo Transfer Association / Association Canadienne de Transfert d'Embryons, 2024 (Consulté le 09/02/24). Disponible à l'adresse : <https://www.ceta.ca/home-french.html>
- CFSPH - THE CENTER FOR FOOD SECURITY AND PUBLIC HEALTH, 2023. Bluetongue - The Center For Food Security And Public Health [en ligne]. 2023. Disponible à l'adresse : <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>
- CHASTANT-MAILLARD, S., 2013. Impact of Bovine Herpesvirus 4 (BoHV-4) on Reproduction. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2 Septembre 2013. Vol. 62, N° 3, pp. 245–251. DOI: 10.1111/tbed.12155
- CHENG, Z., ABUDUREYIMU, A., OGUEJIOFOR, C. F., ELLIS, R., BARRY, A. T., CHEN, X., ANSTAETT, O. L., BROWNLIE, J., & WATHES, D. C., BVDV Alters Uterine Prostaglandin Production during Pregnancy Recognition in Cows. *Reproduction*. 1er Juin 2016. Vol. 151, N°6, pp. 605-614, DOI: 10.1530/REP-15-0583
- CHI, S., CHEN, S., JIA, W., HE, Y., REN, L., WANG, X., 2022. Non-structural proteins of bovine viral diarrhoea virus. *Virus Genes*. 3 Janvier 2022. Vol.58, pp. 491–500. DOI: 10.1007/s11262-022-01914-8
- CLERCQ, K. d., VANDAELE, L., VANBINST, T., RIOU, M., DEBLAUWE, I., WESSELINGH, W., LEEMANS, B. E., 2021. Transmission of bluetongue virus serotype 8 by artificial insemination with frozen-thawed semen from naturally infected bulls. *Viruses*. 9 Avril 2021. Vol. 13, N° 4, pp. 652. DOI: 10.3390/v13040652
- COFFIN JM., HUGHES SH., VARMUS HE., 1997. Retroviruses. *Woodbury, New York, USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press*. PMID : 21433340
- COLLEAU J.J., HEYMAN Y., RENARD P., 1998, Les biotechnologies de la reproduction chez les bovins et leurs applications réelles ou potentielles en sélection. *INRA Prod. Anim.* N° 11, page 41-56. Disponible à l'adresse : https://hal.inrae.fr/hal-02698855/file/Prod_Anim_1998_11_1_05_1.pdf
- CVETOJEVIĆ, Đ., SAVIĆ, B., MILIĆEVIĆ, V., KURELJUŠIĆ, B., JEZDIMIROVIĆ, N., JAKIĆ-DIMIĆ, D., PAVLOVIĆ, M., SPALEVIĆ, L., 2016. Prevalence of Bovine herpesvirus type 4 in aborting dairy cows. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 1er Decembre 2016, Vol. 19, N° 4, pp. 731-736. DOI: 10.1515/pjvs-2016-0092
- DA SILVA CARDOSO PINTO, V., ALVES, M.F., DE SOUZA NUNES MARTINS M., BASSO A.C., TANNURA J.H., PONTES J.H.F., SANTOS LIMA M., GARCIA DA SILVA T., OKUDA L.H., STEFANO E., ROMALDINI A.H.C.N., ARNOLD D.R., PITUCO, E.M., 2017. Effects of Oocytes Exposure to Bovine Diarrhoea Viruses BVDV-1, BVDV-2 and Hobi-like Virus on in Vitro-Produced Bovine Embryo Development and Viral Infection. *Theriogenology*. 15 Juillet 2017. Vol. 97, pp. 67-72 DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.04.028
- DAL POZZO, F., SAEGERMAN, C., THIRY, E., 2009. Bovine infection with bluetongue virus with special emphasis. *The Veterinary Journal*. Novembre 2009. Vol. 182, pp. 142–151. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.05.004.
- DANIEL GIVENS M., SHONDA MARLEY M., 2013. Immunology of Chronic BVDV Infections. *Biologicals, Aspects of Immunology of Bovine Viral Diarrhoea Virus*. Janvier 2013. Vol. 41, N°1, pp. 26-30. DOI: 10.1016/j.biologicals.2012.06.003.
- DE CLERCQ, K., DE LEEUW, I., VANDEMEULEBROUCK, E., VANBINST, T., HERR, C., MEROC, E., BERTELS, G., STEURBAUT, N., MIRY, C., D BLEECKER, K., MAQUET, G., SAULMONT, M., LEBRUN, M., SUSTRONCK, B., DE DEKEN, R., HOOYBERGHS, J., RAEMAEEKERS, M., MINTIENS, K., KERKHOFS, P., GORIS, N., VANDENBUSSCHE, F., 2008. Transplacental Infection and Apparently Immunotolerance Induced by a Wild-type Bluetongue Virus Serotype 8 Natural Infection. *Transboundary and Emerging Diseases*. Octobre 2008, Vol. 55, pp. 352–359. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2008.01044.x

- DI GIALLEONARDO, L., MIGLIACCIO, P., TEODORI, L., SAVINI, G., 2011. The length of BTV-8 viraemia in cattle according to infection doses and diagnostic techniques. *Research in Veterinary Science*. Octobre 2011. Vol. 91, N° 2, pp. 316-320. DOI: 10.1016/j.rvsc.2010.12.017
- DOIG, P.A., 1981. Bovine Genital Mycoplasmosis. *The Canadian Veterinary Journal*. 22 Novembre 1981. Vol. 22, pp. 339–343. PMID : 7337908
- DONOFRIO, G., GALLI, C., LAZZARI, G., VAN SANTEN, V.L., CAVIRANI, S., FLAMMINI, C.F., 2003. Interaction of a green recombinant bovine herpesvirus 4 with in vitro-produced bovine embryos. *Veterinary Research Communications*. Juillet 2003. Vol. 27, pp. 415–424. DOI: 10.1023/a:1024889606158
- DUDEK, K., BEDNAREK, D., AYLING, R.D., KYCKO, A., REICHERT, M., 2019. Preliminary study on the effects of enrofloxacin, flunixin meglumine and pegbovigrastim on *Mycoplasma bovis* pneumonia. *BMC Vet. Res.* 29 Octobre 2019, Vol. 15, N° 371. DOI : 10.1186/s12917-019-2122-3
- DUDEK, K., NICHOLAS, R.A.J., SZACAWA, E., BEDNAREK, D., 2020. Mycoplasma bovis Infections-Occurrence, Diagnosis and Control. *Pathogens*. 6 Août 2020. Vol. 9, pp. 640. DOI: 10.3390/pathogens9080640
- EGYED, L., SASSI, G., TIBOLD, J., MÁDL, I., SZENCI, O., 2011. Symptomless intrauterine transmission of bovine herpesvirus 4 to bovine fetuses. *Microb Pathog.* Juin 2011. Vol. 50, N°6, pp. 322-5. DOI: 10.1016/j.micpath.2010.10.006
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. 2007. Scientific opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare on request from the European Commission on bluetongue vectors and vaccines. *The EFSA Journal*. 15 Mai 2007. Vol. 479, pp. 1-29. DOI: 10.2903/j.efsa.2007.479
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY - EFSA. 2008. Scientific opinion of the panel on animal health and welfare on a request from the European Commission on bluetongue. *The EFSA Journal*. 23 Juillet 2008. vol. 735, pp. 1-69. DOI: 10.2903/j.efsa.2008.735
- FLINT S.J., RACANIELLO V.R., ENQUIST L.W., SKALKAA.M., KRUG R.M. 2020. *Principle of Virology: molecular biology, pathogenesis, and control*. American Society for Microbiology: Washington, D. C.. 2000, 804p. ISBN : 9781683673583. Disponible à l'adresse : https://archive.org/details/Principles_of_Virology_4th_Edition_2_Vol_set_by_S._Jane_Flint_Lynn_W._Enquist_Vi/page/n27/mode/2up
- FLORINS, A., KETTMANN, R., WILLEMS, L., 2007. Le virus de la leucémie bovine et l'homéostasie du compartiment lymphocytaire périphérique. *Biotechnologie, Agronomie, Society and Environment*. 2007, Vol. 11, N° 1. Disponible à l'adresse : <https://popups.uliege.be/1780-4507/index.php?id=472>
- FOSTER, A.P., NAYLOR, R.D., HOWIE, N.M., NICHOLAS, R.A., AYLING, R.D., 2009. *Mycoplasma bovis* and otitis in dairy calves in the United Kingdom. *Vet. J.* Mars 2009. Vol. 179, N°3, pp. 455–457. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.10.020
- FRAY, M. D., PRENTICE, H., CLARKE, M. C., CHARLESTON, B., 1998. Immunohistochemical Evidence for the Localization of Bovine Viral Diarrhea Virus, a Single-Stranded RNA Virus, in Ovarian Oocytes in the Cow. *Veterinary Pathology*. 1 juillet 1998. Vol. 35, N°4, pp. 253-259. DOI: 10.1177/030098589803500403
- FREDRIKSEN, B., PRESS C., LØKEN, T., ØDEGAARD, S. A., Distribution of Viral Antigen in Uterus, Placenta and Foetus of Cattle Persistently Infected with Bovine Virus Diarrhoea Virus. *Veterinary Microbiology*. Vol. 64, N°2-3, pp. 109-122. DOI: 10.1016/s0378-1135(98)00263-6
- GAGEA, M.I., BATEMAN, K.G., SHANAHAN, R.A. VAN DREUMEL, T., MCEWEN, B.J., CARMAN, S., ARCHAMBAULT, M., CASWELL, J.L., 2006. Naturally

- occurring *Mycoplasma bovis*-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. *J. Vet. Diagn. Invest.* Janvier 2006, Vol. 18, N°1, pp. 29–40. DOI: 10.1177/104063870601800105
- GAMLEN, T., RICHARDS, K. H., MANKOURI, J., HUDSON, L., MCCAULEY, J., HARRIS, M., AND MACDONALD, A., 2010. Expression of the NS3 protease of cytopathogenic bovine viral diarrhoea virus results in the induction of apoptosis but does not block activation of the beta interferon promoter. *Journal of General Virology.* 1er Janvier 2010. Vol. 91, N°1, pp.133-144, DOI: 10.1099/vir.0.016170-0
 - GARD J. A., GIVENS M. D., GALIK P. K., STRINGFELLOW D. A., RIDDELL K. P., MARLEY S. E. WHITLOCK B. K., 2006. 234 Quantitation Of Bovine Viral Diarrhoea Virus Associated With Single Zona Pellucida-Intact In Vivo-Derived Bovine Embryos. *Reproduction, Fertility and Development.* 12 Decembre 2006. Vol. 19, N°1, pp. 233. DOI: 10.1071/rdv19n1ab234
 - GARD A., GIVENS M. D., STRINGFELLOW D. A., 2007. Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV): Epidemiologic Concerns Relative to Semen and Embryos. *Theriogenology, Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology.* Août 2007. Vol. 68, N° 3, pp. 434-442, DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.003
 - GARD, J.A., GIVENS, M.D., MARLEY, M.S.D., GALIK, P.K., RIDDELL, K.P., STRINGFELLOW, D.A., ZHANG, Y., EDMONDSON, M.A., 2009. Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Associated with Single in Vivo-Derived and in Vitro-Produced Preimplantation Bovine Embryos Following Artificial Exposure. *Theriogenology.* Mai 2009. Vol. 71, N° 8, pp. 1238-1244 DOI : 10.1016/j.theriogenology.2009.01.005
 - GARD, J.A., GIVENS, M.D., MARLEY, M.S.D., GALIK, P.K., RIDDELL, K.P., EDMONDSON, M.A., RODNING, S.P., 2010, Intrauterine Inoculation of Seronegative Heifers with Bovine Viral Diarrhoea Virus Concurrent with Transfer of in Vivo-Derived Bovine Embryos. *Theriogenology.* Mai 2010. Vol. 73, N°8, pp. 1009-1017. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.022
 - GEERING, W. A., FORMAN, A. J., NUNN, M. J., 1995. Exotic diseases of animals: a field guide for Australian veterinarians. *The Canadian Veterinary Journal.* Decembre 1996, Vol. 37, pp. 760. PMID: PMC1576701
 - GENE DIFFUSION, 2024. La transplantation embryonnaire – Gene Diffusion [en ligne]. 2024. [Consulté le 17 juin 2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.genesdiffusion.com/content/17-transplantation-embryonnaire>
 - GERBIER, G., ZIENTARA, S., ALBINA, E., GRILLET, C., GREGORY, M., BALDET, T., 2004. Fièvre catarrhale ovine : évolution et répartition des sérotypes dans le bassin méditerranéen et en France. *Bulletin épidémiologique.* N°15, pp. 3–5. Disponible à l'adresse : <https://be.anses.fr/sites/default/files/BEP-mg-BE15-art2.pdf>
 - GILBERT, R.O., COUBROUGH, R. I., WEISS, K. E., 1987. The transmission of bluetongue virus by embryo transfer in sheep. *Theriogenology.* Mars 1987. Vol. 27, pp. 527-540. DOI: 10.1016/0093-691x(87)90240-8
 - GILESPIE, J. H., SCHLAFER, D. H., FOOTE, R. H., QUICK, S., DOUGHERTY, E., SCHIFF, E., ALLEN, S., 1990. Comparison of persistence of seven bovine viruses on bovine embryos following in vitro exposure. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* Février 1990, Vol. 97, no. 2, pp. 65-68. PMID: 2107070
 - GONZALEZ ALTAMIRANDA, E., MANRIQUE, J.M., PEREZ, S.E., RIOS, G.L., ODEON, A.C., LEUNDA, M.R., JONES, L.R., VERNA, A., 2015. Molecular Characterization of the First Bovine Herpesvirus 4 (BoHV-4) Strains Isolated from In Vitro Bovine Embryos production in Argentina. *Plos One.* 15 Juillet 2015. DOI : 10.1371/journal.pone.0132212
 - GROOMS, D.L., BROCK, K.V., WARD, L.A., 1998. Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus in the Ovaries of Cattle Acutely Infected with Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Journal of Veterinary*

Diagnostic Investigation. Avril 1998. Vol. 10, N°2, pp. 125-129. DOI: 10.1177/104063879801000201

- GUNN G.J., SAATKAMP H.W., HUMPHRY R.W., STOTT, A.W., Assessing Economic and Social Pressure for the Control of Bovine Viral Diarrhoea Virus. *Preventive Veterinary Medicine*. 15 Novembre 2005. Vol. 72, N°1, pp. 149-62. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2005.08.012
- GÜR, S., DOĞAN, N., 2010. The possible role of bovine herpesvirus type-4 infection in cow infertility. *Animal Science Journal*. 25 Mai 2010. Vol. 81, N° 3, pp. 304–308. DOI : 10.1111/j.1740-0929.2010.00743.x
- HAAPALA, V., POHJANVIRTA, T., VÄHÄNIKKILÄ, N., HALKILAHTI, J., SIMONEN, H., PELKONEN, S., SOVERI, T., SIMOJOKI, H., AUTIO, T. 2018. Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Vet. Microbiol.* Mars 2018, Vol. 216, pp. 60–66. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.02.005
- HAEGEMAN, A., VANDAELE, L., DE LEEUW, I., OLIVEIRA, A. P., NAUWYNCK, H., VAN SOMM, A., DE CLERCQ, K., 2019. Failure to remove bluetongue serotype 8 virus (BTV-8) from in vitro produced and in vivo derived bovine embryos and subsequent transmission of BTV-8 to recipient cows after embryo transfer. *Frontiers in Veterinary Science*. 5 Décembre 2019. Vol. 6, N° 432, pp. 1-9. DOI: 10.3389/fvets.2019.00432
- HARE, W. C. LUEDKE, A. J. THOMAS, F. C., BOWEN, R. A., SINGH, E. L., EAGLESOME, M. D., RANDALL, G. C. BIELANSKI, A., 1988. Nontransmission of bluetongue virus by embryos from bluetongue virus-infected sheep. *American Journal of Veterinary Research*. Avril 1998. Vol. 49, N°4, pp. 468-472. PMID: 2837113
- HAZELTON, M.S., MORTON, J.M., PARKER, A.M., SHEEHY, P.A., BOSWARD, K.L., MALMO, J., HOUSE, J.K., 2020. Whole dairy herd sampling to detect subclinical intramammary *Mycoplasma bovis* infection after clinical mastitis outbreaks. *Vet. Microbiol.* Mai 2020. DOI: 10.1016/j.vetmic.2020.108662
- HIRTH, R.S., NIELSEN, S.W., PLASTRIDGE, W.N., 1966. Bovine Salpingo-oophoritis Produced with Semen Containing a Mycoplasma. *Pathologia veterinaria*. Novembre 1966. Vol. 3, pp. 616–632. DOI: 10.1177/030098586600300604
- HOLM, P., CALLESEN, H., 1998. In vivo versus in vitro produced bovine ova: similarities and differences relevant for practical application. *Reprod. Nutr. Dev.* Novembre-Décembre 1998. Vol. 38, pp. 579–594. DOI : 10.1051/rnd:19980601
- IETS - INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY. 2020a. Appendix 2: Photographic illustrations of bovine cumulus–oocyte complexes 2, In: Demetrio, D., Barfield, J. *IETS Manual* (5eme Edition). 2020.
- IETS - INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY. 2020b. Appendix 3. Considerations for evaluating in vitro- produced bovine embryos 2, In : Barfield, J., Demetrio, D. *IETS Manual* (5eme Edition). 2020.
- IETS - INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY, 2023. 2022 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals - Data Retrieval Committee - International Embryo Technology Society [en ligne] (Consulté le 13/07/2024) Disponible à l'adresse : <https://www.iets.org/Committees/Data-Retrieval-Committee>
- IETS - INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY, 2024a. (Consulté le 20/02/24). Disponible à l'adresse : <https://www.iets.org/>
- IETS - THE INTERNATIONAL EMBRYO TECHNOLOGY SOCIETY, 2024b. Terms of reference of the Health And Scientific Advisory Committee (HASAC) - The International Embryo Technology Society [en ligne]. 2024. (Consulté le 16/06/2024). Disponible sur: <https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/HASAC/ToR-HASAC.pdf>
- JANIS, C., BLANCHARD, A., 2007. Mycoplasmes chez les animaux, petite toux ou peste ? *Bulletin des GTV*. Mai 2007, N° 39, pp. 13-21.

- KANDA, T., TANAKA, S., SUWANRUENGSR, M., SUKMAWINATA, E., UEMURA, R., YAMAGUCHI, R., SUEYOSHI, M., 2019. Bovine Endocarditis Associated with *Mycoplasma bovis*. *J. Comp. Pathol.* Aout 2019, Vol. 171, pp. 53–58. DOI: 10.1016/j.jcpa.2019.07.003
- KHODAKARAM-TAFTI, A., FARJANIKISH, G.H., Persistent bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in cattle herds. *Iranian Journal of Veterinary Research*. Été 2017. Vol. 18, N°3, pp. 154-163. PMID: 29163643
- KLAMMINGER, S., PRUNNER, I., GIULIODORI, M., DRILLICH, M., 2016. Uterine infection with bovine herpesvirus type 4 in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 14 Novembre 2016. Vol. 52, pp. 115–121. DOI: 10.1111/rda.12865
- LALONDE, A., BIELANSKI, A., 2011. Efficacy of the International Embryo Transfer Society (IETS) Washing Procedure for Rendering Oocytes Matured in Vitro Free of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV). *Theriogenology*. 15 juillet 2011. Vol. 76, N°2, pp. 261-266. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2011.02.002
- LANYON, S.R., HILL, F.I., REICHEL, M. P., BROWNLIE, JOE., 2014. Bovine Viral Diarrhoea: Pathogenesis and Diagnosis. *The Veterinary Journal*. Février 2014. Vol. 199, N°2, pp. 201-209. DOI : 10.1016/j.tvjl.2013.07.024
- LEFEVRE, P.-C., BLANCOU, J., CHERMETTE, R., 2003a. Infection des bovins par herpèsvirus bovin de type 4, In : Thiry Etienne, Tome 1, *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - Europe et régions chaudes*, Ed. Tec & doc, 2003, ISBN : 978-2-7430-0495-8
- LEFEVRE, P.-C., BLANCOU, J., CHERMETTE, R., 2003b. Leucose bovine enzootique, In : André-Laurent Parodi, Tome 1, *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - Europe et régions chaudes*, p.583-594, Ed. Tec & doc, 2003, ISBN : 978-2-7430-0495-8
- LEFEVRE, P.-C., BLANCOU, J., CHERMETTE, R., 2003c. Leptospirose, In : Geneviève André-Fontaine, Tome 2, *Principales maladies infectieuses et parasitaires du bétail - Europe et régions chaudes*, p.993-1005, Ed. Tec & doc, 2003, ISBN : 978-2-7430-0495-8
- LORIN, B., 2008. Prevalence de mycoplasma bovis dans les mammites bovines : enquête en région rhône-alpes. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, [Consulté le 5 mai], pp. 97. Disponible à l'adresse : https://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2008lyon082.pdf
- LORUSSO, A., SGHAIER, S., DI DOMENICO, M., BARBRIA, M.E., ZACCARIA, G., MEGDICH, A., PORTANTI, O., SELIMAN, I.B., SPEDICATO, M., PIZZURRO, F., CARMINE, I., TEODORI, L., MAHJOUB, M., MANGONE, I., LEONE, A., HAMMAMI, S., MARCACCI, M., SAVINI, G., 2018. Évolution de la situation épidémiologique de la fièvre catarrhale ovine en Europe de 2014 à 2017. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation*. Mai 2018. N°84, pp. 12–17. Disponible à l'adresse : https://be.anses.fr/sites/default/files/O-007_2018-07-23_FCO_VSI-VF.pdf
- MAEDA, T., SHIBAHARA, T., KIMURA, K., WADA, Y., SATO, K., IMADA, Y., ISHIKAWA, Y., KADOTA, K., 2003. *Mycoplasma bovis*-associated suppurative otitis media and pneumonia in bull calves. *J. Comp. Pathol.* Aout-Octobre2003, Vol. 129, N°2-3, pp. 100–110. DOI: 10.1016/S0021-9975(03)00009-4
- MACLACHLAN, N.J., DREW, C.P., DARPEL, K.E., WORWA, G., 2009. The Pathology and Pathogenesis of Bluetongue. *Journal of Comparative Pathology*. Juillet 2009, Vol. 141, pp. 1–16. DOI : 10.1016/j.jcpa.2009.04.003
- MAISONNASSE P., 2023, Virus respiratoires : Les Herpesviridae. Diaporama de cours. UE 052. Nantes : Oniris VetAgroBio Nantes, 57 p.
- MARAWAN, M.A., ALOUFFI, A., EL TOKHY, S., BADAWY, S., SHIRANI, I., DAWOOD, A., GUO, A., ALMUTAIRI, M.M., ALSHAMMARI, F.A., SELIM, A., 2021. Bovine Leukaemia Virus : Current Epidemiological Circumstance and Future Prospective. *Viruses*. 27 Octobre 2021. Vol. 13, N°11, pp. 2167. DOI : 10.3390/v13112167

- MARKINE-GORAYNOFF N., MINNER F., DE FAYS K., GILLET L., THIRY E., PASTORET P.-P. ET VANDERPLASSCHEN A., 2003. L'herpèsvirus bovin 4, Université de Liège, 33 p. Disponible à l'adresse : http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2003_147_4_01.pdf
- MARQUANT-LEGUIENNE B., PONSART C., GUYADER-JOLY C., FRERET S., GERARD O., HUMBLLOT P., 2007, Embryons in vitro : évolution et perspectives. *Le Point Vétérinaire*. 1^{er} mars 2007. N° 273. Disponible à l'adresse : <https://www.lepointveterinaire.fr/publications/le-point-veterinaire/article/n-273/embryons-in-vitro-evolution-et-perspectives.html>
- MATTSON, D.E., BAKER, R.J., CATANIA, J.E., IMBUR, S.R., WELLEJUS, K.M., & BELL, R.B., Persistent Infection with Bovine Viral Diarrhea Virus in an Alpaca. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1^{er} Juin 2006. Vol. 228, N°11, pp. 1762-1765. DOI: 10.2460/javma.228.11.1762
- MAUNSELL, F., DONOVAN, G., 2009. Mycoplasma bovis Infections in Young Calves. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 25 mars 2009. Vol. 25, pp. 139-177. DOI: 10.1016/j.cvfa.2008.10.011.
- MELVILLE, L., KIRKLAND, P., 1994. *Evaluation of bluetongue virus excretion in the germplasm of cattle: final report, Final report to Meat Research Corporation*. Northern Territory Department of Primary Industries and Fisheries. Juin 1994. ISBN: 9781741911862
- MERNAUGH G, DALLO S, HOLT S, BASEMAN J, 1993. Properties of adhering and nonadhering populations of Mycoplasma genitalium. *Clinical Infectious Diseases*. Aout 1993. Vol 17, pp. 69-78. DOI : 10.1093/clinids/17.supplement_1.s69
- MINISTERE DE L'AGRICULTURE DE DE LA SOUVERAINETE ALIMENTAIRE, 2011, Description de la fièvre catarrhale ovine (FCO), Fiche Epidémiologie - Ministère de l'agriculture de de la souveraineté alimentaire [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://agriculture.gouv.fr/sites/default/files/documents//epidemiologie.pdf>
- MOREAU, E., 2023. Agents pathogènes responsables d'infections systémiques - Les spirochètes. Diaporama de cours. UE 064. Nantes : Oniris VetAgroBio Nantes, 33 p.
- MOULIN, V., NOORDEGRAAF, C. V., MAKOSCHEY, B., VAN DER SLUIJS, M., VERONESI, E., DARPEL, K., MERTENS, P. P., DE SMIT, H., 2012. Clinical disease in sheep caused by bluetongue virus serotype 8, and prevention by an inactivated vaccine. *Vaccine*. 9 Mars 2012. Vol. 30, N° 12, pp. 2228-2235. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.11.100
- NELSON, D.D., DARK, M.J, BRADWAY, D.S., RIDPATH, J.F., CALL, N., HARUNA, J., RURANGIRWA, F.R., EVERMANN, J.F., 2008. Evidence for Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus Infection in a Captive Mountain Goat (*Oreamnos Americanus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*. 1^{er} Novembre 2008. Vol. 20, N°6, pp.752-759. DOI: 10.1177/104063870802000606
- NELSON, D.D., DUPRAU, J.L., WOLFF, P.L., EVERMANN, J.F., 2016. Persistent Bovine Viral Diarrhea Virus Infection in Domestic and Wild Small Ruminants and Camelids Including the Mountain Goat (*Oreamnos americanus*). *Frontiers in Microbiology*. 7 Janvier 2016. Vol. 6. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01415
- OGUEJIOFOR, C.F., THOMAS, C., CHENG, Z., WATHES, D.C., 2019. Mechanisms Linking Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Infection with Infertility in Cattle. *Animal Health Research Reviews*. 9 Septembre 2019. Vol 20, N°1, pp. 72-85. DOI : 10.1017/S1466252319000057
- OMSA – ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE, 2015. Chapter 3.4.7. Bovine Viral Diarrhoea - Organisation Mondiale de la Santé Animale [en ligne]. (Consulté le 18 juin 2024), Disponible à l'adresse : https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.04.07_BVD.pdf

- OMSA - ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE ,2021. Technical Disease Card : Bluetongue - Organisation Mondiale de la Santé Animale [en ligne]. 2023. (Consulté le 20/06/2024). Disponible à l'adresse : <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/bluetongue-2.pdf>
- OMSA - ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE, 2020. Fiche technique de Leptospira interrogans spp - Organisation Mondiale de la Santé Animale [en ligne]. 2020. (Consulté le 04/06/2024) Disponible à l'adresse : <https://www.woah.org/app/uploads/2022/02/leptospira-interrogans-ssp-infection-with.pdf>
- OMSA - ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE, 2023a. Code sanitaire pour les animaux terrestres - Organisation mondiale de la santé animale [en ligne]. 2023 (Consulté le 29/01/24). Disponible à l'adresse : <https://www.woah.org/fr/ce-que-nous-faisons/normes/codes-et-manuels/acces-en-ligne-au-code-terrestre/>
- OMSA - ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE ANIMALE, 2023b. Leucose Bovine Enzootique - Organisation Mondiale de la Santé Animale [en ligne]. 2023. [Consulté le 04/06/2024]. Disponible à l'adresse : <https://www.woah.org/fr/maladie/leucose-bovine-enzootique/>
- PARKER, A.M., SHEEHY, P.A., HAZELTON, M.S., BOSWARD, K.L., HOUSE, J.K., 2018. A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 19 Avril 2018. Vol.32, pp. 1241–1252. DOI: 10.1111/jvim.15135
- PAUL L.H., MCSWEENEY, JOHN P. MCNAMARA, 2022, *Infectious Diseases: Leptospirosis, In: Encyclopedia of Dairy Sciences* (3eme edition). Academic Press. pp. 339-342. ISBN: 978-0-12-818767-8
- PENIDO, A. O., DE CLERQ, K., HAEGEMAN, A., VANDAELE, L., NAUWYNCK, H., VAN SOOM, A., 2013. Failure to remove bluetongue serotype 8 virus (BTV-8) from in vitro-produced bovine embryos. *Reproduction, Fertility and Development*. 5 Décembre 2013. Vol. 26, N° 1, p. 166. DOI : 10.1071/RDv26n1Ab104
- PEREZ-CASAL, J., 2020. Pathogenesis and Virulence of Mycoplasma bovis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. Juillet 2020. Vol. 36, pp. 269–278. DOI: 10.1016/j.cvfa.2020.02.002
- POHJANVIRTA, T., VAHANIKKILA, N., MITIKAINEN, M., LINDEBERG, H., PELKONEN, S., PEIPPO, J., AUTIO, T., 2023. Transmission of Mycoplasma bovis infection in bovine in vitro embryo production. *Theriogenology*. 15 Mars 2023. Vol. 199, pp. 43–49. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2023.01.011
- PONSART, C., GATIEN, J., POZZI, N., HUMBLLOT, P., GUERIN, B., 2010. Relationship between bluetongue virus (BTV-8) infection and foetal mortality in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*. 8 Décembre 2009. Vol. 22, N°1, pp. 253. DOI: 10.1071/RDv22n1Ab190
- RICHTER, V., LEBL, K., BAUMGARTNER, W., OBRITZHAUSER, W., KÄSBOHRER, A., PINIOR, B., 2017. A Systematic Worldwide Review of the Direct Monetary Losses in Cattle Due to Bovine Viral Diarrhoea Virus Infection. *The Veterinary Journal*. Février 2017. Vol. 220, pp. 80-87. DOI : 10.1016/j.tvjl.2017.01.005
- RIDDELL, K.P., STRINGFELLOW, D.A., PANANGALA, V.S., 1989. Interaction of Mycoplasma bovis and Mycoplasma bovigenitalium with preimplantation bovine embryos. *Theriogenology*. Octobre 1989. Vol. 32, pp. 633–641. DOI: 10.1016/0093-691X(89)90284-7
- RIDPATH J. F., Bovine Viral Diarrhea Virus. *Encyclopedia of Virology* (Third Edition), Academic Press, 2008, pp. 374-380. DOI : 10.1016/B978-012374410-4.00354-X
- RUVOEN N., GANIERE J. P., BRIAND L., ASSIE S., 2023. Maladie Réglementées Des Ruminants. Polycopié. UE 052. Nantes : Oniris VetAgroBio Nantes, 157 p.

- RYAN, M.J., WYAND, D.S., HILL, D.L., TOURTELLOTTE, M.E., YANG, T.J., 1983. Morphologic changes following intraarticular inoculation of *Mycoplasma bovis* in calves. *Vet. Pathol.* Juillet 1983, Vol. 20, N°4, pp. 472–487. DOI: 10.1177/030098588302000410
- SÁNCHEZ-CORDÓN PJ, PLEGUEZUELOS FJ, PÉREZ DE DIEGO AC, GÓMEZ-VILLAMANDOS JC, SÁNCHEZ-VIZCAÍNO JM, CERÓN JJ, TECLES F, GARFIA B, PEDRERA M., 2013. Comparative study of clinical courses, gross lesions, acute phase response and coagulation disorders in sheep inoculated with bluetongue virus serotype 1 and 8. *Veterinary Microbiology.* 27 Septembre 2013. Vol. 166, N° 1–2, pp. 184-194. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.05.032
- SCHARNBÖCK, B., ROCH, F.F., RICHTER, V., FUNKE, C., FIRTH, C.L., OBRITZHAUSER, W., BAUMGARTNER, W., KÄSBOHRER, A., PINIOR, B., 2018. A Meta-Analysis of Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Prevalences in the Global Cattle Population. *Scientific Reports.* 26 Septembre 2018. Vol.8, N°14420. DOI: 10.1038/s41598-018-32831-2
- SCHERER, C.F.C., FLORES, E.F., WEIBLEN, R., CARON, L., IRIGOYEN, L.F., NEVES, J.P., MACIEL M.N., 2001. Experimental Infection of Pregnant Ewes with Bovine Viral Diarrhea Virus Type-2 (BVDV-2): Effects on the Pregnancy and Fetus. *Veterinary Microbiology.* 19 Avril 2001. Vol. 79, N°4, pp. 285-299. DOI: 10.1016/s0378-1135(00)00357-6
- SCHLAFER, D. H., GILLESPIE J. H., FOOTE R. H., QUICK S., PENNOW N. N., DOUGHERTY E. P., SCHIFF E. I., ALLEN S. E., POWERS P. A., HALL C. E., et al. (1990). Experimental transmission of bovine viral diseases by insemination with contaminated semen or during embryo transfer. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift.* Février 1990. Vol. 97, N° 2, pp. 68-72. PMID: 2155769
- SINGH, E. L., DULAC, G. C., HENDERSON, J. M., 1997. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections .15. Failure to transmit bluetongue virus through the transfer of embryos from viremic sheep donors. *Theriogenology.* 15 Avril 1997. Vol. 47, N° 6, pp. 1205-1214. DOI: 10.1016/s0093-691x(97)00100-3
- SINGH, E. L., Dulac, G. C., HENDERSON, J. M., 1997. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections. XV. Failure to transmit bluetongue virus through the transfer of embryos from viremic sheep donors. *Theriogenology.* 15 Avril 1997. Volume 47, N° 6, pp. 1205-1214. DOI: 10.1016/s0093-691x(97)00100-3
- SINGH, E.L., EAGLESOME, M.D., THOMAS, F.C., PAPP-VID, G., HARE, W.C.D., 1982. Embryo Transfer as a Means of Controlling the Transmission of Viral Infections. I. The in Vitro Exposure of Preimplantation Bovine Embryos to Akabane, Bluetongue and Bovine Viral Diarrhea Viruses. *Theriogenology.* Avril 1982. Vol.17, N°4, pp. 437-444. DOI: 10.1016/0093-691X(82)90025-5
- SMITH, C.R., MCGOWAN, M.R., MCCLINTOCK, C.S., CORNEY, B.G., KETTERER, P.J., SMYTHE, L., WARD, W., 1997. Experimental *Leptospira borgpetersenii* serovar hardjo infection of pregnant cattle. *Australian Veterinary Journal.* 10 mars 2008. Vol. 75, N°11, pp. 822–826. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1997.tb15663.x
- STRINGFELLOW, D.A., LAUERMAN, L.H., NASTI, K.B., GALIK, P.K., 1990. Trypsin treatment of bovine embryos after in vitro exposure to infectious bovine rhinotracheitis virus or bovine herpesvirus-4. *Theriogenology.* Septembre 1990. Vol. 34, N° 3, pp. 427–434. DOI: 10.1016/0093-691x(90)90001-a
- STRINGFELLOW, D.A., SEIDEL, S.M., & Society, 1998. Embryo transfert. In: *Manuel of the International Embryo Transfer Society.* 3rd rev. ed. IETS, 1998.
- TALEBKHAN GAROUSSI M. ET MEHRZAD J., Effect of Bovine Viral Diarrhoea Virus Biotypes on Adherence of Sperm to Oocytes during In-Vitro Fertilization in Cattle. *Theriogenology.* 1er Avril 2011. Vol. 75, N°6, pp. 1067-1075. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2010.11.015

- TERPSTRA C., WENSVOORT, G., 2011. A Congenital Persistent Infection of Bovine Virus Diarrhoea Virus in Pigs: Clinical, Virological and Immunological Observations. *The Veterinary Quarterly*. 14 Janvier 1997. Vol.19, N°3, pp. 97-101. DOI: 10.1080/01652176.1997.9694750
- THE PIRBRIGHT INSITUTE. 2023. Bluetongue virus. The Pirbright Institute - Preventing and controlling viral diseases [en ligne]. Disponible à l'adresse : <https://www.pirbright.ac.uk/bluetongue>
- THOMAS, F. C., SINGH, E. L., HARE, W. C., 1985. Embryo transfer as a means of controlling viral infections: VI. bluetongue virus-free calves from infectious semen. *Theriogenology*. Septembre 1985. Vol. 24, N° 3, pp. 345-350. DOI: 10.1016/0093-691x(85)90226-2
- THOMPSON, JG. Comparison between in vivo-derived and in vitro-produced pre-elongation embryos from domestic ruminants. *Reprod Fertil Dev*. 1997. Vol. 9, N° 3, pp. 341-354. DOI: 10.1071/r96079.
- TRACHTE, E., STRINGFELLOW, D., RIDDELL, K., GALIK, P., RIDDELL JR. M., WRIGHT, J., 1998. Washing and Trypsin Treatment of in Vitro Derived Bovine Embryos Exposed to Bovine Viral Diarrhea Virus. *Theriogenology*. 1er Octobre 1998. Vol. 50, N°5, pp. 717-726 DOI: 10.1016/S0093-691X(98)00177-0
- TRAUTWEIN, G., HEWICKER, M., LIESS, B., ORBAN, S., GRUNERT, E., Studies on Transplacental Transmissibility of a Bovine Virus Diarrhoea (BVD) Vaccine Virus in Cattle III. Occurrence of Central Nervous System Malformations in Calves Born from Vaccinated Cows. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. 1986. Vol .33, N°1-10, pp. 260 68. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1986.tb00031.x
- TSUBOI T., IMADA, T., 1996. Noncytopathogenic and Cytopathogenic Bovine Viral Diarrhea-Mucosal Disease Viruses Do Not Affect in Vitro Embryonic Development into the Blastocyst Stage. *Veterinary Microbiology*. Mars 1996. Vol. 49, N°1-2, pp. 127-134. DOI: 10.1016/0378-1135(95)00179-4
- VÄHÄNIKKILÄ, N., POHJANVIRTA, T., HAAPALA, V., SIMOJOKI, H., SOVERI, T., BROWNING, G.F., PELKONEN, S., WAWEGAMA, N.K., AUTIO, T., 2019. Characterisation of the course of *Mycoplasma bovis* infection in naturally infected dairy herds. *Vet. Microbiol*. Avril 2019, Vol. 231, pp. 107–115. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.03.007
- VANBINST, T., VANDENBUSSCHE, F., DERNELLE, E., DE CLERCQ, K., 2010. A duplex real-time RT-PCR for the detection of bluetongue virus in bovine semen. *Journal of Virological Methods*. Octobre 2010. Vol. 169, N° 1, pp. 162-168. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.07.019
- VANDAELE, L. D., DE CLERCQ K., VAN CAMPE W., DE LEEUW I., VAN SOOM A., 2011. Bluetongue virus infection in cattle after transfer of bovine in vivo-derived embryos. *Reproduction, Fertility and Development*. 6 Décembre 2011. Vol. 24, N°1, pp. 168. DOI: 10.1071/RDv24n1Ab112
- VANROOSE, G., NAUWYNCK, H., VAN SOOM, A., YSEBAERT, M.T., CHARLIER, G., VAN OOSTVELDT, P., DE KRUIF, A., 2000. Structural Aspects of the Zona Pellucida of In Vitro-Produced Bovine Embryos: A Scanning Electron and Confocal Laser Scanning Microscopic Study1. *Biology of Reproduction*. 1er Février 2000. Vol. 62, N°2, pp. 463-469. DOI: 10.1095/biolreprod62.2.463
- VENTER, E.H., GERDES, T., WRIGHT, I., TERBLANCHE, J., 2011. An investigation into the possibility of bluetongue virus transmission by transfer of infected ovine embryos. *Onderstepoort J Vet Res*. 21 février 2011. Vol. 78, N°, pp. 17. DOI: 10.4102/ojvr.v78i1.17
- VIANA, J. H. M., DODE, M.A.N., BASSO, A.C., 2020. General sanitary procedures associated with in vitro production of embryos. In : *Manuel of the International Embryo Transfer Society*, 5th Edition. IETS, 2020
- WALDROP J.G., STRINGFELLOW, D.A., GALIK, P.K., RIDDELL, K.P, GATZ RIDDELL, M., DANIEL GIVENS, M., CARSON, R.L., 2004. Infectivity of Bovine Viral Diarrhea Virus

Associated with in Vivo-Derived Bovine Embryos. *Theriogenology*. Août 2004. Vol. 62, N° 3-4. pp. 387-397. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2003.07.028

- WALDROP, J.G., STRINGFELLOW, D.A., GALIK, P.K., GIVENS, M.D., RIDDELL, K.P., GATZ, R.M., CARSON, R.L., 2006. Seroconversion of Calves Following Intravenous Injection with Embryos Exposed to Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) in Vitro. *Theriogenology*. Février 2006. Vol. 65, N°3, pp. 594-605. DOI : 10.1016/j.theriogenology.2005.04.034
- WATHES D.C., OGUEJIOFOR CHIKE F., THOMAS C., CHENG Z., 2020. Importance of Viral Disease in Dairy Cow Fertility. *Engineering*. Février 2020. Vol. 6, N°1, pp. 26-33. DOI: 10.1016/j.eng.2019.07.020
- Wintenberger-Torres S., Sevellec C., 1987. Atlas du développement embryonnaire précoce chez les ovins (*ovis aries*), INRA, pp. 51. ISBN : 978-2-85340-947-6
- WORWA, G., HILBE, M., CHAIGNAT, V., HOFMANN, M. A., GRIOT, C., EHRENSPERGER, F., DOHERR, M. G., THÜR, B., 2010. Virological and pathological findings in Bluetongue virus serotype 8 infected sheep. *Veterinary Microbiology*. 26 Août 2010. Vol. 144, N° 3-4, pp. 264-273. DOI : 10.1016/j.vetmic.2010.01

Annexes

Annexe 1 : Liste des maladies catégorisées par l'IETS

Maladies de catégorie 1	<ul style="list-style-type: none"> ○ Brucella abortus (bovins) ○ Encéphalopathie spongiforme bovine (bovins) ○ Fièvre aphteuse (bovins) ○ Fièvre catarrhale (bovins) ○ Infection par le virus de la maladie d'Aujeszky (porcins) ○ Leucose bovine enzootique ○ Rhinotrachéite infectieuse bovine / vulvovaginite pustuleuse infectieuse ○ Tremblante (ovins).
Maladies de catégorie 2	<ul style="list-style-type: none"> ○ Arthrite/encéphalite caprine ○ Fièvre catarrhale (ovins) ○ Infection par le virus de la peste porcine classique.
Maladies de catégorie 3	<ul style="list-style-type: none"> ○ Adénomatosose pulmonaire ovine ○ Campylobacter fetus (ovins) ○ Circovirus porcine de type 2 (porcins) ○ Encéphalopathie spongiforme bovine (caprins) ○ Fièvre aphteuse (porcins, ovins et caprins) ○ Haemophilus somnus (bovins) ○ Infection par le virus de la peste bovine (bovins) ○ Maedi-visna (ovins) ○ Maladie vésiculeuse du porc ○ Mycobacterium paratuberculosis (bovins) ○ Neospora caninum (bovins) ○ Syndrome dysgénésique et respiratoire du porc (SDRP) ○ Tremblante atypique ○ Virus de l'immunodéficience bovine ○ Virus de la diarrhée virale bovine (bovins)
Maladies de catégorie 4	<ul style="list-style-type: none"> ○ Anaplasmose bovine ○ Chlamydiopsittaci (bovins, ovins) ○ Dermatose nodulaire contagieuse ○ Entérovirus (bovins, porcins) ○ Épididymite ovine (Brucella ovis) ○ Escherichia coli O9:K99 (bovins) ○ Fièvre catarrhale (caprins) ○ Fièvre Q (Coxiella burnetti) ○ Herpèsvirus-4 des bovins ○ Infection par l'herpesvirus équin 1 (Rhinopneumonie équine) ○ Infection par le virus de l'artérite équine ○ Leptospira borgpetersenii serovar hardjobovis (bovins) ○ Leptospira sp. (porcins) ○ Maladie de Border (Border disease) (ovins) ○ Métrite contagieuse équine ○ Mycobacterium bovis (bovins) ○ Mycoplasma spp. (porcins) ○ Parvovirus (porcins) ○ Peste porcine africaine ○ Stomatite vésiculeuse (bovins, porcins) ○ Tremblante (caprins) ○ Tritrichomonas foetus (bovins) ○ Ureaplasma et Mycoplasma spp. (bovins, caprins) ○ Virus Akabane (bovins) ○ Virus para-influenza-3 (bovins)

Annexe 1 : Liste des maladies catégorisées par l'IETS (Source : OMSA, 2023a)

Annexe 2 : Enquête envoyée sous format Word

Introduction:

I am Lamia Briand-Amirat, Professor in Reproduction at Oniris- Nantes, a French Veterinary School. I am also the chair of the research subcommittee of HASAC / IETS (Health and Safety Advisory Committee of the International Embryo Technology Society). Hugo De Mori is a vet student in his last vet studies graduation, helping us in this survey as part of his vet thesis.

HASAC is an advisory Committee consisting of technical specialists in reproductive biotechnologies, animal health and food safety. It responds to the IETS members' questions and requests for advice related to those matters at both national and international levels. It submits recommendations based on current scientific knowledge of safe and sanitary trade in embryos to the IETS Board of Governors (the Board) to provide guidance and advice to international agencies, such as the Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations and the World Organisation for Animal Health (**WOAH**, founded as OIE).

One of the projects HASAC is working on, is the recategorization of risk of transmission of pathogens via embryos

The current IETS Categorization system covers only in-vivo derived (IVD) embryos. This system is unsuitable for in-vitro produced (IVP) embryos. We are moving toward a new IETS categorization system that is suitable for IVD and IVP embryos.

There will be three categories instead of 4 categories -

- Cat 1 - Negligible risk of transmission
- Cat 2 - Unknown risk of transmission
- Cat 3 - Non-negligible risk of transmission

The results will be published in Appendix 1 of Volume 1 of IETS Manual 5th edition.

At the last HASAC meeting (Lima, Peru 2023), we concluded, for IVP embryos, that majority of pathogens are in category 2, that is, unknown risks (because of lack of experimental studies). This means there is a very long list of pathogens to review to assess which could be moved to Category 1 or Category 3. So, we have decided to first focus on those pathogens that are of interest in international embryo trade.

We ask for your help in identifying on those pathogens you consider to be of importance to domestic and international trade of embryos by completing the attached survey

We thank you very much for your help with this important survey.

lamia.briand-amirat@oniris-nantes.fr

hugo.de-mori@oniris-nantes.fr

i) Identity of the respondent

- i. Name:
- ii. Surname:
- iii. Be anonymous
- iv. Country:
- v. Working as:
 1. Practitioner
 2. Embryo Technician
 3. Mainly working with in vivo derived embryos
 4. Mainly working with in vitro produced embryos
 5. Researcher
 6. Government Regulatory agent
 7. Other (please specify)

- vi. Specify the group in which you work according to embryo transfer

- vii. Species you work with
 1. Bovine
 2. Caprine
 3. Ovine
 4. Swine
 5. Equine
 6. Other

- viii. With which country do you work?

- ix. On what kind of embryo do you work?
 1. Mainly working with in vivo derived embryos
 2. Mainly working with in vitro produced embryos
 3. Working with both of them

- ii) Regarding pathogens, tick those that are problematic for your country regarding **in vivo** derived produced embryo exchanges:

<u>Disease</u>	<u>Yes</u>	<u>No</u>
Bluetongue virus:		
Bovine spongiform encephalopathy:		
<i>Brucella abortus</i> :		
Enzootic bovine leukosis:		
Foot and mouth disease:		
Infectious bovine rhinotracheitis (BHV-1):		
Bovine immunodeficiency virus:		
Bovine viral diarrhea virus:		
<i>Haemophilus somnus</i> :		
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> :		
<i>Neospora caninum</i> :		
Rinderpest:		
Akabane:		
Bovine anaplasmosis:		
Bovine herpesvirus-4:		
<i>Chlamydophila abortus</i> :		
<i>Chlamydophila psittaci</i> :		
Enterovirus:		
<i>Escherichia coli</i> :		
<i>Leptospira borgpetersenii</i> :		
<i>Mycobacterium bovis</i> :		
Parainfluenza-3 virus:		
<i>Tritrichomonas</i> :		
<i>Ureaplasma</i> :		
<i>Mycoplasma</i> :		
Vesicular stomatitis:		
Contagious bovine pleuropneumonia:		
Lumpy skin disease:		
Campylobacter fetus subsp. venerealis:		
Rift Valley Fever:		
Q fever (<i>Coxiella burnetii</i>):		
Border disease:		
Maedi-visna:		
<i>Ovine pulmonary adematosis</i> :		
Ovine epididymitis (<i>Brucella ovis</i>):		
Atypical scrapie:		
Scrapie:		
Caprine arthritis/encephalitis:		
<i>Chlamydia psittaci</i> ..:		

Contagious caprine pleuropneumonia:		
Sheep pox:		
Classical swine fever		
African swine fever:		
Enterovirus:		
Parvovirus:		
Porcine circovirus:		
Vesicular stomatitis:		
Swine vesicular disease:		
Aujesky disease:		
Porcine reproductive and respiratory disease syndrome:		
Contagious equine metritis:		
Equine rhinopneumonitis:		
<i>Equid Herpesvirus 1</i> :		
Equine arteritis virus:		
<i>Taylorella equigenitalis</i> :		
African Horse Sickness:		
Others		

- a. What are the 5 diseases for which there is the most restriction on exchanges with other countries?

iii) Regarding pathogens, tick those that are problematic for your country regarding **in vitro** produced embryo exchanges:

<u>Disease</u>	<u>Yes</u>	<u>No</u>
Bluetongue virus:		
Bovine spongiform encephalopathy:		
<i>Brucella abortus</i> :		
Enzootic bovine leukosis:		
Foot and mouth disease:		
Infectious bovine rhinotracheitis (BHV-1):		
Bovine immunodeficiency virus:		
Bovine viral diarrhea virus:		
<i>Haemophilus somnus</i> :		
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i> :		
<i>Neospora caninum</i> :		
Rinderpest:		
Akabane:		
Bovine anaplasmosis:		
Bovine herpesvirus-4:		
<i>Chlamydophila abortus</i> :		
<i>Chlamydophila psittaci</i> :		
Enterovirus:		
<i>Escherichia coli</i> :		
<i>Leptospira borgpetersenii</i> :		
<i>Mycobacterium bovis</i> :		
Parainfluenza-3 virus:		
<i>Tritrichomonas</i> :		
<i>Ureaplasma</i> :		
<i>Mycoplasma</i> :		
Vesicular stomatitis:		
Contagious bovine pleuropneumonia:		
Lumpy skin disease:		
Campylobacter fetus subsp. venerealis:		
Rift Valley Fever:		
Q fever (<i>Coxiella burnetii</i>):		
Border disease:		
Maedi-visna:		
<i>Ovine pulmonary adematosis</i> :		
Ovine epididymitis (<i>Brucella ovis</i>):		
Atypical scrapie:		
Scrapie:		
Caprine arthritis/encephalitis:		
<i>Chlamydia psittaci</i> ..:		

Contagious caprine pleuropneumonia:		
Sheep pox:		
Classical swine fever		
African swine fever:		
Enterovirus:		
Parvovirus:		
Porcine circovirus:		
Vesicular stomatitis:		
Swine vesicular disease:		
Aujesky disease:		
Porcine reproductive and respiratory disease syndrome:		
Contagious equine metritis:		
Equine rhinopneumonitis:		
<i>Equid Herpesvirus 1</i> :		
Equine arteritis virus:		
<i>Taylorella equigenitalis</i> :		
African Horse Sickness:		
Others		

- a. What are the 5 diseases for which there is the most restriction on exchanges with other countries?

- iv) Regarding sperm, which pathogens are problematic for your country (sperm exchanges):
 - a. Add pathogens that are subject to exchanges restrictions according sperm and the countries affected by these restrictions
- v) If you work with the government what are the pathogens that you consider important from a regulatory point of view?

**Thank you for your participation and for the time
you devoted to this survey**

Annexe 3 : Liste des maladies étudiées dans l'enquête

1ère partie de la liste	2ème partie de la liste	3ème partie de la liste
Bluetongue virus	Escherichia coli	Caprine arthritis/encephalitis
Bovine spongiforme encephalopathy	Leptospira borgpetersenii	Chlamydia psittaci
Brucella abortus	Mycobacterium bovis	Contagious caprine pleuropneumonia
Enzootic bovine leukosis	Parainfluenza-3 virus	Sheep pox
Foot and mouth disease	Tritrichomonas	Classical swine fever
Infectious bovine	Ureaplasma	African swine fever
Rhinotracheitis (BHV-1)	Mycoplasma	Enterovirus
Bovine immunodeficiency virus	Vesicular stomatitis	Parvovirus
Bovine viral diarrhea virus	Contagious bovine pleuropneumonia	Porcine circovirus
Haemophilus somnus	Lumpy skin disease	Vesicular stomatitis
Mycobacterium paratuberculosis	Campylobacter fetus subsp venerealis	Swine vesicular disease
Neospora caninum	Rift Valley Fever	Aujesky disease
Rinderpest	Q fever (Coxiella burnetii)	Porcine reproductive and respiratory disease syndrome
Akabane	Border disease	Contagious equine metritis
Bovine anaplasmosis	Maedi-visna	Equine rhinopneumonitis
Bovine herpesvirus-4	Ovine pulmonary adenomatosis	Equid Herpesvirus 1
Chlamydomphila abortus	Ovine epididymitis (Brucella ovis)	Equine arteritis virus
Chlamydomphila psittaci	Atypical scrapie	Taylorella equigenitalis
Enterovirus	Scrapie	African Horse Sickness

Annexe 4 : Liste des maladies restreignant les échanges d'embryons produits *in vivo* obtenue grâce à l'enquête internationale

Maladies	Nombre de réponses	Maladies	Nombre de réponses
Virus de la diarrhée virale bovine	18	Chlamydomphila abortus	2
Fièvre catarrhale bovine	17	Chlamydomphila psittaci	2
Mycobacterium bovis	13	Maedi-visna	2
Leucose enzootic bovine	11	Maladie vésiculeuse du porc	2
Fièvre aphteuse	11	Maladie d'Aujesky	2
Rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1)	10	Maladie d'Aino	2
Stomatite vésiculeuse	10	Maladie de Schmallerberg	2
Brucella abortus	9	Herpesvirus bovin type 4	1
Mycoplasme	9	Parainfluenza-3 virus	1
Fièvre Q (Coxiela burnetii)	9	Ureaplasma	1
Tritrichomonas	8	Adénomatose pulmonaire ovine	1
Arthrite/Encéphalite caprine	8	Pleuropneumonie contagieuse caprine	1
Mycobacterium paratuberculosis	7	Clavelée	1
Campylobacter fetus subsp venerealis	7	Virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin	1
Anaplasmosse bovine	6	Métrite contagieuse équine	1
Leptospira borgpetersenii	6	Rhinopneumonie équine	1
Tremblante du mouton	6	Herpesvirus equin type 1	1
Pleuropneumonie contagieuse bovine	5	Virus de la fièvre éphémère bovine	1
Epididymite ovine (Brucella ovis)	5	Cowdriose (Ehrlichia ruminantium)	1
Dermatose nodulaire contagieuse	4	Maladie hémorragique enzootique bovine (EHD)	1
Fièvre de la vallée du Rift	4	Virus de l'immunodéficience bovine	0
Encéphalopathie spongiforme bovine	3	Haemophilus somnus	0
Peste bovine	3	Neospora caninum	0
Maladie d'Akabane	3	Enterovirus	0
Escherichia coli	3	Parvovirus	0
Maladie de Border	3	Circovirus porcin	0
Tremblante atypique	3	Artérite virale équine	0
Peste porcine classique	3	Taylorella equigenitalis	0
Peste porcine africaine	3	Peste équine	0

Annexe 5 : Liste des maladies restreignant les échanges d'embryons produits *in vitro* obtenue grâce à l'enquête internationale

Maladie	Nombre de réponses	Maladie	Nombre de réponses
Fièvre Catarrhale ovine	13	Pleuropneumonie contagieuse caprine	3
Virus de la diarrhée virale bovine (BVDV)	13	Peste porcine africaine	3
Mycobacterium bovis	12	Chlamydomphila abortus	2
Rhinotrachéite infectieuse bovine (BHV-1)	11	Maedi-visna	2
Brucella abortus	10	Clavelée	2
Leucose enzootic bovine	10	Peste porcine classique	2
Fièvre aphteuse	9	Neospora caninum	1
Mycobacterium paratuberculosis	9	Escherichia coli	1
Mycoplasme	8	Parainfluenza-3 virus	1
Campylobacter fetus subsp venerealis	7	Ureaplasma	1
Anaplasmose bovine	6	Adénomatose pulmonaire ovine	1
Tritrichomonas	6	Parvovirus	1
Stomatite vésiculeuse	6	Maladie vésiculeuse du porc	1
Maladie d'Akabane	5	Herpesvirus équin de type 1	1
Leptospira borgpetersenii	5	Leptosira hardjo-bovis	1
Dermatose nodulaire contagieuse	5	Tuberculose bovine	1
Fièvre de la vallée du Rift	5	Cowdriose (Ehrlichia ruminantium)	1
Fièvre Q (Coxiela burnetii)	5	Maladie d'Aino	1
Tremblante du mouton	5	Virus de l'immunodéficience bovine	0
Arthrite/Encéphalite caprine	5	Haemophilus somnus:	0
Maladie de Schmallenberg	5	Enterovirus	0
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)	4	Circovirus porcin	0
Pleuropneumonie contagieuse bovine	4	Maladie d'Aujesky	0
Maladie hémorragique enzootique bovine (EHD)	4	Virus du syndrome reproducteur et respiratoire porcin	0
Peste bovine	3	Métrite contagieuse équine	0
Herpesvirus bovin 4 (BHV-4)	3	Rhinopneumonie équine	0
Maladie de Border	3	Artérite virale équine	0
Epididymite ovine (Brucella ovis)	3	Taylorella equigenitalis	0
Tremblante atypique	3	Peste équine	0
Chlamydia psittaci	3		

Annexe 6 : Modèle d'étude des pathogènes a recatégoriser proposé par l'HASAC

1. Généralités

1.1. Signes cliniques

1.2. Agent pathogène

1.3. Occurrence

1.4. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

2. Informations techniques

2.1. L'agent pathogène (**Cette partie a souvent été supprimée**)

Description de l'agent pathogène

2.2. Pathogénèse

Généralités (brèves)

Reproduction (partie plus détaillée)

- L'agent pathogène a-t-il été trouvé dans l'environnement ovarien/oviducal/utérin (OOU) ?

- La présence de l'agent causal dans l'environnement OOU est-elle compatible avec l'obtention d'embryons viables ?

2.3. Signes cliniques

Généraux

Reproduction

2.4. Épidémiologie

Période d'incubation et d'infection

Principales causes de transmission - existe-t-il des preuves de transmission par le biais du transfert d'embryons ?

Combien d'embryons ont été transférés avec ou sans transmission de la maladie ?

Tout élément indiquant que l'agent pathogène pourrait être transféré par le transfert d'embryon

2.5. Diagnostic

Observations générales (brèves)

3. Conclusions

3.1. Embryons dérivés *in vivo*

L'agent responsable a-t-il été trouvé dans le liquide de rinçage ?

L'agent causal adhère-t-il à la zone pellucide ?

L'agent causal est-il éliminé par le lavage de l'embryon ?

Des traitements spéciaux (par exemple la trypsine) permettent-ils d'éliminer ou d'inactiver l'agent causal ?

Les résultats négatifs ou positifs ont-ils été reproduits par le même investigateur ou par des investigateurs différents ?

3.2. Embryons produits *in vitro*

L'agent causal a-t-il été trouvé dans les follicules, les liquides folliculaires et les lavages ?

4. Recommandations du sous-comité de réglementation

4.1. Embryons produits *in vivo*

Quelle catégorie ? - Pourquoi ?

4.2. Embryons produits *in vitro*

Quelle catégorie ? - Pourquoi ?

Annexe 7 : Résumé accepté pour le congrès de l'IETS 2025

Toward a New Recategorization for Pathogen Risk Transmission via In-Vivo Derived (IVD) and In-Vitro Produced (IVP) Embryos: An International Survey to Facilitate the Recategorization Mission

Hugo De Mori¹, George Perry², Lamia Briand-Amirat¹

1: Oniris, Nantes Atlantic Veterinary College, Nantes, 44307, France

2: IETS Health And Safety Advisory Committee Chair, Jerrabomberra, NSW, 2619, Australia

One of the Health and Safety Advisory Committee (HASAC) project underway is the recategorization of risk of transmission of pathogens via in-vivo derived (IVD) and in-vitro produced (IVP) embryos. To replace current IETS Categorization system which cover only IVD embryos, being unsuitable for IVP embryos, the International Embryo Technology Society (IETS) is moving toward a new IETS categorization system that covers both IVD and IVP embryos. The new system provides for three categories of risk instead of four categories -Category 1 (Negligible risk of transmission), Category 2 (Unknown risk of transmission), Category 3 (Non-negligible risk of transmission). The list of pathogens for each category will be published in the IETS Manual 5th edition. At the last HASAC meeting held in Denver, USA in January 2024, members of the Research subcommittee concluded that the majority of pathogens, especially for IVP embryos, belong to category 2: unknown risks (because of lack of studies). As there is a long list of pathogens to review, the Research subcommittee decided to focus only on pathogens of interest in international embryo trade. The purpose of this survey sent to embryo transfer practitioners and embryologists was to help the IETS identify those pathogens that were assessed to be important to international trade. We obtained 23 responses from practitioners, predominantly from the United States (56.5%), with additional responses from Finland, United Kingdom, France, Romania, Australia, Japan, and South Africa. This geographic skew suggests that the resulting data may reflect Western, particularly U.S., regulatory perspectives. Notably, there were no responses from South America and minimal representation from Asia and Africa. The respondents, who primarily work with bovine embryos, provided a ranked list of diseases for both types of embryo transfers and also for sperm (table 1). This list will guide further research and categorization efforts, enhancing the understanding of pathogen risks and informing future regulations. The returned completed surveys were then analyzed, the results published, and subjected to further research to determine the proper categories for the pathogens of major concern to international trade.

IVD embryos	IVP embryos	Sperm
Bluetongue virus Bovine viral diarrhoea virus Bovine herpesvirus Tuberculosis Mycoplasmosis Enzootic bovine leukosis Mycobacterium paratuberculosis	Bluetongue virus Bovine viral diarrhoea virus Mycoplasmosis Schmallenberg disease Leptospirosis Enzootic bovine leukosis Mycobacterium paratuberculosis Tuberculosis Bovine herpesvirus	Bluetongue virus Bovine viral diarrhoea virus Leptospirosis Epizootic hemorrhagic disease (EHD) Enzootic bovine leukosis Schmallenberg disease Bovine herpesvirus

Tableau 10 : List of diseases of importance regarding trade international respondents n=23

Propositions de recatégorisation des pathogènes

6 pathogènes étudiés :

1. Le virus de la fièvre catarrhale ovine
2. Le virus de la diarrhée virale bovine
3. L'herpesvirus bovin de type 4
4. *Mycoplasma bovis*
5. Le virus de la leucose bovine
6. *Leptospira* serovar *Hardjo*

I. Fièvre catarrhale ovine

La Fièvre catarrhale ovine (FCO) peut aussi être appelée maladie de la langue bleu ou bluetongue virus (BTV).

1. Généralités

1.1. Cause de la maladie

La fièvre catarrhale ovine est une maladie virale des ruminants transmise par les insectes, appartenant au genre Orbivirus de la famille des Reoviridae (Mertens et al. 2005). Il y avait 27 sérotypes de BTV en 2019 (Maclachlan et al. 2019), caractérisés par des différences dans leurs antigènes de surface, mais des sérotypes supplémentaires sont continuellement identifiés. En 2023, 29 sérotypes ont été signalés (The Pirbright Institute, 2023). Au sein d'un sérotype, la pathogénicité et les signes cliniques peuvent varier considérablement.

Les ruminants et les camélidés sont sensibles à l'infection, mais l'issue clinique de l'infection est variable. Les ovins sont les espèces de bétail les plus gravement touchées, la maladie se caractérisant par une cyanose des muqueuses accompagnée d'hémorragies et d'œdèmes étendus. Les bovins sont le principal hôte de maintenance vertébré du virus et, même si l'infection se produit, les signes cliniques ne sont généralement pas observés (Ministère de l'agriculture, 2011).

Les infections chez les bovins et les caprins sont généralement subcliniques dans les zones endémiques. Ces espèces sont plus susceptibles d'être touchées lorsqu'une population naïve est exposée pour la première fois au virus de la fièvre catarrhale, comme lors des récentes épidémies de sérotype 8 en Europe. Les cas cliniques ressemblent à la maladie chez les ovins, mais ont tendance à être plus bénins (CFSPH, 2015).

La fièvre catarrhale ovine était listée comme une catégorie 2 (preuve d'un risque transmission négligeable) selon l'ancienne catégorisation de l'IETS.

1.2. Occurrence

Le virus de la fièvre catarrhale ovine est largement répandu dans les régions où l'insecte vecteur (le moucheron piqueur *Culicoides* spp.) est présent, notamment en Afrique, en Asie, en Australie, en Europe, en Amérique du Nord et dans plusieurs îles des régions tropicales et subtropicales. Le virus se maintient dans les zones où le climat permet aux moucheron piqueurs de survivre pendant l'hiver (OMSA, 2021). Le BTV est traditionnellement présent dans la plupart des pays situés entre 50° de latitude nord et 35° de latitude sud, où les conditions climatiques sont propices à la survie de l'insecte vecteur. La répartition des sérotypes en Europe et leur découverte sont indiquées dans les Figures 19 et 20.

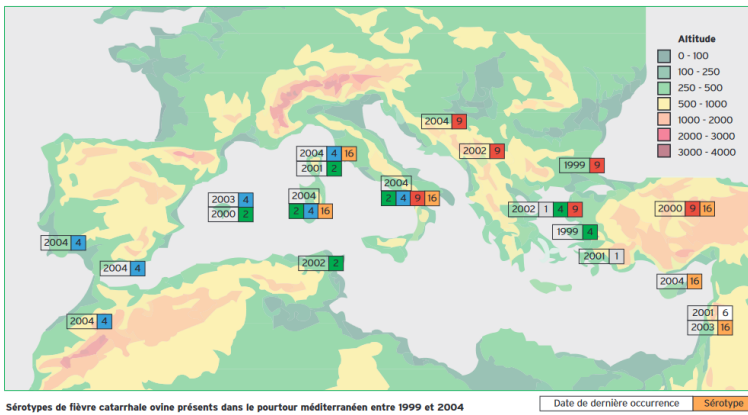


Figure 19 : Sérotypes de la FCO (ou BTV) sur le pourtour méditerranéen de 1999 à 2004 (Gerbier et al., 2004)

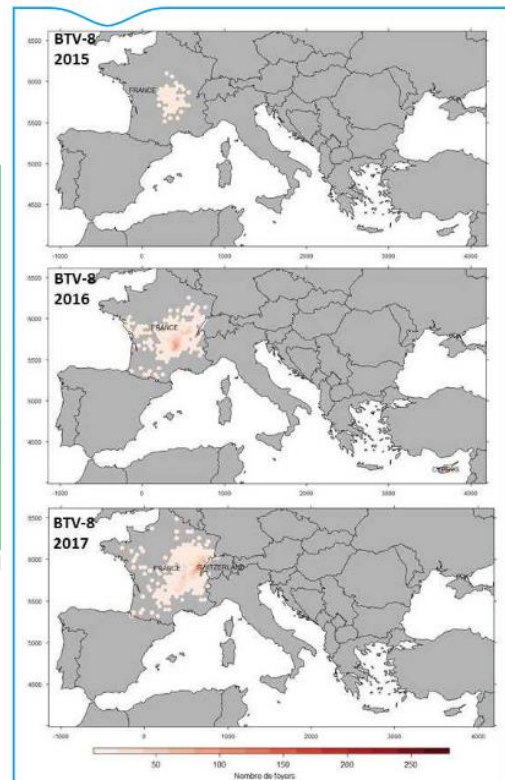


Figure 20 : Evolution des foyers de FCO-8 (ou BTV-8) en Europe de 2014 à 2017 (Lorusso et al., 2018)

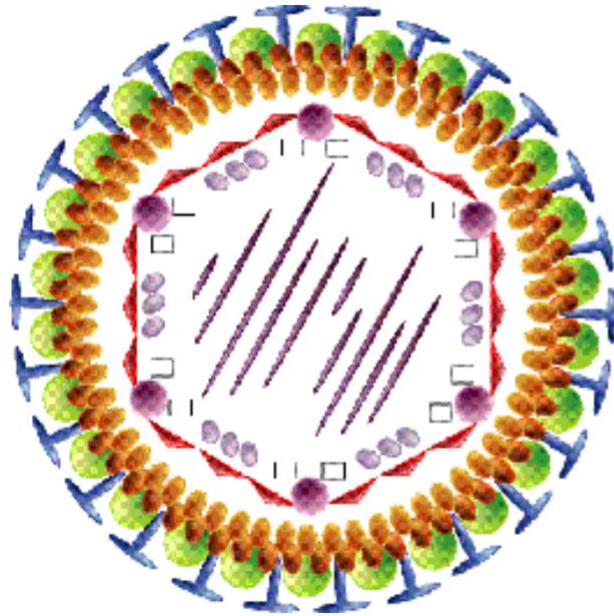
1.3. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

Le BTV est une maladie inscrite sur la liste de l'OMSA depuis 2023 (OMSA, 2023a).

2. Informations techniques

2.1. L'agent pathogène

Sur les 29 sérotypes précédemment cités, certains portent des noms supplémentaires (par exemple, Toggenburg orbivirus pour la souche prototype du sérotype 25). Les isolats diffèrent en termes de virulence, et certaines souches semblent provoquer peu de signes cliniques. Comme d'autres virus tels que le virus de la grippe, les virus de la fièvre catarrhale peuvent se réassortir et se recombiner pour produire de nouveaux variants. Les virus de la fièvre catarrhale sont étroitement liés aux virus du séro groupe de la maladie hémorragique épizootique (MHE), un facteur qui peut influencer le développement et/ou la sélection de certains tests de diagnostic (CFSPH, 2015). L'agent pathogène est schématisé dans la Figure 21.



Virus de la fièvre catarrhale ovine.

VIRUS DE LA FIÈVRE CATHARRALE OVINE

Famille : *Reoviridae*

Genre : *Orbivirus*

24 sérotypes

Pas de protection croisée.

Taille : 60 à 80 nm

Virus à ARN segmenté, non enveloppé, entouré d'une nucléocapside.

Membrane externe.

Très résistant en présence de protéines.

Figure 21 : Virus de la fièvre catarrhale ovine (FCO), schématisation (gauche) et résumé des caractéristiques (droite) (Ministère de l'agriculture, 2011)

2.2. Pathogénèse

Chez les animaux qui présentent des signes cliniques, le BTV provoque des lésions des parois des vaisseaux sanguins qui se traduisent par des œdèmes, des hyperémies, des hémorragies et des infarctus, en particulier au niveau des voies respiratoires et du tractus gastro-intestinal supérieur. La coagulation intravasculaire disséminée peut également se produire chez les moutons et les cerfs de Virginie gravement touchés (MacLachlan, 2009). Le BTV est présent dans les globules rouges, même en présence de titres d'anticorps élevés, pendant une période pouvant aller jusqu'à 8 semaines (Schwartz-Cornil, 2008). Le virus est présent de manière transitoire dans le sérum et les monocytes.

Concernant l'effet du pathogène sur la reproduction, il est important de savoir si l'agent pouvait se retrouver dans l'environnement reproducteur des animaux.

Chez les bovins :

- En 1983, Bowen et al ont retrouvé le BTV dans 55 % des liquides de rinçage provenant de rinçages non chirurgicaux de donneurs virémiques, probablement à la suite d'une contamination par des cellules sanguines.
- En 1985, Thomas et al ont transféré des embryons contaminés avec du BTV dans 16 receveuses, aucune n'a développé d'anticorps lors du vêlage et aucun virus n'a été isolé dans les liquides de rinçage utérin.
- En 1990, Schlafer et al ont inséminé trois fois, à 12 heures d'intervalle, deux vaches séronégatives avec du sperme chargé de virus et contenant du BTV. Après le rinçage, les deux vaches ont été euthanasiées et de nombreux tissus, en particulier de l'appareil reproducteur, ont été prélevés et testés en culture cellulaire pour détecter la présence du

virus. La présence du BTV a été montrée par l'isolement du virus en culture cellulaire dans le cas des deux animaux.

- Schlafer et al (1990) ont également inséminé trois vaches séronégatives avec du sperme exempt de BTV et leur ont inoculé 1 ml de BTV par voie intramusculaire. Cinq jours plus tard, chaque vache a fait l'objet d'un rinçage à la recherche d'embryons. Une vache a produit 2 embryons et aucun virus n'a pu être mis en évidence dans ces embryons. Les 2 autres n'ont pas produit d'embryons. Immédiatement après le flushing, les 3 vaches ont été euthanasiées et les tissus ont été prélevés pour l'isolement du virus. Aucun virus n'a été isolé dans l'appareil reproducteur ou le sang de la vache qui a produit les 2 embryons. Cependant, le virus a été isolé en culture cellulaire à partir du sang et d'au moins un tissu reproducteur des deux autres vaches.

Concernant le BTV-8, la revue de Dal Pozzo de 2009 a noté qu'il y avait en Europe une incidence accrue de troubles de la reproduction (avortement, mortinatalité et anomalies congénitales) directement causés par l'infection de la mère à différents stades de la gestation. La transmission transplacentaire a toutefois joué un rôle important dans le maintien et la propagation du BTV-8 en Europe en 2006. En effet, lorsqu'une mère est contaminée par le BTV-8, elle a 10% de chance de le transmettre au nouveau-né (De Clercq et al. 2008).

Chez les ovins, aucune référence spécifique à ce sujet n'a pu être trouvée. Cependant, la découverte que des moutons naturellement infectés pouvaient transmettre la fièvre catarrhale du mouton à des receveurs implique que le virus circule au sein des établissements de transfert d'embryons (Gilbert, 1987). L'infection expérimentale d'ovins par la souche européenne du BTV-8 a permis de détecter l'ARN du BTV dans de nombreux tissus, y compris l'utérus (Worwa, 2010).

Il est ensuite intéressant de savoir si des animaux contaminés pouvaient donner des embryons viables.

Chez les bovins, les seules références trouvées sur le sujet concernent le BTV-8. Dans le cas du BTV-8, bien qu'aucune étude n'ait pu être trouvée sur un lien direct entre la présence de l'agent causal et l'obtention d'embryons viables, il existe des données sur le taux de gestation et de mortalité fœtale chez les vaches séropositives comparées aux vaches séronégatives. Le taux de gestation est plus élevé et la mortalité fœtale plus faible chez les vaches séronégatives que chez les vaches séropositives (Ponsart, 2010).

Chez les ovins, aucune référence spécifique aux embryons viables de moutons n'a pu être trouvée.

2.3. Signes cliniques

Chez les bovins, avant l'apparition des foyers de BTV-8 en Europe, le BTV chez les bovins était considéré comme subclinique (Barratt-Boyes, 1995). Les quelques cas de maladie se caractérisaient par une légère réaction fébrile, une inappétence, une dermatite et une stomatite (Fabiana Dal Pozzo, 2009). Dans le cas du BTV-8 chez des bovins naïfs, les cas cliniques ressemblent à la maladie chez les ovins, mais ont tendance à être plus légers. Les signes rapportés chez les bovins comprennent l'inappétence, la léthargie, l'œdème facial, l'œdème sous-mandibulaire, l'inflammation buccale avec des vésicules ou des ulcères dans la bouche, une salivation excessive, un écoulement nasal, une fréquence respiratoire élevée, l'œdème des membres distaux et l'hyperémie de la bande coronaire avec boiterie. Le museau de certains bovins présente un aspect brûlé et fissuré. La température corporelle est parfois normale. Les bovins peuvent également présenter diverses lésions cutanées, notamment une dermatite vésiculaire et ulcéreuse, une dermatite périoculaire, des lésions nécrotiques, une desquamation de la peau affectée et une photodermatite. Dans certains cas, la peau peut présenter des plis épais et des fissures, en particulier autour du garrot et du cou. Des décès sont possibles, mais peu fréquents (CFSPH, 2015).

Chez les ovins, les animaux infectés par le virus de la fièvre catarrhale ovine peuvent rester asymptomatiques ou devenir légèrement à gravement malades. Les signes cliniques courants comprennent la fièvre et la dépression, un écoulement nasal séreux à mucopurulent, qui peut former des croûtes autour des narines, et une hyperémie du museau, des muqueuses buccales et nasales, de la conjonctive et de la bande coronaire des sabots (CFSPH, 2015).

Les chèvres sont semblables aux bovins, avec des signes généralement considérés comme subcliniques, sauf dans les nouveaux foyers de souches du BTV-8. Chez les chèvres naïvement affectées par le BTV-8, des signes cliniques similaires à ceux des bovins infectés par le BTV-8 sont observés (CFSPH, 2015).

Avec notre objectif de catégorisation de la maladie, il est également essentiel de se concentrer plus en détail sur les signes cliniques affectant la reproduction.

Chez les bovins, la maladie avant le sérotype 8 était considérée comme subclinique, aucun signe spécifique de reproduction n'a été observé. Les bovins infectés par le BTV-8, en particulier les troupeaux naïfs, peuvent présenter les signes cliniques suivants : "Des lésions du pis et des trayons, telles que l'érythème, les ulcères, les fissures et les lésions nécrotiques, ont été signalées chez les bovins, et la production de lait peut être diminuée. Des avortements et des mortinaissances ont été signalés... et des anomalies congénitales, y compris des lésions du système nerveux central, ont été observées chez les veaux nouveau-nés. Une stérilité temporaire peut être observée chez les taureaux." (CFSPH, 2015). Il a été démontré que le taux de mortalité fœtale augmentait chez les vaches positives au BTV-8 (Ponsart, 2010). Aux Pays-Bas, les vaches infectées par le BTV-8 présentaient cinq fois plus de risques de fertilité réduite dans les 56 jours suivant la première insémination que les vaches non infectées (Santman-Berends et al. 2010).

Chez les ovins, les brebis gestantes peuvent avorter ou donner naissance à des agneaux mort-nés ou présentant des lésions du système nerveux central (SNC), des lésions rétinienne et/ou des malformations squelettiques. Les lésions du SNC peuvent se traduire par des signes neurologiques ou par des agneaux "mannequins" qui ne peuvent pas boire du lait ou suivre la

brebis. Les syndromes spécifiques varient en fonction du stade de la gestation, et les agneaux infectés plus tard au cours de la grossesse peuvent naître normaux (CFSPH, 2015).

2.4. Épidémiologie

Chez les bovins, la période d'incubation est de quatre à huit jours. La virémie est détectable trois jours après l'infection et dure souvent moins de quatre semaines, mais peut exceptionnellement persister pendant huit semaines. Les anticorps sont généralement détectés pour la première fois une à deux semaines après l'infection et restent détectables pendant au moins 60 jours. Le code terrestre de l'OMSA (OMSA, 2023a) définit la période infectieuse d'un animal virémique pour le BTV comme étant de 60 jours après l'infection (article 8.3.1). Les rapports sur les états porteurs sont généralement limités à la littérature ancienne, avant que les chercheurs ne reconnaissent l'importance de la réinfection multiple des animaux avec différents sérotypes de BTV (Geering, 1995). Dans une étude, la virémie a pu être détectée dans le BTV-8 au cinquième jour après l'infection par isolement viral et test de transcriptase inverse et de réaction en chaîne de la polymérase (RT-PCR). La virémie pouvait ensuite être détectée jusqu'à 39 jours par l'isolement viral, même s'il n'est pas détecté par RT-PCR, ce qui implique que l'animal était infectieux jusqu'à au moins 39 jours (Di Gialleonardo, 2011). Une virémie observée 5 jours après l'infection au BTV-8 correspond à la période d'incubation rapportée chez les bovins pour d'autres souches. Il a été constaté qu'il est probable que les anticorps puissent persister pendant une longue période, voire des années, après une infection naturelle ou une vaccination contre le BTV-8 (Bournez, 2018)

Chez les ovins, la période d'incubation varie généralement de 4 à 7 jours et la virémie dure environ 7 jours, avec un maximum de 20 jours (Geering, 1995). Bien qu'il n'ait pas été possible de trouver une référence sur la durée exacte de la circulation des anticorps, une étude a montré que, pour le BTV-1, les niveaux d'anticorps atteignaient leur maximum et commençaient à diminuer 10 jours après l'infection, mais la durée totale de la circulation des anticorps n'a pas pu être déterminée car cette étude n'a duré que 15 jours (Sánchez-Cordón, 2013). La virémie chez les animaux non vaccinés, a été détectée par RT-PCR entre 2 et 4 jours, et s'est poursuivie jusqu'à la fin des 22 jours de l'étude, et vraisemblablement au-delà, pour la plupart des animaux échantillonnés (Moulin, 2012). Lorsque les ovins sont infectés par le BTV-8 dans des conditions de laboratoire, il a été démontré que les anticorps atteignaient leur maximum à un moment similaire à celui du BTV-1, avec seulement un jour de différence (Sánchez-Cordón, 2013).

Après cette introduction concernant l'incubation et la période durant laquelle l'animal est encore excréteur, les voies d'infection par l'agent pathogène vont être présentées.

Le virus de la fièvre catarrhale du mouton est principalement transmis par des moucheron piqueurs du genre *Culicoïdes*, qui sont des vecteurs biologiques. Ces moucheron peuvent voler sur de courtes distances (1 à 2 km), mais le vent peut les entraîner beaucoup plus loin. Parmi les espèces connues pour être des vecteurs efficaces, citons *Culicoïdes sonorensis* aux États-Unis, *C. brevitarsis* en Australie et dans certaines parties de l'Asie, *C. imicola* en Afrique, au Moyen-Orient, en Europe du Sud et dans certaines parties de l'Asie, *C. bolitinos* (représenté Figure 22) dans certaines régions plus froides de l'Afrique et *C. insignis* dans les Caraïbes, en Amérique centrale et en Amérique du Sud et dans certaines parties des États-Unis.

D'autres arthropodes piqueurs, tels que les cloportes (*Melophagus ovinus*), les poux du bétail (*Haematopinus eurysternus*), les tiques et les moustiques, pourraient être capables de transmettre le virus par voie mécanique, mais leur rôle, s'il existe, est considéré comme mineur (CFSPH, 2015). Bien qu'il existe plus de 1400 espèces de Culicoïdes dans le monde, moins de 20 sont des vecteurs connus du virus de la fièvre catarrhale ovine (Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire, 2011).



Figure 22 : *Culicoides imicola* femelle. Photo : B. Mathieu (Source : Ministère de l'agriculture et de la souveraineté alimentaire, 2011)

Le virus de la fièvre catarrhale du mouton peut également se propager mécaniquement sur le matériel chirurgical et les aiguilles. Certaines souches de terrain et vaccinales atténuées peuvent infecter le fœtus in utero. Certains de ces animaux peuvent naître infectés et introduire le virus dans de nouvelles régions si la mère est déplacée. Le virus de la fièvre catarrhale du mouton peut survivre l'hiver dans certaines régions froides, par des mécanismes inconnus. (CFSPH, 2015). Le BTV était généralement considéré comme non contagieux, jusqu'à ce que la transmission transplacentaire de la souche nord-européenne du BTV-8 soit démontrée (De Clercq, 2008).

Concernant le sperme, des études ont montré que le sperme contenant le virus du BTV peut provoquer une infection chez les receveuses inséminées artificiellement (Thomas, 1985).

En Australie, les taureaux adultes infectés expérimentalement par le sérotype 1 cultivé en laboratoire (dans l'étude défini comme « adapté au laboratoire ») ou par le sérotype 23 sauvage (défini comme « non adapté »), reconnu comme le sérotype le plus virulent en Australie, peuvent excréter le virus dans le sperme au début de la virémie, même en présence d'anticorps circulants. Le virus peut être détecté dans le sperme jusqu'à dix jours après la fin de la virémie, mais il n'a pas pu être identifié dans le sperme de jeunes taureaux infectés expérimentalement par un virus cultivé en laboratoire ou par un virus sauvage non adapté (Melville, 1994).

Le BTV-8 présente des caractéristiques communes avec les souches adaptées au laboratoire et peut être excrété dans le sperme (Vanbinst, 2010). La période de l'année à laquelle le sperme est collecté peut modifier le risque de contamination par le BTV. Le sperme collecté pendant la période de faible activité du vecteur, lorsque la transmission du BTV est réduite, est moins susceptible d'être infecté par le virus.

Il a été démontré que les taureaux naturellement infectés par le BTV-8 peuvent transmettre le BTV-8 aux génisses en utilisant du sperme congelé et décongelé (Clercq, et al., 2021).

Chez les bovins, les premières études concernant des embryons produits *in vitro* ont montré que malgré l'adhérence du BTV aux embryons bovins par rapport à d'autres virus (Gillespie, 1990), les procédures de lavage et de manipulation de l'IETS semblaient systématiquement éliminer le risque d'infecter les receveurs avec des souches de virus adaptées au laboratoire et des souches de terrain (Acree, 1991 ; Bowen, 1983a ; Bowen, 1983b). Les recherches ont montré que le lavage de l'IETS et le traitement à la trypsine ne parvenaient pas à éliminer le BTV-8 des embryons dérivés *in vivo* et que le BTV-8 était transmis aux vaches receveuses après le transfert d'embryons (Haegeman, 2019 ; Vandaele, 2011 ; Penido, 2013). Rien ne prouve que le lavage de l'IETS et le traitement à la trypsine puissent éliminer le BTV des embryons bovins produits *in vitro*. Une étude de 2013 a montré que le lavage de l'IETS et le traitement à la trypsine n'ont pas permis d'éliminer le BTV-8 des embryons bovins produits *in vitro* (Penido et al. 2013).

Chez les ovins, d'anciennes études indiquent que les embryons prélevés sur des moutons infectés naturellement ou expérimentalement par le BTV ne transmettent pas le virus aux brebis receveuses ou à leurs agneaux. (Hare, 1988 ; Singh, 1997).

Le BTV contamine facilement les embryons lavés qui ont été exposés au virus *in vitro* ou prélevés sur des brebis virémiques (Singh, Dulac, & Henderson, 1997 ; Venter, 2005).

2.5. Diagnostic

Le virus de la fièvre catarrhale peut être détecté dans le sang d'animaux vivants et dans des échantillons de rate, de ganglions lymphatiques ou de moelle osseuse prélevés lors de l'autopsie. Les RT-PCR sont largement utilisés pour identifier l'ARN viral dans les échantillons cliniques et peuvent également identifier le sérotype. La sérologie permet d'identifier les animaux qui ont été infectés ou exposés au virus de la fièvre catarrhale. Les anticorps apparaissent généralement 7 à 14 jours après l'infection et sont habituellement persistants (CFSPH, 2015).

3. Conclusions

3.1. Embryons dérivés *in vivo*

Chez les bovins, le BTV a été retrouvé dans 55 % des fluides de rinçage de donneurs virémiques non chirurgicaux, probablement à la suite d'une contamination par des cellules sanguines (Bowen, 1983a). Aucune autre mention n'a été trouvée. Comme indiqué dans le paragraphe 2.2.4 « Epidémiologie », des études ont montré que les procédures de lavage et de manipulation éliminent systématiquement le risque d'infection pour les souches autres que le BTV-8. De nombreuses études ont montré que les procédures de l'IETS semblent éliminer le risque d'infection par des sérotypes autres que le BTV-8.

Dans le cas du BTV-8 chez les bovins, dans les études trouvées, il n'est fait aucune mention de l'agent causal dans le liquide de rinçage. Les recherches ont montré que le lavage préconisé par l'IETS et le traitement à la trypsine n'ont pas permis d'éliminer le BTV-8 des embryons bovins dérivés *in vitro* et produits *in vivo*. Le transfert d'embryons lavés et traités a entraîné une virémie chez les vaches receveuses (Vandaele, 2011). Comme indiqué dans le paragraphe 2.2.4 « Epidémiologie », la recherche a montré que le lavage selon le protocole IETS et le traitement à la trypsine n'étaient pas efficaces. Au moins deux études portant sur le BTV-8 et réalisées à partir d'embryons bovins *in vivo* confirment des résultats positifs.

Chez les ovins, aucune mention d'un agent causal dans les liquides de rinçage n'a pu être trouvée. D'après les articles de la mise à jour HASAC de l'IETS (IETS, 2020), bien qu'il existe des preuves de l'efficacité du lavage, les recherches sont moins nombreuses que pour les bovins et les résultats sont mitigés. Les embryons qui ont été mal lavés après avoir été prélevés sur des brebis virémiques ont provoqué une séroconversion chez les receveuses (Gilbert, 1987). Cependant, le lavage selon les protocoles de l'IETS a empêché la séroconversion des receveurs (Hare, 1988 ; Singh et al. 1997 ; Venter, 2011). Toutefois, il a également été constaté que des embryons de moutons exposés *in vitro* au BTV, lavés 10 fois conformément aux recommandations de l'IETS, se sont révélés positifs au BTV après le lavage (Singh et al., 1997). Une étude a montré que la procédure de lavage selon le protocole de la SET comprenant de la trypsine éliminait l'agent (Venter, 2011). Selon la mise à jour des recherches de l'IETS HASAC (IETS, 2020), il y a plusieurs résultats négatifs et quelques résultats positifs. Plus de recherches seraient donc nécessaires pour parvenir à catégoriser la maladie.

3.2. Embryons produits *in vitro*

Chez les bovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 18 articles examinés traitant de cette espèce.

Dans le cas du BTV-8 chez les bovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 5 articles examinés traitant de ce sérotype.

Chez les ovins, aucune mention spécifique n'a été trouvée dans les 7 articles examinés traitant de cette espèce.

4. Recommandations

4.1. Embryons produits *in vivo*

Chez les bovins (à l'exception du BTV-8) : **Catégorie 1** - Risque négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il n'y a pas de preuve de transmission, lorsque les procédures de manipulation sont respectées.

Cas du BTV-8 : **Catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

Chez les ovins : **Catégorie 2** - Risque inconnu - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué, mais les conclusions des travaux publiés sont incertaines.

4.2. Embryons produits *in vitro*

Chez les bovins (à l'exclusion du BTV-8) : **Catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant)

Cas du BTV-8 : **Catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant)

Chez les ovins : **Catégorie 2** - Risque inconnu - la probabilité de pénétration et/ou d'exposition est inconnue (travaux publiés à l'heure actuelle en nombre insuffisant)

II. Diarrhée virale bovine

1. Généralités

1.1. Signes cliniques

La diarrhée virale bovine (BVD) est la maladie bovine la plus répandue dans le monde (Lanyon, 2014). Elle est responsable de pertes financières dues à ses diverses manifestations cliniques. Les pertes économiques sont dues d'une part aux effets sur le bétail (immunosuppression et augmentation de la morbidité et de la mortalité, réduction du succès à la première insémination, allongement des intervalles entre les vêlages et réduction de la production laitière), et d'autre part aux effets directs sur le veau (mort embryonnaire précoce, malformations congénitales) (Richter, 2017). La pathogénicité est complexe et variable, avec une infection avant et après la gestation (Lanyon, 2014). En outre, l'impact du virus dépend de la prévalence de la maladie, du moment et de la durée de l'infection, des infections concomitantes, de la virulence de la souche virale, de l'immunité du troupeau et du niveau de production (Richter, 2017).

1.2. Agent pathogène

La BVD est causée par le virus de la diarrhée virale bovine (BVDV), un Pestivirus de la famille des Flaviviridae. Il existe deux génotypes principaux, le BVDV-1 et le BVDV-2, basés sur des différences génétiques et antigéniques. Il existe deux biotypes de BVDV : non cytopathogène (NCP) et cytopathogène (CP) (Lanyon, 2014).

Les bovins sont les hôtes naturels des espèces types de pestivirus, mais l'infection par le BVD a été démontré chez de nombreuses autres espèces. L'infection persistante par le BVDV est documentée chez les alpagas, les cerfs souris, les chèvres de montagne, les cerfs à queue blanche, les moutons et les chèvres (Brodersen, 2014).

La BVD était listée comme une catégorie 3 (une étude préliminaire indique un risque de transmission négligeable si les embryons sont correctement manipulés) selon l'ancienne catégorisation de l'IETS.

1.3. Occurrence

Le BVDV-1 est plus fréquemment rencontré, mais la prévalence du BVDV-2 peut être plus élevée en Amérique du Nord. En 2016, les prévalences mondiales regroupées du virus de la diarrhée virale bovine de l'infection persistante allaient de faibles ($\leq 0,8\%$ pour l'Europe, Amérique du Nord, Australie), moyennes ($> 0,8\%$ à $1,6\%$ pour l'Asie de l'Est) à élevées ($> 1,6\%$ pour l'Asie de l'Ouest) ; ces informations sont synthétisées et complétées dans la Figure 23. Les prévalences de l'infection persistante et des anticorps positifs en Europe ont diminué au fil du

temps, tandis que la prévalence du BVDV a augmenté en Amérique du Nord (Scharnbock, 2018).

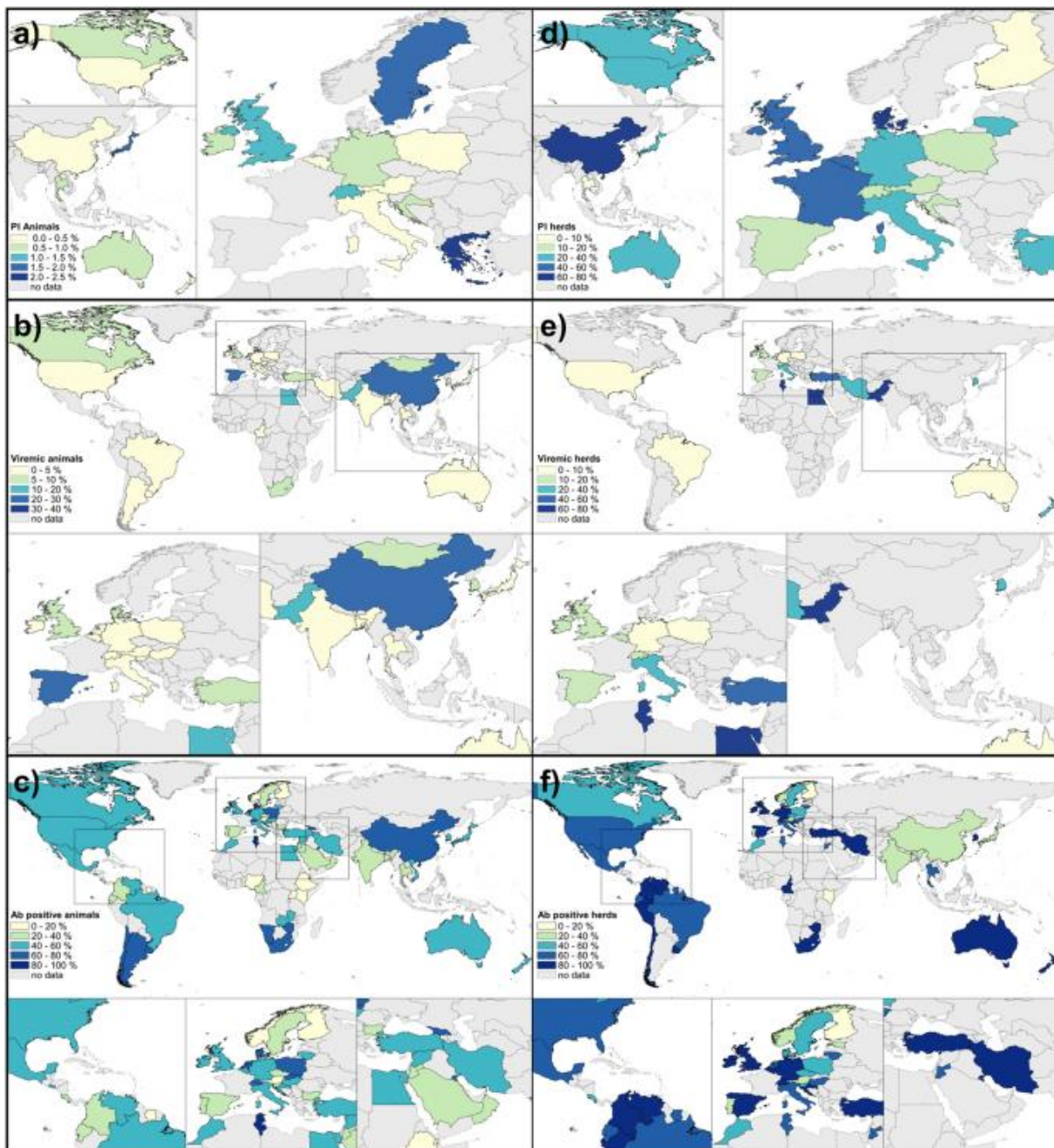


Figure 23 : Prévalence du BVD dans le monde (Scharnbock, 2018).
 a, b, c, prévalence sur animaux ; d, e, f, prévalence sur troupeaux ; PI, infectés permanents ;
 Ab, anticorps

1.4. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

La diarrhée virale bovine a été ajoutée à la liste des maladies de l'OMSA en Mai 2005 (Gunn, 2005).

2. Informations techniques

2.1. L'agent pathogène

L'agent causal de la diarrhée virale bovine est un virus enveloppé à ARN linéaire simple à brin positif. Il s'agit d'une particule sphérique de 40 à 50 nm de diamètre comprenant une capsid de 30 nm (Ridpath, 2008). Il est étroitement lié aux virus de la maladie de le Border chez les ovins ou de la peste porcine classique (OMSA, 2015). Ce virus est schématisé en Figure 24.

Quel que soit le génotype, il existe deux biotypes de BVD : le non cytopathogène (NCP) et le cytopathogène (CP) en fonction de leurs effets sur les cellules cultivées plutôt que sur l'hôte infecté (Lanyon, 2014). Les biotypes CP sont connus pour induire l'apoptose cellulaire *in vitro* (Ridpath, 2008). En général, les biotypes NCP circulent davantage et sont plus souvent responsables de la maladie que les biotypes CP. Le BVDV n'est pas affecté par le froid. Cependant, en tant que virus enveloppé, il est assez sensible aux solvants organiques et aux détergents. D'autres techniques ont également été décrites pour inactiver le virus, telles que le traitement à la trypsine, l'éthylénimine, le rayonnement par faisceau d'électrons et le rayonnement gamma (Ridpath, 2008).

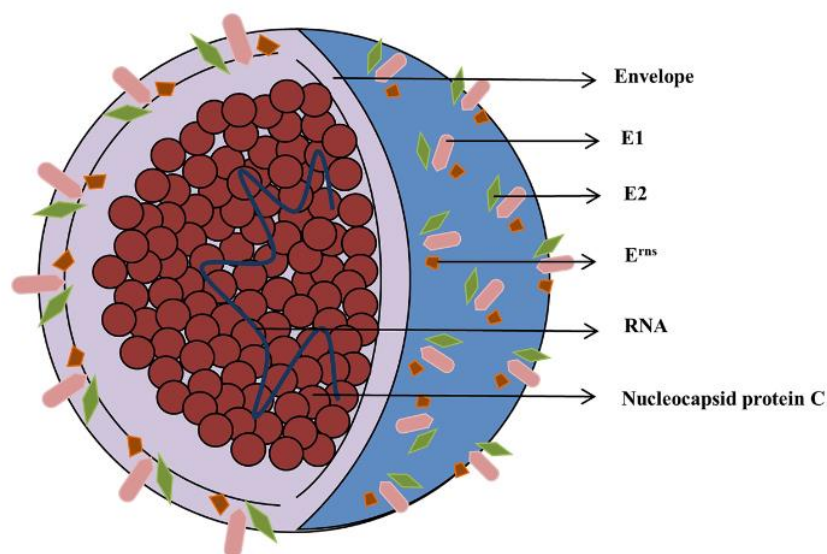


Figure 24 : Schéma de la structure morphologique du virus du BVD (Chi et al., 2022)

2.2. Pathogénèse

L'infection par la BVD présente de nombreux aspects cliniques. Les deux génotypes de BVD sont assez similaires même si le génotype 2 est considéré comme plus virulent. Cependant le tropisme du BVD varie en fonction de la souche. Les souches NCP sont plus susceptibles d'infecter les leucocytes, les organes lymphoïdes et les cellules épithéliales des voies respiratoires. Les souches CP, quant à elles, infectent de préférence les cellules épithéliales. Dans les deux cas, le BVDV s'intéresse aux cellules avec une multiplication importante. De plus, la pathologie de la BVD comprend une phase de virémie qui permet au virus de se retrouver dans l'ensemble de l'organisme de l'hôte (Ridpath, 2008). Ce virus possède également la capacité à moduler la réponse immunitaire innée chez le fœtus ce qui permet souvent l'établissement d'une infection persistante par la BVD. Cette modulation dégrade également la résistance des animaux aux infections. Ce virus s'attaque aux muqueuses ce qui lui vaut parfois le nom de maladie des muqueuses lors que la maladie s'exprime sous sa forme clinique (Brodersen, 2014)

Sur la reproduction, ce virus induit de nombreux changements. Les infections par la BVD induisent un dysfonctionnement immunitaire et prédisposent les vaches à d'autres maladies qui entraînent une mauvaise santé et une baisse de la fertilité. L'infection virale peut également tuer directement l'ovocyte, l'embryon ou le fœtus, ou induire des lésions qui entraînent l'avortement du fœtus, la momification, la tératogénèse et la naissance de veaux malformés. On pense également que l'infection par la BVD perturbe le système endocrinien reproducteur, les fonctions des leucocytes et des cytokines dans les organes reproducteurs. Des études récentes ont mis en évidence la suppression de l'immunité innée de l'endomètre induite par le virus, ce qui pourrait prédisposer à des maladies utérines. En outre, de nouveaux éléments indiquent que la BVD peut potentiellement perturber la reconnaissance maternelle de la gestation ou la protection immunitaire de l'embryon (Oguejiofor, 2019). Ces différents effets sur la fertilité sont synthétisés dans la Figure 25.

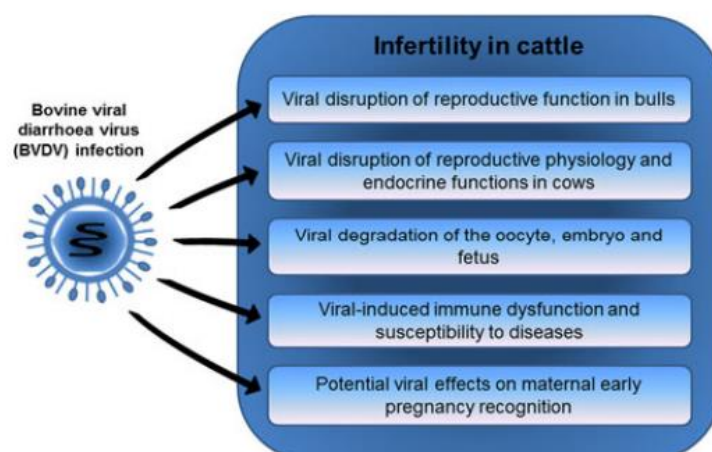


Figure 25 : Mécanismes liant l'infection au BVD et l'infertilité chez les bovins (Oguejiofor, 2019)

Une étude *in vitro* a également confirmé que les spermatozoïdes et les ovocytes infectés par le BVDV CP ou NCP ont un impact négatif sur l'attachement des spermatozoïdes à la zone pellucide des ovocytes bovins et sur le taux de fécondation (Talebkhani Garoussi, 2011).

Enfin, une étude suggère que l'infection par la BVD peut nuire à la reconnaissance de la gestation en inhibant l'effet de l'interféron tau sur la production utérine de prostaglandines et en induisant un changement endocrinien de la production de prostaglandines de PGF2 α à PGE2 pour diminuer l'immunité utérine, prédisposant ainsi les vaches à une maladie utérine (Cheng, 2016).

De nombreuses études indiquent que le BVDV se retrouve dans l'appareil génital des femelles infectées. Le virus se retrouve dans l'utérus où il peut se localiser dans les cellules de l'oviducte (Booth, 1995), dans les cellules de type macrophage du stroma endométrial, dans le mucus vaginal, dans les cellules épithéliales et non épithéliales de l'endomètre et du myomètre (Fredriksen, 1999).

Cet agent pathogène se retrouve également dans les ovaires et le liquide folliculaire et de très nombreux articles y font référence :

- Une étude de Oguejiofor de 2019 indique également que le BVDV est présent dans les cellules épithéliales, lutéales, de la granulosa et les macrophages de l'ovaire et dans le liquide folliculaire. En outre, des antigènes viraux ont été détectés dans les ovocytes de vaches infectées, dans les embryons et dans les fœtus.
- Brownlie et al. en 1997 ont recherché la souche non cytopathique du virus par immunohistochimie sur deux génisses âgées de 16 à 19 mois infectées de façon permanente (diagnostiquées par analyse sanguine). Ils ont constaté que plus de 18 % des follicules étaient infectés et que plus de 6 % des follicules possédaient des ovocytes positifs à l'antigène viral.
- Fray et al. en 1998 ont effectué le même travail pour 3 génisses présentant une infection persistante (PI). Ils ont isolé le virus sur un échantillon de chaque ovaire et ont analysé la présence d'antigènes du BVDV par immunofluorescence directe sur des cryosections. Ils ont trouvé des titres élevés de BVDV dans tous les échantillons d'ovaires ($6,97 \pm 0,17 \log_{10}$ dose infectieuse de culture tissulaire 50/ml) largement distribués dans le stroma ovarien, la population de cellules du cumulus et les ovocytes mûrissant dans les follicules primordiaux, primaires et secondaires. Ils ont montré qu'il n'y avait pas de différence de niveau d'infection entre les populations de follicules primordiaux, primaires et secondaires.
- Daniel et al. (1998) ont recherché le virus BVD dans le tissu ovarien de 12 génisses infectées de façon aiguë par la souche non cytopathique. Ils ont pratiqué des ovariectomies entre 4 et 60 jours après l'infection. Le BVDV a été isolé les jours 6 et 8 après l'infection et l'antigène viral a été détecté par immunohistochimie dans les cellules du système immunitaire et les cellules stromales (cortex ovarien et oophorite) de 6 à 60 jours après l'infection.
- Le virus du BVD peut être trouvé dans le tissu ovarien et en particulier dans les fluides folliculaires. Après une infection, le BVDV peut persister dans les follicules ovariens, les cellules de la granulosa et les ovocytes. Les parties

avasculaires du tissu ovarien pourraient maintenir le BVDV en raison de l'impossibilité pour les cellules immunitaires de l'attaquer (Daniel Givens, 2013).

- Bielanski et al. (1998a) ont montré que la BVD pouvait être détectée dans le liquide folliculaire et les cellules de l'oviducte chez des vaches infectées expérimentalement. Ils ont recherché la présence du virus dans le liquide folliculaire après avoir inoculé une souche non cytopathique du BVDV-2 à des génisses pour produire des embryons. Ils ont finalement trouvé le virus infectieux dans 55 % du liquide folliculaire et dans 10 % des cellules de l'oviducte.
- Dans une autre étude de 1993, Bielanski et al. ont montré que le BVDV était détectable dans 4,7 % (dans une population d'étude de 85 vaches) du liquide folliculaire d'ovaires collectés à l'abattoir (donc des vaches non inoculées expérimentalement) et dans 1,2 % des cellules de l'oviducte.

Le virus étant présent dans l'environnement utérin, il est intéressant à présent d'étudier si sa présence est compatible avec l'obtention d'embryons viables.

Une étude de Tsuboi et Imada (1996) suggère que la réplication du BVD dans les cellules autour des embryons n'a pas d'effet sur le développement de l'embryon bovin. En outre, cette étude montre que le BVDV se réplique bien dans les cellules épithéliales folliculaires. Une étude sur les effets de l'exposition des ovocytes au virus de la diarrhée bovine suggère quant à elle que les embryons produits *in vitro* provenant d'ovocytes infectés par le BVDV-1 et le BVDV-2 se développent normalement, mais sont porteurs du virus (Da Silva, 2017).

Cependant, Gamlen et al. en 2010 ont comparé la morphologie des embryons de cinq vaches Holstein croisées, âgées d'environ trois à sept ans, superovulées à l'aide de gonadotrophine de sérum de jument gravide (PMSG) et de prostaglandine F2 α (Prostin F2 α), inséminées avec du sperme congelé et dont la lumière de la corne utérine droite a été inoculée avec le virus de la BVD sept jours après l'IA. Un total de 22 embryons au stade de blastocyste tardif sans zone pellucide a été récupéré : 12 provenant de cornes utérines infectées et 10 provenant de cornes utérines non infectées. Huit des 12 embryons provenant de cornes utérines infectées (66,6%) possédaient encore la zone pellucide et semblaient dans un état dégénératif, les 4 autres embryons étaient morphologiquement similaires à ceux provenant de cornes utérines non infectées. Les auteurs ont analysé les 8 embryons apparemment en état de dégénérescence par un examen au microscope électronique et ont démontré la présence d'une structure qui ressemblait morphologiquement au virus de la BVD. Ils ont donc proposé que le virus de la BVD puisse affecter négativement les premiers stades de la gestation chez la vache.

Le virus semble donc selon ces études influencer le développement embryonnaire mais pas l'empêcher.

2.3. Signes cliniques

La présentation clinique de l'infection par le BVDV dépend de la souche virale, du biotype viral, de la virulence virale, de l'âge de l'hôte, de l'état reproducteur de l'hôte et des infections concomitantes (Ridpath, 2008).

Les formes non reproductives de la maladie surviennent lorsque l'animal infecté est un adulte non gravide ou un animal prépubère. Les symptômes cliniques de la maladie causée par le BVDV vont de l'état subclinique au syndrome hémorragique aigu grave, la gravité de la maladie dépendant de la souche.

En cas d'infection d'un adulte en gestation entre 30-40 jours et 125 jours de gestation par un virus non cytopathique, le virus traverse le placenta et le futur veau devient un animal infecté de manière persistante : il s'agit d'un IPI. Les IPI sont des porteurs et des excréteurs permanents du virus. Avec cette seule infection, les IPI sont asymptomatiques, mais ils sont généralement réinfectés par un virus cytopathique et manifestent alors une maladie des muqueuses. Cette maladie se caractérise par un large éventail de symptômes, mais elle se termine toujours par la mort. Les symptômes emblématiques sont des lésions érosives localisées pour la forme aiguë sur le nez et le tube digestif et pour la forme chronique sur les muqueuses, la bouche et la peau (Trautwein, 1986). Ces lésions sont visualisées sur la Figure 26.

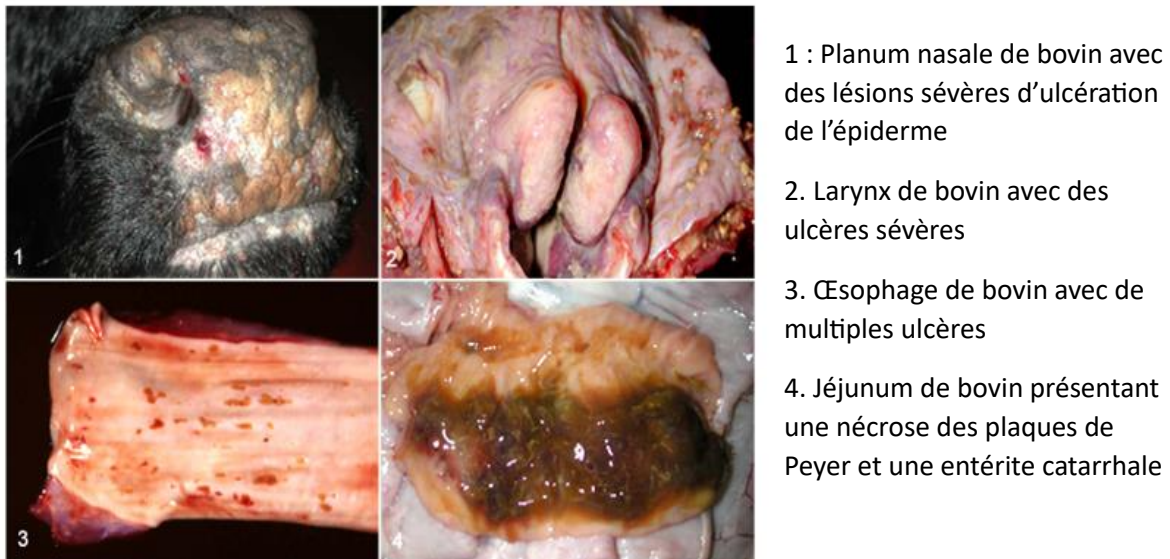


Figure 26 : Lésions provoquées par le BVD, forme maladie des muqueuses (Brodersen, 2014)

Les effets de l'infection aiguë par le BVDV sur la reproduction comprennent une réduction des taux de conception, une mortalité embryonnaire précoce, des avortements et des malformations congénitales (Lanyon, 2014). Les effets de l'infection sur le fœtus dépendent de la souche virale et de l'état d'avancement de la gestation. Nous avons déjà vu que l'infection entre 30-40 jours et 125 jours produisait des veaux IPI. L'infection entre 80 et 150 jours de gestation peut entraîner des effets tératogènes chez le fœtus. Ces effets comprennent l'atrophie cérébelleuse, la dégénérescence oculaire, le brachygnathisme, la formation de pseudokystes dans le cerveau et le retard de croissance du thymus, des os et des poumons. À ce stade, l'infection peut également entraîner un avortement sans aucun impact sur la vache (Lanyon,

2014). Enfin, elle peut induire une hypoplasie cérébelleuse qui se traduit par des veaux ataxiques à la naissance (Trautwein, 1986).

2.4. Épidémiologie

Pour les animaux âgés de plus de 6 mois, la période d'incubation de la BVD classique peut durer de 5 à 7 jours, la virémie pouvant persister jusqu'à 15 jours. En cas d'infection fœtale au cours des 150 premiers jours de gestation, les veaux infectés de manière persistante restent virémiques toute leur vie et sont immunotolérants aux virus homologues de la BVD. (Khodakaram-Tafti, 2017).

La principale voie de transmission dans les troupeaux infectés est le contact direct avec un animal infecté. Il existe deux types de transmission du BVDV : la transmission horizontale et la transmission verticale.

Transmission horizontale du BVDV :

La transmission peut être directe ou indirecte par inhalation ou ingestion de matières contaminées par le virus.

La transmission horizontale se produit principalement par contact avec des animaux porteurs du virus, mais les animaux IPI excrètent le virus en quantités différentes. Les mécanismes courants de transmission horizontale sont les suivants : fomites (aliments, eau et matériel tel que pinces à nez, tétines de biberons de lait et aiguilles), palpations (si la même paire de gants est portée pour tous les examens), sécrétions et excréctions (urine, fèces, mucus, lait), promiscuité (peut également augmenter la transmission si les animaux sont infectés par le type respiratoire du virus BVDV). Il a également été démontré que les vecteurs comme les taons, mouches d'écurie, mouches de tête, mouches faciales, transmettent le BVDV. Des études épidémiologiques ont montré que des facteurs démographiques tels que la taille et la densité des troupeaux sont des prédictifs significatifs de la prévalence de l'infection dans les populations où le BVDV est endémique. Les bovins infectés de manière persistante constituent un important réservoir de virus : ils excrètent de grandes quantités de virus tout au long de leur vie et ils propagent le virus dans les troupeaux (Khodakaram-Tafti, 2017).

Transmission verticale du BVDV :

En ce qui concerne la transmission verticale, si une vache est infectée, son fœtus le sera également. Le virus a la capacité de provoquer une infection transplacentaire dont l'issue varie en fonction du stade de la gestation auquel l'infection aiguë a lieu, entraînant la mort du fœtus, des malformations, des syndromes aigus chez le nouveau-né, une tolérance immunitaire et une persistance virale tout au long de la vie. Il existe de nombreux mécanismes de transmission verticale, notamment le sperme contaminé, le transfert d'embryons et les vaccins vivants modifiés contaminés. Les taureaux infectés peuvent excréter le BVDV dans le sperme pendant des périodes prolongées, et des bovins ont été infectés après insémination avec du sperme congelé provenant de ces animaux (Khodakaram-Tafti, 2017).

Comme vu précédemment, les embryons peuvent être infectés par le virus, il est donc très important de se concentrer plus particulièrement sur le risque de transmission par transfert d'embryons. De nombreux auteurs ont étudié la question :

- Waldrop et al. en 2004 ont incubé, pendant 3 jours, des morulas et des blastocystes exposés au virus, lavés ou lavés et traités à la trypsine, seuls ou en groupes, avec des cellules tubaires utérines. Ils ont ensuite mesuré la quantité de cellules tubaires utérines virales dans les différents cas. Lorsque la morula et le blastocyste étaient juste lavés, 30% des cellules tubaires utérines étaient positives pour les groupes et 9% pour la culture individuelle. Lorsque la morula et le blastocyste ont été lavés et traités avec de la trypsine, 9 % des cellules tubaires utérines cocultivées avec une morula ou un blastocyste unique ont été infectées, mais aucun virus n'a été détecté dans les cellules tubaires utérines cocultivées avec un groupe de morula/blastocystes. Les auteurs concluent que le virus associé aux embryons en développement est infectieux pour les cellules permissives et que la quantité de virus associée à une proportion d'embryons individuels (lavés et traités à la trypsine) est suffisante pour infecter les cellules tubulaires utérines. Ils suggèrent aussi que d'autres études devraient être menées pour déterminer la quantité de virus nécessaire pour contaminer la voie utérine afin de conclure à une contamination potentielle des receveuses.
- Waldrop et al. en 2006 ont essayé de vérifier si les embryons contaminés par le BVD peuvent être infectieux après lavage ou traitement à la trypsine. Ils ont utilisé 20 morulas et blastocystes avec une zone pellucide intacte prélevés au jour 7 sur des vaches superovulées, lavés selon les normes de l'IETS et exposés à la BVD pour 16 d'entre eux. Après l'exposition, 8 morula/blastula ont été lavées à nouveau (normes IETS) et les 8 autres ont été traitées à la trypsine. Tous sont finalement vortexés, et les fluides récoltés sont injectés par voie intraveineuse à des veaux pour tester l'infectivité. Les auteurs ont examiné le sang des veaux à la recherche d'une virémie et/ou d'une séroconversion. Trente-huit % des veaux ayant reçu des fluides de sonication provenant de morula/blastula lavés ont présenté une séroconversion, le pourcentage descendant à 13 % pour des veaux ayant reçu des fluides de sonication provenant de morula/blastula traités. Les auteurs concluent que ces embryons étaient infectieux.
- Bielanski et al. en 2008 ont réalisé des tests d'isolement de virus sur des embryons uniques, exposés au virus et lavés (non transférés). Ces embryons ont été exposés 1h à deux biotypes non cytopathiques, soit NY-1 (type 1), soit deux concentrations de PA-131 (type 2), lavés 10 fois, et transférés dans des receveuses (deux embryons par receveuses) indemnes de BVD. Environ 3 embryons sur 12 (25 %) et 17 embryons sur 61 (28 %) exposés au type 1 et au type 2, respectivement, étaient positifs pour le BVD vivant. Les embryons exposés au virus de type 2 présentaient de 0 à 34 copies virales. En conclusion, une grande partie des receveuses ayant reçu des embryons exposés au BVD, en particulier celles exposées à une forte concentration de virus de type 2, ont été infectées après le transfert d'embryons et leurs gestations ont échoué.
- Bielanski et al. en 2009 ont cherché à évaluer la transmission du virus lors d'un transfert d'embryons. Ils ont utilisé des embryons produits *in vitro* et infectés par un virus de type 1 ou de type 2. Pour le virus de type 1, aucune des receveuses ou de leurs descendants n'a séroconverti, mais 6 ont avorté avant 30 jours. À l'inverse, le virus de type 2 a induit une séroconversion chez 51,4 % des receveuses et seulement 2 sont arrivées à terme. Le BVDV pourrait donc être transmis par transfert d'embryons et provoquer un échec de la gestation, en particulier pour le virus de type 2.
- Gard et al. en 2010 ont étudié si le virus du BVD, lorsqu'il est placé en quantité suffisante dans l'utérus avec un embryon, peut entraîner une infection chez une

receveuse sensible. Ils ont utilisé 10 embryons bovins prélevés sur une seule vache négative pour le BVD. Les embryons sont lavés et placés dans un milieu de transfert contenant le BVD. Ils ont utilisé 10 receveuses et ont transféré un embryon par receveuse (jour 0, J0). Dans le même temps, ils ont créé 2 groupes de contrôle : une génisse, sans embryon positif, qui est contaminée par un virus vivant (groupe positif) et une autre contaminée par un virus inactivé par la chaleur (groupe négatif). Une virémie à J6 et une séroconversion à J15 après le transfert ont été observées pour les vaches du groupe positif et pour les 10 receveuses. La génisse de contrôle négative n'a pas présenté de virémie ni de séroconversion. À J30, 6 des 10 génisses étaient encore gestantes, mais à J60, il ne restait plus qu'une seule génisse gestante. Le fœtus de cette génisse était non viable et positif pour la BVD. Les auteurs concluent donc qu'un embryon produit *in vivo* et infecté par le virus est suffisant pour infecter une vache receveuse.

- Bielanski et al. en 2013 ont réalisé une étude sur la transmission du BVDV par le sperme lors de l'insémination et par les embryons issus de sperme contaminé. Ils ont inséminé 35 vaches superovulées séronégatives pour le BVDV avec du sperme provenant d'un taureau infecté de manière persistante par le BVDV. Ils ont collecté des embryons 7 jours après l'insémination et ont créé 2 groupes : l'un avec des embryons lavés selon les recommandations de l'IETS et l'autre avec des embryons non lavés. Le BVDV infectieux a été détecté dans 24 % des embryons non lavés et 10 % des embryons lavés, ainsi que dans tous les échantillons de liquide folliculaire, les cellules épithéliales de l'oviducte, l'endomètre et les tissus du corps jaune des vaches inséminées. Les auteurs ont ensuite transféré 39 embryons lavés à 27 receveuses séronégatives pour le BVDV : 12 (44%) vaches sont devenues gestantes et 17 veaux exempts de BVDV et d'anticorps BVDV, dont cinq paires de jumeaux, sont nés. Après le transfert d'embryons, toutes les receveuses gestantes et non gestantes sont restées indemnes de BVDV et d'anticorps. Les auteurs en ont conclu que le BVDV peut être transmis par l'IA et créer une certaine proportion d'embryons contaminés. Cependant, lorsque ces embryons ont été lavés conformément aux directives de la Société internationale de transfert d'embryons et de l'Organisation mondiale de la santé animale, il n'y a pas de transmission du BVDV aux receveuses ou à leur progéniture.

Ainsi, selon ces études, un embryon contaminé par le BVD peut contaminer la receveuse. Le sperme utilisé pour produire des embryons *in vitro* en revanche ne risque pas de contaminer l'embryon et la receveuse si les lavages sont correctement réalisés.

2.5. Diagnostic

En raison de l'existence d'individus IPI mais aussi de nombreux signes cliniques, le diagnostic de la BVD est un véritable défi. Il consiste à identifier une excrétion virale ou une réponse immunitaire. La figure 27 récapitule les différentes méthodes diagnostics disponibles en fonction du contexte de l'élevage.

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Identification of the agent¹						
Virus isolation	+	+++	++	+++	-	-
Antigen detection by ELISA	++	+++	+++	+++	+++	-

1 A combination of agent identification methods applied on the same clinical sample is recommended.

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Antigen detection by IHC	-	-	-	++	-	-
NA detection by real-time RT-PCR	+++	+++	+++	+++	+++	-
Detection of immune response						
ELISA	+++	++	+++	-	+++	+++
VN	+	+++	++	-	+	+++

Key: +++ = recommended for this purpose; ++ recommended but has limitations; + = suitable in very limited circumstances; - = not appropriate for this purpose.

ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay; IHC = immunohistochemistry method; NA = nucleic acid; RT-PCR = reverse-transcription polymerase chain reaction; ISH = *in-situ* hybridisation; VN = virus neutralisation.

Figure 27 : Méthodes de diagnostic du BVD (OMSA, 2015)

2.6. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon produit *in vivo* et méthode de réduction

Pour étudier ce risque il est important de savoir si l'agent pathogène adhère à la zone pellucide de l'embryon. De nombreux auteurs s'y sont intéressés :

- Une étude de Brock et al. de 1997 explique que les embryons infectés par le virus de la diarrhée virale bovine n'ont pas été détectés dans les homogénats d'embryons issus de génisses IPI superovulées ni dans les ovules non fécondés/dégénérés, et qu'un veau BVD-négatif est né. Dans cette étude, les embryons et les ovules non fécondés/dégénérés ont été lavés conformément au protocole de l'IETS. Par conséquent, selon cette étude, le BVDV n'est pas fermement attaché à la zone pellucide.
- Bielanski et al. ont travaillé en 2003 sur l'adhésion du BVDV à des embryons fécondés *in vitro* et maintenus *in vitro* dans un oviducte bovin ligaturé pour permettre le durcissement de la zone pellucide. L'incubation des embryons dans l'oviducte pendant 5 heures a entraîné un durcissement de la zone pellucide, mesuré par la résistance à la digestion par la pronase (qui a augmenté d'environ 3 minutes à 7 heures ; $P < 0,001$). Cependant, il n'y avait pas de différence entre le nombre d'ovocytes et d'embryons infectés ($n = 965$ dans 193 échantillons) après une exposition expérimentale au BVDV, qu'ils aient été ou non incubés auparavant dans l'oviducte ($P > 0,05$). Cette étude a

montré que le virus du BVD adhère à la zone pellucide et qu'il agit plus fortement sur les embryons produits *in vitro* que sur les embryons fécondés *in vivo*.

- En 2004, Waldrop et al. ont rapporté que de premiers travaux indiquaient que le virus de la diarrhée virale bovine n'adhérait pas à la zone pellucide intacte des embryons bovins *in vivo*, mais qu'une étude plus récente démontrait l'association virale du BVD et des embryons *in vivo*.
- Gard et al. en 2006 expliquent dans leur article que le virus de la BVD est associé aux couches externes de la zone pellucide, ce qui signifierait que le virus ne peut pas traverser la zone pellucide intacte.
- Vanroose et al. en 2013 ont examiné la continuité des mailles (réseau de pores) vers les cellules embryonnaires par microscopie confocale à balayage laser. Ainsi, le passage et la localisation dans la zone pellucide de microsphères fluorescentes, de dimensions similaires au virus de la diarrhée virale bovine (40-50 nm) et à l'herpèsvirus bovin-1 (180-200 nm), ont été évalués. Pour tous les stades, les plus petites billes ont été détectées à mi-chemin dans l'épaisseur de la zone pellucide, tandis que les billes d'une taille de 200 nm n'ont été trouvées que dans la quatrième partie extérieure de la zone pellucide. On peut conclure que la zone pellucide intacte des ovocytes produits *in vivo* et des embryons produits *in vitro* de bovins est construite de telle manière que le BVD ne devrait pas être capable de traverser la zone pellucide et d'atteindre les cellules embryonnaires. Cependant, le risque existe que des particules virales soient piégées dans les couches externes de la zone pellucide.

Ainsi, l'article le plus récent semble indiquer que l'agent pathogène est capable de se fixer sur la zone pellucide et surtout sur la partie la plus externe de celle-ci, et que lors de procédures *in vitro* l'adhésion est plus grande.

Maintenant, il faut s'avoir si les procédures de lavage sont suffisantes pour éliminer l'agent viral.

- Trachte et al. en 1998 ont montré dans une étude expérimentale incluant les souches NCP et CP que le lavage seul ne permettait pas d'obtenir des embryons négatifs pour la souche NCP. Cependant, le lavage de l'embryon semble être un peu plus efficace pour la souche CP.
- Gard et al. en 2007 ont également indiqué que le BVD reste dans les embryons produits *in vitro* après le lavage en raison de sa capacité à y adhérer.
- Gard et al. en 2009 ont déterminé la quantité moyenne de virus de la diarrhée virale bovine associée à des embryons bovins uniques après les avoir lavés conformément aux procédures de traitement recommandées par l'International Embryo Transfer Society (IETS). Sept jours après la fécondation, les embryons ont été exposés au BVD (souche NCP) puis lavés selon les recommandations de l'IETS avant d'être testés. Sur les 87 embryons testés, 27 % étaient positifs pour le virus par RT-PCR. La quantité de virus associés à 99 % des embryons contaminés était $\leq 6,62 \pm 1,57$ copies/5 ml ; 90 % des embryons contaminés avaient $\leq 4,64 \pm 1,57$ copies virales/5 ml de virus associés à l'embryon, en utilisant le seuil de probabilité $P < 0,05$. L'erreur standard de la moyenne était de 0,33 et la moyenne était de 1,12/5 ml. Les auteurs ont donc montré qu'un lavage unique est insuffisant pour prévenir l'infection par le BVD.
- Lalonde et al. en 2011 ont évalué l'efficacité de la procédure de lavage de l'IETS sur le BVD : la technique de l'IETS comprend dix lavages successifs. Ils montrent que malgré

une diminution du nombre d'ovocytes infectés, après dix lavages 20% des ovocytes restent infectieux. L'analyse des liquides de lavage montre également que la présence du virus du BVD est plus élevée dans les trois premiers lavages, mais qu'il peut encore être présent dans le dixième.

Les procédures de lavage de l'IETS semblent donc inefficaces pour éliminer complètement le virus de l'embryon. L'efficacité des traitements spéciaux doit aussi être évaluée.

- Bielanski et al. en 1996a ont essayé de déterminer si le lavage ou le lavage et l'ajout d'un traitement à la trypsine étaient efficaces pour prévenir l'infection des embryons par le BVDV. Après avoir inoculé une souche non cytopathogène, ils ont constaté que 50 % des embryons restaient positifs après le lavage et le traitement à la trypsine. Ils ont également montré que deux génisses sur 4 étaient séroconverties après avoir reçu des embryons lavés et traités.
- Trachte et al. en 1998 ont testé le traitement à la trypsine sur des souches NCP et CP. Pour la souche NCP, 100% des embryons étaient positifs après un simple lavage, tandis que l'ajout d'un traitement à la trypsine réduisait à 44% la quantité d'embryons positifs. Pour la souche CP, le taux d'embryons positifs après lavage était de 33% et a diminué à 22% après un traitement à la trypsine.
- Waldrop et al. en 2004 ont montré que les lavages à la trypsine selon les procédures de l'IETS réduisent significativement le niveau de virus adhérent à la zone pellucide pour les blastocystes et les morulas. Ils ont utilisé 109 morulas et blastocystes avec une zone pellucide intacte et 77 ovules non fertiles et dégénérés prélevés le 7^e jour sur 34 vaches superovulées et séronégatives pour le BVDV. Toutes les cellules ont été lavées conformément aux normes de l'IETS et exposées au virus (souche NCP). Ensuite, ils ont réalisé deux groupes d'ovules et de morulas/blastocystes. D'une part, un groupe composé de <10 ovules a été lavé conformément aux normes de l'IETS, d'autre part, un nombre équivalent a été soumis aux normes de l'IETS pour le traitement à la trypsine. Le virus a été recherché dans les fluides après avoir vortexé les ovules. Des morulas et des blastocystes ont été placés dans des microgouttes contenant des cultures primaires de cellules tubaires utérines, seules ou en groupes, et incubées pendant 3 jours. Les auteurs ont montré que le virus a été détecté dans les liquides de 56% des ovules lavés et 43% des groupes d'ovules lavés et traités par la trypsine. Pour la morula et les blastocystes, le virus n'a pas été détecté dans les milieux ou les liquides des individus ou des groupes de morula ou de blastocystes, quel que soit le traitement.

L'efficacité du traitement à la trypsine est encore discutée dans la littérature, mais lorsque la membrane pellucide n'est pas totalement intacte, son efficacité est nulle.

3. Conclusions

3.1. Embryons dérivés *in vivo*

Le BVD se retrouve dans l'environnement utérin des animaux contaminés et des embryons peuvent être obtenus malgré sa présence. Les embryons obtenus ainsi peuvent cependant être contaminés par l'agent pathogène. Le BVD peut également adhérer à la zone pellucide et les procédures de lavage ne semblent pas assez efficaces pour éliminer totalement le virus. L'utilisation de trypsine est utile pour réduire le risque, cependant il ne le supprime pas notamment si l'embryon est abimé. Les embryons semblent également être capables de contaminer les receveuses. Il existe donc un risque de contamination de l'embryon et que l'embryon contamine la receveuse.

3.2. Embryons produits *in vitro*

Comme dit précédemment, le BVD peut adhérer à la zone pellucide et il semble que cette adhésion soit plus forte avec des embryons produits *in vitro*. Les procédures de lavage ne semblent pas assez efficaces pour éliminer totalement le virus et la trypsine permet de réduire le risque mais pas de l'éliminer. Il existe un risque de contamination de la receveuse si on utilise un embryon produit *in vitro* contaminé par le BVD, mais le sperme n'est pas à risque dans la production d'embryons *in vitro*.

4. Recommandations du sous-comité de réglementation

4.1. Embryons produits *in vivo*

Avec l'ancienne catégorisation, le BVD était en catégorie 3 donc considéré comme peu à risque de contamination. Cependant, notre étude semble indiquer que celui-ci est à risque. Cette discordance est liée au fait que la catégorisation reposait principalement sur une étude de Singh et al. de 1982 qui montrait que les lavages permettaient de supprimer l'effet cytopathogène du BVD sur les embryons.

Avec nos recherches, nous avons décidé de catégoriser le BVD en **catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

4.2. Embryons produits *in vitro*

En raison du risque existant de transmission du BVD par transfert d'embryons, nous avons décidé de catégoriser le BVD en **catégorie 3** - Risque non négligeable - les maladies ou agents pathogènes sont ceux pour lesquels le risque de transmission a été évalué et pour lesquels il existe des preuves de transmission.

III. Herpesvirose bovine de type 4

1. Généralités

1.1. Cause de la maladie

L'herpesvirus bovin de type 4 (BHV-4) est un virus ADN à double brin appartenant à la famille des Herpesviridae, à la sous-famille des Gammaherpesvirinae et au genre Rhadinovirus. C'est un virus enveloppé de 200-300 nm de diamètre avec un génome d'environ 150kb (Maisonasse, 2023). Un schéma de sa particule virale est représenté dans la Figure 28. Ce virus peut infecter l'espèce bovine ainsi que le bison d'Amérique, le buffle d'Amérique, les moutons et les chèvres, mais aussi des non-ruminants comme les cochons d'Inde et les chats. Le BHV-4 a également été isolé chez un lion (Chastant-Maillard, 2013). Ce virus présente la particularité de pouvoir rentrer en latence.

Le BHV-4 provoque de nombreuses affections telles qu'une atteinte de l'appareil reproducteur (infertilité, métrite post-partum, vulvovaginite, mammite, avortement), une atteinte des épithéliums (pneumonie du veau, kérato-conjonctivite, lésions cutanées, dermatite digitale) et cérébrale (encéphalite) (Cvetojević et al., 2016).

Selon l'ancienne catégorisation il était listé par l'IETS comme appartenant à la catégorie 4 (présence d'un risque ou données insuffisantes).

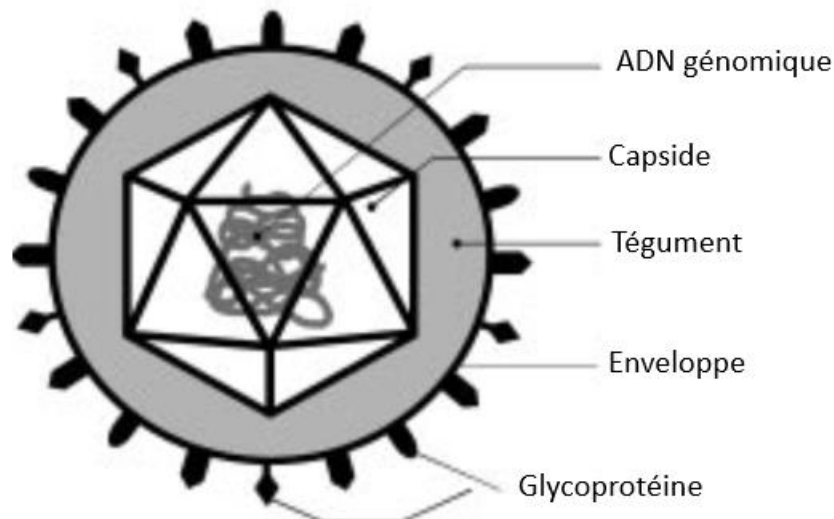


Figure 28 : Particule virale de l'herpesvirus (Markine-Gariynoff et al., 2003)

1.2. Occurrence

Le virus a été isolé pour la première fois en Hongrie en 1963 sur des veaux atteints de kérato-conjonctivite et d'une maladie respiratoire (Cvetojević et al., 2016). Deux souches ont été identifiées : les souches de type Movar 33/63, isolées en Europe, et les souches de type DN 599, isolées en Amérique du Nord. En 2007, le BHV-4 a été isolé en Argentine. Il a déjà été retrouvé dans les sécrétions vaginales de vaches avortées et le sperme bovin provenant d'un centre d'insémination artificielle (González Altamiranda et al., 2015). Ce virus est donc présent partout dans le monde même s'il n'est pas à l'origine d'épizooties ayant des graves conséquences économiques (Lefèvre et al., 2003a).

1.3. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

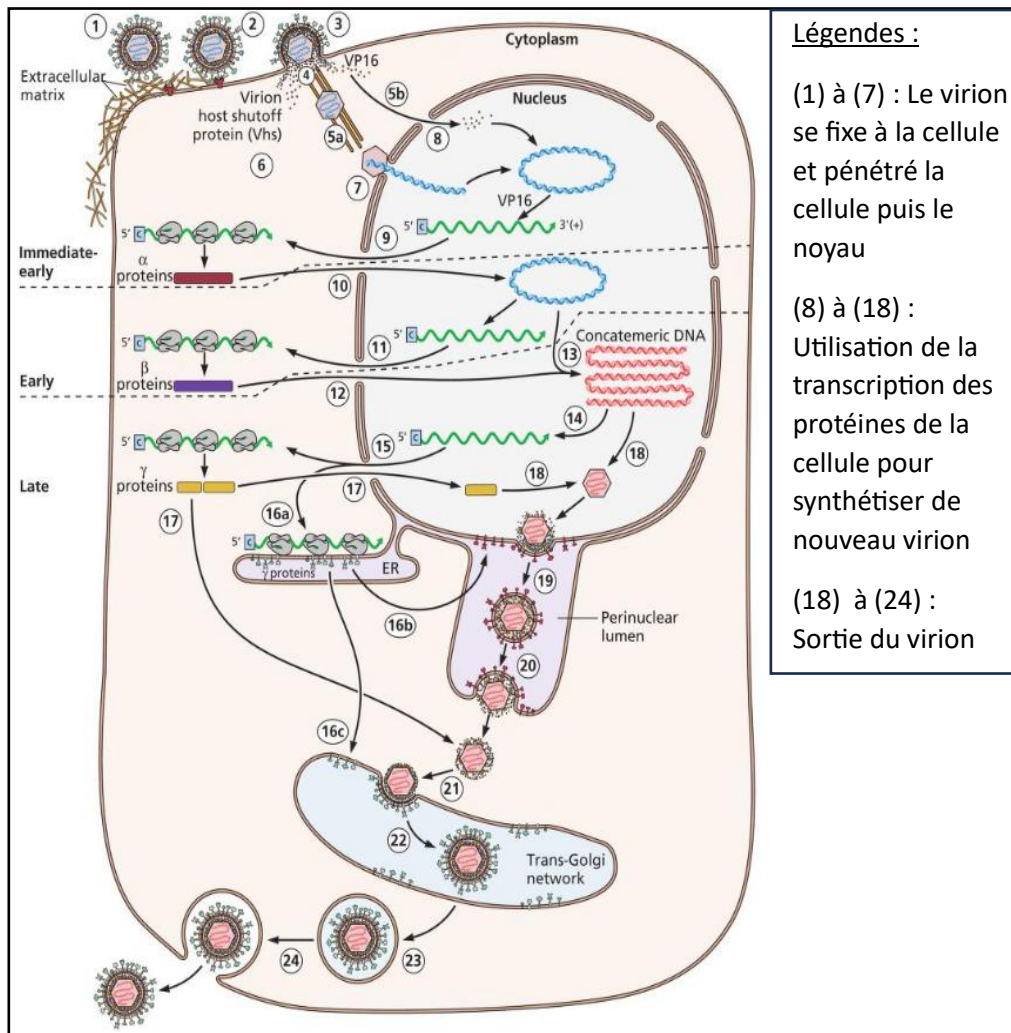
Le BTV-4 ne fait pas partie des maladies listée par l'OMSA (OMSA, 2023a).

2. Informations techniques

2.1. Pathogénèse

Le virus infecte principalement les cellules mononucléaires du sang et présente un tropisme spécifique pour l'endothélium vasculaire, les tissus reproducteurs et fœtaux. Son cycle est représenté dans la Figure 29. Il présente les quatre propriétés biologiques partagées par les herpesvirus (Lefèvre et al., 2003a) :

- Un génome viral code pour des enzymes impliquées dans le métabolisme des acides nucléiques, dans la synthèse de l'ADN viral ou encore dans la modification d'autres protéines
- Une synthèse de l'ADN viral et l'assemblage des capsides qui se réalisent dans le noyau de la cellule infectée
- Une production de particules virales infectieuses qui s'accompagne quasi systématiquement de la mort cellulaire
- Ils sont capables d'établir une infection latente chez leur hôte naturel.



Légendes :

(1) à (7) : Le virion se fixe à la cellule et pénètre la cellule puis le noyau

(8) à (18) : Utilisation de la transcription des protéines de la cellule pour synthétiser de nouveau virion

(18) à (24) : Sortie du virion

Figure 29 : Cycle de l'herpesvirus (Flint, 2000)

Le BHV-4 est cytopathique et l'infection peut tuer les cellules épithéliales et stromales de l'endomètre. Le BHV-4 peut agir comme cofacteur avec des agents pathogènes utérins connus pour favoriser le développement d'une endométrite. La réplication du BHV-4 dépend de la transactivation du gène précoce immédiat 2 (IE2) or ce promoteur est régulé à la hausse en cas d'infection de l'endomètre. Le BHV-4 est capable d'activer le promoteur du gène de l'interleukine (IL)-8 dans les cellules endométriales. Il s'agit d'une chimiokine clé qui attire les granulocytes vers l'utérus. Le BHV-4 est également responsable d'une régulation à la hausse de la métalloprotéinase matricielle. Cette protéine joue sur l'équilibre du système immunitaire. Ainsi, le BHV-4 dérègle les réactions immunitaires dans l'utérus ce qui favorise les infections. (Wathes et al., 2020 ; Chastant-Maillard, 2013).

Dans un article de Wathes et al. de 2020, il est indiqué que l'on retrouve le BHV-4 dans l'environnement utérin de vaches saines notamment dans les cellules épithéliales et stromale de l'endomètre.

Le virus a été isolé dans des cas d'avortement même si son rôle n'a pas été définitivement élucidé. Des taux d'anticorps élevés anti-BHV-4 sont associés à des avortements entre 5 et 9 mois de gestation. (Lefèvre et al., 2003a) Cependant, l'avortement n'est pas systématique.

Une étude de Egyed et al. de 2011 a montré que des veaux infectés in utero pouvaient naître séronégatifs bien que porteur du virus.

2.2. Signes cliniques

Le BHV-4 a été associé à diverses affections : péritonite, infertilité, avortement, métrite, vulvovaginite, mais aussi orchite, mammite, diarrhée (en association avec *Cryptosporidium*), mort subite chez les nouveau-nés, pneumonie et signes oculaires chez les veaux, encéphalite, lésions cutanées, synovite, dermatite digitale (Chastant-Maillard, 2013). Le BHV-4 est surtout responsable d'infection subclinique, l'expression clinique est rare et la mortalité quasi nulle (Lefèvre et al., 2003a).

Le BHV-4 est associé à des métrites post partum avec ou sans péritonite. Cette métrite peut être seule ou associée à d'autres signes tels que diarrhée, mortalité néonatale, signes respiratoires et mammite. Une réactivation du virus au moment de la parturition est fortement suspectée (Lefèvre et al., 2003a). Le mécanisme associé à la métrite est présenté dans la figure 30.

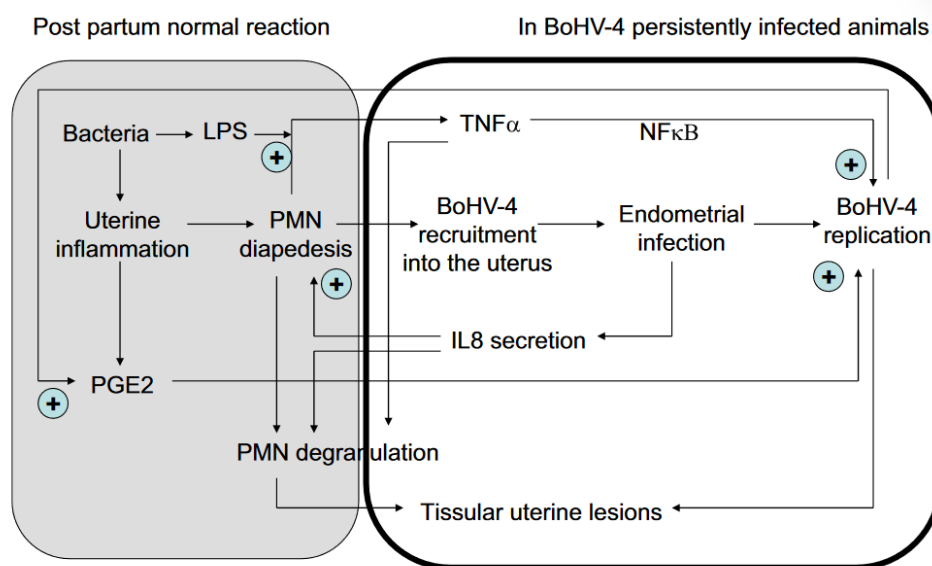


Figure 30: Coopération entre bactérie utérine et BHV-4 dans le développement d'inflammation post-partum de l'utérus (Chastant-Maillard, 2013)

2.3. Épidémiologie

Des études d'inoculation ont montré qu'à environ 5 jours post-inoculation des lyses cellulaires sont visualisées. La durée d'incubation dépend des cellules infectées et de leur phase de multiplication. Sur un animal précédemment infecté, une métrite peut se déclencher 7 jours post-partum. (Markine-Gariaynoff al., 2003).

La transmission par voie nasale a été démontrée expérimentalement et une transmission par voie génitale est suspectée mais pas encore prouvée. Expérimentalement il a été montré que, des animaux ont été contaminés par des injections par voies intraveineuse, intradermique et intra testiculaire (Lefèvre et al., 2003a).

2.4. Diagnostic

Le virus infectant les cellules mononucléées sanguines il est possible de le retrouver dans tous les organes mais son isolement n'explique pas toujours la présence de lésions. Des tests ELISA ou par immunofluorescence permettent la mise en évidence de cet agent infectieux. Le diagnostic d'une métrite à BHV-4 repose sur un isolement du virus à partir d'exsudat utérin (Lefèvre et al., 2003a).

2.5. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon et méthode de réduction

En 2003, Donofrio et al. ont réalisé une étude en infectant des blastocytes avec du BHV-4 modifié pour exprimer une fluorescence. Cette étude a montré que lorsque la membrane pellucide était intacte le virus ne s'exprimait pas et il s'exprime lorsqu'elle est ouverte. Ainsi, ce virus n'est pas capable d'adhérer à la zone pellucide lorsqu'elle est intacte. Cependant, dans le cas où la zone pellucide n'est pas intacte le virus s'exprimait dans le blastocyste et pouvait provoquer des dégénérescences.

Une étude de Stringfellow et al. en 1990 a montré qu'il était nécessaire de réaliser en moyenne quatre lavages pour éliminer le virus et jusqu'à sept pour que dans l'ensemble des embryons il n'y a plus de trace de l'agent.

Cette même étude a mis en évidence que la trypsine permet d'éliminer le virus. Elle montre qu'après 7 lavages avec de la trypsine les ovocytes contaminés ne montrent plus de trace de l'agent pathogène (Stringfellow et al., 1990).

3. Conclusion

3.1. Embryons produits *in vivo*

Nous n'avons pas trouvé d'études réalisées avec des embryons produits *in vivo* mais en raison de la possible réactivation du BHV-4 et de contaminations de l'embryon si la zone pellucide est lésée, il peut exister un risque de contamination de l'embryon par cette voie.

3.2. Embryons produits *in vitro*

Les études que nous avons trouvées indiquent un faible risque de contamination de l'embryon par le virus s'il est protégé par une zone pellucide intacte et que les lavages étaient efficaces pour éliminer le virus. Ainsi, le risque de transmission par voie *in vitro* est faible.

4. Recommandations

4.1. Embryons produits *in vivo*

Nous avons décidé de catégoriser ce virus en **catégorie 2** car il n'y a pas de preuve de transmission par voie *in vivo*. Des études semblent cependant nécessaires pour affiner la recommander.

4.2. Embryons produits *in vitro*

En raison du risque faible de contamination de l'embryon nous avons décidé de classer le BHV-4 en **catégorie 1**.

IV. Mycoplasmose à *Mycoplasma bovis*

1. Généralités

1.1. Cause de la maladie

Mycoplasma bovis (*M. bovis*) appartient au genre Mollicutes. Ce genre est catégorisé par une absence de paroi cellulaire et un génome de faible taille (compris entre 0.58 et 1.4 Mbp). Il a été isolé pour la 1^{er} fois aux Etats-Unis en 1961 dans un cas de mammite. Il existe de nombreux mycoplasmes (ex : *M. californicum*, *M. bovigenitalium*, *M. bovirhinis*, *M. bovoculi* ...) (Parker et al., 2018). Il s'agit souvent d'un agent de co-infection mais suite à un stress induisant une diminution d'immunité, il peut également agir comme un agent d'infection primaire (Perez-Casal, 2020).

Mycoplasma bovis est à l'origine de bronchopneumonies, de mammites et d'arthrites principalement mais peut également toucher d'autres organes comme les yeux provoquant des kérato-conjonctivites, les oreilles avec des otites et le cerveau avec des méningites.

Selon l'ancienne catégorisation, *Mycoplasma bovis* ainsi que tous les Mycoplasmes appartenait à la catégorie 4 (présence d'un risque ou données insuffisantes).

1.2. Occurrence

Mycoplasma bovis a été détecté partout dans le monde même dans des régions qui étaient considérées comme précédemment indemnes (1^{ere} Détection en Nouvelle-Zélande en 2017). Les dates de 1^{ère} détection de cet agent sont indiquées dans la Figure 31.

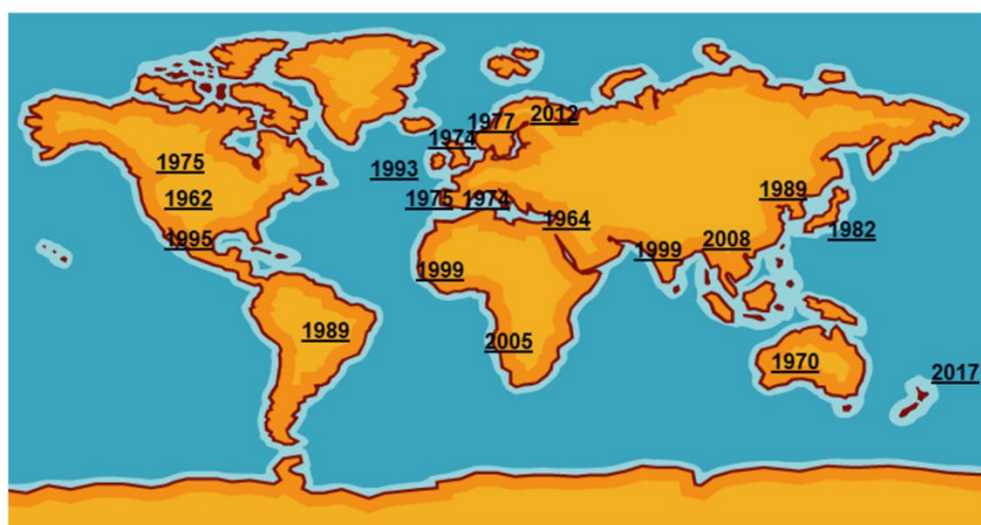


Figure 31: Date des premières détections de *Mycoplasma bovis* dans le monde (Dudek et al., 2020)

1.3. Inscription sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

Mycoplasma bovis ne fait pas partie des maladies listées par l'OMSA (OMSA, 2023a).

2. Informations techniques

2.1. L'agent pathogène

Les mycoplasmes sont des bactéries de petite taille (0,3 à 0,8 μm de diamètre). Elles ont pour particularité essentielle l'absence de paroi rigide. La plupart des espèces présentent des colonies avec un aspect typique en « œufs sur le plat » comme sur la figure 32.

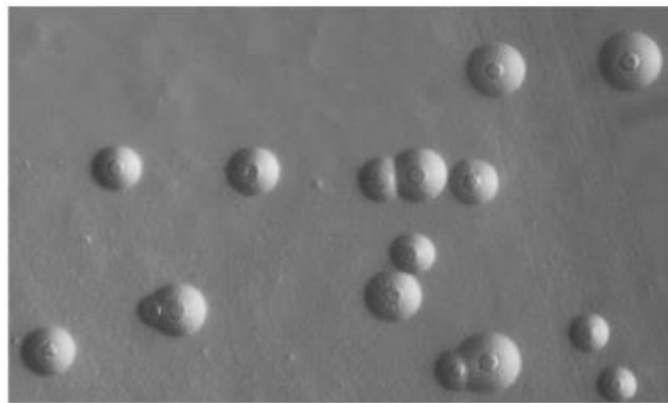


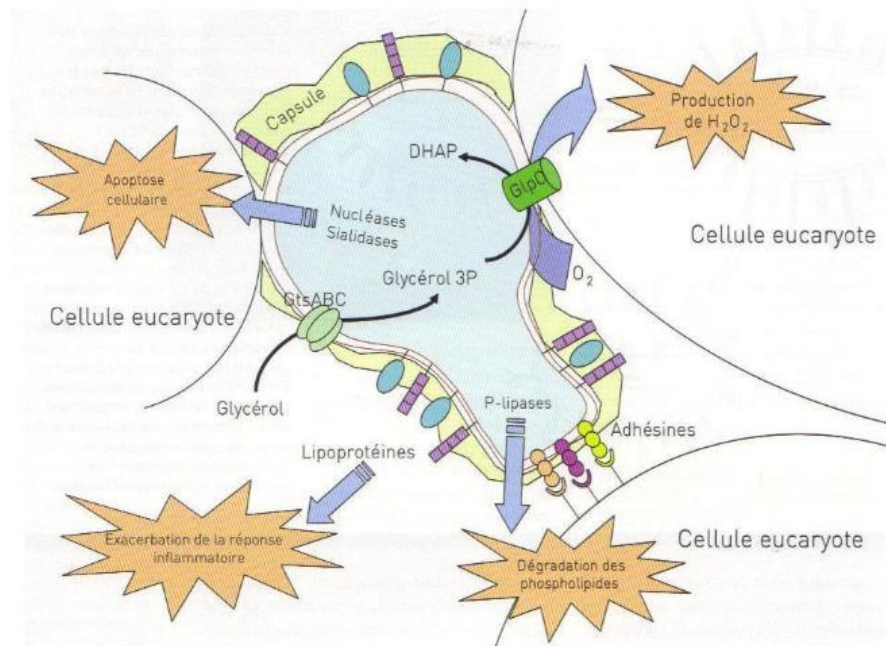
Figure 32 : Colonies de *Mycoplasma bovis* (x 40) (Maunsell et Donovan, 2009)

2.2. Pathogénèse

Le pouvoir pathogène des mycoplasmes est à l'heure actuelle assez mal identifié. A l'inverse d'autres bactéries, ils ne présentent pas d'action de toxines, de cytolysines et d'invasines. Cependant, il est admis que sa pathogénicité tient à 2 choses : une action directe sur les cellules de l'hôte et une interaction avec le système immunitaire.

L'action directe est permise par une adhésion à la cellule hôte grâce à des adhésines, des éléments du cytosquelette et des protéines membranaires. La production de peroxyde d'hydrogène par les mycoplasmes contribue également à son pouvoir pathogène direct (Mernaugh al., 1994)

Les facteurs de modulation du système immunitaire ont principalement été étudiés pour les mycoplasmes humains mais il est possible de les extrapoler pour *M. bovis*. Deux éléments permettent cette modulation : une capsule polysaccharidique qui permet un échappement à la phagocytose (Shaw et al., 2013) et des lipoprotéines au fort pouvoir immunogène. Une synthèse des facteurs de virulence est présentée dans la Figure 33.



P-lipase : phospholipase
 GlpO : glycérol phosphate oxydase
 GtsABC : transporteur du glycérol, retrouvé uniquement chez les souches africaines de *M. mycoides* subsp. *mycoides* SC

Figure 33 : Synthèse des différents facteurs de virulence actuellement connus chez les mycoplasmes. (Janis et Blanchard, 2007)

Suite à une insémination par du sperme de taureau contaminé par *M. bovis*, il a été possible de retrouver l'agent infectieux dans le tractus utérin des vaches inséminées et ce jusqu'à 8 semaines après infection (Hirth et al., 1966).

Bien que *M. bovis* soit responsable de troubles de l'activité reproductrice, des vaches inséminées avec du sperme contaminé ont donné naissance à des veaux non contaminés. (Hirth et al., 1966)

2.3. Signes cliniques

Comme dit plus haut les mycoplasmes peuvent être la source de nombreux signes cliniques, les organes qui peuvent être affectés ainsi que les lésions associées sont indiquées dans le Tableau 10.

Évolution de l'infection par <i>M. bovis</i>	Type de recherche (expérimentale/enquête)	Principaux signes/lésions cliniques/subclinique	Référence
Pneumonie	Enquête	Bronchopneumonie caseonécrotique et/ou fibrinosupplicative	Gagae et al. 2006
	Expérimentale	Ecoulement nasale Toux Pneumonie caseonecrotique	Dudek et al. 2019
Mammite	Enquête	Mammite clinique et subclinique	Vähänikkilä et al., 2019
	Enquête	Mammite clinique et subclinique	Hazelton et al., 2020
Arthrite	Enquête	Arthrite Ténosynovite	Gagea et al. 2006
	Expérimentale	Gonflement articulaire Boiterie Synovite et ténosynovite fibrinosupplicatives Thrombus	Ryan et al., 1983
Otite	Enquête	Affaissement de l'oreille Otite exsudative	Foster et al., 2009
	Enquête	Affaissement de l'oreille Otite moyenne exsudative Paralysie faciale Inclinaison de la tête	Maeda et al., 2003
Kérato-conjonctivite	Enquête	Signe des « yeux roses »	Alberti et al., 2006
Troubles cérébraux	Enquête	Inclinaison de la tête Méningite purulente	Ayling et al., 2005
		Léthargie Cécité Grincement de dents Nécrose cérébral	
Endocardite	Enquête	Absence de signes cliniques Lésions caséuses dans le cœur	Kanda et al., 2019

Tableau 11 : Exemples des manifestations cliniques dues à *M. bovis*

Lors de contamination de l'appareil reproducteur, *M. bovis* provoque des endométrites, des salpingites et des salpingopéritonites avec adhérence au niveau des ovaires. L'agent pathogène est également responsable d'infécondité avec des dérèglements de l'oestrus, des retours en chaleurs irréguliers. Certains mycoplasmes seraient également responsables d'avortement (Doig, 1981).

2.4. Épidémiologie

La période d'incubation est de 2 à 6 jours. Elle va dépendre de la dose infectieuse à laquelle l'animal est exposé. Les infections sont la plupart du temps inapparentes ainsi même des vaches cliniquement saines peuvent excréter l'agents pathogènes et ce même plusieurs semaines après infection. (Lorin, 2008)

Les sources de contamination sont multiples, soit par contact direct entre les animaux (contact mufle à mufle, contamination de veaux par du lait contaminé) mais aussi par voie indirecte. En effet, les mycoplasmes peuvent survivre dans le milieu extérieur sous la forme de biofilm ainsi une contamination par le matériel de traite est possible (Lorin, 2008).

Deux possibles contamination d'élevage par du sperme contaminé ont été identifié par Haapala et al. en 2018. Il s'agissait d'élevages originellement sains ayant présenté des épisodes de mammite à mycoplasme avec pour seule voie de contamination possible le sperme d'un taureau contaminé par *M. bovis*. Cependant, les études expérimentales n'ont pas permis de reproduire une contamination (Haapala et al., 2018).

Dans l'ensemble des études lues, aucun cas de contamination d'animaux via des embryons n'a été rapporté.

2.5. Diagnostic

Il existe de nombreuses méthodes pour diagnostiquer *M. bovis*, les plus couramment utilisés sont la PCR et la qPCR. La recherche par ces méthodes peut se faire seul mais il existe aussi des méthodes couplées avec la recherche d'autres agent pathogène (recherche multiplex). C'est ce type de recherche qui sont utilisés dans le cas d'avortement. Les autres méthodes qui peuvent être utilisés sur le terrain sont les recherches sérologiques qui peuvent être réalisé sur le sang d'animaux ou sur le lait de tank pour retrouver des anticorps et il existe aussi l'utilisation du MALDI-TOF pour rechercher l'agent pathogène. La sérologie est moins couteuse mais ne permet pas de savoir si l'infection est active. Le MALDI-TOF en revanche est plus couteux mais permet de déterminer si l'infection est active. En expérimentation, il est possible d'utiliser l'immunohistochimie et l'hybridation in situ pour déterminer la présence de l'agent dans les tissus (Dudek et al. 2020).

2.6. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon et méthode de réduction

En 1966, R. S. Hirth et al. ont réalisé des inséminations de bovins en utilisant de la semence contaminée par *M. bovis*. Bien que ces inséminations aient provoqué des lésions sur l'appareil reproducteur des vaches, les veaux issus de cette fécondation n'étaient pas porteurs de l'agent pathogène.

En 1988, K.P. Riddell et al. ont exposé des ovocytes et des zones pellucides intactes de bovins à *Mycoplasma bovis*. Pour cela, des embryons avec une zone pellucide intacte étaient incubés dans des solutions contenant 107 CFU par mL. Sur l'ensemble des zones pellucides étudiées *M. bovis* a été retrouvé systématiquement. De même, tous les ovocytes contaminés étaient positifs même après un lavage à l'antibiotique et à la trypsine. Ainsi, cette étude concluait que *M. bovis* adhère à la zone pellucide et qu'un lavage n'était pas suffisant pour le supprimer.

En 1989, A. Bielanski et al. ont également réalisé ce type d'expérience. Bien que le développement embryonnaire ne soit pas modifié, *M. bovis* a été retrouvé aussi bien dans les zones pellucides que dans les liquides de rinçage des embryons contaminés soit par micro injection ou par mise en contact avec un milieu de culture contaminé.

Plus récemment, en 2023 une nouvelle étude de Pohjanvirta et al. c'est de nouveau intéressé au risque de contamination via des embryons produits *in vitro*. Ici, les ovocytes étaient vortexés afin de retirer les cellules du cumulus avant la contamination soit par un milieu de culture contaminé ou par une fécondation par des spermatozoïdes contaminés. Cette étude n'a pas réussi à montrer une adhésion entre mycoplasme et la membrane pellucide et n'a pas retrouvé de mycoplasme dans les embryons après lavage. De plus, la fécondation par du sperme contaminé n'a pas non plus contaminé l'embryon.

3. Conclusion

3.1. Embryons produits *in vivo*

Nous n'avons pas trouvé d'études réalisées avec des embryons produits *in vivo* mais les embryons semblent pouvoir être contaminés lorsqu'ils sont au contact de l'agent pathogène. Ainsi, il peut exister un risque de contamination de l'embryon par cette voie bien que nous manquions de preuve pour pouvoir l'affirmer. Le sperme peut également être porteur de l'agent infectieux et être responsable d'une contamination des voies génitales femelles.

3.1. Embryons produits *in vitro*

Bien que des études anciennes aient montré un risque de contamination par *M. bovis*, une étude plus récente utilisant un vortex pour retirer les cellules du cumulus avant exposition semble éviter la contamination de l'ovocyte. Cette étude indiquerait que *M. bovis* ne se fixerait qu'aux cellules du cumulus. Ainsi en leur absence la bactérie ne pourrait adhérer à l'embryon. Cependant, seule une étude arrive à cette conclusion.

4. Recommandations

4.1. Embryons produits *in vivo*

En raison de l'absence de preuve pouvant étayer l'hypothèse d'une éventuelle contamination de l'embryon dans les voies génitales femelles, nous avons décidé de catégoriser *M. bovis* en **catégorie 2**.

4.2. Embryons produits *in vitro*

Bien que des preuves existe montrant qu'un retrait des cellules du cumulus permettrait de réduire le risque de transmission, elles sont peu nombreuses en comparaison des preuves indiquant une possible contamination. Ainsi nous avons décidé de catégoriser *M. bovis* en **catégorie 2**.

V. Leucose enzootique bovine

1. Généralités

1.1. Cause de la maladie

La leucose bovine enzootique est due au virus de la leucémie bovine, membre de la famille des Retroviridae, sous-famille des Oncornavirinae. Il s'agit d'un virus à acide ribonucléique dont la particule virale fait entre 90 et 120 nm de diamètre (Lefèvre et al., 2003b). La particule virale est représentée dans la Figure 34.

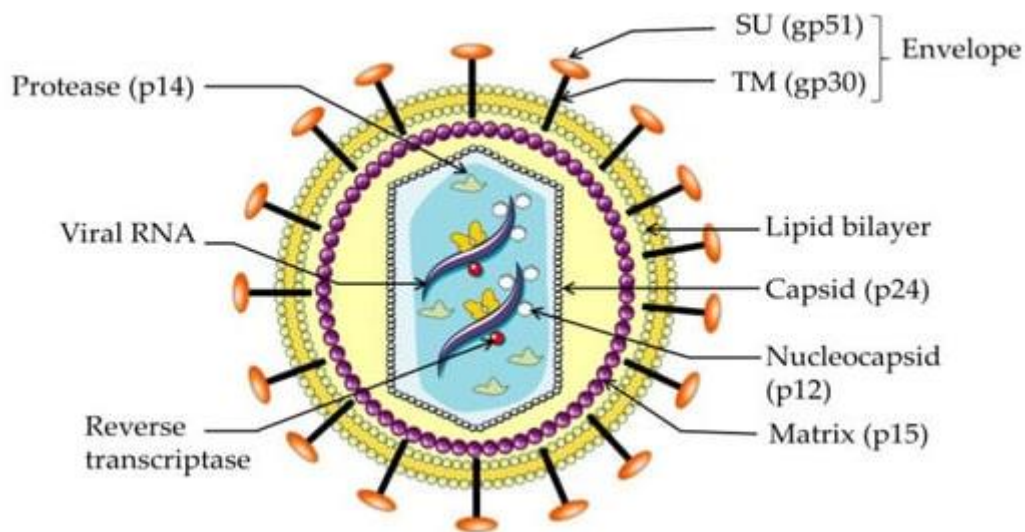


Figure 34 : Schéma de la particule virale du virus de la leucémie bovine (Marawan et al., 2021)

La leucose est une maladie tumorale maligne qui touche les bovins en ciblant la lignée lymphocytaire. Cliniquement la maladie s'exprime le plus souvent par des formes de tumeurs multiples notamment des nœuds lymphatiques. Souvent il s'agit d'un lymphosarcome ou lymphome malin. Elle affecte principalement les bovins (*Bos taurus* et *Bos indicus*), les buffles d'eau et les capybaras. Les ovins sont très sensibles à l'inoculation expérimentale et les chèvres de développe que rarement des tumeurs. (OMSA, 2023b) Des infections expérimentales de porc et de lapin ont été obtenu en laboratoire. Tous les âges de bovins sont sensibles à cette maladie avec notamment des contaminations au stade embryonnaire (Lefèvre et al., 2003b).

Selon l'ancienne classification de l'IETS, la leucose était classée en catégorie 1 (absence de risque de transmission).

1.2. Occurrence

Les premières observations de la maladie datent du 19^{ème} siècle en Allemagne mais ce n'est qu'en 1969 que Miller et al. ont réussi à mettre en évidence les particules virales. L'Europe bien qu'étant le berceau historique de la maladie a réussi à se débarrasser de la leucose grâce à des programmes d'éradication réalisés dans les années 80. À l'exception de l'Europe la maladie a une répartition mondiale à cause des échanges commerciaux qui ont favorisé sa dissémination. L'infection a globalement un caractère focal avec une faible extension spontanée. Les signes cliniques sont assez rares mais le taux d'infection est parfois très élevé dans les troupeaux (Lefèvre et al., 2003b). Une carte représentant la répartition mondiale du virus de la leucose est représentée dans la Figure 35.

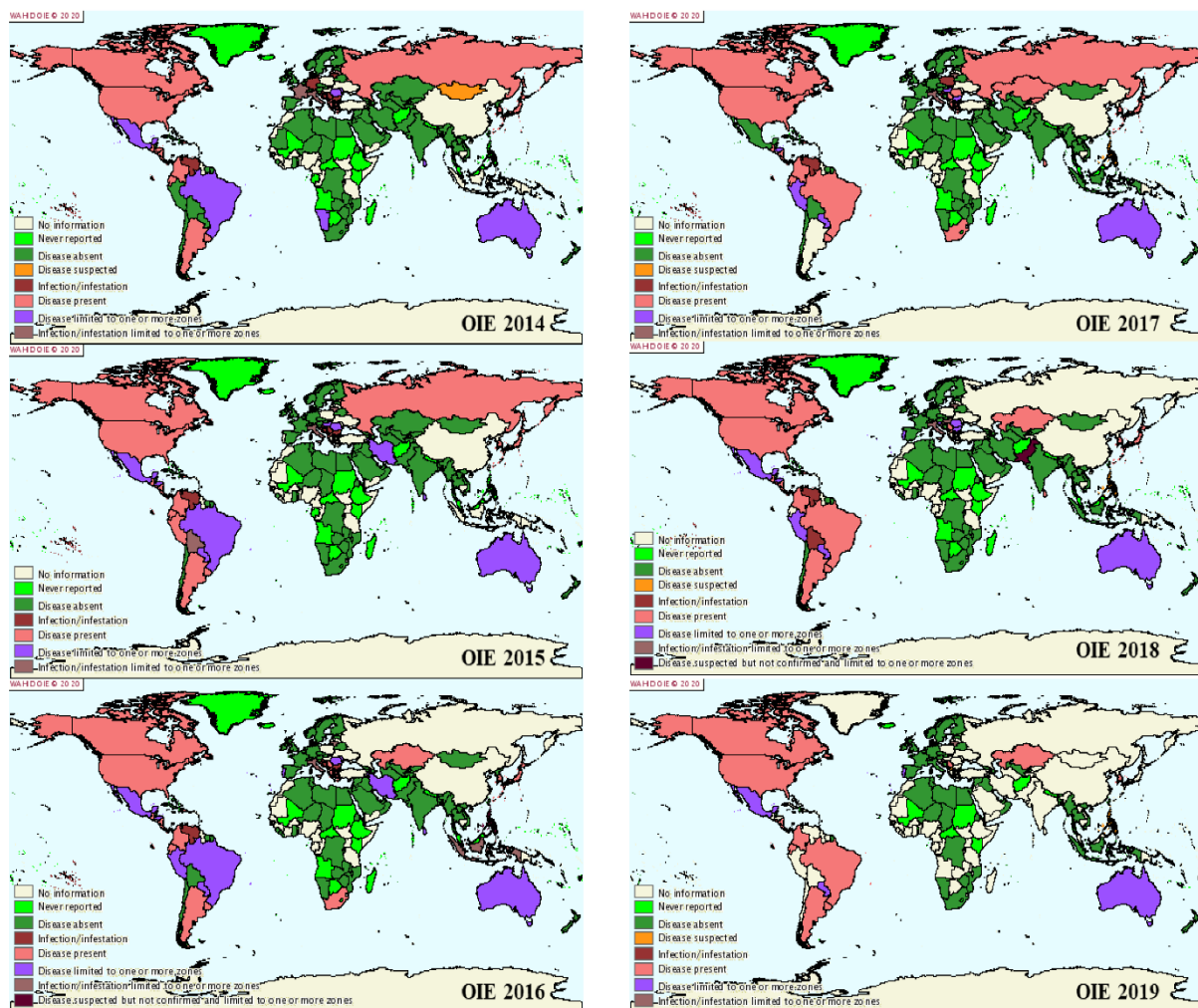


Figure 35 : Distribution mondiale de la leucose bovine entre 2014 et 2019 (Marawan et al., 2021)

1.3. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

La leucose bovine est une maladie inscrite sur la liste de l'OMSA (OMSA, 2023a).

2. Informations techniques

2.1. Pathogénèse

Le pouvoir pathogène de la leucose est lié au tropisme viral pour le lymphocyte B mais il peut également infecter d'autres cellules immunitaires. Le cycle de réplication du virus au sein des cellules immunitaires est représenté dans la Figure 36. Le virus peut persister dans les lymphocytes B sous forme latente. Trois évolutions de la maladie sont possibles (Ruvoen et al., 2023) :

-L'infection rester inapparente pendant toute la vie de l'animal.

-Chez certains sujets peut apparaître, au bout de quelques années, une lymphocytose persistante (chez 10 à 90 % des animaux).

-Chez 1 à 5 % des sujets infectés, peut se développer un lymphosarcome généralisé (animaux âgés en général de 5 à 8 ans).

Le virus perturbe l'homéostasie des lymphocytes B et T et modifie leurs réponses prolifératives et apoptotiques en interférant avec l'expression des gènes et les actions des cascades de signalisation. Les animaux qui développent une lymphocytose persistante subissent une prolifération massive de lymphocytes B. Cette prolifération est liée à l'expression d'anticorps G et d'antigène CD5⁺ qui bloque apoptose des lymphocytes. Cette protection contre l'apoptose lors des stades asymptomatiques semble ralentir le développement de la leucémie et réduire la pathogénicité. C'est l'inactivation du gène suppresseur de tumeur p53 par mutation qui semble être l'un des événements critiques associés à la formation de tumeurs par la leucose chez les bovins (Marawan et al., 2021).

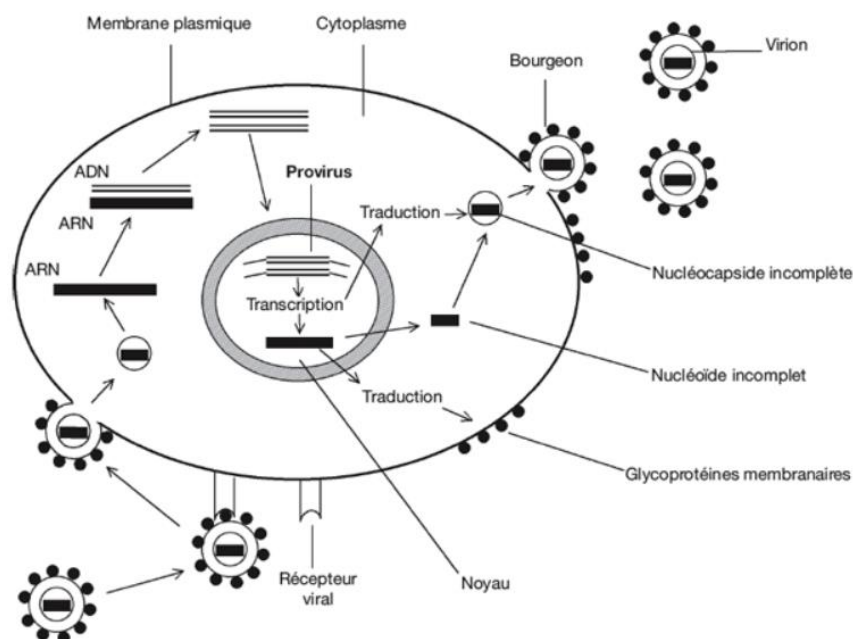


Figure 36 : Représentation schématique du cycle de réplication d'un rétrovirus (Coffin et al., 1997)

2.2. Signes cliniques

Les signes cliniques associés à la maladie sont inconstant mais ils surviennent sur un faible nombre d'animaux infecté, 1 à 5 animaux atteints de tumeurs pour cent bovins infectés. Les signes cliniques apparaissent toujours sur des bovins âgés de plus de 2 ans, avec un pic d'incidence entre 5 et 8 ans. (Ruvoen et al., 2023)

Les bovins infectés peuvent présenter 3 phases de la maladie. D'abord, il y a une phase asymptomatique durant plusieurs années, le seul signe de la maladie étant la présence d'anticorps contre les protéines virales GP51 et P24. Puis le bovin développe la lymphocytose persistante comme indiqué dans le paragraphe précédent. Enfin, il y a la phase tumorale avec développement d'une leucémie, des lymphomes ou des lymphosarcomes. Cette phase rare chez les animaux peut faire suite à une lymphocytose mais peut aussi se développer chez des animaux aleucémique. (Florins, 2007)

Il existe 2 expressions cliniques de la maladie :

- La forme classique qui commence par des symptômes généraux non spécifiques tels qu'une asthénie, un amaigrissement, une polypnée, de la tachycardie, de l'anémie, un tarissement de la sécrétion lactée et parfois une légère hyperthermie. Puis une phase d'état s'installe avec une aggravation des symptômes généraux et surtout des symptômes locaux matérialisés par l'hypertrophie des nœuds lymphatiques superficiels et profonds. Ces hypertrophies peuvent provoquer des symptômes fonctionnels variés en fonction des nœuds lymphatiques atteints et de leur taille. La maladie peut également présenter des symptômes liés à l'infiltration tumorale de différents viscères comme une stase veineuse, une insuffisance cardiaque si atteinte du myocarde, une diarrhée avec méléna si atteinte de la caillette, une exophtalmie si atteinte des conjonctives rétro-orbitaire, une paraplégie si atteinte épидurale. Chez les animaux qui présentent ces signes cliniques la mort est inexorable en quelques semaines. (Ruvoen et al., 2023).

- Des formes atypiques qui peuvent survenir avec seulement des symptômes généraux et fonctionnels liés à la localisation des tumeurs (Ruvoen et al., 2023).

Aucune mention de signe spécifique sur l'appareil reproducteur n'a été retrouvée dans les recherches que nous avons effectuées.

2.3. Épidémiologie

La durée d'incubation du virus est longue et il peut s'écouler des années avant que les premiers signes cliniques n'apparaissent (Ruvoen et al., 2023).

La contamination par le virus se fait principalement de manière horizontale, les bovins infectés (malades ou infection latente) étant le réservoir du virus. Le virus est très peu résistant dans le milieu extérieur. Le sang est la matière virulente essentielle (1/100ème de goutte de sang peut suffire à transmettre la maladie), suivi par le lait et le colostrum. Les autres sécrétions et excréments (sperme, urine et fèces, salive, sécrétions respiratoires) peuvent éventuellement être virulentes. Ainsi la transmission peut se faire soit de manière directe (inhalation de particules virulentes, coït) ou indirecte, mécanique via un arthropode piqueur (tabanidés et stomoxes en particulier) et iatrogène (aiguilles et seringues, instruments de chirurgie, matériel de tatouage,

d'écornage... contaminés par du sang). Le mode de transmission iatrogène est prédominant (Ruvoen et al., 2023).

La transmission peut également se produire de façon verticale in utero lors de l'accouchement (passage de sang maternel vers le fœtus), ainsi que par la prise de colostrum et de lait (Florins, 2007). Mais la transmission via le colostrum et le lait bien que possible est souvent limité par la présence des anticorps colostraux qui protège les jeunes animaux pendant plusieurs mois. (Ruvoen et al., 2023). La transmission verticale in utero pourrait être due selon Andoh et al. à la capacité des lymphocyte B à être attiré par certaines chimiokine (CCL2 et CXCL10) de l'endomètre et à fusionner avec elle.

Dans l'ensemble des études lues, aucun cas de contamination d'animaux via des embryons n'a été rapporté.

2.4. Diagnostic

L'infection par la leucose peut être diagnostiquée soit par des tests sérologiques (Exemple : immunodiffusion en gélose (AGID), test de radio-immunoprécipitation (RIA) ou test immuno-enzymatique (ELISA)), soit par des techniques de détection de l'ADN proviral (Exemple : tests de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) simples, semi-nichés, nichés ou en temps réel), qui sont des méthodes sensibles et spécifiques (Marawan et al., 2021). Un tableau récapitulant les différentes techniques de diagnostic est présenté Figure 33.

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Identification of the agent ^(a)						
Virus isolation	-	+	-	+	-	-
PCR	+	++	+	++	+	-
Detection of immune response						
AGID	+++	+++	+++	+++	+++	-
ELISA	+++	+++	+++	+++	+++	-

Key: +++ = recommended for this purpose; ++ recommended but has limitations; + = suitable in very limited circumstances; - = not appropriate for this purpose.

PCR = polymerase chain reaction; AGID = agar gel immunodiffusion; ELISA = enzyme-linked immunosorbent assay.

^(a)A combination of agent identification methods applied on the same clinical sample is recommended.

Figure 37: Méthode d'identification de l'agent pathogène (OMSA, 2023a)

2.5. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon et méthode de réduction

Dans l'ensemble de nos recherches, nous n'avons pas trouver d'information concernant la sensibilité du virus au lavage et au traitement à la trypsine.

3. Conclusion

3.1. Embryons produits *in vivo*

Bien que nous n'ayons pas réussi à trouver d'article évoquant le transfert d'embryons et le risque de transmission de la maladie *in vivo*, nous avons considéré que l'ancienne catégorisation était toujours valable pour les embryons produits *in vivo*. Donc, pour ce paramètre nous suivrons l'ancienne catégorisation.

3.2. Embryons produits *in vitro*

Nous n'avons pas trouvé de référence concernant le risque de transmission par des embryons produits *in vitro*. Cependant, le virus étant principalement transmission par un contact lymphocyte B – lymphocyte B nous fait penser que le risque de transmission est faible mais nous avons besoin de plus de données pour pouvoir prendre une décision.

4. Recommandations

4.1. Embryons produits *in vivo*

En conservant l'ancienne catégorisation de la maladie, nous avons décidé de classer le virus de la leucose bovine en **catégorie 1**.

4.2. Embryons produits *in vitro*

En raison de l'absence de littérature concernant ce sujet nous avons classé la leucose bovine en **catégorie 2**.

VI. Leptospirose serovar *Hardjo*

1. Généralités

1.1. Cause de la maladie

Le genre *Leptospira* appartient à l'ordre des Spirochaetales et à la famille des Leptospiraceae. La leptospirose est une maladie provoquée par des leptospires des bacilles GRAM - de forme filamenteuse très fines et spiralées qui mesure entre 6 et 20 µm. Ces bactéries sont constituées de cylindre protoplasmique entouré d'une enveloppe complexe et peu résistante (Lefèvre et al., 2003c). Cette bactérie est schématisée dans la Figure 38.

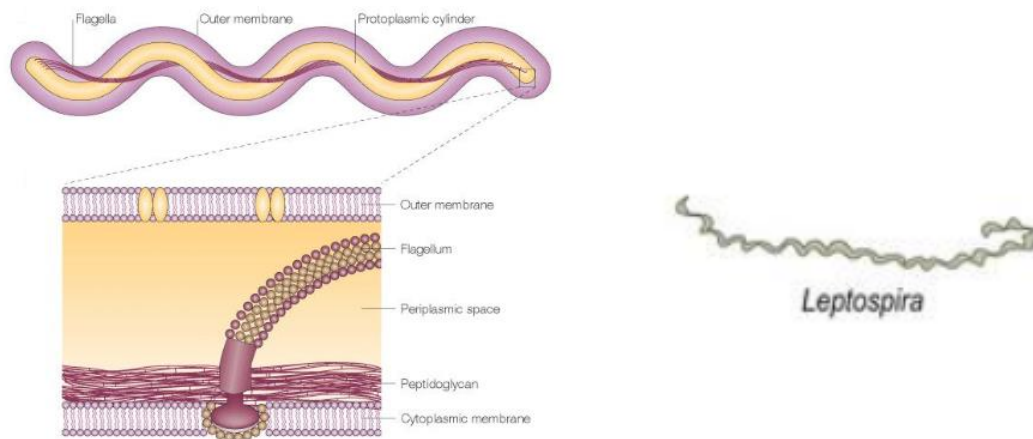


Figure 38 : Schéma d'un spirochète (gauche) et d'un leptospire (droit) (Moreau, 2023)

Leptospira présente 24 sérogroupes et plus de 350 sérovars différents ce qui en fait une espèce très hétérogène. Dans notre étude nous nous concentrerons principalement sur le serovar Hardjo. Tous les mammifères domestiques et sauvages ainsi que les hommes sont sensibles à une infection par cet agent pathogène. Les animaux domestiques les plus sensibles sont les chiens, les bovins, les porcs et les chevaux. Certaines espèces de leptospires ont été isolées chez des amphibiens, des invertébrés, des reptiles et des oiseaux bien qu'aucun signe clinique ne soit rapporté (OMSA, 2023b). Les signes cliniques peuvent varier en fonction du serovar et de l'espèce touchée mais il s'agit principalement de syndrome urémique, ictérique, hémorragique et une atteinte de l'appareil reproducteur (Moreau, 2023). Il s'agit d'une zoonose.

Selon l'ancienne classification, les leptospiroses étaient catégorisées en catégorie 4 (risque de transmission ou données insuffisantes).

1.2. Occurrence

De nombreuses espèces sauvages sont des réservoirs de *Leptospira* et maintiennent la bactérie par des interactions hôte-bactérie qui n'ont pas d'impact négatif sur l'animal. Il est donc important d'évaluer l'épidémiologie de la leptospirose à un niveau plus local pour comprendre les risques de transmission et l'impact de la maladie. *Leptospira* est enzootique dans le monde entier, mais la maladie est plus fréquemment observée dans les environnements chauds et humides. Ces environnements peuvent être saisonniers (zones tempérées) ou plus constants (régions tropicales). Les précipitations favorisent la persistance de l'organisme dans l'environnement. En outre, certains sérotypes sont beaucoup plus dispersés géographiquement, tandis que d'autres sont présents dans des régions plus limitées (OMSA, 2023b).

1.3. Inscrite sur la liste de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) ?

La leptospirose est une maladie qui n'est pas inscrite sur la liste de l'OMSA (OMSA, 2023a).

2. Informations techniques

2.1. Pathogénèse

La bactérie pénètre par voie cutanée à travers une peau ramollie par l'humidité ou par voie respiratoire ou oculaire. Elle dissémine ensuite par voie sanguine dans tout l'organisme et notamment au niveau des organes parenchymateux tels que le foie ou les reins. Une partie des bactéries peuvent également disséminer par voie sanguine dans les voies génitales mâle et femelle et y rester pendant plusieurs années (Aymée, 2024). Chez les animaux sensibles, les lésions membranaires de hématies, des cellules endothéliales et des hépatocytes vont entraîner hémoglobinurie, hémorragie, ictère... La protection immunitaire est médiée principalement par des anticorps qui apparaissent 1 à 2 semaines après infection. La protection est partielle : la bactérie va être éliminée du sang ou de certains tissus mais elle peut persister au niveau rénal pendant plusieurs mois voire tout au long de la vie de l'animal. De plus, il y a peu ou pas d'immunité croisée entre les différents serovars. (Moreau, 2023). Le devenir de la bactérie dans l'organisme est synthétisé dans la Figure 39.

Leptospira présente un grand nombre de facteurs de pathogénicité. Elle présente un pouvoir toxique grâce au lipopolysaccharide (LPS) et des hémolysines qui vont attaquer les érythrocytes et les cellules endothéliales des capillaires. Cette bactérie présente également un pouvoir invasif. En effet grâce à son flagelle lui assurant la mobilité et la présence d'adhésine, elle peut se déplacer dans le milieu extérieur, entrer en contact et pénétrer dans l'hôte. Elle a également des capacités de persistance aussi bien dans le milieu extérieur que dans l'hôte. Son aptitude à former des biofilms lui permet d'améliorer sa survie dans le milieu extérieur et sa

capacité à échapper au système immunitaire lui permettant de persister au sein de l'hôte parfois sous des formes chroniques (Moreau, 2023).

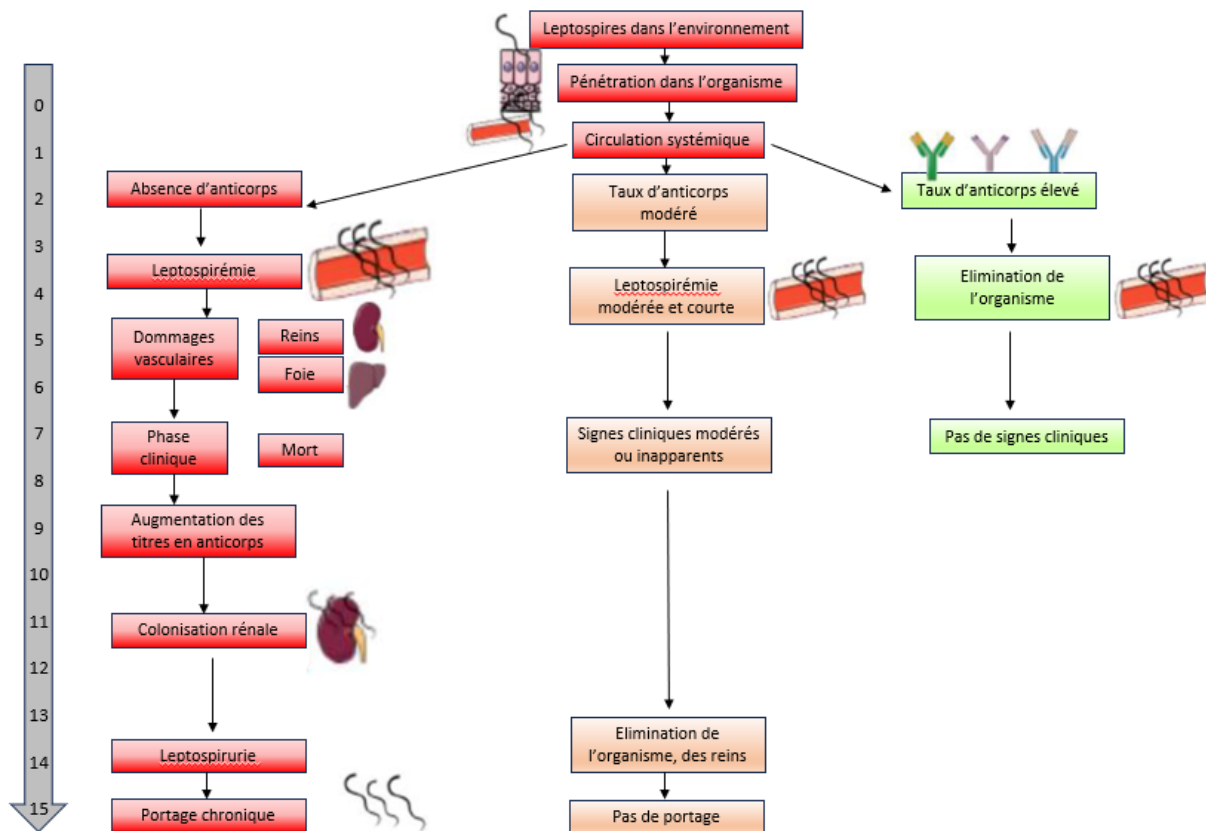


Figure 39 : Devenir de *Leptospira* après avoir pénétré dans l'hôte (Moreau, 2023)

Comme dit plus haut l'agent pathogène peut se retrouver dans les voies génitales des animaux infectés et s'y maintenir (Aymée, 2024). Cependant, bien que la leptospirose puisse provoquer des avortements les veaux qui survient ne semble pas se contaminer in utero (Smith et al., 1997).

2.2. Signes cliniques

Les signes cliniques de la maladie sont divers et dépendent à la fois du sérovar de la maladie mais aussi du sérotype et de l'espèce animal atteinte (Moreau, 2023). Un résumé des signes cliniques est représenté Figure 40. La maladie peut s'exprimer notamment sous forme subclinique c'est souvent le cas chez la vache. Le chien est l'espèce cliniquement la plus sensible à la leptospirose. Les chiens sont donc les plus susceptibles de développer une forme aiguë bien que toutes les espèces sensibles puissent l'exprimer. La forme aiguë peut s'exprimer de 2 façons soit par une gastroentérite hémorragique intense et rapidement létale soit par une forme ictérohémorragique moins fulgurante (Lefèvre et al., 2003c). Les lésions associées à la formes aiguë sont des nécroses tubulaires rénale et néphrite suppurée, hépatomégalie +/- hépatite nécrosante, des hémorragies pulmonaires, pétéchies et ecchymoses sur les muqueuses et les organes internes.

Des formes subaiguë et chronique existe aussi. Les chevaux peuvent développer une uvéite avec conjonctivite, œdème cornéen, synéchies ou cataractes (Moreau, 2023). Et chez les animaux de production ce sont souvent des troubles de la reproduction qui sont décrit.

Serovar	Hosts	Clinical conditions
<i>Leptospira borgpetersenii</i> serovar Hardjo	Cattle, sheep	Abortions, stillbirths, agalactia
<i>L. interrogans</i> serovar Hardjo	Humans	Influenza-like illness; occasionally liver or kidney disease
<i>L. borgpetersenii</i> serovar Tarassovi	Pigs	Reproductive failure, abortions, stillbirths
<i>L. interrogans</i> serovar Bratislava	Pigs, horses, dogs	Reproductive failure, abortions, stillbirths
<i>L. interrogans</i> serovar Canicola	Dogs	Acute nephritis in pups. Chronic renal disease in adult animals
	Pigs	Abortions and stillbirths. Renal disease in young pigs
<i>L. interrogans</i> serovar Grippityphosa	Cattle, pigs, dogs	Septicaemic disease in young animals; abortion
<i>L. interrogans</i> serovar Icterohaemorrhagiae	Cattle, sheep, pigs	Acute septicaemic disease in calves, piglets and lambs; abortions
	Dogs, humans	Peracute haemorrhagic disease; acute hepatitis with jaundice; human infection, Weil's disease
<i>L. interrogans</i> serovar Pomona	Cattle, sheep	Acute haemolytic disease in calves and lambs; abortions
	Pigs	Reproductive failure; septicaemia in piglets
	Horses	Abortions, periodic ophthalmia

Figure 40 : Signes cliniques due à la leptospirose en fonction du serovar (Moreau, 2023)

Concernant les signes sur l'appareil reproducteur chez les bovins. Lorsque la leptospirose se manifeste par des signes exclusivement reproducteurs on peut parler de leptospirose génitale bovine. Cette maladie se caractérise par des mortalités embryonnaires, des avortements, de l'infertilité ou des veaux qui naissent faible. Il s'agit d'une particularité du sérotype Sejroe dont fait partie le serovar Hardjo. Cette maladie est due à la colonisation des voies génitales par la bactérie et elle peut ne pas être diagnostiquée pendant plusieurs années. Les mâles peuvent également présenter la bactérie dans leur voie génitale mais le portage semble être asymptomatique bien que cela soit une voie de contamination possible des autres animaux (Aymée, 2024).

2.3. Épidémiologie

En moyenne l'incubation de la maladie dure 7 à 12 jours. Bien souvent notamment avec les bovins les signes cliniques peuvent passer inaperçu. (Moreau, 2023)

La voie de contamination principale par la leptospirose passe par le réservoir de la maladie : les rongeurs, qui excrètent le virus dans leur urine. Les autres espèces sensibles se contaminent alors soit directement au contact de l'urine de rongeurs ou indirectement dans le milieu extérieur précédemment contaminé par les rongeurs. La bactérie peut pénétrer par voie cutanée, respiratoire ou oculaire. Les hôtes occasionnels peuvent également se contaminer entre eux. (Moreau, 2023) Les différentes voies d'infection sont schématisées dans la Figure 41.

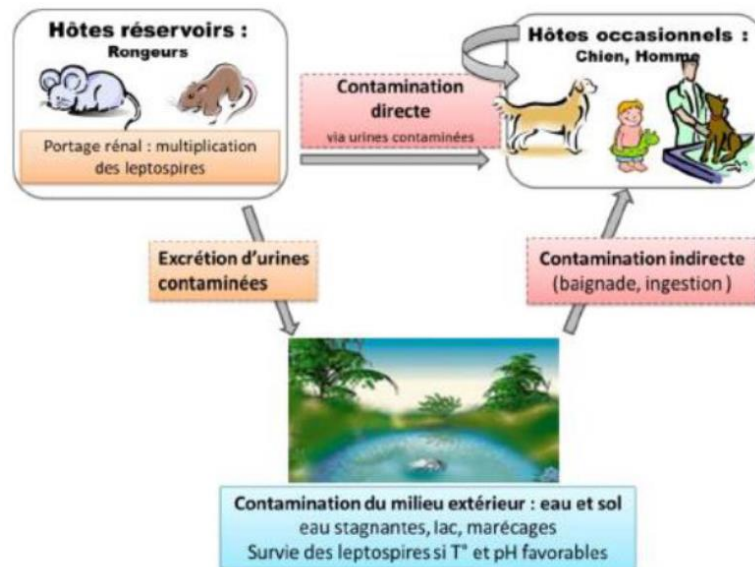


Figure 41 : Voies de contamination par la leptospirose (Moreau, 2023)

Concernant la contamination entre hôtes occasionnels la matière virulente principale est l'urine mais d'autres voies de contamination sont possibles. Ainsi, des leptospires ont pu être retrouvé dans du sperme de taureau c'est pourquoi il est conseillé l'utilisation d'antibiotique dans la préparation de paillette de sperme ou dans le substrat des cultures embryonnaire (Paul, 2022).

Une étude de Bielanski et al. de 1996b, a montré que des embryons produits *in vitro* à partir de bovins contaminés expérimentalement ne présentaient pas de trace de l'agent pathogène. Ces mêmes embryons ne provoquaient pas de séroconversion chez la receveuse et les fœtus étaient indemne de l'agent pathogène. Cette étude a également montré que des embryons contaminer par des leptospires pouvaient se développer normalement. Un transfert d'embryons avec un embryon contaminé est donc possible.

2.4. Diagnostic

Les méthodes de diagnostic de la leptospirose sont indiquées dans la Figure 42.

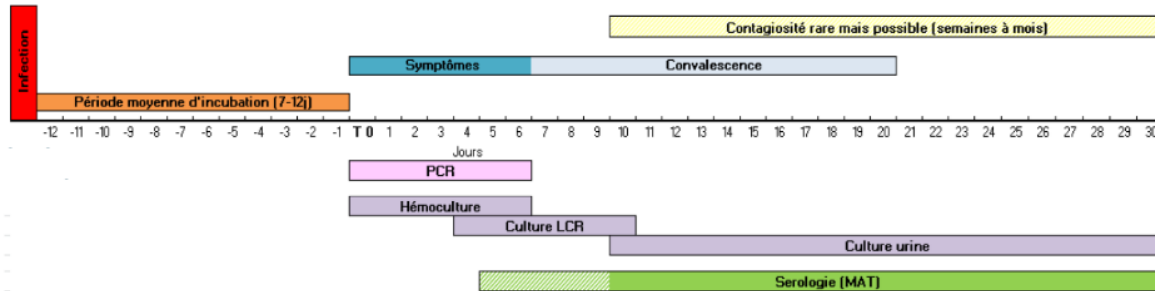


Figure 42 : Méthodes de diagnostic de la leptospirose (Moreau, 2023)

LCR : Liquide Cérébro-Rachidien

Dans des cas de suspicion de leptospirose génitale bovine, il est recommandé de réaliser un test sérologique avec une méthode d'agglutination suivi de PCR sur des prélèvements génitaux (mucus cervicovaginal, fragment d'utérus) (Paul, 2022).

2.5. Risque potentiel de l'agent pathogène pour l'embryon et méthode de réduction

Une étude de Bielanski de 1996b a montré que l'agent pathogène n'était pas isolé dans des embryons infectés expérimentalement s'ils étaient cultivés dans un milieu de culture contenant de la pénicilline et de la streptomycine. À l'inverse, l'agent pathogène était isolé lorsque les embryons étaient cultivés sans antibiotique.

Une étude de Bielanski de 1998b a étudié des embryons en stade morula avec une zone pellucide intacte que les chercheurs ont mis en contact avec spirochète du serovar Hardjo pendant 24h. Cette étude a montré que la bactérie était capable de s'accrocher à la zone pellucide aussi bien à sa surface que dans ces pores malgré des lavages standards comme recommandé par l'IETS. Les leptospires ont également réussi dans certains cas à pénétrer dans l'embryon et ont provoqué des dommages aux membranes et au cytoplasme.

3. Conclusion

3.1. Embryons produits *in vivo*

Malgré nos recherches nous n'avons pas été en mesure de trouver des articles concernant le risque de transmission de cet agent par un transfert d'embryons *in vivo*. Cependant, la présence de l'agent pathogène dans les voies génitales femelles est démontrée et comme l'indique l'étude de Bielanski (1998b) les leptospires sont capables de s'accrocher et pénétrer les embryons. Un risque de transmission est donc possible mais afin de confirmer ou infirmer cette hypothèse des recherches supplémentaires sont nécessaires.

3.1. Embryons produits *in vitro*

La capacité de la bactérie à s'accrocher et pénétrer les embryons représente un risque notamment car les lavages ne semblent pas efficaces pour supprimer l'agent. Cependant, l'utilisation des antibiotiques permet de limiter ce risque en éliminant l'agent pathogène. Nous n'avons pas trouvé d'information sur la capacité d'un embryon infecté à contaminer la receveuse ou à produire un veau contaminé. Ainsi, des recherches supplémentaires semblent nécessaire pour pouvoir conclure.

4. Recommandations

4.1. Embryons produits *in vivo*

Nous avons décidé de classer la bactérie en **catégorie 2** en raison d'un manque de données sur le risque réel de transmission.

4.2. Embryons produits *in vitro*

Nous avons décidé de classer la bactérie en **catégorie 2** en raison d'un manque de données notamment sur l'efficacité d'un traitement antibiotique des embryons.

Hugo de Mori

Risques de transmission de pathogènes via les embryons : enquête internationale et point bibliographique sur les pathogènes d'intérêt

Risks of pathogen transmission via embryos: international survey and bibliographic review of pathogens of interest

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Nantes, le 25 Octobre 2024

RESUME

Le transfert d'embryons est une technique importante permettant d'améliorer la génétique des animaux de rente en France comme à l'étranger. Cependant, les échanges d'embryons provenant d'élevages ou de pays différents induisent un fort risque biologique. Le transfert d'embryons est donc réglementé, avec une catégorisation des maladies (selon le risque de transmission via les embryons) qui doit être réévaluée (simplification, prise en compte des embryons produits *in vitro*). Ce travail de thèse réalisé en lien avec l'*International Embryo Technology Society* comprend une enquête internationale auprès de spécialistes du transfert d'embryons afin de connaître les maladies les plus à risque de transmission via les embryons. L'enquête a permis d'établir une liste hiérarchisée de maladies selon le risque de transmission pour catégoriser en priorité les plus restrictives pour les échanges. Ce travail présente aussi un essai de catégorisation grâce à une étude bibliographique de 6 maladies ciblées par l'enquête. Les propositions de catégories (de 1 à 3 par risque croissant) sont les suivantes :

- Virus de la fièvre catarrhale ovine : catégorie 1 *in vivo* chez le bovin sauf pour le sérotype 8 (catégorie 3), et chez les ovins (catégorie 2) et catégorie 2 *in vitro*
- Virus de la diarrhée virale bovine : catégorie 3 *in vivo* et *in vitro*
- Herpesvirus bovin de type 4 : catégorie 2 *in vivo* et catégorie 1 *in vitro*
- *Mycoplasma bovis* : catégorie 2 *in vivo* et *in vitro*
- Virus de la leucose : catégorie 1 *in vivo* et catégorie 2 *in vitro*
- *Leptospira* serovar *Hardjo* : catégorie 2 *in vivo* et *in vitro*

MOTS CLES :

- TRANSFERT D'EMBRYONS
- ENQUETE
- REGLEMENTATION SANITAIRE
- RISQUE SANITAIRE
- FIEVRE CATARRHALE OVINE
- DIARRHEE VIRALE BOVINE
- HERPESVIRUS BOVIN TYPE 4
- MYCOPLASMA BOVIS
- LEUCOSE BOVINE
- LEPTOSPIROSE

DATE DE SOUTENANCE : 25/10/2024