



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 29 février 2008

Avis

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur l'évaluation d'un protocole de qualification des taureaux et de réhabilitation des stocks de semence de centres d'insémination non agréés

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

Rappel de la saisine

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été sollicitée le 13 novembre 2007 par la DGAI pour évaluer un protocole de qualification des taureaux et de réhabilitation des stocks de semence de deux centres d'insémination artificielle non agréés.

Avis du Comité d'experts spécialisé « Santé animale »

Le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », réuni le 9 janvier 2008 et le 6 février 2008, formule l'avis suivant :

« Contexte et questions posées »

Depuis plus de 30 ans, deux centres d'insémination artificielle fonctionnent en France sans agrément sanitaire, ni autorisation zootechnique. Cette situation ne pouvant perdurer, il est prévu une mise en conformité de ces établissements (agrément), une qualification des taureaux présents dans les deux centres et le contrôle sanitaire des stocks de semence détenus par ces établissements, qu'il s'agisse de doses d'animaux encore présents ou de doses issues d'animaux disparus. Pour réaliser cette mise à niveau, un protocole a été rédigé par le Laboratoire national de contrôle des reproducteurs proposant la marche à suivre pour les animaux et pour les doses de semence, afin de pouvoir leur conférer un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui d'un centre agréé.

Méthode d'expertise

L'expertise collective a été réalisée sur la base d'un rapport initial rédigé par deux rapporteurs du CES SA qui a été présenté, discuté et validé par le Comité d'experts spécialisé « Santé animale », réuni le 9 janvier 2008 et le 6 février 2008.

Elle a été conduite sur la base :

- des documents suivants :
 - la proposition de protocole de qualification des animaux et de réhabilitation des stocks de semence des deux centres en situation illégale rédigée par le Laboratoire national de contrôle des reproducteurs (LNCR/ASCEDIATE) à la demande de la DGAI (version 44) ;
 - l'arrêté ministériel du 11 janvier 2008 ;
 - les textes européens fixant, pour l'espèce bovine, les exigences de police sanitaire applicables aux échanges intracommunautaires et aux importations de sperme (directive n° 88/407/CEE modifiée par la directive 2003/43/CE) et d'embryons (directive 89/556/CEE) ;

- la consultation du directeur du LNCR/ASCEDIATE.
- de la discussion entre les experts du CES SA.

Argumentaire

Le protocole soumis à expertise comporte deux parties, l'une consacrée aux mesures à appliquer sur les animaux présents dans les centres et l'autre portant sur la réhabilitation des semences.

1. Qualification des animaux présents dans les deux établissements

Le protocole suggère de considérer l'ensemble du centre de manière temporaire comme une station de quarantaine, au moins pendant le temps nécessaire à la réalisation des tests et analyses prévus à l'article 13 de l'arrêté ministériel du 11 janvier 2008 (période de 56 jours) et à la condition de répondre aux prescriptions de cet arrêté notamment en matière d'isolement. Cette proposition présente l'avantage de régulariser la situation de manière simultanée pour tous les individus présents sur le site, sans avoir à les déplacer.

Les différents tests et analyses proposés sont conformes au contenu de l'arrêté ministériel précité et n'appellent pas de remarque particulière, sauf pour la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR). Pour cette affection, il est en effet prévu une régularisation de la situation sur la base :

- de deux tests sérologiques réalisés pendant la période de quarantaine ;
- et de la connaissance du statut sanitaire des mères ou de la réalisation d'un test de réactivation virale.

Cette démarche est similaire à celle appliquée aux reproducteurs de centre agréé lors de leur passage en quarantaine (généralement vers l'âge de 12 à 15 mois, parfois 18 mois pour les races allaitantes). Le statut sanitaire conféré par l'application du protocole proposé est donc équivalent tant qu'il concerne des animaux relativement jeunes (moins de deux ans). Pour un bovin plus âgé, la situation est légèrement différente, car les taureaux présents dans les centres agréés sont soumis régulièrement (tous les ans) à des contrôles sérologiques. Ceux-ci apportent une garantie supplémentaire quant à l'absence d'une infection herpétique. Il n'est pas évident que l'on dispose des mêmes informations pour les reproducteurs des deux établissements non agréés. On ne peut raisonnablement pas, avec les deux seuls tests pratiqués lors de la quarantaine, garantir l'absence de portage latent du BHV1, car un bovin infecté peut redevenir séronégatif en cas d'absence de réactivation/réexcrétion. Sans suivi sérologique régulier, il est donc préférable de procéder à un test de réactivation virale (traitement à la dexaméthasone) sur les animaux de plus de deux ans.

En résumé, le protocole proposé permettrait d'apporter un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui des taureaux de centres agréés, dans la mesure où il incluerait le recours à une recherche virologique du BHV1 après traitement à la dexaméthasone, en cas de manque d'informations sur le statut maternel et/ou de données sérologiques régulières (annuelles).

Sur la forme, il serait préférable d'éviter l'usage du terme « *requalification sanitaire* » (dans le titre du 1.1), ce qui sous-entend que les bovins concernés ont été, à un moment donné, déqualifiés ou en suspension de qualification alors qu'en réalité, ils n'ont jamais répondu aux exigences des textes réglementaires concernant les taureaux utilisés en monte publique artificielle. En outre, compte tenu de la parution du nouvel arrêté du 11 janvier 2008 abrogeant celui du 12 juillet 1994 modifié, il conviendra de rectifier les bases réglementaires ainsi que les références aux différents points de l'article 6 qui sont désormais abordés dans l'article 12 du nouvel arrêté.

2 Qualification des semences en stock

Les examens directs prévus dans les textes réglementaires nationaux ou internationaux concernent essentiellement la trichomonose et la campylobactériose. Pour les autres affections transmissibles par le sperme, le contrôle se fait indirectement par le biais de tests

et examens régulièrement (annuellement) pratiqués sur les taureaux donneurs (tuberculination et recherches sérologiques). Dans le cas présent, il s'agit de s'interroger sur la manière de s'assurer de la qualité sanitaire des doses de semence en stock :

- en l'absence de résultats disponibles sur les animaux (bovins n'appartenant plus à l'effectif) ;
- ou à partir des résultats de contrôles réalisés plusieurs mois, voire plusieurs années, après la date de collecte (bovins encore présents et ayant subi les tests et analyses prévus pendant la période de quarantaine cf. supra).

Ces deux situations peuvent être modulées par l'existence de résultats d'analyses effectuées sur les animaux pendant leur séjour dans le centre.

2.1 Cas des stocks de semence provenant d'animaux n'appartenant plus à l'effectif

Cette situation est incontestablement la plus délicate car toutes les investigations doivent être effectuées exclusivement sur des échantillons congelés de sperme. En outre, le protocole suivi doit tenir compte des spécificités de chacune des affections envisagées, notamment en matière de probabilité et de régularité de la présence de l'agent dans la semence. Le développement ne concernera que les animaux pour lesquels les contrôles sanitaires n'ont pas été effectués dans les conditions fixées par l'article 16 de l'arrêté ministériel du 11 janvier 2008.

Sur le plan des maladies animales réputées contagieuses (MARC), le protocole prévoit la réalisation d'un contrôle annuel pour la leucose bovine enzootique et d'un contrôle trimestriel pour la brucellose et la tuberculose. La présence de *Mycobacterium bovis* dans le sperme est essentiellement constatée lors de lésions testiculaires ou épидидymaires. La localisation génitale de la tuberculose est très rare et la situation sanitaire de notre pays vis-à-vis de cette affection est très favorable depuis de nombreuses années. Par conséquent, une recherche de *M. bovis* une fois par période de 12 mois apparaît largement suffisante. En revanche, le rythme trimestriel pour la brucellose peut être maintenu, en raison du risque plus élevé d'excrétion spermatique du germe responsable. Pour la trichomonose et la campylobactériose, il est également indiqué de pratiquer des examens avec une périodicité de 3 mois. Pourtant, les taureaux des centres agréés ne font l'objet que de contrôles annuels, avec des techniques dont les performances sont reconnues comme moyennes. Dans ces conditions, et dans la mesure où, pour les semences à réhabiliter, la PCR sera probablement la technique retenue en raison de ses caractéristiques (meilleure détectabilité et meilleure spécificité), une fréquence trimestrielle des tests ne paraît pas vraiment justifiée. Un rythme annuel des contrôles pour ces deux infections est à même de conférer un niveau de garantie sanitaire satisfaisant.

En revanche, pour l'IBR et la BVD, le raisonnement à tenir est quelque peu différent, en raison des particularités de ces deux infections. La rhinotrachéite infectieuse bovine est une infection herpétique, et qui se caractérise donc par l'installation d'un portage latent à vie et la possibilité de phénomènes de réactivation avec réexcrétion pouvant se produire à tout instant, sous l'effet de stress. La présence du BVDV dans le sperme est, quant à elle, transitoire (infection d'un animal immunocompétent) ou permanente (cas des animaux infectés permanents immunotolérants -IPI- ou d'excréteurs permanents spermatiques). L'examen virologique trimestriel prévu dans le protocole est insuffisant pour dépister une excrétion transitoire des virus de l'IBR ou de la BVD, la virulence de la semence étant dans ce cas fugace (environ 10 à 15 jours). Il est indispensable, pour s'assurer de l'absence de virus BVDV et BHV1 dans le sperme, de procéder à un examen virologique sur chaque éjaculat. Le coût de la réhabilitation des stocks de semence s'en trouvera fortement augmenté et il conviendra alors d'évaluer l'intérêt d'une telle démarche par rapport à la valeur génétique qu'ils représentent.

En résumé, pour assurer un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui des doses collectées en centre agréé, le protocole appliqué aux stocks de semence provenant des animaux n'appartenant plus aux effectifs, devrait prévoir la réalisation des tests de recherche de virus ou de génome viral pour les agents de la rhinotrachéite infectieuse bovine et de la diarrhée virale bovine sur chaque éjaculat. Cette mesure devrait être mise en œuvre en cas de non respect des conditions sanitaires réglementaires (absence de tests sérologiques pratiqués une fois par an).

2.2 Stocks de semence provenant d'animaux encore présents dans les établissements

Pour certaines maladies telles que la leucose bovine enzootique ou la brucellose, le statut du donneur établi pendant la phase de quarantaine (cf. 1.), donc postérieurement à la collecte des doses de semence, est suffisant, même en l'absence d'informations dans le cadre d'un suivi régulier (réglementaire) des troupeaux. Il n'en va pas de même pour la tuberculose, la négativité à une intradermotuberculation ne permettant pas d'exclure une infection, en raison de l'existence du phénomène d'anergie bien connu pour les affections mycobactériennes. Si les bovins n'ont pas été régulièrement contrôlés dans le cadre du maintien de la qualification des cheptels, la réalisation d'une recherche de Mycobacterium bovis sur le sperme une fois par période d'un an permet d'apporter une garantie sanitaire satisfaisante (équivalente à celle d'un centre agréé). Pour la campylobactériose et la trichomonose, un contrôle par période de 12 mois apparaît largement suffisant, d'autant que les animaux auront fait l'objet pendant leur période de quarantaine des trois tests de recherche à une semaine d'intervalle. Pour l'IBR, dans la mesure où les animaux auront été soumis à un test de réactivation virale pendant la période de quarantaine (cf. § 1.), la recherche du virus sur les semences stockées n'est pas justifiée. Si ce test n'a pas été réalisé, cela signifie que les informations collectées sur le statut IBR du donneur auront été jugées équivalentes à celles d'un reproducteur appartenant à un centre de collecte agréé. Il ne sera donc pas nécessaire, dans ce cas, d'effectuer des investigations supplémentaires.

Pour la BVD, les analyses (deux tests virologiques et sérologiques) réalisés pendant la période de quarantaine permettent de vérifier que l'animal testé n'est pas un infecté permanent immunotolérant. En revanche, elles ne peuvent attester que le bovin n'a jamais été en contact avec le BVDV et donc certifier l'absence du virus dans certains éjaculats. L'infection par cet agent provoque, chez l'individu immunocompétent, une séroconversion en 10 à 15 jours, avec persistance des anticorps pendant au moins un an et demi à deux-trois ans, mais il est impossible de déterminer avec précision le moment exact du contact infectant. De plus, il existe des cas (rares) d'individus séropositifs, excréteurs spermatiques permanents. En centre agréé, les animaux sont soumis à une surveillance sérologique annuelle et, en cas de résultat positif, tout éjaculat collecté depuis le dernier test négatif doit être, soit écarté, soit testé en vue de la recherche du virus. En conséquence, la conduite à tenir va dépendre du résultat des tests sérologiques pratiqués au cours de la période de quarantaine et éventuellement durant la vie de l'animal. Si ceux-ci sont favorables (négatifs), toutes les doses collectées durant les 12 mois précédents présenteront un niveau de garantie vis-à-vis du BVDV identique à celui des semences provenant d'un centre agréé. Au-delà de ce délai, et en l'absence de donnée complémentaire, il devrait être pratiqué un examen virologique sur chaque éjaculat. Les mêmes précautions devraient être prises en cas de résultats sérologiques positifs.

En résumé, le protocole proposé permet d'obtenir un niveau de garantie sanitaire des semences équivalent à celui des doses provenant d'un centre agréé à condition qu'une recherche de BVDV soit réalisée sur chaque éjaculat si aucune donnée sérologique ne permet d'écartier un contact avec cet agent. Le rythme des contrôles peut être porté à un an pour les recherches de tuberculose, campylobactériose et trichomonose, sans conséquence sur ce niveau de garantie.

Conclusions et recommandations

Considérant que le risque de diffusion à large échelle d'agents pathogènes par la filière de la monte publique artificielle impose à juste titre un suivi rigoureux et régulier des reproducteurs ;

Considérant que le fonctionnement actuel des centres de La Crespelle (35) et de Montbéliarde Sélection (39) ne correspond pas aux dispositions réglementaires en vigueur (absence d'agrément sanitaire et d'autorisation zootechnique) ;

Considérant que le Ministère de l'agriculture et de la pêche souhaite mettre un terme à cette situation et envisage une procédure de régularisation par application d'un protocole spécifique de qualification des animaux et de réhabilitation des stocks de semence ;

Considérant que les animaux ainsi que les stocks de semence présents dans ces deux établissements ne répondent pas aux exigences sanitaires prévues par l'arrêté ministériel du 11 janvier 2008 ;

Considérant que le but de cette procédure est de conférer un niveau de garantie sanitaire équivalent à celui des doses et des reproducteurs de structures agréées ;

Considérant que les différentes infections susceptibles d'être transmises par la semence peuvent s'accompagner dans certains cas d'une excrétion spermatique transitoire,

le CES SA donne un avis favorable au protocole proposé par le LNCR mais recommande pour conférer un niveau sanitaire équivalent à celui des centres agréés, l'application des mesures suivantes :

- pour la qualification des animaux présents dans les deux établissements, l'emploi d'un test de réactivation virale afin de détecter l'éventualité d'un portage latent du virus IBR chez les animaux de plus de deux ans pour lesquels le statut maternel est inconnu et/ou qui n'ont pas fait l'objet d'un suivi sérologique régulier (annuel) ;
- pour la réhabilitation des stocks de semences provenant d'animaux n'appartenant plus à l'effectif et qui ne répondent pas aux conditions sanitaires réglementaires, la recherche de la tuberculose, de la trichomonose et de la campylobactériose limitée à une fois par période de 12 mois et une recherche du BHV1 et du BVDV sur chaque éjaculat ;
- pour la réhabilitation des stocks de semences provenant d'animaux encore présents dans les deux établissements ayant satisfait aux différents tests et analyses prévus pendant la période de quarantaine, la recherche sur la semence de la tuberculose, de la trichomonose et de la campylobactériose limitée à une fois par période de 12 mois et la recherche du BVDV sur chaque éjaculat, si aucune donnée sérologique ne permet de vérifier l'absence de contact avec cet agent.

Mots clés : protocole, qualification, semence, taureaux, centres d'insémination »

Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments

Tels sont les éléments d'analyse que l'Afssa est en mesure de fournir en réponse à la saisine de la Direction générale de l'alimentation sur une demande d'avis sur l'évaluation d'un protocole de qualification des taureaux et de réhabilitation des stocks de semence de centres d'insémination non agréés.

La Directrice générale de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND