

LA LETTRE DE LA CRYOBANQUE NATIONALE

NUMERO 18

CONTACT: Secrétariat exécutif de la Cryobanque nationale

Delphine DUCLOS, Institut de l'Élevage, Département Génétique 149 rue de Bercy 75595 Paris Cedex 12

Tél.: 05 61 75 44 59 / 06 98 19 88 66 – méil: delphine.duclos@idele.fr

Site Internet: <http://www.cryobanque.org>

Edito de Michèle Tixier-Boichard (INRAE), présidente de la Cryobanque

L'année 2024 a commencé sur les chapeaux de roue avec l'audit de certification le 17 janvier. Je tiens à saluer la motivation et la qualité du travail réalisé par la secrétaire exécutive, Delphine Duclos, et par le LNCR. David Briganti a notamment réalisé une analyse de risques exhaustive dont l'importance a été soulignée par l'auditeur. C'est une nouvelle étape dans le développement de la cryobanque, qui entraîne un suivi régulier des indicateurs et des actions décidées par le conseil de groupement. La certification est au service de la stratégie de la cryobanque et non l'inverse.

En termes de stratégie, la méthode d'élaboration du plan stratégique national de cryoconservation demandé par le ministère chargé de l'agriculture a été définie lors d'une réunion spécifique tenue le 17 juin 2024. L'avis des groupes espèces de l'infrastructure CRB-Anim a été sollicité pour identifier les manques, les verrous éventuels et établir des priorités. Chaque groupe a la possibilité d'inviter des experts des filières pour consolider ses recommandations. Ce plan est lancé dans le contexte de problèmes sanitaires majeurs susceptibles de mettre en danger des races patrimoniales. La cryobanque est une assurance et une ressource disponible pour aider les plans de gestion des races sur pied. L'année 2024 a aussi vu le lancement par la FAO de la 3^{ème} enquête sur l'état mondial des ressources zoogénétiques. Depuis la 2^{ème} enquête, les collections de la cryobanque ont continué de s'enrichir, notamment grâce au financement du PIA CRB-Anim jusqu'en 2022, et son bilan est très positif, même si des lacunes subsistent.

Qui dit enrichissement des collections dit aussi gestion des données associées. La précédente lettre vous annonçait la soumission d'un projet au GIS IBISA. Un financement de 30 k€ a été attribué afin de doter le site primaire d'un nouvel outil informatisé pour la gestion des cuves, et de proposer cet outil aux sites secondaires qui en feront la demande. L'harmonisation des outils de gestion entre sites facilitera la communication entre eux.

Il ne suffit pas d'enrichir les collections mais il faut aussi pouvoir les mobiliser pour aider la gestion de la diversité des races. Cette lettre présente des exemples européens qui montrent que les cryobanques sont bien des entités dynamiques, et ce d'autant plus que leurs collections sont riches et représentatives des populations sur pied.

Laurence Guilbert-Julien a également participé à une « Ad Hoc Action » du point focal européen des ressources zoogénétiques sur l'application de la réglementation sanitaire européenne applicable aux cryobanques pour aider les Etats à la mettre en place.

Enfin, une délégation de l'académie d'agriculture chinoise a visité le site primaire de la cryobanque le 30 mai 2024, pour s'informer sur l'organisation de la cryoconservation des ressources génétiques animales en France, en vue d'un projet similaire en Chine.



OBTENTION DE LA CERTIFICATION ISO 9001 : 2015 POUR LA CRYOBANQUE NATIONALE

Voilà plusieurs années que la Cryobanque Nationale avait commencé à mettre en place les éléments nécessaires pour obtenir une certification de système de management de la qualité (SMQ). Etant un CRB multisite, le choix avait été fait depuis le début de travailler à la certification des collections du site primaire du LNCR à Maisons-Alfort uniquement ainsi que la partie « secrétariat exécutif » effectué par l'Institut de l'Élevage. En effet, une certification pour une structure multisite demande un audit sur chacun des sites concernés ce qui n'est pas envisageable à ce jour. De plus, seules les collections des espèces dites réglementées (bovin, ovin, caprin, porcin, équin) sont pour le moment dans le périmètre de certification car notre système s'appuie sur la législation existante pour la collecte de matériel reproductif cryoconservé en vigueur pour ces espèces. Une telle législation n'existant pas encore pour les autres (espèces aquacoles, avicoles et lapins en particulier), on ne peut justifier l'entrée en cryobanque que de matériel de statut considéré comme équivalent à une collecte en centre agréé mais ce statut n'est pas attesté par un contrôle réglementaire. Le périmètre de la certification concerne donc la partie secrétariat exécutif qui constitue le « processus pilotage » et la gestion des collections du sites primaires pour les espèces réglementées qu'on appelle « processus gestion des ressources biologiques ».



Photo 1 : David Briganti travaillant dans une cuve de la Cryobanque (Crédit-photo : D Duclos-Idele)

Une partie du travail avait été réalisée par Lise Jacqueroix durant son apprentissage en 2016. Elle avait notamment rédigé un grand nombre de documents décrivant les procédures en place. Néanmoins, plusieurs années ont ensuite été nécessaires pour réenclencher la dynamique sur cette thématique et réadapter le schéma prévu au départ à la suite d'un changement de norme de certification.

L'arrivée à la direction du LNCR de Laurence Guilbert-Julien depuis 2021 ainsi que l'appui de l'animatrice qualité de l'infrastructure RARE, Mélanie Martignon (INRAE), depuis 2022, ont été les facteurs déterminants pour parvenir à cette certification en janvier 2024. En effet, l'implication de Laurence Guilbert-Julien sur cette thématique a permis avec David Briganti, le gestionnaire des collections de la Cryobanque au LNCR, de finaliser la démarche engagée et de rédiger les derniers documents nécessaires à l'obtention de la certification. De son côté, Mélanie Martignon a épaulé Delphine Duclos, secrétaire exécutive et de ce fait, nouvelle responsable qualité de la structure, d'adopter les bonnes méthodes de travail et là encore de revoir la documentation

qualité préexistante afin de ne garder que les éléments utiles à la démarche. Le soutien et la persévérance de la présidente de la Cryobanque Nationale, Michèle Tixier-Boichard ont également été déterminants puisque les réflexions ont débuté grâce au projet CRB-Anim qui prévoyait la certification de tous les CRB du réseau. De plus, la Cryobanque Nationale est membre de l'infrastructure RARE, et s'engage à ce titre à être labellisée CRB par le GIS IBISA et certifiée pour une norme de management de la qualité telle que ISO 9001-2015.

La certification a été obtenue au début de cette année pour 3 ans. Un audit de suivi annuel est obligatoire pour suivre le bon fonctionnement de notre système de management de la qualité.

En conclusion, même si la démarche fut longue et laborieuse, elle a fini par aboutir. Cette certification est pour nous un gage du sérieux du travail effectué au sein de la Cryobanque. La formalisation des processus et la démarche d'amélioration continue demandée par une certification ont permis aussi de clarifier notre fonctionnement ce qui est bénéfique dans la gestion globale de la Cryobanque Nationale.

La promotion du SMQ au niveau européen

Une ad hoc action (AHA - étude ponctuelle) a débuté au niveau du [Point Focal européen \(ERFP\)](#) afin d'utiliser l'outil d'auto-évaluation de la gestion de la qualité des biobanques animales développé au cours du projet H2020 IMAGE. Pour cela, 3 experts en SMQ de 3 CRB européens vont aider une dizaine de biobanques volontaires à réaliser cette auto-évaluation d'abord en webconférence. Le travail sera ensuite approfondi pour 5 biobanques par une visite sur site d'un des experts afin d'aller plus loin que l'enquête préalable et de proposer des pistes d'amélioration ou des solutions aux biobanques en court de mise en place d'un système de management de la qualité et, peut-être à plus ou moins long terme, l'obtention d'une certification.

Cette AHA est soutenue par le réseau EUGENA (European Genebank Network for Animal Genetic Resources) qui promeut lui aussi la mise en place de démarche qualité au sein des biobanques.

La Cryobanque Nationale est parmi les premières biobanques en Europe à obtenir une certification reconnue pour son activité de conservation et distribution de matériel reproductif pour la préservation des espèces d'élevage.



LA COMPLEMENTARITE ENTRE CONSERVATION EX SITU ET IN SITU ILLUSTREE PAR DES EXEMPLES EUROPEENS

Sources : présentations réalisées lors du meeting conjoint entre les groupes de travail in situ et ex situ de l'ERFP en avril 2024 – Disponible [ICI](#)

Dans la Lettre 15, Alicia Jacques et Gwendal Restoux (INRAE) avaient présenté le cas de NAIF, taureau de race Abondance dont la semence cryoconservée avait été réutilisée une vingtaine d'année plus tard pour réintroduire de la diversité génétique au sein de cette population en sélection. Cet exemple a été présenté lors de la réunion des groupes de travail européens de l'ERFP lors d'une session commune entre les groupes de travail « ex situ » et « in situ ». Plusieurs autres pays ont également présenté des illustrations de complémentarité entre la conservation ex situ (cryoconservation) et in situ (en élevage) dont voici un résumé.

Le CGN (Center for Genetic Resources), la cryobanque nationale des Pays-Bas pour les animaux d'élevage

Les objectifs affichés par cette cryobanque indiquent clairement un souhait de complémentarité entre la gestion des races et la cryoconservation de matériel reproductif. Il est en effet indiqué que le CGN a pour ambition de :

- garantir la diversité génétique des races à faibles effectifs et des races plus communes ;
- utiliser le matériel génétique pour soutenir les programmes de sauvegarde des races à faibles effectifs ;
- permettre une sécurité en cas de dangers telles que la perte de races en raison d'épizooties ;
- mettre à disposition le matériel pour la recherche et la caractérisation génétique des races.

Son rôle de fournisseur de matériel génétique pour venir en appui aux programmes de préservation des races est facilité par l'existence d'une dérogation qui autorise la cryobanque à réaliser des collectes de taureaux pour l'IA en ferme. Ainsi, le CGN est impliqué avec les associations d'éleveurs et les éleveurs dans le choix des futurs taureaux d'IA et il assure leur collecte.

Pour toutes les races en danger, le CGN cherche à étendre les collections des races pour lesquelles la variabilité génétique présente est insuffisante, et au contraire, encourage l'utilisation du matériel en stock quand celui-ci est plus varié que celui de la population sur pied. Cela a par exemple été le cas pour la race locale bovine « Groningen White Headed » où un programme a été mis en place pour d'abord utiliser le matériel génétique des mâles en cryobanque les plus originaux sur les meilleures vaches, puis sélectionner des descendants mâles issus de ces inséminations pour la collecte en centre d'IA.



Photo 2 : Vaches de race Groningen White Headed (©CGN)

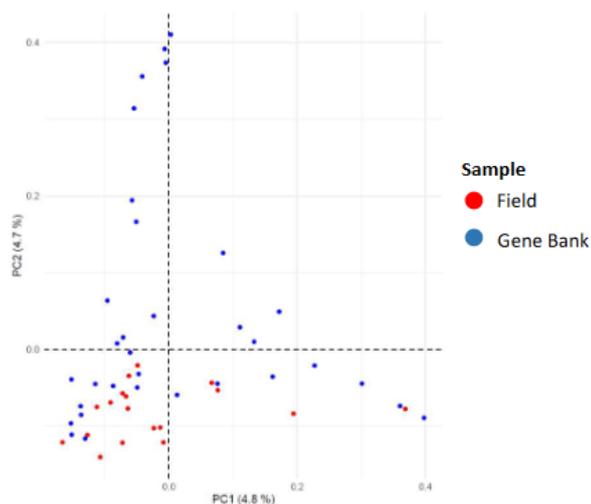
La préoccupation d'avoir des collections aussi représentatives et variées que possible

La volonté d'avoir en collection une diversité génétique aussi large que possible a également été noté par plusieurs autres pays.

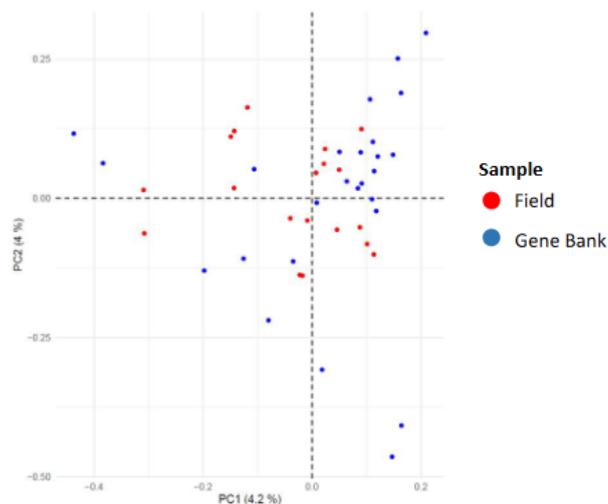
Le " Norwegian Genetic Resource Centre" par exemple compare depuis 2019 pour les races locales bovines de Norvège l'appariement entre un possible futur mâle d'IA et les taureaux déjà en collection, à l'appariement moyen des mâles en cryoconservation entre eux afin de déterminer si ce nouveau mâle apportera de la diversité génétique. Ce futur mâle ne sera collecté que s'il apporte une variance génétique positive au stock existant.

En Allemagne, des analyses génomiques ont été effectuées sur deux races locales ovines (East Frisian milk sheep et Bentheimer Landschaf) afin de comparer la diversité génétique en élevage à celle des collections cryoconservées.

East Frisian milk sheep



Bentheimer Landschaf



Graphique 1 : diversité génomique de 2 races ovines allemandes selon l'origine des animaux : cryobanque ou élevage

Ces informations ont ensuite été utilisées pour choisir les animaux à collecter en ciblant les individus les moins apparentés à ceux déjà en collection.

L'utilisation de semences anciennes de boucs pour la race caprine laitière suédoise

Afin d'éviter l'augmentation de la consanguinité dans cette population, une autorisation d'utilisation de semences de boucs collectés en 2000 a été accordée en 2018 à l'association d'éleveurs par l'Office suédois de l'agriculture. En août 2023 notamment, 5 chèvres ont été inséminées avec ce matériel mais seulement 2 d'entre elles ont mis bas un chevreau pour l'une et une chevrette pour l'autre. Ce faible taux de succès, comparable à celui des années précédentes, s'explique sans doute par la concentration spermatique des paillettes qui n'était que de 75 millions de spermatozoïdes par paillette en 2000 pour une insémination directement dans l'utérus. La technique



Photo 3 : Collecte d'un bouc de race laitière suédoise
(©Swedish Goat Breeders Association)

d'insémination utilisée actuellement se fait en fait dans le col de l'utérus et est moins précise. Une seconde insémination est pratiquée 12 heures après la première afin de maximiser les chances de réussite.

La semence de trois boucs collectés en 2005 pourra également être utilisées mais il faut au préalable vérifier le statut CAEV de celle-ci car cela n'avait pas été analysé à l'époque.

De nouvelles collectes de boucs ont également été faites en 2021, financé par l'Office suédois de

l'agriculture qui assure aussi le stockage en cryobanque. La concentration de ces paillettes a été fixée à 200 millions de spermatozoïdes/paillette.

La problématique de complémentarité entre la cryoconservation de matériel reproductif pour les races à faibles effectifs et la gestion des programmes de sauvegarde en élevage est également un sujet d'intérêt pour le Centre de référence européen pour les races en danger (EURC-EAB). Il s'est en effet donné pour mission notamment de promouvoir l'intégration de la cryoconservation comme outil au service des programmes de préservation des races en danger.



**EUROPEAN
REFERENCE CENTRE FOR
ENDANGERED
ANIMAL BREEDS**

En conclusion, l'ERFP et l'EURC-EAB vont proposer des conseils et recommandations au niveau européen afin d'encourager l'utilisation de la cryoconservation au service des programmes de sauvegarde des races en danger. Les présentations faites lors de cette session en sont des illustrations.

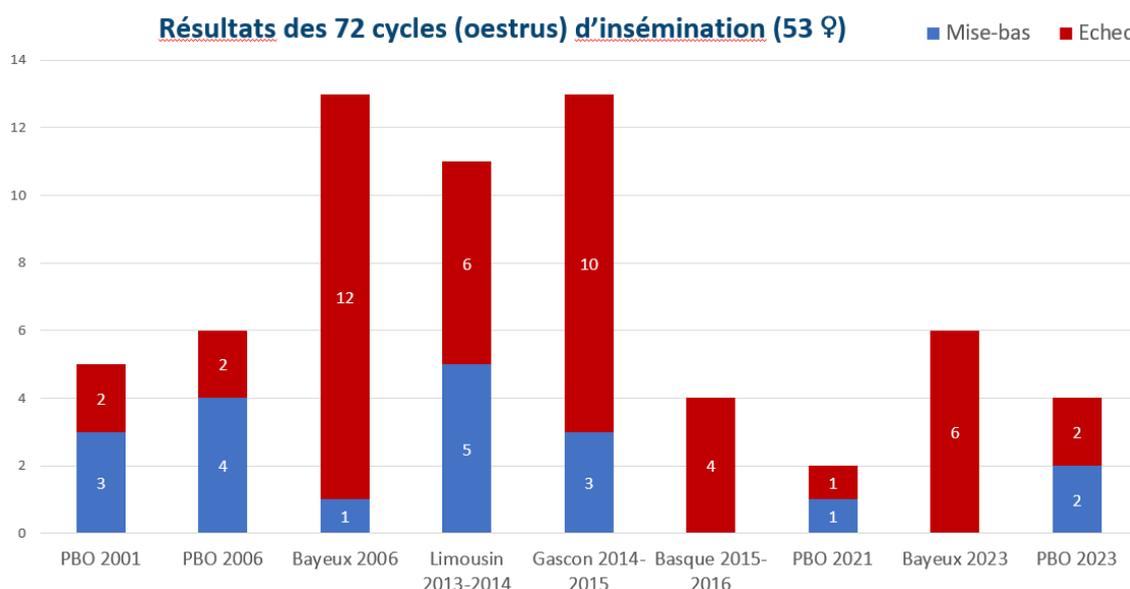
DECONGELATION DE SEMENCE PORCINE : NOUVELLES NAISSANCES DE PORCELETS PBO

Marie-José MERCAT et Herveline LENOIR (IFIP-Institut du Porc)

Fin janvier 2024, deux portées totalisant onze porcelets Porc Blanc de l'Ouest (PBO) sont nées après insémination avec de la semence congelée de la Cryobanque Nationale : sept mâles et quatre femelles. Parmi eux, trois mâles et deux femelles ont été placés comme reproducteurs dans quatre élevages PBO. A l'automne 2024, deux mâles, dont un issu du programme de décongélation, entreront au centre de collecte d'INRAE GENE-SI pour que leur semence soit congelée et stockée en Cryobanque Nationale.

Ces congélations de semence clôtureront les activités que l'IFIP-Institut du porc et INRAE avaient prévues dans le cadre de CRB-Anim. C'est l'occasion de dresser le bilan du programme pour les cinq races locales porcines avec de la semence en Cryobanque. En dix ans, 39 truies ont été inséminées grâce à CRB-Anim, certaines plusieurs fois (48 cycles d'insémination au total). Quinze portées et près de 100 porcelets sont nés et, d'ici quelques mois, au total six nouveaux donneurs de matériel auront été ajoutés aux collections de la Cryobanque Nationale.

Les performances de reproduction observées sont très inférieures à celles des races en sélection avec des semences congelées. Toutefois, les inséminations en semence congelée pratiquées avant CRB-Anim laissaient déjà penser que les résultats pouvaient être très variables d'une race à l'autre. CRB-Anim l'a confirmé. Depuis 2001, avec 58% de taux de mise-bas (MB) et 6,8 porcelets nés vivants (NV) en moyenne, la race PBO présente les meilleures performances, suivie par les races Limousin (46% MB et 5,3 NV) et Gascon (23% MB et 5,0 NV). A l'inverse, aucune naissance n'a été obtenue dans CBR-Anim pour les races Bayeux (précédemment, seule une portée de 2 NV était née en 2006) ou Basque. Ces deux races présentent la consanguinité génomique la plus élevée.



Graphique 2 : résultats des inséminations réalisées en races locales porcines

En l'état des résultats obtenus, les collections de semence de la Cryobanque Nationale ne seraient pas suffisantes pour reconstituer les races locales porcines si elles disparaissaient.

Néanmoins, la Cryobanque Nationale est un outil précieux de gestion de la variabilité génétique des races locales porcines. Ces populations présentent des niveaux de consanguinité élevés car il ne restait que quelques reproducteurs au démarrage des programmes de conservation (1981). Les coefficients de parenté entre les parents des deux dernières portées PBO (pères Océan né en 1998 et Printemps né en 1999, mères nées en 2022) étaient faibles : 5,4% et 6,0% respectivement. Les issus du programme de décongélation présentent ainsi des consanguinités très inférieures au niveau moyen de la race (13%).

En conclusion, Les éleveurs sont motivés pour poursuivre l'utilisation des semences congelées. Toutefois, des recherches restent nécessaires pour mieux comprendre les raisons des échecs d'insémination et améliorer les résultats. Des approches complémentaires au stockage de semence sont également à l'étude.

Ces résultats sont le fruit d'un partenariat IFIP-INRAE- LIGERAL - organisations d'éleveurs et Cryobanque Nationale

Avec le soutien de CRB-Anim, financé par l'ANR (ANR-11-INBS-0003) lors du Programme Investissement d'Avenir.



Photo 4 : Porcelets PBO nés en janvier 2024 du programme de décongélation (©IFIP - Institut du Porc)