

Le clonage des animaux de ferme à des fins alimentaires*

Jean-Paul Renard
Académie d'Agriculture- section 3**

*Une version courte de cet article a été publiée dans la Revue mensuelle de l'Académie d'Agriculture de France en Janvier 2016.

** contact : jean-paulrenard@orange.fr

Introduction

Le 27 février 1997, la revue *Nature* annonce la naissance sur notre planète d'un troupeau de clones animaux (« a flock of clones »). Elle sacrifie alors délibérément au sensationnel pour rendre compte de la naissance du premier mammifère issu de la technique de transfert de noyaux cellulaires, la brebis Dolly (Wilmut et al., 1997). Jusqu'alors le terme de clone était utilisé par les biologistes pour désigner, collectivement, la descendance génétiquement identique d'un seul être vivant après reproduction asexuée. Ce mode de reproduction est courant chez les procaryotes, fréquent chez les plantes, de nombreux insectes, plusieurs classes de poissons et quelques espèces d'oiseaux et de reptiles. Mais pas chez les mammifères, où le clonage était considéré jusqu'alors, sur la base de données d'embryologie fondamentale, comme « biologiquement impossible ». Le dogme de l'irréversibilité du temps biologique venait d'être brisé. Ce dogme était fondé sur l'idée qu'on ne pouvait pas reprogrammer la succession d'évènements biologiques complexes qui permettent à un génome unique, celui de l'œuf fécondé, de gouverner la formation d'un organisme adulte puis son vieillissement. L'annonce de la naissance du mouton Dolly eut d'emblée des répercussions considérables dans le monde scientifique et dans les débats sur les relations entre science et société.

Au-delà de l'interdit moral du clonage humain que suscita immédiatement l'annonce de cette nouvelle, le fait que les premiers mammifères clonés aient été obtenus d'abord avec des espèces d'élevage, ovins et bovins, puis et seulement un an plus tard, avec des animaux de laboratoire (la souris), posa d'emblée la question de l'utilisation des clones et de leurs productions (lait, viande) dans la chaîne alimentaire. Les interrogations relatives à l'apport des clones à l'élevage, à l'innocuité des aliments provenant d'animaux clonés, à l'acceptation de ces nouveaux produits par les consommateurs, à la traçabilité des aliments, lait, viande, issus d'animaux clonés, au statut moral de l'animal d'élevage, furent très vite débattues dans plusieurs instances européennes (Commission, Parlement) et internationales (Organisation Mondiale du Commerce, OMC).

I - L'utilisation du clonage en élevage : où en est-on aujourd'hui ?

Plusieurs applications possibles mais toujours peu d'animaux clonés

La possibilité de reprogrammer l'ensemble des activités d'un génome, c'est-à-dire d'obtenir un animal normalement développé, fertile et de même longévité que ses congénères issus de reproduction sexuée, est maintenant bien établie chez la plupart des animaux de ferme y compris le cheval (en 2003), mais aussi chez le singe rhesus (en 2000), le chat (en 2001), le rat (en 2002), le furet (en 2004), le chien et le loup (en 2005), soit au total chez une trentaine d'espèces. Quelle que soit l'espèce, c'est le même principe technique qui est mis en œuvre [figure 1] Il implique la mise en culture d'ovules et de cellules donneuses de noyaux avant leur micromanipulation sous microscope.

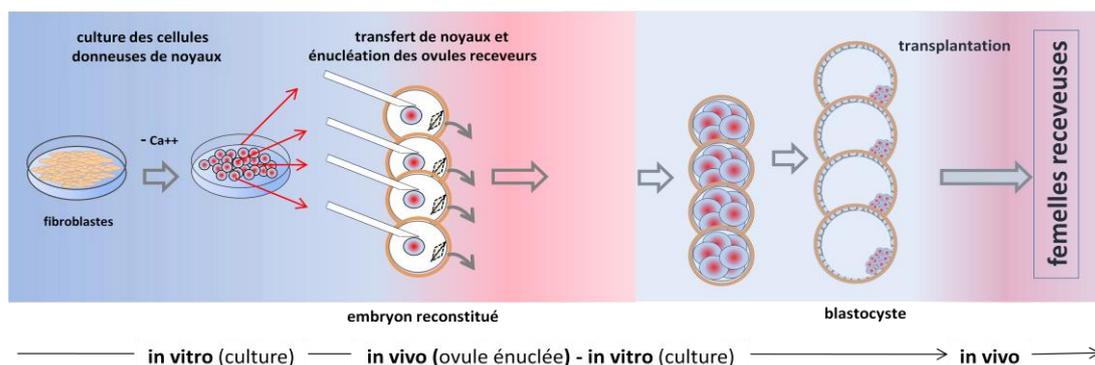


Figure 1 - la technique du clonage induit des modifications drastiques du microenvironnement d'un génome au début du développement de l'embryon.

Le clonage est considéré comme particulièrement intéressant en production laitière bovine pour multiplier les meilleurs reproducteurs mâles ou femelles. Les avantages commerciaux, tels que le remplacement par son clone d'un reproducteur accidenté, la constitution rapide d'un troupeau d'animaux aux performances homogènes, l'extension d'un marché de reproducteurs utilisés en monte naturelle (race à viande) ou pour des activités sportives (hippisme, rodéos), sont aussi utilisés pour valoriser la modernité des élevages les plus ambitieux (voir par exemple le site de la société de Biotechnologies américaine Viagen <http://www.viagen.com/our-services/cloning.php>). C'est surtout le cas aujourd'hui sur l'ensemble du continent américain et plus récemment en République Populaire de Chine (Shukman D, 2014) où la pratique du clonage est placée en perspective d'industrialisation.

En Europe toutefois, et notamment en France, l'attitude vis-à-vis de cette technique est beaucoup plus circonspecte (voir par exemple Conseil National de l'Alimentation 2008). Seuls quelques laboratoires de recherche publique, notamment en France à l'INRA de Jouy en Josas ont continué à utiliser cette technique à des fins de recherche fondamentale [figure 2].



Figure 2 - Vache laitière et ses 17 clones âgés de 2 ans à 8 mois. Ces animaux produits dans les installations du centre INRA de Jouy en Josas ont permis de montrer que les clones bien que génétiquement semblables sont épigénétiquement différents.

Le coût de production technique d'un clone bovin, estimé à partir de données de la recherche est de l'ordre de 12 000 à 15 000 €. Ce coût, élevé, est considéré comme déjà compétitif par des sociétés privées

américaines comme Trans Ova Genetics, ou brésiliennes comme In Vitro Brasil Clonagem Animal S/A. Pour ces sociétés, la vente de semence ou d'embryons de génotypes exceptionnels peuvent rapporter trois à quatre fois ce prix dès la première année de production du clone. Le Comité général de la coopération agricole et le Comité des organisations professionnelles agricoles (COPA-COGECA) notent toutefois qu'aux Etats-Unis le prix de vente des embryons d'un taureau de haute valeur génétique est le même que celui de son clone (8 000 à 16 000 €) pourtant produit à un coût plus élevé. Le prix de vente d'un étalon cloné peut atteindre 650 000 € et sa semence entre 450 et 700 € selon la valeur commerciale de l'animal.

Toutefois, tant pour le bovin que pour le porc, le nombre de clones nés dans le monde, plus de 15 ans après l'annonce de la naissance du mouton Dolly, est jusqu'à maintenant resté faible, de l'ordre de quelques milliers. Pour les autres espèces, dont l'espèce équine, il est tout au plus de quelques dizaines. Plusieurs raisons expliquent cette situation.

Une technologie encore immature

La première raison est d'ordre technique. Le taux de naissance d'animaux viables, c'est-à-dire de clones se développant en adultes fertiles, est de l'ordre de 6 à 15 % chez le bovin alors que ce taux est de 45 à 60% après transfert d'embryons non clonés issus de fécondation *in vitro* ; soit une efficacité du clonage par rapport à celle de la technique maintenant classique du transfert d'embryons de 13 à 25 % chez cette espèce. L'efficacité chez le porc est similaire, de l'ordre de 6% à 15% (EFSA 2012) mais nécessite le transfert d'un plus grand nombre d'embryons clonés par femelle receveuse. Pour les autres espèces les données publiées par des sociétés privées peuvent faire état de taux de succès élevés, mais à partir de seulement quelques naissances. La figure 3 ci-dessous donne un ordre de grandeur de l'efficacité actuelle du clonage chez les principales espèces de mammifères d'élevage.

espèce	% par embryon reconstitué	% par embryon transplanté
bovin	1.7	11.5
équin	0.8	19
porcin	0.3	5–13
caprin	6	6
ovin	0.3	3.4–5.9

Figure 3 - Taux (%) d'animaux vivants après clonage (Keefer 2015)

Avec un taux de naissance après clonage quatre à huit fois plus faible que celui obtenu après transfert d'embryons produits par fécondation *in vitro*, le coût de production de clones ne peut que rester élevé.

D'autres techniques de reproduction, comme la fécondation *in vitro*, sont restées pendant plusieurs années elles aussi très peu efficaces avant de connaître un développement rapide. Alors que la faisabilité de la fécondation *in vitro* chez les mammifères était démontrée dès 1954 à l'INRA par Charles Thibault, les tous premiers succès chez les bovins datent seulement de 1982 soit... 33 ans plus tard ! Et il faudra encore près de 15 ans, avec l'aboutissement de travaux associant chercheurs et professionnels de l'élevage, pour que cette technique de reproduction prenne son essor avec aujourd'hui plus de 4 500 000 embryons bovins issus de fécondation *in vitro* transplantés dans des femelles receveuses.

Un obstacle biologique inattendu à lever

La seconde raison est plus fondamentale. Contrairement aux techniques de reproduction sexuées largement utilisées en élevage (insémination artificielle, transfert d'embryons produits *in vivo* ou *in vitro*, etc...),

Le clonage induit fréquemment l'apparition de pathologies placentaires et de mortalités fœtales tardives, qui peuvent être sources de souffrance pour la mère et le jeune à la naissance

Les données chez le bovin où la durée de la gestation est longue (9 mois) illustrent bien ce phénomène : à la fin du premier trimestre, vers 90 jours, le placenta apparait souvent peu vascularisé, chacune de ses unités (les placentomes) restant de petite taille par rapport aux gestations naturelles. Les fœtus qui poursuivent leur développement bénéficient du phénomène de croissance compensatrice, bien connu des physiologistes, que l'on peut interpréter comme une réaction de l'organisme maternel pour assurer coûte que coûte sa fonction principale, la régulation de sa capacité d'échanges sanguins avec le fœtus. Mais l'efficacité de ces échanges nutritionnels est souvent réduite par l'apparition d'un œdème des membranes fœtales (hydroallantoïis) et une croissance excessive du placenta (Constant et al., 2006). Une désynchronisation entre l'apport maternel et les besoins du fœtus s'installe à l'origine de l'apparition de diverses physiopathologies.

Le fœtus s'adapte mais au prix le plus souvent d'une activité cardiaque intense, d'une hypertension rénale, d'une croissance pondérale trop rapide, d'une accumulation de lipides dans les tissus hépatiques (stéatose). C'est apparemment une capacité réduite à produire du glucose endogène (gluconéogenèse) qui dévie les substrats gluconéogéniques vers le stockage de lipides et compromet la régulation de la glycémie en altérant la gluconéogenèse (syndrome dit « du gros veau »).

Ces dérégulations physiologiques ont une origine épigénétique : elles mettent en jeu les mécanismes moléculaires qui, sans modifier les séquences d'ADN du génome, permettent d'ajuster le déroulement du programme génétique de développement à son environnement (Jammes et Kiefer, 2013). Elles révèlent l'origine développementale de la santé et des pathologies de l'adulte, un nouveau champ de connaissances en médecine humaine et vétérinaire (voir Chavatte-Palmer et al., 2012). Avec les clones, c'est la fréquence de ces pathologies qui est frappante même si, à partir d'un an, le taux de mortalité résiduelle n'est pas différent de celui des animaux conventionnels [figure 4].

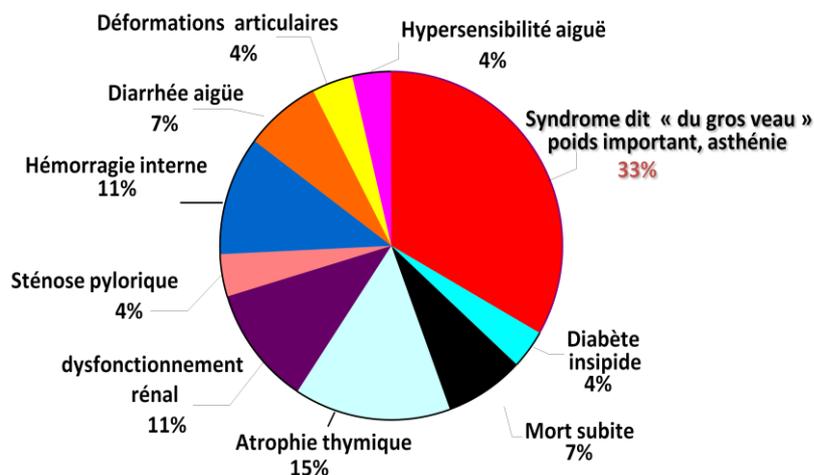


Figure 4 - Principales causes de mortalité des clones bovins à la naissance et leurs fréquences respectives en pourcentage du taux de mortalité global (Chavatte-Palmer et al. 2004)

Les dysfonctionnements placentaires peuvent conduire à la naissance de veaux dont le poids est le double de la normale (jusqu'à 90 kg au lieu de 45 kg !), ce qui implique le recours à une césarienne mettant en danger la vie de la mère porteuse [figure 5]. Mais les clones qui survivent à l'âge de 10 à 12 mois ne sont pas différents, en termes de statut sanitaire, croissance, fertilité, niveau de production (lait et viande) des animaux issus de reproduction sexuée. Ils ont seulement pu traverser une période d'adaptation que plus de la moitié

d'entre eux ne franchiront pas. Et les taux de mortalité des descendants de clones (obtenus après reproduction sexuée) ne diffèrent pas de ceux d'animaux non clonés. Mais aucune justification utilitaire ne peut s'affranchir du risque de souffrance, aujourd'hui trop élevé, que ferait courir tant au jeune veau qu'à sa mère porteuse le recours au clonage en routine dans les élevages.



Figure 5 : poids 24h après la naissance de deux clones bovins, nés le même jour de 2 génisses porteuses de même âge, et issus de 2 noyaux de fibroblastes de la même mère donneuse de noyaux, du même lot de culture cellulaire et de la même série de transfert de noyaux dans deux ovules cultivés in vitro (clonage). Ces deux veaux se sont développés en adultes fertiles.

Clonage animal et éthique.

La troisième raison qui limite le développement du clonage est donc d'ordre éthique. Les devoirs de l'homme envers les animaux d'élevage imposent de respecter leur bien-être, objet de longue date d'une attention particulière (voir Brambell, 1965). Ils exigent d'abord de ne pas les faire souffrir sciemment. Avec les clones, un suivi vigilant des mères porteuses et des fœtus clonés dès la fin de la gestation, puis des clones pendant les premiers mois qui suivent la naissance, permet de réduire significativement le taux de mortalité. La production d'animaux clonés peut donc être compatible avec le respect du bien-être animal. Mais respecte-t-elle pour autant l'éthique de l'élevage ?

La distinction entre éthique de l'animal en élevage et éthique (Denis 2015) de l'élevage prend en compte, au-delà de la prévention de la souffrance animale et de la protection de son bien-être, un vaste champ de questions relatives à l'environnement, la macro-économie, la sociologie, et la politique de l'élevage des animaux de ferme. L'éthique de l'élevage se construit face aux excès de pratiques industrielles. La pratique du clonage peut conduire à de tels excès, mais la technique n'est pas directement en cause. Pourtant c'est elle qui d'emblée, avant toute application, fait l'objet d'un rejet pour des raisons éthiques.

Le mouton Dolly y est pour beaucoup et à deux titres :

- premier clone de mammifères, il s'imposa en tant qu'animal de ferme là où en attendait la souris ou le crapaud comme le symbole des avancées « fulgurantes » d'une recherche zootechnique devenue maîtresse des fonctions animales y compris et surtout de la fonction de reproduction. Car c'était d'abord un objectif finalisé qui animait les chercheurs d'Edimbourg lorsqu'ils s'engagèrent dans le clonage : utiliser la technique de transfert de noyaux issus des premières cellules encore non différenciées de l'embryon pour produire plus rapidement que par croisements quelques animaux à partir d'une brebis transgénique fondatrice exprimant dans son lait des molécules d'intérêt thérapeutique pour l'homme;

- premier animal à démontrer que le dogme fondamental de l'irréversibilité du temps biologique était révolu, Dolly mettait l'homme face à la maîtrise de son ontogenèse. L'histoire retiendra de la première année de « l'ère Dolly » la tornade médiatique exprimant l'inquiétude mondiale face à l'irruption d'un mammifère cloné sur notre planète, la saisine quasi immédiate de nombreuses instances nationales d'éthique (par exemple Jacques Chirac en France, Bill Clinton aux USA), alors que la communauté scientifique s'interrogeait encore sur la réalité même de Dolly, confirmée seulement un an plus tard [Figure 6]. L'éthique allait plus vite que la science, un mouton pouvait redessiner l'homme !

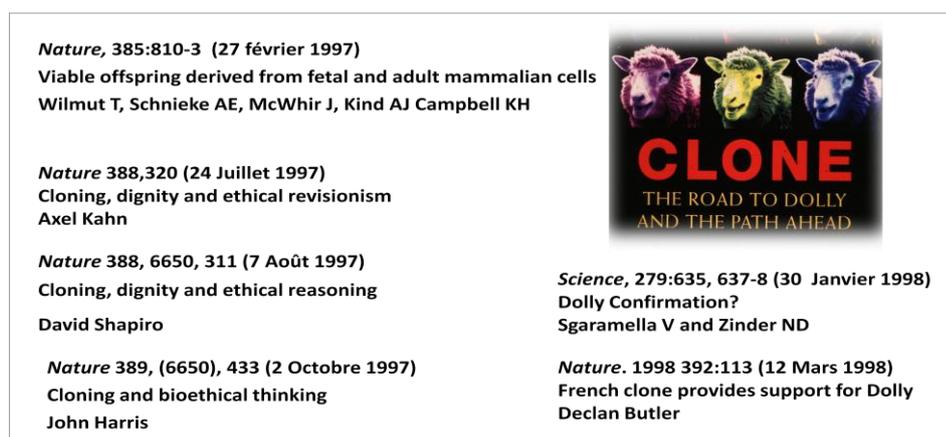


Figure 6 – Après l'annonce de la naissance du mouton Dolly, le débat éthique précèdera l'expression de doutes du milieu scientifique jusqu'à la confirmation un an après que le clonage chez les mammifères était bien devenu une réalité.

Aujourd'hui, « l'horreur du clonage humain », pour reprendre l'expression du philosophe allemand Jürgen Habermas, est présente dans les discussions sur le clonage animal. Le symbolique, l'imaginaire, le fantasmatique continuent à prendre le pas sur l'analyse de l'origine et du contexte économique et social de cette découverte (Renard, 1999).

II - Les produits alimentaires issus d'animaux clonés : un enjeu aujourd'hui plus politique que commercial

La question de l'introduction dans l'alimentation des produits issus d'animaux clonés ou de leurs descendants a commencé à être examinée en Europe à partir de 2007 dans le contexte plus général d'une révision du règlement européen sur l'autorisation et l'utilisation de nouveaux aliments et ingrédients (règlement CE n° 258/97). Cette révision concernait les aliments traditionnels en provenance de pays tiers, les critères à remplir pour les besoins de l'évaluation et de la gestion des risques, ainsi que la procédure d'autorisation des nouveaux aliments. Ceci conformément au traité sur le fonctionnement de l'Union Européenne (traité de Lisbonne). Il y avait une certaine urgence à considérer les produits alimentaires issus de clones, car à cette date l'agence américaine de contrôle des aliments, la FDA (Food and Drug Agency) venait d'admettre, dans un document finalisé en janvier 2008, l'usage du clonage des animaux de ferme pour la production d'animaux clonés et l'utilisation de leurs descendants dans la chaîne alimentaire.

Où en sont les discussions aujourd'hui sur cette question ?

L'innocuité des aliments issus des clones ou de leurs descendants : un débat aujourd'hui tranché.

Quatre rapports de l'Agence de Sécurité alimentaire Européenne publiés entre 2008 et 2012 conduisent à conclure que la viande et le lait provenant de clones en bonne santé ou de leurs descendants ne diffèrent pas,

tant dans leur composition que dans leur valeur nutritionnelle, des mêmes produits provenant d'animaux conçus de manière traditionnelle (par reproduction sexuée) et eux aussi en bonne santé. Ces conclusions s'appuient sur des données de la recherche agronomique et vétérinaire principalement conduite au Japon, en France (à l'INRA) et aux Etats-Unis pour les bovins et les porcins. Même si est souligné la possibilité que les clones puissent être porteurs de mutations silencieuses transmissibles induites par la technique même de clonage, elles ne remettent pas en question les procédures vétérinaires édictées et mises à jour régulièrement pour décider de la santé des animaux autorisés à entrer dans la chaîne alimentaire.

L'attitude des consommateurs et la question centrale de l'utilisation alimentaire des clones

Deux enquêtes, coordonnées en 2008 puis en 2010 par la Direction Générale de la Communication de l'Union Européenne (enquêtes Eurobarometer), montrent que la majorité des consommateurs européens (58 % dans l'enquête de 2008, 67 % dans l'enquête de 2010) est très réticente à l'idée d'une utilisation d'animaux clonés dans la chaîne alimentaire (Biotechnology Report-special Eurobarometer 2010). Si du lait ou de la viande de descendants d'animaux clonés étaient proposés à la vente, 84% exigeraient que ces produits soient dûment identifiés. Et une large majorité (86 %) considère que même si l'industrie agro-alimentaire devait tirer bénéfice du clonage pour sa compétitivité, les consommateurs n'en tireraient aucun avantage. Ce refus de l'utilisation de bovins ou de porcs clonés à des fins alimentaires est justifié en morale dans trois quarts des réponses, qui évoquent le plus fréquemment (69 %) le refus de voir les animaux qui sont des êtres vivants et sensibles réduits à l'état d'objets fabriqués en série.

Les fortes réticences des consommateurs européens vis-à-vis du clonage sont largement partagées dans le monde : 53 % des consommateurs américains n'achèteraient pas du lait, de la viande ou des œufs produits par des animaux clonés ou par des descendants de ces animaux (51 %), même si ces produits sont considérés comme sains. Et 66 % des américains sont mal à l'aise à la seule idée que le clonage puisse être utilisé pour reproduire des animaux (audition du Bureau Européen des Unions de Consommateurs devant le Parlement Européen le 23 février 2015 : BEUC-X-2015). Cette attitude prévaut alors qu'aucune utilisation commerciale de bovins ou porcins clonés dans la chaîne alimentaire n'est envisagée avant 2020. (rapport du groupe de consultance ICF-GH ICF-GHK 2012)

Quand les clones s'invitent dans les négociations commerciales transatlantiques.

L'Organisation Mondiale du Commerce (OMC), qui administre depuis 1995 l'Accord Général sur le commerce et les tarifs internationaux (GATT), a pour mission d'accélérer la mondialisation des échanges commerciaux tout en assurant la maîtrise de ses conséquences (en matière d'environnement notamment). Ses compétences ont été progressivement étendues à de nouveaux accords sur les services (GATS), sur la propriété intellectuelle (TRIPS) et sur les investissements liés au commerce (TRIMS).

C'est la révision du règlement CE n° 258/97 cité plus haut qui a conduit cette instance à être saisie de la question de l'utilisation des clones dans la chaîne alimentaire. La FDA venait d'autoriser aux Etats-Unis (le 15 janvier 2008), la commercialisation de produits issus d'animaux clonés. La Commission Européenne présentait la même année une proposition [COM(2007) 872 final-14.1.2008] visant à simplifier la procédure d'autorisation prévue dans le règlement relatif aux nouveaux aliments.

Alors que le clonage n'était pas initialement au cœur de la proposition de règlement européen, ce sujet est rapidement devenu un point de blocage entre la Commission et le Parlement. Ce dernier amendait en 2010 une proposition de règlement de la Commission afin d'interdire la pratique du clonage ainsi que la mise sur le marché d'aliments issus d'animaux clonés et de leur descendance [COM(2010) 585 final du 19.10.2010]. Le texte faisait référence aux problèmes de santé, de bien-être animal et de mortalité plus élevés chez les animaux clonés et leurs mères porteuses mis en avant dans plusieurs avis d'experts européens, dont ceux de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) et du Groupe d'éthique européen (GEE). Les députés soulignaient aussi que le clonage aurait pour effet de réduire considérablement la diversité génétique et donc d'augmenter le risque de pandémies. Les parlementaires estimaient par ailleurs que l'utilisation d'une telle

technique pourrait nuire à l'image du modèle agricole européen, fondé sur la qualité des produits, le respect de l'environnement et des critères stricts de bien-être des animaux. Ils rappelaient enfin que la directive 98/58 sur la protection des animaux d'élevage interdit les méthodes naturelles ou artificielles susceptibles de causer des souffrances.

Malgré une procédure de conciliation engagée en 2010 entre la Commission, le Parlement et le Conseil, procédure prévue par les institutions européennes, aucun accord n'était obtenu, des dissensions majeures sur la question de l'étiquetage obligatoire des denrées alimentaires issues de descendants d'animaux clonés conduisant à l'interruption de l'examen de l'ensemble des dispositions [COM(2010) 585 final du 19.10.2010].

L'impact du clonage dans la production de denrées alimentaires en Europe : économiquement faible au moins à l'horizon 2020.

Après l'échec de la conciliation de 2010, la Direction générale Santé et protection des consommateurs (DG SANCO) de la Commission a été invitée à élaborer, sur la base d'une analyse d'impact, une proposition législative relative au clonage dans la production de denrées alimentaires distincte du règlement relatif aux nouveaux aliments. Le document d'analyse d'impact réalisé par une société de consultance anglaise avec l'appui de trois experts a été publié fin 2012 (voir ICF- GHK, 2012).

Ce document prend en compte différents scénarios à partir, soit d'une suspension du clonage des animaux de ferme pour la production de produits alimentaires, soit d'une autorisation assortie de mesures portant sur la traçabilité des animaux, de leurs descendants (1ère génération), de leurs produits, mesures associées ou non à un étiquetage spécifique et présentées en vue d'une approbation à un stade de « pré-marché ». Pour chaque scénario l'impact économique (sur le marché, sur la compétitivité des filières, sur l'innovation, sur l'emploi), mais aussi l'impact législatif, social (sur l'attitude des consommateurs) et environnemental (sur la diversité génétique) sont pris en compte avec une approche coût/bénéfice.

Sur la base de cette analyse, la Commission a soumis le 18 décembre 2013 au Parlement et au Conseil deux propositions de directive :

- l'une, relative au clonage des animaux des espèces bovine, porcine, ovine, caprine et équine élevées et reproduites à des fins agricoles [COM (2013) 892 final/n° E 8975], prévoit une interdiction temporaire du recours à la technique du clonage sur les animaux d'élevage ainsi que de mise sur le marché d'embryons clones et d'animaux clonés vivants ;

- l'autre, relative à la mise sur le marché des denrées alimentaires obtenues à partir d'animaux clonés [COM (2013) 893/n°E 8976], propose d'interdire dans l'Union Européenne des produits alimentaires tels que la viande et le lait obtenus à partir d'animaux clonés. Cette proposition n'interdit toutefois pas l'importation de matériel reproductif d'animaux clonés, afin de garantir, selon la Commission Européenne, l'accès des éleveurs et des sélectionneurs à du matériel génétique compétitif.

Ces deux propositions prévoient que le clonage d'animaux ne pourra être pratiqué qu'à des fins de recherche, ou de production de médicaments et de dispositifs médicaux, dans les cas où le recours à cette technique peut être justifié. Cette justification s'étend au clonage pour la préservation de races rares d'animaux de ferme et d'espèces menacées. La perte de diversité génétique par les clones est en effet une crainte. Des 7600 races animales de bovin, chèvres, chevaux, porcs et poulets figurant dans la liste des ressources génétiques pour l'élevage établie par la FAO en 1992, 190 ont disparu dont 60 depuis 2007. L'insémination artificielle est considérée comme une des causes principales de cette perte génétique (Basur et King, 2005).

Où en est-on aujourd'hui ?

Ces deux propositions ont été examinées en France par l'Assemblée Nationale et le Sénat le 14 Juillet 2014. Elles ont été jugées insuffisantes, car elles ne mentionnent pas les denrées alimentaires issues des

descendants d'animaux clonés. Mais elles ont été néanmoins approuvées sous réserve de la prise en compte de plusieurs points : l'extension de l'interdiction de la mise sur le marché à la semence d'animaux clonés ; l'interdiction de la mise sur le marché des denrées alimentaires obtenues à partir de descendants de clones (toutes espèces confondues) ; la mise en place impérative d'un système de traçabilité rigoureux des clones, de leurs descendants et de leurs gamètes; la mise au point d'une méthode scientifique permettant l'identification des produits issus d'animaux clonés; et l'instauration d'un véritable débat public sur le clonage et les préférences collectives des consommateurs européens.

Tout récemment (10 juin 2015), les comités européens pour l'environnement (ENVI) et pour l'agriculture (AGRI) ont adopté un projet de loi bannissant la viande et le lait des clones et de leurs descendants, pour des raisons éthiques et de bien-être animal.

Le même jour, la représentation permanente des comités européens (COREPER) a rejeté une proposition de texte visant à permettre au Parlement Européen d'exercer un droit de veto sur l'approbation de nouveaux aliments (dont les produits issus de clones ou de leurs descendants), considérant que la proposition du Parlement est en contradiction avec la loi de simplification des procédures européennes et que l'approbation de nouveaux aliments repose sur des considérations essentiellement techniques confiées à des experts. Les nouveaux aliments, aujourd'hui acceptés au niveau des états et sur demande des entreprises industrielles et commerciales concernées, pourraient après vote de la loi être mis sur le marché par l'ensemble des opérateurs.

Toutefois, le projet de loi proposé par les deux comités ci-dessus a été présenté au Parlement Européen à la session plénière des 7-9 septembre 2015. Il a été adopté par 529 voix contre 120, avec 57 abstentions. Il interdit le clonage de toutes les espèces d'animaux détenus et reproduits à des fins agricoles, au-delà des seules espèces bovine, porcine, ovine, caprine et équine, de leurs descendants et de leurs produits dérivés, y compris les importations dans l'UE. Il est proposé comme un règlement qui doit être appliqué directement dans tous les États membres, au lieu d'une directive, qui nécessiterait une nouvelle législation nationale (voir : <http://www.europarl.europa.eu/Communiqué de presse - Agriculture / Santé publique – 08-09-2015 - 13:04>).

Une position donc très dure contre le clonage qui ne prend en compte ni l'évolution de la technologie ni les premières applications maîtrisées par exemple chez le cheval de compétition comme l'explique dans l'encart ci-dessous mon confrère Eric Palmer.

Les rapporteurs des deux comités vont maintenant entamer des négociations avec le Conseil de l'UE sur la forme définitive que prendra la législation en 2016.

A ce jour donc, l'Union Européenne n'autorise pas la pratique du clonage à des fins agricoles.

Encart 1

Le clonage du cheval de compétition : une appropriation par la filière qui pourrait faire école

Des chevaux clonés ou des descendants de clone sont élevés et participent à des compétitions sans que cela semble poser problème. En effet la plupart des obstacles mentionnés dans cet article ont trouvé une réponse :

Economie : si la technique a encore une efficacité plus faible et donc un coût plus élevé que chez les bovins, ce coût est inférieur au prix du marché des performeurs ou des reproducteurs d'élite.

Utilité dans la sélection : les compétitions équestres sont le support de la sélection génétique, mais de nombreux chevaux castrés participent aux compétitions et se retrouvent dans les meilleurs. Le clonage offre une solution élégante pour redonner la valeur de progrès génétique à ces champions.

Bien-être animal : la faible efficacité est essentiellement due au faible nombre d'ovocytes produits par les juments, au faible développement d'embryons clonés, aux pertes embryonnaires ou fœtales, mais cela ne s'accompagne pas de souffrance induites : les ovocytes proviennent d'ovaires sous-produits des abattoirs qui

seraient éliminés sans cette utilisation particulière, les pertes d'embryon sont asymptomatiques et les avortements ne provoquent pas plus de souffrance qu'une mise bas ordinaire. Le syndrome du gros veau reporté chez les bovins n'a pas été reporté chez les chevaux, sans doute à cause d'une placentation différente de celle des ruminants.

Non utilisation dans la filière bouchère : Le coût du clonage est bien entendu incompatible avec une production à des fins d'alimentation humaine. Si les chevaux de sport peuvent être abattus lorsqu'ils sont réformés, la réglementation Européenne oblige à une traçabilité de tous les équidés qui comporte une option d'interdiction à l'abattage. Les chevaux de compétition sont tous munis d'un passeport comportant cette option. Logiquement, ces animaux éliminés de la filière bouchère et assurant une traçabilité ne devraient pas être concernés par le projet de réglementation européenne qui concerne les animaux élevés à des fins agricoles.

Acceptation sociale : Au vu de ces considérations trois studbooks Européens ont décidé d'inscrire les clones et de leur donner la possibilité d'être reconnus comme reproducteurs et la Fédération équestre internationale a pris une résolution autorisant les clones et les descendants de clones à participer aux compétitions relevant de son autorité. Des clones et des descendants de clones ont participé à des compétitions nationales en France et en Belgique (Figure 7 ci-dessous)



Figure 7: le cheval « ET CETERA Z » a été classé par les généticiens de l'INRA premier performeur de 4 ans dans la discipline du saut d'obstacle en France (index de performance ISO 2015). Il est le fils de l'étalon « ET CRYOZOOTECH », clone de « ET FRH », un cheval castré qui fut lui-même pendant plusieurs années premier performeur mondial de saut d'obstacle par les gains en compétitions internationales officielles. En Amérique du Nord et du Sud des sociétés qui font du clonage d'autres espèces ont inclus les chevaux à leur offre. Un clone a participé au championnat d'argentine de polo. Inversement certains studbooks ou organisations de courses ne

souhaitant pas utiliser le clonage ont inscrit une interdiction dans leur règlement particulier.

Ces développements se sont faits sans réaction conflictuelle. Aussi l'interdiction généralisée du clonage pour toutes les espèces animales détenues et reproduites à des fins agricoles, y compris le cheval, votée par le parlement Européen le 8 septembre dernier, ne peut que susciter l'incompréhension d'éleveurs et de défenseurs des chevaux de compétition qui ont su collectivement à la fois cibler une application précise du clonage pour valoriser le progrès génétique exprimé par les chevaux de compétition castrés et maîtriser son utilisation au sein d'une filière économiquement active. **Eric Palmer, Académie d'Agriculture- section 3 -**

III - Quel futur pour le clonage ?

Près de 20 ans après l'annonce de la naissance du mouton Dolly, le clonage reste une technique peu efficace, qui de surcroît porte atteinte au bien-être animal : a-t-elle un avenir ? Des données récentes permettent de penser que oui.

Des taux de succès élevés sont possibles chez la souris

L'optimisation empirique de l'ensemble des étapes techniques associées au transfert de noyaux (depuis la culture de cellules donneuses et d'ovocytes receveurs de noyaux jusqu'à la reconstitution proprement dite sous microscope) permet la réalisation de séries successives de clonage. Un groupe japonais de l'Institut Riken a pu obtenir récemment chez la souris par reclonages successifs plus de 500 clones vivants (n=512) à partir d'un seul animal fondateur [figure 8]. Avec le génome de cet animal fondateur, l'efficacité du clonage ne diminue pas après 25 réplifications successives.

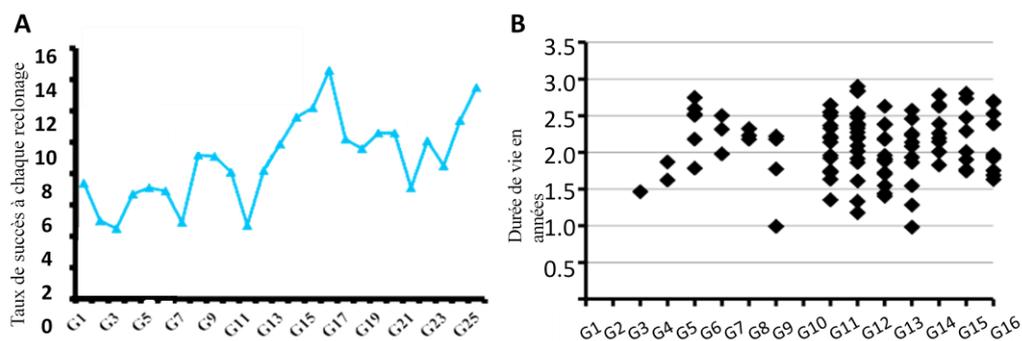


Figure 8 - D'un cycle de clonage à l'autre, la variabilité du taux de réussite peut être importante, mais elle n'est pas liée au nombre de cycles déjà réalisés. Des taux de succès élevés, jusqu'à 20 % de naissances, conduisant à des animaux fertiles et à durée de vie normale, peuvent être obtenus après plus de 20 cycles de reclonage (Wakayama et al. 2013)

Mieux respecter la physiologie de l'embryon cloné.

L'évolution des recherches sur l'embryon est marquée par les avancées méthodologiques en matière d'observation par microscopie de fluorescence de la cinétique de division *in vivo* des cellules embryonnaires. En analysant la dynamique de l'apposition ou de l'enlèvement des marques épigénétiques comme la méthylation de l'ADN et l'acétylation ou la méthylation des histones, on peut maintenant suivre l'évolution de l'organisation des chromosomes en territoires à partir desquels se mettent en place les mécanismes qui régulent l'expression des gènes. Et ainsi identifier ceux qui ont un rôle essentiel dans la reprogrammation fonctionnelle d'un noyau (Mason et al, 2012).

Avec l'embryon cloné, et de façon inattendue, les anomalies de ségrégation des chromosomes qui surviennent au cours des toutes premières mitoses qui suivent l'introduction du noyau somatique dans le cytoplasme de l'ovule ne sont pas plus élevées que celles observées avec des embryons fécondés *in vivo*. Par contre, c'est au cours des divisions suivantes, trois à six selon les espèces, que le développement des embryons clonés devient moins tolérant aux erreurs de remaniement de la chromatine nucléaire que l'embryon fécondé *in vivo* (Mizutani et al., 2012). Ces divisions permettent la différenciation des premiers lignages cellulaires au stade blastocyste avec la formation du premier tissu différencié, le trophoblaste, qui met en relation l'embryon proprement dit, formé de cellules qui conservent un potentiel large de différenciations (cellules pluripotentes), avec le milieu environnant.

Autrement dit, le contrôle du microenvironnement de l'embryon au cours des premières étapes de son développement, ce que permettent maintenant les techniques de la microfluidique (Banrezes et al., 2011), permet d'envisager un pilotage des premières étapes du développement de l'embryon cloné, en augmentant par exemple de façon ciblée dans le temps le niveau d'acétylation des histones. C'est une des voies de maîtrise des technologies associées au clonage (Ogura et al, 2015). Des données récentes de la recherche suggèrent que le processus même de reprogrammation favorise un stress oxydatif des cellules embryonnaires. Chez le bovin, ce type de stress cellulaire affectera plus tardivement le métabolisme hépatique fœtal (Kiefer et al, soumis). Une meilleure maîtrise des conditions initiales de la reprogrammation, en particulier du stress oxydatif, et un tri des embryons clonés ayant mis en place des mécanismes compensateurs appropriés, pourrait contribuer à réduire de façon marquée la mortalité périnatale liée au clonage

Vers une approche systémique de la reprogrammation

Des microtechniques d'analyse du métabolisme cellulaire en relation avec des modifications ciblées de la composition biochimique du milieu environnant sont développées par l'industrie des cellules souches pour contrôler *in vitro* le programme de différenciation cellulaire. D'une littérature scientifique abondante qui concerne aussi les animaux de ferme, il ressort que le contrôle strict du programme génétique de développement d'un embryon doit composer, dès le stade de l'œuf fécondé, ou celui de l'embryon reconstitué

par clonage, avec le microenvironnement biochimique et métabolique auquel est exposé son génome (Prather et al., 2014)

En ajustant la composition biochimique du milieu environnant aux besoins métaboliques de l'embryon cloné, par exemple par un supplément en arginine (Balbach et al., 2012) on restaure une ségrégation normale des cellules en cellules trophoblastique et embryonnaires, une condition nécessaire à la fonctionnalité ultérieure du placenta. De même, en agissant sur l'activité mitochondriale pour réinitialiser les réseaux de facteurs de transcription qui permettent la pluripotence cellulaire (ground state), on peut orienter la différenciation des cellules souches en culture (Takashima et al. 2014)

Des voies d'exploration pour le repérage à faible coût des clones et de leurs produits

Les procédures classiques d'identification auxquelles sont soumis les animaux d'élevage à leur naissance peuvent être utilisées pour repérer les clones et les distinguer des animaux conventionnels par un système de suivi dédié. Ce dispositif en vigueur aux Etats-Unis (Supply Chain Management System, SCMS) suffit pour exclure les clones de la chaîne alimentaire mais pas leurs descendants. Ces derniers, les plus nombreux, sont considérés dans ce pays comme des animaux conventionnels, ce que n'admet pas à ce jour l'Europe. Ce point est essentiel car il renvoie au choix fait par l'Europe pour les produits alimentaires issus de plantes génétiquement modifiées de ne pas prendre en compte la seule équivalence en substance avec les produits provenant de plantes conventionnelles mais aussi la technologie qui a permis de produire ces plantes.

Le repérage des produits d'organismes génétiquement modifiés (OGM) peut être aisément réalisé en décelant la présence d'une séquence ADN du transgène utilisé. Pour les clones, descendants de clones et leurs produits, *a priori* génétiquement identiques à l'animal donneur, d'autres voies s'imposent. L'impact d'un suivi individuel impliquant des documents de contrôles spécifiques sera faible, car les importateurs ne peuvent pas répondre aux exigences d'un dispositif acceptable en matière de coût et de fiabilité.

La mise au point d'une méthode permettant l'identification des produits issus d'animaux clonés est proposée par la représentation nationale française comme un objectif important. Mais cette méthode n'existe pas pour l'instant. On en est donc réduit aujourd'hui à proposer de « *mettre en place rapidement, éventuellement pour une période provisoire de cinq ans, la meilleure traçabilité possible des animaux issus des biotechnologies de pointe ainsi que de leurs descendants, en particulier lors de leur importation (individus, produits ou semences) ou de leur commercialisation* » (Centre d'Analyse stratégique, 2011).

Toutefois, des pistes de recherche sont aujourd'hui explorées qui pourraient permettre de repérer un animal cloné ou même un de ses ascendants. L'observation des clones bovins qui présentent plus de variations interindividuelles en terme de méthylation globale de leur génome que des jumeaux issus de la scission d'un embryon au stade blastocyste (de Montera et al., 2010) est à cet égard déterminante. Elle démontre que les clones, génétiquement identiques, sont épigénétiquement différents, ce que l'on peut considérer comme « un prix à payer » pour une reprogrammation fonctionnelle d'un noyau somatique.

Récemment, un groupe de gènes impliqués dans plusieurs fonctions cellulaires essentielles comme la reconnaissance et la communication neuronale a été identifié à l'INRA de Jouy en Josas comme étant la cible de perturbations de la méthylation de l'ADN spécifiquement liées au clonage. Les perturbations en question sont présentes chez des clones sains quel que soit leur âge et dans tous les tissus examinés y compris le muscle, un point important dans le cadre de la mise en place d'une traçabilité de la viande issue de clones. Ce travail doit toutefois être étendu à un plus grand nombre de lots de clones, une condition essentielle en vue d'une exploitation comme marqueurs du clonage (Hélène Kiefer et Hélène Jammes, communication personnelle).

De nouveaux objectifs pour la maîtrise du clonage et l'hybridation des génomes

En injectant la tête d'un spermatozoïde dans un ovule énucléé, on obtient un embryon haploïde androgénétique, c'est-à-dire possédant un génome à n chromosomes exclusivement d'origine paternelle. Depuis 2011 plusieurs équipes de recherche ont réussi à maintenir chez la souris ces cellules en culture à l'état indifférencié pour obtenir après des repiquages successifs des lignées de cellules souches androgénétiques, très précieuses, par exemple, pour caractériser sur le plan moléculaire les allèles paternels issus d'une recombinaison méiotique. Ces cellules peuvent être utilisées avec leur alter ego, des cellules haploïdes parthénogénétiques possédant un génome à n chromosomes mais exclusivement d'origine maternelle. Les cellules haploïdes androgénétiques et parthénogénétiques peuvent remplacer les génomes de l'ovule et du spermatozoïde pour produire des animaux fertiles (Yang et al., 2012).

Tout récemment, une équipe chinoise du laboratoire de biologie reproductive de l'Institut de Zoologie de Pékin (Li et al. 2015) a étendu cette approche à une autre espèce (le rat) et montré que, comme chez la souris, ces cellules peuvent être maintenues en culture à l'état de cellules souches haploïdes. En fusionnant des cellules de rat et de souris, les cellules diploïdes hybrides obtenues (cellules allodiploïdes rat-souris) se révèlent capables de se différencier normalement au cours du développement *in vivo* d'une souris chimère (figure 9).

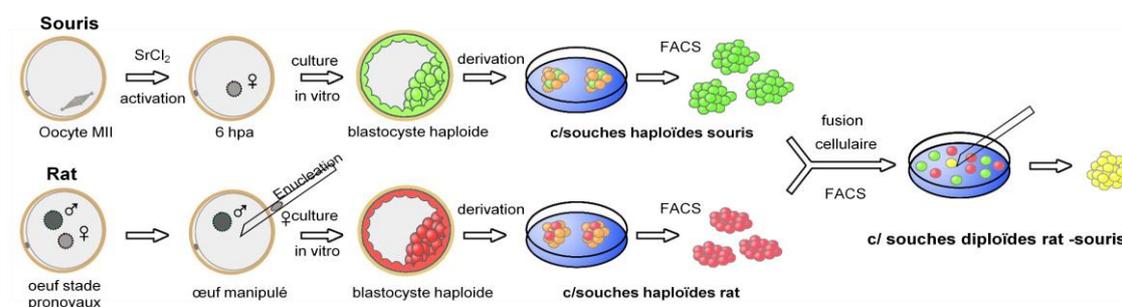


Figure 9 - En fusionnant des cellules de rat et de souris, les cellules diploïdes hybrides obtenues (cellules allodiploïdes rat-souris) se révèlent capables de se différencier normalement au cours du développement *in vivo* d'une souris chimères. (Li et al 2015)

Les cellules allodiploïdes vont permettre de repérer les biais dans l'expression des gènes de réseaux spécifiques d'espèces à l'origine des perturbations à mi-gestation. Elles pourraient aussi être utilisées pour étudier le développement d'êtres vivants d'un nouveau type, à la fois hybrides et chimères (chimbrids). Un premier pas vers le recours à l'hybridation chez les animaux de ferme ?

Conclusion

Le clonage animal pour la production de denrées alimentaires reste à ce jour interdit en Europe. Giulia Moi, co-rapporteur du projet de loi présenté par les comités de l'environnement (ENVI) et de l'agriculture (AGRI), considère que cette « interdiction est une ligne rouge pour assurer que le clonage des animaux ne devienne pas une pratique courante au sein de l'UE » (déclaration à la journaliste Caroline Scott-Thomas de la revue en ligne <http://www.foodnavigator.com/> le 18 juin 2015). L'impact d'une décision d'interdiction en Europe alors que le clonage est autorisé dans la plupart de pays tiers conduira à des conflits commerciaux portés devant l'Organisation Mondiale du Commerce (OMC). Est-ce le meilleur choix alors que cette technologie reste à ce jour peu utilisée ? Tant que deux exigences, celle d'une non atteinte au bien-être animal, et celle du repérage des animaux clonés et de leurs produits ne pourront pas être garanties, le clonage ne pourra pas devenir une « pratique courante ». L'analyse d'impact à laquelle il a été fait référence plus haut montre bien que des contrôles spécifiques à l'utilisation du clonage dans les pays européens n'auront pas de

conséquences économiques significatives au moins jusqu'en 2020, parce qu'aucune activité commerciale liée au clonage ne pourra s'affranchir d'une réglementation.

Mais on peut par ailleurs douter de l'efficacité d'une réglementation en l'absence de tout moyen de repérage des clones et de leurs produits. C'est donc bien sur les raisons mêmes d'utiliser cette technologie plus que sur celles de l'interdire que doit se poursuivre le débat. Le consommateur reste insuffisamment éclairé de la nature scientifique de ces débats qui continueront à évoluer, notamment avec les connaissances sur les mécanismes de la reprogrammation des génomes.

A l'annonce de la naissance du mouton Dolly, le débat éthique avait précédé le débat scientifique. Aujourd'hui, même si l'on considère que la perspective d'une maîtrise totale par l'homme de ce pouvoir qu'a le cytoplasme de l'œuf de redonner une nouvelle jeunesse à un noyau donneur restera théorique (Renard, 2001), le goût pour la science et la connaissance doit retrouver sa place dans les discussions éthiques sur le clonage.

Remerciements : je remercie mes consœurs et confrères de l'Académie des sections 3 et 6 pour leurs avis et propositions lors de la préparation puis de la relecture de ce texte.

Références bibliographiques

-Banrezes B, Sainte-Beuve T, Canon E, Schultz RM, Cancela J, Ozil JP (2011) Adult body weight is programmed by a redox-regulated and energy-dependent process during the pronuclear stage in mouse. PLoS One 6:e29388.

-Balbach ST, Esteves TC, Houghton FD, Siatkowski M, Pfeiffer MJ, Tsurumi C, Kanzler B, Fuellen G, Boiani M. (2012) Nuclear reprogramming: kinetics of cell cycle and metabolic progression as determinants of success. PLoS One. 2012;7:e35322.

-Basrur PK, King WA (2005) Genetics then and now: breeding the best and biotechnology. Rev Sci Tech. 2005 24:31-49. Revue.

-Biotechnology Report-special Eurobarometer (2010)
http://ec.europa.eu/public_opinion/archives/ebs/ebs_341_en.pdf

-Brambell FWR (1965). Report of the technical committee to enquire into the welfare of animals kept under intensive livestock husbandry systems. London – H.M.SO.(ed) collection 2004: Cmnd. 2836.

-Centre d'Analyse stratégique (2011). « Le Clonage animal » in : Note d'Analyse Développement durable, 225, 27/05/2011, p7.

-Chavatte-Palmer P, Remy D, Cordonnier N et al (2004) Health status of cloned cattle at different ages. Cloning Stem Cells 6:94-100. Revue.

-Chavatte-Palmer P, Tarrade A, Lévy R (2012) Developmental origins of health and disease in adults: -role of maternal environment. Gynecol Obstet Fertil 40:517-519 (en français).

-Conseil national de l'Alimentation 2008.
www.cna-alimentation.fr/wp-content/uploads/2013/04/cna_avis62.pdf

-Constant F, Guillomot M, Heyman Y, Vignon X (2006) Large Offspring or Large Placenta Syndrome? Morphometric Analysis of Late Gestation Bovine Placentomes from Somatic Nuclear Transfer Pregnancies Complicated by Hydrallantois. Biology of Reproduction 75(1): 122-130.

-Denis B (2015) in « Ethique des relations homme/animal » ouvrage collectif sous la direction de Bernard Denis, La France agricole (ed.), pp.16-18.

- de Montera B, El Zeihery D, Muller S, Jammes H et al (2010) Quantification of leukocyte genomic 5-methylcytosine levels reveals epigenetic plasticity in healthy adult cloned cattle. *Cellular reprogramming* 12:175-181.
- EFSA (2012) Animal Health and Welfare and environmental impact of Animals derived from SCNT cloning.. *EFSA Journal* 10:2794 [42 pp].
- ICF GHK (2012) Impact pour l'UE et les pays tiers de l'UE de mesures sur le clonage animal pour la production alimentaire. Rapport final à la DG SANCO.
- Jammes H, Kiefer H (2010). L'Épigénétique une pierre dans le jardin des questions sur le génome. In Actes du colloque de l'Académie d'Agriculture de France du 15 novembre 2010 : Pourquoi l'élevage est-il concerné par l'épigénétique ?
- Keefer CL (2015) Artificial cloning of domestic animals *Proc Natl Acad Sci U S A* 112:8874-8.
- Li W, Li X, Jiang MG, Wan H, Luo GZ, Feng C, Cui X, Teng F, Yuan Y, Zhou Q (2014) Genetic Modification and Screening in Rat Using Haploid Embryonic Stem Cells. *Cell stem cell* 14, 404-414, doi:DOI 10.1016/j.stem.2013.11.016.
- Li X, Cui XL, Wang JQ, Wang YK, Li YF, Wang LY, Li YF, Wang LY, Wan HF, Li TD *et al.* (2015) Generation of mouse-rat allodiploid ESCs as a unique tool for X chromosome inactivation and gene function studies. *Cell* (sous presse)
- Mason K, Liu Z, Aguirre-Lavin T, Beaujean N (2012) Chromatin and epigenetic modifications during early mammalian development. *Anim Reprod Sci* 134(1-2):45-55. *Revue*.
- Mizutani E, Yamagata K, Ono T, Akagi S, Geshi M, Wakayama T (2012) Abnormal chromosome segregation at early cleavage is a major cause of the full-term developmental failure of mouse clones. *Developmental Biology* 364 : 56–65.
- Ogura A, Inoue K, Wakayama T (2013) Recent advancements in cloning by somatic cell nuclear transfer. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368(1609):20110329. doi: 10.1098/rstb.2011.0329. *Revue*.
- Prather RS, Redel BK, Whitworth KM, Zhao MT (2014) Genomic profiling to improve embryogenesis in the pig. *Anim Reprod Sci*. 149:39-45.
- Renard J.P. (1999) « Dans le labyrinthe » dans *Faut-il vraiment cloner l'homme ?* Pierre Fedida, et Dominique Lecourt (eds) Coll. Forum Diderot. P. Univ. France.
- Renard J.P. (2001) « Le clonage animal » dans *Les Progrès de la Peur* sous la direction de Nayla Farouki. Editions Le Pommier. 159-172
- Shukman D. (2014) China cloning on an 'industrial scale. <http://www.bbc.com/news/science-environment-25576718>.
- Takashima Y, Guo G, Loos R, Nichols J, Ficuz G, Krueger F, Oxley D, Santos F, Clarke J, et al. (2014). Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. *Cell* 158:1254–1269.
- Wakayama S, Kohda T, Obokata H, Tokoro M, Li C et al (2013) Successful Serial Recloning in the Mouse over Multiple Generations. *Cell Stem Cell* 12, 293–297.
- Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH (1997). Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 385:810-813.
- Yang L, Linyu Shi, Wang B-A et al (2012) Generation of Genetically Modified Mice by Oocyte Injection of Androgenetic Stem Cells. *Cell* 149, 605–617.