



AVIS 65-2005 : Récolte et transfert d'embryons de l'espèce bovine (dossier Sci Com 2005/08)

Le Comité Scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, considérant les discussions qui ont eu lieu en séances plénières des 11 mars, 4 novembre et 9 décembre 2005; émet l'avis suivant :

Le contexte général

L'arrêté royal du 23 janvier 1992 relatif aux conditions sanitaires de la collecte et du transfert d'embryons de l'espèce bovine (http://www.juridat.be/cgi_loi/legislation.pl) est une transposition de la directive du Conseil 89/556/CEE du 25 septembre 1989 fixant les conditions de police sanitaire régissant les échanges intracommunautaires et les importations en provenance des pays tiers d'embryons d'animaux domestiques de l'espèce bovine. Depuis lors, cette directive a subi des modifications (directives 90/425/CEE et 93/52/CEE ; décision 94/113/CE et règlement (CE) n° 806/2003). Les modalités pratiques des examens bactériologiques et virologiques sur des échantillons et l'interprétation des résultats qui figurent à l'annexe 3, point IV, de l'arrêté royal du 23 janvier 1992 ne sont toutefois pas reprises dans la directive 89/556/CEE et ses modifications.

Termes de référence

L'objectif du contrôle sanitaire officiel des embryons collectés *in vivo* destinés aux échanges internationaux est repris dans le Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'Organisation mondiale de la santé animale (OMSA) (http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_3.3.1.htm) et consiste à garantir l'absence de germes pathogènes spécifiques que pourraient véhiculer ces embryons, et d'éviter toute contamination des femelles receveuses et de leur descendance (article 3.3.1). Les recommandations issues du Code sanitaire pour les animaux terrestres se fondent sur le Manuel de la Société Internationale de Transfert d'Embryons édité en 1998 (*International Embryo Transfer Society*, IETS ; <http://www.iets.org/>). L'IETS a classé un certain nombre de maladies, en fonction de leur risque de diffusion à partir d'embryons collectés *in vivo* et convenablement manipulés et conservés (annexe 3.3.5. du Code sanitaire pour les animaux terrestres ; http://www.oie.int/fr/normes/mcode/fr_chapitre_3.3.5.htm#chapitre_3.3.5). Les maladies pour lesquelles la garantie que le risque de transmission soit négligeable est la plus grande, à la condition que les embryons soient manipulés d'une manière correcte telle que décrite dans le Manuel de l'IETS, sont classées dans la catégorie 1.

Le Comité scientifique est sollicité pour donner un avis concernant :

- la validation des modalités d'examens bactériologiques et virologiques pratiqués sur les échantillons et l'interprétation des résultats y afférents, visées à l'annexe 3, point IV, de l'arrêté royal du 23 janvier 1992 relatif aux conditions sanitaires de la collecte et du transfert des embryons de l'espèce bovine ;
- la validation du guide des bonnes pratiques de la récolte *in vivo* et du transfert d'embryons.

Pour le second point, le Comité scientifique a considéré qu'il s'agissait d'un manuel plutôt qu'à proprement parlé d'un guide sectoriel concernant l'autocontrôle au sens de la définition reprise dans l'arrêté royal du 14/11/2003 relatif à l'autocontrôle, à la notification obligatoire et à la traçabilité dans la chaîne alimentaire (Moniteur belge du 12/12/2003).

Le transfert d'embryons collectés *in vivo* constitue une méthode de transfert de matériel génétique animal qui ne présente qu'un très faible risque de transmission d'agents pathogènes lorsqu'il est effectué correctement

Quelle que soit l'espèce animale considérée, il existe trois phases dans le processus de transfert d'embryons qui déterminent le niveau final de risque. L'article 3.3.1.5. du Code sanitaire pour les animaux terrestres mentionne en effet que :

- la première phase s'applique aux maladies qui ne figurent pas dans la catégorie 1 de la classification de l'IETS et concerne la probabilité d'une infection des embryons. Cette probabilité dépend : (i) de la situation zoonositaire du pays ou de la zone considérée ; (ii) de l'état sanitaire du troupeau et des femelles donneuses sur lesquelles les embryons sont prélevés et (iii) du pouvoir pathogène des agents pathogènes spécifiques ;
- la deuxième phase concerne l'atténuation du risque par l'utilisation de procédures reconnues internationalement (manuel de l'IETS). Ces procédures visent le lavage, le traitement et l'examen des embryons (lavage séparé des embryons provenant de donneuses différentes, nombre de lavages suffisant, utilisation de matériel à usage unique, addition éventuelle de trypsine pour l'inactivation de certains virus tel que le Bovine Herpesvirus-1 (BoHV-1), examen de la zone pellucide de chaque embryon après lavage) ;
- la troisième phase s'applique aux maladies qui ne figurent pas dans la catégorie 1 de la classification de l'IETS et concerne les mesures suivantes : (i) après collecte et stockage des embryons, la surveillance des animaux donneurs et de leurs troupeaux d'origine, en tenant compte des périodes d'incubation normales des maladies, et (ii) la mise en œuvre d'examen (fluides de collecte, embryons non viables et autres prélèvements) en vue de la détection d'agents pathogènes spécifiques.

Tenant compte des recommandations de l'Organisation mondiale de la santé animale, le Comité scientifique préconise de tenir compte de différents niveaux de qualification des embryons (ordre décroissant de pertinence) :

- qualification du pays ou de la province (tenir compte de l'évolution des différents plans de lutte organisés) ;
- qualification des troupeaux d'origine des donneuses (tenir compte de l'évolution des différents plans de lutte organisés) ;
- qualification des donneuses sur base de l'absence de symptômes cliniques et/ou de résultats favorables à des examens de laboratoire spécifiques (le recours au vice rédhibitoire et, le cas échéant, au billet de garantie conventionnel constitue un dispositif de sécurité) ;
- qualification des embryons sur base des résultats d'examen de laboratoire sur les liquides d'extraction, de rinçage, de lavage des embryons et sur les embryons dégénérés et ovules non fécondés. Cette qualification peut également contribuer au contrôle de qualité de l'application du manuel de bonnes pratiques de la récolte *in vivo* et du transfert d'embryons. Par exemple, une contamination bactérienne importante du liquide de lavage des embryons avec une absence de contamination des embryons peut être le reflet d'une absence de maîtrise des bonnes pratiques de la récolte des embryons.

Le risque de contamination virale des embryons est faible et les techniques usuelles de mise en évidence des virus sont relativement peu sensibles (par exemple, en ce qui concerne le virus de la diarrhée virale bovine (BVD)). Dès lors, les premiers niveaux de qualification (voir ci-dessus) sont les plus pertinents. En ce qui concerne le risque de contamination bactériologique, celui-ci peut être amenuisé en ajoutant des antibiotiques aux liquides de lavage des embryons, conformément aux recommandations du Manuel de l'IETS (article 3.3.1.6. du Code sanitaire pour les animaux terrestres).

Pour appliquer une approche basée sur une évaluation de risques, le Comité scientifique recommande de se baser sur le tableau en **annexe 1** qui :

- (a) établit une liste des agents pathogènes spécifiques selon l'IETS (inventaire des dangers) ;
- (b) précise l'occurrence des agents pathogènes spécifiques en Belgique (données de la littérature scientifique, données de rapports officiels, opinion d'experts) ;
- (c) estime la durée d'incubation des maladies induites par les agents pathogènes spécifiques. Les données décrites dans la littérature scientifique sont incomplètes ou

elles ne tiennent pas compte de la voie d'inoculation (cette information permet de déterminer la durée de la surveillance des donneuses après récolte) ;

- (d) précise les tests de diagnostic disponibles pour détecter les agents pathogènes spécifiques. (selon les trois modalités d'application : le troupeau d'origine des donneuses, les donneuses et les liquides d'extraction par rinçage, de lavage des embryons et les embryons dégénérés et ovules non fécondés). Par ailleurs, plusieurs tests de diagnostic moléculaires sont proposés dans la littérature en remplacement de tests classiques d'isolement.

Modalités d'examens bactériologiques et virologiques pratiqués sur les échantillons et interprétation des résultats

Actuellement, les examens bactériologiques et virologiques concernent des fluides de collecte d'embryons, des embryons dégénérés et des ovules non fécondés. En ligne avec les recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé animale (OMSA), le Comité scientifique attire l'attention sur l'intérêt de concentrer préférentiellement les moyens de diagnostic sur la qualification des animaux donneurs et de leurs troupeaux d'origine.

Par exemple, pour les virus (BoHV-1 et BVD), les épreuves virologiques réalisées sur des embryons sont fastidieuses et nécessitent d'être faites systématiquement pour être efficaces. En outre, leur sensibilité est limitée. Par conséquent, le Comité scientifique recommande d'employer seulement des donneuses d'embryons séronégatives envers le BoHV-1 ou des vaches séronégatives envers la glycoprotéine gE ou, mieux encore, des donneuses provenant d'un troupeau qualifié ou dans lequel un programme de gestion sanitaire approuvé est mis en œuvre. En ce qui concerne virus du BVD, toute donneuse devrait être examinée individuellement pour vérifier l'absence d'une infection persistante, par une RT-PCR validée ou une épreuve antigénique.

Le Comité scientifique estime que les modalités actuellement mise en œuvre pour la recherche bactériologique sont pertinentes, à savoir le dénombrement des germes totaux (examen bactériologique quantitatif) et, en fonction de la situation sanitaire du pays ou région ou troupeau, la mise en évidence de germes spécifiques tel que, par exemple, *Campylobacter fetus* ou *Mycoplasma bovis* (examens bactériologiques qualitatifs) (voir Tableau en annexe 1). Pour les deux types d'examens, la méthodologie, la façon de rapporter et l'interprétation des résultats sont à fixer entre les parties intéressées.

Manuel des bonnes pratiques de la récolte in vivo et du transfert d'embryons

La conception de ce manuel est appropriée et les précisions qui y figurent sont suffisantes (**annexe 2**).

Pour le Comité Scientifique,
Le Président,
Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert.
Bruxelles, le 21 décembre 2005.