

## KONINKLIJK BESLUIT BETREFFENDE DE SANITAIRE VOORWAARDEN VOOR HET VERZAMELEN EN OVERPLANTEN VAN EMBRYO'S VAN RUNDEREN 23.01.1992 (B.S. 27.02.1992, ERR. 19.06.1992)

### HOOFDSTUK I - Definities

**Art. 1.** Voor de toepassing van dit besluit moet men verstaan onder:

1. (Embryo: het eerste ontwikkelingsstadium van een als huisdier gehouden rund dat door bevruchting in vivo of in vitro werd bekomen, waarop al dan niet een bewerking werd toegepast waarbij de gaafheid van de zona pellucida werd aangetast, wanneer het op een ontvanger dier kan worden overgeplant.) <KB 01.09.1995>
2. Partij embryo's: een hoeveelheid embryo's in één keer bekomen van één donordier en waarvoor één enkel certificaat is afgegeven.
3. Het verzamelen en overplanten van een embryo: alle verrichtingen die samengaan met het winnen van bevruchte eicellen, de behandeling en conditionering ervan, met inbegrip van het inplanten ervan bij ontvangerdieren.
4. (Donordier: vrouwelijk rund waarvan de embryo's, de eicellen of de eierstokken worden uitgenomen of mannelijk rund dat door middel van kunstmatige inseminatie als bevruchter heeft gediend voor de productie van embryo's.) <KB 01.09.1995>
5. Ontvanger dier: vrouwelijk rund waarop een embryo wordt overgeplant met het oog op de ontwikkeling ervan.
6. Erkend embryoteam: een erkende groep bestaande uit een verantwoordelijke dierenarts, eventueel bijgestaan door één of meerdere dierenartsen en/of technici, bevoegd om embryo's te verzamelen, te behandelen en op te slaan.
7. Erkend diagnoselaboratorium: het Nationaal Instituut voor Diergeneeskundig Onderzoek (NIDO).
8. Verantwoordelijke dierenarts: De aangenomen dierenarts die verantwoordelijk is voor het toezicht op een embryoteam.
9. De Dienst: De Dienst Diergeneeskundige Inspectie van het Ministerie van Landbouw.
- (10. Productieteam van embryo's: een erkende groep bestaande uit een verantwoordelijke dierenarts, eventueel bijgestaan door één of meerder dierenartsen en/of technici, bevoegd om embryo's die verkregen zijn door bevruchting in vitro, te winnen, te behandelen en op te slaan.
11. Partij donordieren: donorkoeien die op hetzelfde moment zijn geslacht in hetzelfde slachthuis en waarvan eierstokken of andere weefsels zijn weggenomen na de slachting.) <KB 01.09.1995>

**Art. 1bis.** <ingevoegd bij KB 01.09.1995> Dit besluit is niet van toepassing op embryo's die zijn verkregen door transfer van celkernen.

### HOOFDSTUK II - Algemene bepalingen

**Art. 2.** Het verzamelen en overplanten van embryo's moet gebeuren overeenkomstig de hierondervermelde bepalingen:

**Art. 3.** § 1. Alleen de overeenkomstig hoofdstuk III erkende teams zijn gemachtigd embryo's te verzamelen, te behandelen en op te slaan alsook ze over te planten.

§ 2. In afwijking van de bepalingen van § 1 mag een embryo-implantatie zonder tussenkomst van een erkend team, door een dierenarts worden uitgevoerd, voor zover het embryo door een erkend team werd afgenomen, behandeld en desgevallend opgeslagen.

§ 3. In afwijking van de bepalingen van § 1 kan de Minister toelaten dat embryo's voor onderzoeks- en onderwijsdoeleinden worden verzameld, overgeplant, opgeslagen en behandeld.

### HOOFDSTUK III - Voorwaarden voor het erkennen van de teams

**Art. 4.** Om te worden erkend, moet het team voldoen aan de voorwaarden die in bijlage I van dit besluit worden bepaald en zich onder het permanent toezicht en gezag van de Dienst plaatsen. De verantwoordelijke dierenarts dient de aanvraag in overeenkomstig het aan bijlage II gehechte model.

**Art. 4bis.** <ingevoegd bij KB 01.09.1995> § 1. Om een erkenning te bekomen moet het embryoproductieteam voldoen aan de voorwaarden die bepaald zijn in bijlage I bij dit besluit en zich onder het permanent toezicht en het gezag van de Dienst plaatsen. De verantwoordelijke dierenarts dient de aanvraag in, overeenkomstig het model in bijlage II bij dit besluit.

§ 2. Het slachthuis waar de eierstokken en andere weefsels weggenomen worden door het erkend productieteam van embryo's moet erkend zijn door de Minister die bevoegd is voor de volksgezondheid en moet onder sanitair toezicht staan van de inspecteur-keurder die verantwoordelijk is voor het ante en post mortem onderzoek van de donordieren.

§ 3. De eierstokken en andere weefsels mogen niet binnengebracht worden in het laboratorium bedoeld in bijlage I, punt f) bij dit besluit, voordat het post mortem onderzoek van de partij donordieren beëindigd is.

Indien bij de hierboven bedoelde partij of bij de dieren die op dezelfde dag in het slachthuis zijn geslacht, een ziekte wordt vastgesteld, moeten alle weefsels van deze partij opgespoord en vernietigd worden.

**Art. 5.** Het verlenen van de erkenning hangt af van het advies van het diensthoofd. De erkenning is één jaar geldig en wordt stilzwijgend verlengd indien het team tijdens die periode heeft voldaan aan de bepalingen van dit besluit en aan de in artikel 5 bedoelde kwaliteitscontroles.

Elk team wordt geïdentificeerd door middel van een erkenningsnummer, dat eigen is aan het team. Elke belangrijke wijziging in de organisatie van het team moet binnen de 8 dagen aan de Dienst worden gemeld. De erkenning van het team moet worden hernieuwd telkens als de verantwoordelijke dierenarts wordt vervangen of er belangrijke wijzigingen worden aangebracht aan de organisatie van het team of aan de lokalen, laboratoria en uitrusting waarover het beschikt. De Dienst gaat na of deze bepalingen worden nageleefd en trekt de erkenning in, wanneer niet langer aan één of meerdere bepalingen van dit besluit wordt voldaan.

#### HOOFDSTUK IV - Kwaliteitscontrole

**Art. 6.** Monsters van spoelvoelstoffen, van wasvloeistoffen, van gedegenererde embryo's en van niet bevruchte eicellen, die bij het verrichten van de werkzaamheden zijn verkregen, worden ieder jaar door het team aan het erkend diagnoselaboratorium overgemaakt voor onderzoek volgens de modaliteiten die worden bepaald in bijlage III van dit besluit. De kosten van het onderzoek zijn ten laste van het team. De dienst kan evenwel overgaan tot bijkomende controles.

#### HOOFDSTUK V - Voorwaarden inzake verzamelen, behandeling, opslag en conditionering van de embryo's

**Art. 7.** De embryo's worden verzameld, behandeld en geïdentificeerd in partijen die aan dezelfde sanitaire voorwaarden voldoen.

**Art. 8.** De embryo's worden verzameld op een plaats die gescheiden is van het bedrijf en die in goede staat, gereinigd en ontsmet is.

**Art. 9.** De voorwaarden voor het behandelen van embryo's vormen bijlage IV van dit besluit. Zij mogen niet worden behandeld op een plaats waarvoor verbods- of quarantainemaatregelen gelden.

**Art. 10.** Alle gereedschap dat bij het verzamelen en behandelen met de embryo's of met het donordier in contact komt, mag slechts éénmaal worden gebruikt of moet vóór gebruik op adequate wijze worden ontsmet of gesteriliseerd.

**Art. 11.** De recipiënten voor opslag en transport moeten telkens op adequate wijze worden ontsmet of gesteriliseerd voordat met het vullen wordt begonnen.

**Art. 12.** § 1. Elk embryo moet, desgevallend, zo spoedig mogelijk worden ingevroren en opgeslagen.  
§ 2. Het cryogene middel mag voordien nog niet voor andere producten van dierlijke oorsprong zijn gebruikt.

**Art. 13.** § 1. Op elk embryo wordt een identificatienummer aangebracht, dat er eigen aan is.  
§ 2. Alle inkomende en uitgaande embryo's en de eindbestemming ervan worden permanent ingeschreven in een register waarvan een model wordt vastgelegd in bijlage V van dit besluit.

#### HOOFDSTUK VI - Voorwaarden waaraan de donordieren moeten voldoen

**Art. 14.** <KB 01.09.1995> § 1. Om in aanmerking te komen voor het intracommunautaire handelsverkeer moeten de embryo's afkomstig zijn:

1° van donordieren die:

- a) minstens 6 maanden voorafgaande aan het wegnemen van de embryo's, verbleven hebben in de Europese Gemeenschap of in derde landen waar het wegnemen van de embryo's plaatsvond;
- b) minstens 30 dagen voorafgaande aan het wegnemen van de embryo's, in hun beslag van oorsprong hebben verbleven;
- c) afkomstig zijn van beslagen die: officieel vrij zijn van tuberculose; officieel vrij of vrij zijn van brucellose; vrij zijn van enzoötische runderleucose.  
In afwijking van de bepalingen in punt c), derde lid, mogen de donordieren van beslagen afkomstig zijn die niet vrij zijn van enzoötische runderleucose, maar waarvan gecertificeerd is dat gedurende de laatste drie jaren geen enkel klinisch geval van enzoötische runderleucose werd vastgesteld.
- d) afkomstig zijn van beslagen waar in het voorafgaande jaar geen klinische tekenen zijn vastgesteld van infectueuze runderinotracheïtis/ infectueuze pustuleuze vulvovaginitis.

2° van donorkoeien die op de dag waarop de embryo's worden verzameld:

- a) niet verblijven in een bedrijf waartegen veterinaire rechtelijke verbods- of quarantainemaatregelen zijn uitgevaardigd;
- b) geen klinische ziektesymptomen vertonen.

3° van donorkoeien waarvan eicellen werden weggenomen door punctie van het ovarium of ovari-ectomie die beantwoorden aan de in punt 1° en 2° gestelde eisen van deze paragraaf.

4° van donorkoeien waarvan eierstokken of andere weefsels werden weggenomen na de slachting, die niet geslacht werden als gevolg van een afmakingsbevel in het kader van een uitroeiingsprogramma van een ziekte of die afkomstig zijn van een bedrijf dat niet onderworpen werd aan veterinairerechtelijke beperkingsmaatregelen in een slachthuis dat gelegen is in een zone die niet onderworpen is aan verbods- of quarantainemaatregelen.

§ 2. Embryo's die bestemd zijn voor de nationale markt moeten afkomstig zijn:

1° van donorkoeien die de laatste 6 maanden voor het verzamelen van de embryo's in één of maximum twee beslagen hebben verbleven die beantwoorden aan volgende vereisten:

- die officieel vrij zijn van tuberculose;
- die officieel vrij zijn van brucellose of vrij zijn van brucellose;
- die vrij zijn enzoötische runderleucose of waarin gedurende de laatste drie jaren geen klinische tekenen van enzoötische runderleucose is opgetreden.

2° van donorkoeien waarbij de eierstokken of andere weefsels werden weggenomen na de slachting, die niet op bevel geslacht werden in het kader van een uitroeiingsprogramma van een ziekte of die afkomstig zijn van een bedrijf dat niet onderworpen werd aan veterinairerechtelijke beperkingsmaatregelen.

§ 3. Alleen bevroren embryo's mogen worden ingevoerd uit derde landen die tegen mond- en klauwzeer inenten. Deze embryo's moeten voor de verzending gedurende een periode van minstens 30 dagen onder goedgekeurde omstandigheden zijn bewaard.

De donordieren moeten afkomstig zijn van een bedrijf waar tijdens de 30 dagen voor het verzamelen geen enkel dier tegen mond- en klauwzeer werd ingeënt en waar geen verbods- of quarantainemaatregelen gelden.

**Art. 15.** De donorkoeien moeten zijn geïnsemineerd met sperma dat voldoet aan de voorwaarden van richtlijn 88/407/EEG van 14 juni 1988 tot vaststelling van de veterinairerechtelijke voorschriften van toepassing op het intracommunautaire handelsverkeer diepgevroren sperma van runderen en de invoer daarvan.

**Art. 15bis.** <ingevoegd bij KB 01.09.1995> De embryo's bestemd voor het intracommunautaire handelsverkeer moeten verkregen zijn door kunstmatige inseminatie of door bevruchting in vitro, met sperma van een donordier dat afkomstig is uit een spermacentrum dat door de bevoegde autoriteit is erkend voor de winning, de behandeling en de opslag van sperma, of met sperma dat overeenkomstig de Richtlijn 88/407/EEG werd ingevoerd.

**Art. 16.** De dag waarop de embryo's worden verzameld mogen de donorkoeien geen enkel klinisch ziektekenen vertonen en moeten zij verblijven op een bedrijf waartegen geen verbodsmaatregelen zijn uitgevaardigd.

**Art. 17.** In het kader van specifieke programma's dierziektenbestrijding mag de dienst echter afwijkingen toekennen van de verplichtingen die uit de artikelen 14, 15 en 16 van dit besluit voortvloeien. De bij toepassing van deze afwijkingen verzamelde embryo's mogen echter niet het voorwerp uitmaken van nationaal en intracommunair handelsverkeer.

## HOOFDSTUK VII - Vervoer

**Art. 18.** Voor het handelsverkeer bestemde embryo's moeten, onder hygiënisch bevredigende omstandigheden in strootjes, ampullen of andere verzegelde recipiënten vanuit de erkende opslagplaatsen naar hun bestemming worden vervoerd.

**Art. 19.** <KB 01.09.1995> De in artikel 18 bedoelde recipiënten mogen alleen embryo's bevatten die tot dezelfde partij behoren. Elk recipiënt moet vergezeld gaan van een gezondheidscertificaat dat overeenstemt met bijlage VI bij dit besluit.

## HOOFDSTUK VIII - Identificatie

**Art. 20.** § 1. Elke recipiënt voor embryo's alsook de recipiënt waarin zij worden opgeslagen en vervoerd worden op een zodanige wijze gemerkt dat men daaruit gemakkelijk kan aflezen: de datum waarop de embryo's werden verzameld, het ras, de identificatie van het mannelijk en vrouwelijk donordier en het erkenningsnummer van het team.

§ 2. Bij het merken van de recipiënten moet het nummer overeenstemmen met het nummer op het in artikel 19 bedoelde gezondheidscertificaat.

## HOOFDSTUK IX - Verbod

**Art. 21.** Het opslaan van embryo's door iemand die geen deel uitmaakt van een erkend embryoteam is verboden.

## HOOFDSTUK X - Sancties



**Art. 22.** Onverminderd het intrekken van de in artikel 4 bedoelde erkenning worden de overtredingen van de bepalingen van dit besluit opgespoord, vastgesteld en bestraft overeenkomstig de hoofdstukken V en VI van de Dierengezondheidswet van 24 maart 1987.

#### **HOOFDSTUK XI - Slotbepalingen**

**Art. 23.** Dit besluit wordt van kracht de eerste dag van de tweede maand die volgt op de bekendmaking ervan in het Belgisch Staatsblad.

**Art. 24.** Onze Minister van Buitenlandse Zaken en Onze Staatssecretaris voor Landbouw zijn, ieder wat hem betreft, belast met de uitvoering van dit besluit.

**Wijzigingen:**

Koninklijk besluit van 01.09.1995 (B.S. 09.11.1995)

**Bijlage I <KB 01.09.1995>****Eisen voor de erkenning van verzamel- en overplantingsteams en voor de productieteams van embryo's.**

Om erkend te worden, moet elk team aan de volgende vereisten voldoen:

a) De verzameling, behandeling, overplanting en opslag van embryo's moeten uitgevoerd worden hetzij door een verantwoordelijke teamdierenarts, hetzij onder verantwoordelijkheid van deze laatste door één of meer bevoegde dierenartsen of technici die opgeleid zijn voor hygiënische methodes en technieken.

b) Voor het onderzoek, de behandeling en de verpakking van de embryo's moet het team beschikken over permanente of eventueel mobiele laboratoriuminstallaties, die tenminste bestaan uit een werkruimte, een microscoop en cryogene apparatuur.

c) Het team moet beschikken over:

- een behandelingskamer voor embryo's, die grenst aan de ruimte waar de verzameling van de embryo's bij de donordieren plaats heeft, maar die er toch fysiek van gescheiden is;

- een lokaal of ruimte uitgerust voor het reinigen en steriliseren van de instrumenten en van het materiaal dat wordt gebruikt bij de verzameling of de behandeling van de embryo's. In een mobiel laboratorium moet er een speciale ruimte zijn, verdeeld in twee verschillende secties:

- een eerste, zuivere afdeling voor onderzoek en behandeling van embryo's

- een tweede afdeling waar de gebruikte apparatuur en het materiaal dat in contact met de donordieren geweest is, kan worden opgeslagen.

Een mobiel laboratorium moet voortdurend in contact zijn met een permanent laboratorium voor het steriliseren van zijn materiaal en voor bevoorrading van vloeistoffen en andere producten nodig voor de verzameling en behandeling van embryo's.

d) Bij de microbehandeling van een embryo met penetratie van de zona pellicuda, moet gebruik gemaakt worden van een trekkast met laminaire luchtstroom. Deze trekkast dient bij elke behandeling van een nieuwe partij naar behoren gereinigd en gedesinfecteerd te worden.

e) Elk verzamelteam moet verslagen bijhouden van zijn activiteiten in verband met de verzameling van embryo's gedurende 12 maanden voor en na de opslag. De volgende gegevens moeten genoteerd worden:

- ras, leeftijd en identificatie van de vrouwelijke en mannelijke donordieren;

- plaats van verzameling, behandeling en opslag van de door het team verzamelde embryo's;

- identificatie van de embryo's en de gegevens over hun bestemming indien die gekend is;

- de gebruikte technieken voor microbehandeling met penetratie van de zona pellicuda of andere technieken zoals in vitro bevruchting en/of in vitro cultuur, die op de embryo's zijn toegepast;

- Indien het gaat om embryo's die bekomen zijn door in vitro bevruchting, mag de identificatie per partij opgegeven worden, maar steeds moet daarbij de datum en plaats van winning van de eierstokken en/of eicellen vermeld zijn. De identiteit van het beslag van oorsprong van de donordieren moet gekend zijn.

f) om erkend te worden als productie en behandelingsteam van embryo's verkregen met in vitro bevruchting of in vitro cultuur, moet het embryoteam aan volgende bijkomende vereisten voldoen:

- het personeel moet een gepaste opleiding genoten hebben in verband met ziektecontrole en

- laboratoriumtechnieken, meer bepaald met procedures die te maken hebben met het werken in steriele milieus;

- het team moet beschikken over een vast permanent laboratorium:

- i) met aangepaste uitrusting en apparatuur met inbegrip van aparte lokalen voor de winning van eicellen en ovaria en met lokalen of aparte ruimten voor de behandeling van eicellen en embryo's en voor de opslag van de embryo's;

- ii) dat uitgerust is met trekkasten met laminaire luchtstroom waarin alle eicellen, sperma en embryo's behandeld worden; sperma mag nochtans gecentrifugeerd worden buiten een trekkast met laminaire luchtstroom op voorwaarde dat de regels in verband met hygiëne gerespecteerd zijn.

- Wanneer eicellen en andere weefsels in een slachthuis verzameld worden, moet het team over aangepaste apparatuur beschikken zodanig dat de winning en het transport van deze eicellen en weefsels naar het behandelende laboratorium in hygiënische en veilige omstandigheden gebeuren.



**Bijlage II**

**Erkenningsaanvraag**

**A. Betreft: Verzamelen en overplanten van runderembryo's bekomen door bevruchting in vivo**

Ik ondergetekende: .....  
 verantwoordelijke dierenarts,  
 (1) -zelfstandige .....  
 -loontrekkende ..... (naam van de werkgever)  
 -vertegenwoordiger van de VZW ..... (naam van de VZW)  
 -(andere) .....  
 Adres (2) .....  
 Tel .....  
 .....

- I. Verbind mij ertoe de volgende voorschriften te respecteren:
1. Uitvoeren van alle verrichtingen die samengaan met het verzamelen en overplanten van embryo's volgens de bepalingen in het koninklijk besluit betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen.
  2. Deelnemen en voldoen aan de verplichte kwaliteitscontroles die regelmatig door de Dienst worden georganiseerd. De kosten verbonden aan deze kwaliteitscontroles, zijn ten laste van de te controleren teams. De kostprijs wordt bepaald door het erkend diagnoselaboratorium.
  3. Na elk kwartaal de gegevens aan de Dienst doorgeven over verzameling en transplantatie van embryo's.
  4. Bijhouden en ter beschikking stellen van de inspecteur-dierenarts van het ambtsgebied waar het team gevestigd is, van het register waarin de verzamelfiches en de overplantingsattesten worden genoteerd, zoals wordt voorgeschreven door het koninklijk besluit betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen, en eveneens van de monsters, nodig voor de kwaliteitscontrole.

II. Verklaar dat het team bestaat uit:  
 (3) De Heer, Mevr. ....  
 .....

- III. Verklaar dat hoger genoemd team over volgende uitrusting beschikt:
- A. Lokalen voor de opslag van embryo's:
- a) tenminste een lokaal dat op slot dient uitsluitend voor het opslaan van embryo's; (\*)
  - b) ze zijn gemakkelijk te reinigen en te desinfecteren;
  - c) er bevindt zich een register waarin permanent genoteerd wordt welke embryo's binnenkomen en buitengaan. Meer bepaald wordt hierin de uiteindelijke bestemming van de embryo's opgetekend.
- De dienst staat de opslag van sperma in deze lokalen toe, mits het voldoet aan de eisen van de richtlijn 88/407/EEG.
- B. Een permanent en eventueel een mobiel laboratorium die tenminste bestaan uit een werkruimte, een microscoop en cryogene apparatuur voor het onderzoek, de behandeling en de verpakking van embryo's.
- C. Een behandelingslokaal voor embryo's, dat grenst aan de ruimte waar de donordieren behandeld worden, maar dat er fysiek van gescheiden is.  
 Een lokaal of een ruimte uitgerust voor de reiniging en het steriliseren van de instrumenten en ander materiaal dat gebruikt is bij de winning of de behandeling van de embryo's.
- D. In een mobiel laboratorium moet een speciaal deel van het voertuig ingericht worden, dat ingedeeld is in twee secties: de eerste, die zeer zuiver moet gehouden worden, dient voor de behandeling van de embryo's; in de andere worden de gebruikte instrumenten en het materiaal verzameld dat met de donordieren in contact is geweest.

IV. Verklaar dat het team er zich toe verbindt:  
 Alle activiteiten te noteren over verzameling van embryo's gedurende twaalf maanden voor en na de opslag:  
 -ras, leeftijd en identificatie van de vrouwelijke en mannelijke donordieren;  
 -plaats van winning, behandeling en opslag van de embryo's;  
 -identificatie van de embryo's en detailinformatie over hun bestemming als die gekend is.  
 Ik ben er mij van bewust dat het niet naleven van een of meerdere bepalingen vervat in het koninklijk besluit betreffende de sanitaire eisen over het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen, de intrekking van de erkenning tot gevolg kan hebben.

Datum en handtekening.



**B. Betreft: Verzamelen en overplanten van runderembryo's bekomen door bevruchting in vitro**

Ik ondergetekende: .....  
 verantwoordelijke dierenarts,

- (1) -zelfstandige .....  
 -loontrekkende ..... (naam van de werkgever)  
 -vertegenwoordiger van de VZW ..... (naam van de VZW)  
 -(andere) .....

Adres (2) .....  
 Tel .....

I. Verbind er mij toe de volgende voorschriften te respecteren:

1. Realisatie van alle verrichtingen die gepaard gaan met het verzamelen en overplanten van embryo's in vitro volgens de bepalingen in het koninklijk besluit betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen.
2. Deelnemen en voldoen aan de verplichte kwaliteitscontroles die regelmatig door de Dienst worden georganiseerd. De kosten verbonden aan deze kwaliteitscontroles, zijn ten laste van de te controleren teams. De kostprijs wordt bepaald door het erkend diagnoselaboratorium.
3. Na elk kwartaal de gegevens aan de Dienst doorgeven over verzameling en transplantatie van embryo's.
4. Bijhouden en ter beschikking stellen van de inspecteur-dierenarts van het ambtsgebied waar het team gevestigd is, van het register waarin de verzamelfiches en de overplantingsattesten worden genoteerd, zoals wordt voorgeschreven door het koninklijk besluit betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen, en eveneens van de monsters, nodig voor de kwaliteitscontrole.

II. Verklaar dat het team bestaat uit:

(3) De Heer, Mevr. ....  
 .....

III. Verklaar dat hoger genoemd team beschikt over:

A. Lokalen voor de opslag van embryo's:

- a) tenminste een lokaal kan op slot dient uitsluitend voor het opslaan van embryo's; (\*)
- b) ze zijn gemakkelijk te reinigen en te desinfecteren;
- c) er bevindt zich een register waarin permanent genoteerd wordt welke embryo's binnenkomen en buitengaan. Meer bepaald wordt hierin de uiteindelijke bestemming van de embryo's opgetekend.

De Dienst staat de opslag van sperma in deze lokalen toe, mits het voldoet aan de eisen van de richtlijn 88/407/EEG.

B. Personeel dat een aangepaste opleiding genoot en vertrouwd is met laboratoriumtechnieken en speciaal met de werkmethoden in steriele milieus.

C. Een permanent vast laboratorium:

- uitgerust met aangepaste apparatuur, aparte lokalen voor de winning van eicellen en aparte lokalen of ruimten voor de behandeling van eicellen en embryo's;
- dat over trekkasten met laminaire luchtstroming beschikt.

IV. Verklaar dat het team er zich toe verbindt:

Alle activiteiten te noteren over verzameling van embryo's gedurende twaalf maanden voor en na de opslag:

-datum en plaats van de winning van de partijen ovaria en/of eicellen;

-plaats van opslag van de embryo's;

-identificatie van de embryo's en detailinformatie over hun bestemming als die gekend is.

Ik ben er mij van bewust dat het niet naleven van een of meerdere bepalingen vervat in het koninklijk besluit betreffende de sanitaire eisen over het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen, de intrekking van de erkenning tot gevolg kan hebben.

Datum en handtekening.

- (1) Het onnodige doorhalen
- (2) Adres en telefoon en faxnummer van het team
- (3) Naam, voornaam, the! en adres van alle leden van het team
- (\*) lees: ...een afsluitbaar lokaal dat uitsluitend dient voor ...

### Bijlage III

#### Modaliteiten van de kwaliteitscontrole door de erkende teams.

##### I. Te behandelen monsters:

1. de spoelvloeistoffen: de vloeistoffen die bij het verzamelen van embryo's van eenzelfde donordier worden gebruikt, moeten in een steriele recipiënt;
2. de wasvloeistoffen: de vloeistoffen die worden gebruikt voor de laatste (drie) wasbeurten van embryo's van eenzelfde donordier, moeten met elkaar worden gemengd en bewaard; <Err. 19.06.1992>
3. gedegeneerde embryo's en niet bevruchte eicellen: (alle gewonnen gedegeneerde embryo's) en niet bevruchte eicellen van een zelfde donordier moeten worden samengevoegd, tienmaal gewassen en bewaard. <Err. 19.06.1992>

##### II. Bewaring van de monsters:

4. alle voornoemde monsters moeten worden bewaard in vloeibare stikstof op een temperatuur van - 196 °C.

##### III. Organisatie van de kwaliteitscontrole:

5. elk team moet éénmaal per jaar op verzoek van het erkend diagnoselaboratorium, aan dit laatste de lijst bezorgen van de vrouwelijke donordieren waarvan de embryo's werden genomen;
6. de bij elke verzameling genomen monsters moeten zorgvuldig worden geïdentificeerd: nummer van de verzameling, datum van de verzameling, identificatie van het vrouwelijke donordier, erkenningsnummer van het team;
7. het erkende diagnoselaboratorium wijst, willekeurig, op die lijst de donordieren aan waarvan de bewaarde monsters virologisch en bacteriologisch zullen worden onderzocht met het oog op het opsporen van eventuele besmettingen.

##### IV. Modaliteiten van praktische bacteriologische en virologische onderzoeken op de monsters, interpretatie van de resultaten:

8. Zodra het erkende diagnoselaboratorium de in punt 5 bedoelde lijst heeft ontvangen, doet het een loting op 10 % van de verzamelingen, met een minimum van vijf verzamelingen. Het erkende team dat wordt gecontroleerd, moet dan naar het erkende laboratorium de monsters zenden die betrekking hebben op de gelote verzamelingen.

9. Op de monsters, die in een container met vloeibare stikstof worden verzonden, worden de volgende onderzoeken gedaan:

- een kwantitatief bacteriologisch onderzoek: op columbia agar-agar, dat met bloedlichaampjes en met kalfserum (10 %) werd verrijkt, giet men de vloeistoffen die voor het verzamelen en wassen van de embryo's hebben gediend. In een normale atmosfeer duurt de incubatie vier dagen. De resultaten van de tellingen worden uitgedrukt in kolonievormende eenheden (KVE/ml).

De resultaten worden geïnterpreteerd als volgt:

minder dan vijf KVE = 0;

tussen 5 en honderd KVE = +;

tussen honderd en duizend KVE = ++;

tussen duizend en tienduizend KVE = +++;

meer dan tienduizend KVE = ++++.

- een kwalitatief bacteriologisch onderzoek: op de vloeistoffen die voor het verzamelen en wassen van de embryo's hebben gediend: op columbia agar-agar verrijkt met schapebloed (10 %).

De incubatie gebeurt in een atmosfeer die voor 10 % uit CO<sub>2</sub> bestaat. De dozen worden, gedurende vier dagen, om de vierentwintig uur geobserveerd.

- een kwalitatief onderzoek, op mycoplasmen, door enting op speciale voedingsbodems van de vloeistoffen die voor het verzamelen en wassen van de embryo's hebben gediend.

- een virologisch onderzoek op BHV1 en BVDV, van de wasvloeistoffen en op gedegeneerde en niet-bevruchte embryo's.

10. De interpretatie van de resultaten gebeurt op de volgende wijze:

- gunstige beoordeling:

het mengsel van de laatste drie wasvloeistoffen moet, bij analyse, steriel zijn;

het zoeken naar virussen in wasvloeistoffen en niet-bevruchte en gedegeneerde embryo's mag niet tot positieve resultaten leiden;

de besmetting van de vloeistoffen die voor het verzamelen van de embryo's hebben gediend, kan worden geduld, maar dat mag niet systematisch het geval zijn voor allemaal.

Een globaal gunstig resultaat kan slechts worden verkregen indien elke verzameling afzonderlijk tot een gunstig besluit heeft geleid.

##### V. Sancties:

Indien de in IV bedoelde onderzoeken tot een ongunstig resultaat leiden, wordt een tweede reeks monsters aan het team in kwestie gevraagd, na loting van drie bijkomende verzamelingen.

Indien de nieuwe resultaten de eerste bevestigen, wordt de erkenning van het team ingetrokken.

**Bijlage IV <KB 01.09.1995>**

**Voorwaarden voor behandeling en opslag van embryo's.**

I. Algemene vereisten:

1. De ruimte waar de embryo's behandeld worden, t.t.z. waar ze gewassen worden, onderzocht en zonodig diepgevroren, moet zuiver zijn en gedesinfecteerd. Er mag zich geen enkel (laboratorium)dier bevinden.
2. Alle voedingsbodems en oplossingen moeten steriel gemaakt worden volgens erkende methoden overeenkomstig de aanbevelingen van het handboek van de International Embryo Transfert Society" (IETS). Antibiotica mogen toegevoegd worden aan de voedingsbodems eveneens volgens het handboek IETS; Alle recipiënten, instrumenten en ampullen die tijdens het procédé gebruikt worden, moeten steriel zijn.
3. De embryo's van eenzelfde moederdier moeten gezamenlijk behandeld en gestockeerd worden, zij worden immers als één entiteit beschouwd op sanitair vlak.
4. Voor embryo's bekomen met in vitro bevruchting die afkomstig zijn van ovaria van geslachte moederdieren geldt dat enkel de embryo's van eenzelfde partij donordieren gestockeerd mogen worden in dezelfde ampul of hetzelfde rietje.

II. Wassen van de embryo's:

5. De embryo's van eenzelfde moederdier moeten per groep van maximum tien worden gewassen en de wasvloeistof moet tien maal vervangen worden. Het micropipet gebruikt voor het overbrengen van de embryo's moet worden vervangen bij elke nieuwe wasvloeistof. Bij elke wasbeurt moet de vloeistof een honderdvoudige verdunning van de vorige zijn.
6. Het wassen van de embryo's moet het eventuele invriezen voorafgaan.
7. Embryo's verkregen door zowel bevruchting als cultuur in vitro, moeten na afloop van het cultuurprocédé gewassen worden.

III. Onderzoek van embryo's:

8. De zona pellucida van elk embryo moet over haar volledig oppervlak onderzocht worden met apparatuur die minstens 50 x vergroot: ze moet intact zijn en vrij van vreemde stoffen.
9. Het onderzoek van de zona pellucida moet na het wassen en voor het invriezen plaatsvinden.
10. Het onderzoek van embryo's die bekomen zijn door zowel bevruchting als cultuur in vitro, moet gebeuren na afloop van het cultuurprocédé.
11. Elke microbehandeling die gepaard gaat met penetratie van het pellucidamembraan moet gebeuren volgens de bepalingen beschreven onder III, 8 na het wasprocédé, beschreven onder II, 5.

IV. Trypsinebehandeling:

12. Wanneer de sanitaire autoriteiten van het land van bestemming dit eisen, moeten de embryo's bestemd voor uitvoer naar derde landen een trypsinebehandeling ondergaan volgens de volgende procedure:  
De embryo's worden in 5 opeenvolgende baden met fosfaatbuffer (PBS) gedompeld, zonder Ca<sup>++</sup> of Mg<sup>++</sup>, maar die wel antibiotica bevatten en 0,4 % runderserumalbumine (BSA). Daarna worden de embryo's 60/90 seconden ondergedompeld in twee baden evenmatige delen trypsine Ph 7.6-7.8. De steriele trypsine (1:250) die zodanig werkt dat 1 g ervan 250 g casbine hydrolyseert in tien minuten bij 25 °C en een Ph 7.6 in een zoutoplossing van HANK, zonder Ca<sup>++</sup> of Mg<sup>++</sup>, wordt gebruikt in een concentratie van 0,25 %. Na de trypsinebehandeling worden de embryo's in 5 opeenvolgende baden PBS gedompeld, die antibiotica bevatten en 2 % serum. Het is van belang na de trypsinebehandeling samen met het serum opnieuw BSA aan de baden toe te voegen om zeker te zijn dat de trypsine niet meer actief is.

**Bijlage V**

**Model van opslagregister van embryo's.**

Identificatie nummer van embryo	Datum van verzameling	Plaatsnr. in de opslag-recipient	Eventueel andere indicatie i.v.m. opslag	Naam en adres van de eigenaar	Datum van implanting of aflevering	Naam en adres van de bestemming	Vrouwelijke donor			Mannelijke donor		
							Ras	Ouderdom	Ident. nr.;	Ras	Ouderdom	Ident. nr.

**Bijlage VI**

**Gezondheidscertificaat**

1. Afzender (naam en volledig adres)		GEZONDHEIDSCERTIFICAAT Nr..... ORIGINEEL
		2. Lid-Staat van herkomst
3. Geadresseerde (naam en volledig adres)		4. BEVOEGDE INSTANTIE
OPMERKINGEN a. Voor elke partij embryo's wordt een apart certificaat afgegeven b. Het origineel van dit certificaat vergezelt de partij tot op de plaats van bestemming		5. BEVOEGDE PLAATSELIJKE INSTANTIE
6. Plaats van lading		7. Naam en adres van embryoteam
8. Transportmiddel		
9. Plaats en Lid-Staat van bestemming		
11. Aantal en codemerk van embryorecipiënten		10. Registratienummer van het embryoteam
12. Identificatie van de partij		
a. Aantal embryo's	b. Datum (a) van verzameling	c. Ras
(1) d. Embryo's verkregen door natuurlijke / in vitro (2) bevruchting en waarvan de zona pellucida werd / niet werd (2) geopend		
13. Ondergetekende, officiële dierenarts, verklaart dat:		
a. de hierboven omschreven embryo's zijn verzameld, behandeld en opgeslagen onder voorwaarden die voldoen aan de bij Richtlijn 89/558/EEG vastgestelde normen;		
b. de hierboven omschreven embryo's zijn verzonden naar de plaats van inlading in verzegelde recipiënten onder de voorwaarden die voldoen aan Richtlijn 89/556/EEG.		
Gedaan te ....., op .....		
Handtekening		
Naam en functie (in drukletters): ..... .....		
Stempel		

(1) moet niet ingevuld worden voor embryo's verzameld, behandeld en opgeslagen voor 1 maart 1994.

(2) schrappen wat niet past

<ingevoegd bij KB 01.09.1995>