

Erkenningsvoorwaarden voor embryoteams en embryoproductieteams voor runderen

Bijlage II. 9.1 (embryoteam) en 9.5 (embryoproductieteam) bij het koninklijk besluit van 16 januari 2006 tot vaststelling van de nadere regels van de erkenningen, toelatingen en voorafgaande registraties afgeleverd door het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen

Activiteit :

- het verzamelen, behandelen, overplanten en de opslag resp. de in-vitro productie van embryo's bestemd voor het nationaal handelsverkeer;
- het verzamelen, behandelen, overplanten en de opslag resp. de in-vitro productie van embryo's bestemd voor het intracommunautair handelsverkeer.

Activiteitencode :

- 24082930 embryoteam nationaal handelsverkeer
- 24082910 embryoproductieteam nationaal handelsverkeer
 - 26 diersoortcode runderen
- 24092930 embryoteam intracommunautaire handel
- 24092950 embryoproductieteam intracommunautair handelsverkeer
 - 26 diersoortcode runderen

Overzicht erkenningsvoorwaarden

Om een erkenning te bekomen en te behouden voor de productie, verzameling, behandeling, opslag en het in de handel brengen van embryo's bestemd voor de nationale handel of voor het intracommunautair handelsverkeer moet een embryo(productie)team beantwoorden aan de volgende voorwaarden:

- a) beschikken over een infrastructuur en een uitrusting die beantwoorden aan de eisen vastgesteld in punt 1;
- b) een schriftelijke overeenkomst hebben met de teamdierenarts, waarin de teamdierenarts verklaart dat hij de verantwoordelijkheid voor dit embryo(productie)team opneemt;
- c) voldoen aan de sanitaire exploitatievoorwaarden overeenkomstig de bepalingen van punt 2;
- d) van dag tot dag registers bijhouden waarin de verrichtingen worden bijgehouden volgens de instructies van punt 5;
- e) de instructies van het Agentschap opvolgen, onder meer wat betreft de kwaliteitscontrole onder punt 6.

Elke belangrijke wijziging in het team wordt ter kennis gebracht van het Agentschap.

De erkenning van het team moet worden hernieuwd wanneer de teamdierenarts wordt vervangen of wanneer zich belangrijke wijzigingen voordoen in de organisatie van het team, of in de laboratoria en de apparatuur waarover het beschikt.

1. Infrastructuurvoorwaarden

Het embryoteam moet ten minste beschikken over een permanent of mobiel laboratorium waar embryo's kunnen worden onderzocht, behandeld en verpakt. Dat laboratorium beschikt minstens over een werkoppervlak, een microscoop en cryogene apparatuur.

- a) Een permanent laboratorium moet beschikken over:
- een lokaal waar de embryo's kunnen worden behandeld, dat grenst aan, maar fysiek gescheiden is van het gebied waar de donordieren tijdens het verzamelen van de embryo's verblijven;
 - een lokaal of ruimte, uitgerust voor het reinigen en steriliseren van instrumenten en materieel voor gebruik bij de verzameling en de behandeling van embryo's;
 - adequate installaties met laminaire stroming, wanneer micromanipulatie van het embryo vereist is waarbij de zona pellucida wordt doorgeprikt; de installaties moeten na elke partij naar behoren worden gereinigd en ontsmet.
- b) Een mobiel laboratorium moet beschikken over een speciaal uitgerust deel van het voertuig, bestaande uit twee aparte afdelingen:
- een schone afdeling voor onderzoek en behandeling van de embryo's, en
 - een afdeling waar de apparatuur en de materialen zijn ondergebracht die bij gebruik in contact komen met de donordieren.

Een mobiel laboratorium dient steeds contact te hebben met een laboratorium met vaste vestigingsplaats voor de sterilisatie van de apparatuur en de levering van vloeistoffen en andere producten die nodig zijn bij de verzameling en behandeling van embryo's.

Om te kunnen worden erkend voor de productie en de behandeling van embryo's verkregen door in-vitro bevruchting en/of in-vitro kweek, moet een embryoproductieteam bovendien aan de volgende bijkomende eisen voldoen:

- c) het personeel moet de nodige scholing hebben gekregen inzake ziektebestrijding en laboratoriumtechnieken, met name inzake de methodes voor het werken onder steriele omstandigheden;
- d) het team moet kunnen beschikken over een laboratorium met vaste vestigingsplaats, met:
- adequate apparatuur en voorzieningen, met inbegrip van een apart lokaal voor het winnen van de eicellen uit de ovaria en aparte lokalen of ruimten voor het behandelen van de eicellen en de embryo's en voor het opslaan van de embryo's;
 - installaties met laminaire stroming, waarin alle eicellen, sperma en embryo's moeten worden behandeld; centrifugatie van het sperma mag evenwel buiten die installaties plaatsvinden, op voorwaarde dat de nodige voorzorgen op hygiënisch gebied worden genomen;
- e) wanneer eicellen en ander weefsel moeten worden verzameld in een slachthuis, moet het team kunnen beschikken over de nodige apparatuur om de ovaria en ander weefsel op een hygiënische en veilige manier te verzamelen en naar het laboratorium te vervoeren.

2. Sanitaire Exploitatievoorwaarden

2.1. Het embryoteam moet voldoen aan volgende vereisten:

- a) de verzameling, behandeling en opslag van embryo's moet geschieden hetzij door een teamdierenarts, hetzij onder diens verantwoordelijkheid door één of meer bevoegde technici die zijn geschoold in hygiënemethoden en -technieken;
- b) het team moet onder het algemene toezicht van de officiële dierenarts staan en onder diens gezag worden geplaatst;
- c) ten minste eenmaal per jaar moet door een officiële dierenarts een controle worden verricht waarbij wordt nagegaan of nog steeds aan alle voorwaarden inzake erkenning en toezicht wordt voldaan;
- d) ten minste beschikken over één afsluitbare ruimte voor de opslag van eicellen en embryo's die gemakkelijk kan worden schoongemaakt en ontsmet. Deze opslagruimte staat onder toezicht van de erkende teamdierenarts en wordt regelmatig gecontroleerd door een officiële dierenarts;
- e) elk embryo(productie)team moet registers bijhouden volgens de bepalingen van punt 5.
- f) elk embryoteam of embryoproductieteam ziet erop toe dat de embryo's worden opgeslagen bij passende temperaturen in daarvoor erkende lokalen.

Om te worden erkend moeten deze lokalen:

- i. ten minste één afsluitbaar lokaal omvatten dat uitsluitend bestemd is voor de opslag van embryo's;
- ii. gemakkelijk te reinigen en te ontsmetten zijn;
- iii. door de officiële dierenarts ten minste elk kalenderjaar worden geïnspecteerd.

Het is toegelaten dat rundersperma dat beantwoordt aan de voorwaarden van het KB van 9 december 1992, wordt opgeslagen in een opslagruimte voor embryo's op voorwaarde dat de opslag gebeurt in aparte containers.

2.2. Het embryoproductieteam moet voldoen aan volgende bijkomende vereisten:

- a) het personeel moet de nodige scholing hebben gekregen inzake ziektebestrijding en laboratoriumtechnieken, met name inzake de methodes voor het werken onder steriele omstandigheden.

3. Voorschriften voor de donordieren

Voor het winnen van embryo's of eicellen moeten de donordieren voldoen aan de volgende voorwaarden:

- a) zij moeten ten minste de voorbije zes maanden hebben verbleven op het grondgebied van de EU of op dat van het derde land waar het embryo wordt gewonnen;
- b) zij moeten ten minste de laatste 30 dagen vóór de winning van het embryo in het beslag van herkomst hebben verbleven;
- c) zij moeten komen uit beslagen die
 - officieel vrij van tuberculose zijn,
 - officieel vrij van brucellose zijn,
 - vrij zijn van enzoötische boviene leukose of waarin gedurende de laatste drie jaren geen klinische tekenen van deze ziekte zijn opgetreden;
- d) zij mogen in het laatste jaar geen deel hebben uitgemaakt van een beslag/beslagen waar klinische symptomen van infectieuze boviene rhinotracheitis/infectieuze pustuleuze vulvovaginitis (IBR/IPV) zijn geconstateerd;
- e) zij hebben in de periode van 30 dagen vóór het verzamelen van de embryo's negatief gereageerd op een antigeentest - ELISA of PCR - voor BVD.

4. Voorschriften voor het winnen en behandelen van embryo's

4.1. Voorschriften voor *in vivo* gewonnen embryo's

- a) Bij de verzameling en behandeling van embryo's door een erkend embryoteam mogen de embryo's niet in contact komen met andere partijen embryo's die niet aan de voorwaarden van dit besluit voldoen.
- b) Embryo's worden verzameld op een plaats die gescheiden is van de andere delen van het gebouw of het bedrijf; deze moet goed worden onderhouden en gemakkelijk kunnen worden gereinigd en ontsmet.
- c) De embryo's worden behandeld (onderzoek, wassen, manipuleren en plaatsing in gemerkte steriele containers) in een laboratorium met vaste vestigingsplaats of een mobiel laboratorium, niet gelegen in een zone waarvoor verbods- of quarantainemaatregelen gelden.
- d) Alle materiaal en gereedschap dat bij de verzameling en behandeling 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 en gesteriliseerd.
- e) Producten van dierlijke oorsprong die bij het verzamelen van de embryo's en in het transportmedium worden gebruikt, moeten afkomstig zijn van bronnen die geen gevaar opleveren voor de diergezondheid of moeten vóór gebruik zo worden behandeld dat een dergelijk gevaar wordt voorkomen. Alle media en oplossingen moeten worden gesteriliseerd met behulp van goedgekeurde methoden overeenkomstig de aanbevelingen die zijn opgenomen in de recentste versie van het handboek van de „International Embryo Transfer Society (IETS)”. Antibiotica mogen aan de media worden toegevoegd overeenkomstig de in het IETS-handboek vastgestelde voorschriften.
- f) De recipiënten voor opslag en transport worden bij elke leegstand op adequate wijze ontsmet of gesteriliseerd voordat met het vullen wordt begonnen.
- g) Het cryogene middel mag voordien nog niet voor andere producten van dierlijke oorsprong zijn gebruikt.
- h) Elke embryorecipiënt en elke recipiënt waarin de embryo's worden opgeslagen en vervoerd moet van een afzonderlijk gecodeerd merkteken worden voorzien zodat de datum waarop het embryo is verzameld, het ras en de identificatie van de donorstier en de donorkoe, alsmede het registratienummer van het embryoteam gemakkelijk kunnen worden vastgesteld.

- i) Wassen van de embryo's:
- de embryo's van eenzelfde donordier worden per groep van maximum tien gewassen in een speciale embryowasvloeistof, en de wasvloeistof wordt hierbij ten minste tienmaal vervangen;
 - het steriele micropipet gebruikt voor het overbrengen van de embryo's wordt vervangen bij elke nieuwe wasvloeistof;
 - bij elke wasbeurt is de vloeistof een honderdvoudige verdunning van de vorige.
- j) Onderzoek van de embryo's: na de laatste wasbeurt wordt de zona pellucida (zp) van elk embryo over de gehele oppervlakte microscopisch onderzocht bij een vergroting van ten minste 50 keer om na te gaan of ze nog intact is en vrij van vreemde stoffen. Dat onderzoek gebeurt na het wassen en vóór het invriezen. Eventuele micromanipulatie waarbij de zp wordt doorgesproken, wordt enkel uitgevoerd in de daartoe bestemde infrastructuur en pas nadat het embryo gewassen en onderzocht is. Dergelijke micromanipulatie wordt niet verricht bij een embryo waarvan de zp niet meer intact is.
- k) Elke partij embryo's die het onderzoek als bedoeld onder j) met succes heeft doorstaan, moet in een overeenkomstig het bepaalde onder h) gemerkte steriele recipiënt worden geplaatst die onmiddellijk wordt verzegeld.
- l) Elk embryo moet, in voorkomend geval, zo spoedig mogelijk worden ingevroren en opgeslagen in een opslagruimte die deel uitmaakt van de infrastructuur van het embryo(productie)team.
- m) Trypsinebehandeling: ingeval de embryo's verzameld zijn bij een donordier afkomstig uit een bedrijf met IBR-statuuat I1 of I2, of ingeval van uitvoer van embryo's naar een derde land en de sanitaire autoriteiten van het land van bestemming eisen een trypsinebehandeling, moeten zij volgende behandeling ondergaan: de embryo's worden in vijf opeenvolgende baden met fosfaatbuffer (PBS) gedompeld, zonder Ca⁺⁺ of Mg⁺⁺, maar die wel antibiotica bevat en 0,4% runderserumalbumine (BSA). Daarna worden de embryo's 60 à 90 seconden ondergedompeld in twee opeenvolgende baden met gelijke delen trypsine bij pH 7,6 – 7,8. De steriele trypsine (1:250) die zodanig werkt dat 1 g ervan 250 g caseïne hydrolyseert in tien minuten bij 25°C en pH 7,6 in een HANK-zoutoplossing, zonder Ca⁺⁺ of Mg⁺⁺, wordt gebruikt in een concentratie van 0,25%. Na de trypsinebehandeling worden de embryo's in vijf opeenvolgende baden PBS gedompeld die antibiotica bevatten en 2% serum. Het is belangrijk om 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.

4.2. Bijkomende voorschriften voor de productie van *in vitro* embryo's

Naast de voorwaarden onder punt 4.1 zijn voor in vitro embryo's de volgende bijkomende voorschriften van toepassing:

- o) Wanneer ovaria en ander weefsel worden verzameld in een slachthuis, moet dat slachthuis officieel erkend zijn en onder controle staan van een officiële dierenarts die is belast met de keuring van de donordieren vóór en na het slachten.
- p) Alle materiaal en gereedschap dat rechtstreeks in contact komt met de ovaria en ander weefsel, moet vóór gebruik worden gesteriliseerd en mag na sterilisatie nog alleen voor het hierboven genoemde doel worden gebruikt. Voor de behandeling van eicellen en embryo's van verschillende partijen donordieren moet telkens apart gereedschap worden gebruikt.
- q) Ovaria en ander weefsel mogen niet in het laboratorium worden binnengebracht totdat bij de hele partij de keuring na het slachten is verricht. Indien een voor de betrokken diersoort relevante ziekte wordt gevonden in de partij donordieren of bij andere dieren die dezelfde dag in hetzelfde slachthuis zijn geslacht, moet alle weefsel van die partij worden opgespoord en opgeruimd.
- r) De onder i) en j) vastgestelde voorschriften inzake het wassen en onderzoeken van de embryo's moeten worden toegepast nadat de kweek is voltooid.
- s) Micromanipulatie waarbij de zona pellucida wordt doorgeprikt, moet worden verricht overeenkomstig het bepaalde onder j), na uitvoering van het bepaalde onder r).

5. Registers

Elk embryo-team en elk embryo-productieteam houdt een productie- respectievelijk verzamelregister bij, dat de gegevens bevat met betrekking tot het winnen van eicellen, en het produceren of verzamelen, de behandeling en de plaats van opslag van embryo's evenals een register van alle ingeplante embryo's. Deze registers bevatten per partij eicellen of embryo's ten minste volgende gegevens:

- a) in geval van een superovulatie-behandeling, ras en identificatie van de vrouwelijke donordieren waarbij, en de datum waarop, een superovulatie-behandeling is toegepast;
- b) ras - uitsluitend indien ze zijn ingeschreven in een stamboek van raszuivere fokrunderen – leeftijd en identificatie van de vrouwelijke donordieren waarvan eicellen zijn gewonnen of waarbij embryo's zijn verzameld;
- c) gegevens met betrekking tot de IBR-status van het beslag waartoe het vrouwelijk donordier behoort, en het resultaat van de BVD-test op het vrouwelijk donordier, die de aanwending ervan als donordier verantwoorden;
- d) datum en plaats van winnen, productie, verzameling, behandeling en plaats van opslag van eicellen en/of embryo's;
- e) behandeling van het embryo en eventueel toegepaste technieken zoals micromanipulatie waarbij de zona pellucida is doorgeprikt, in-vitrobevruchting, in-vitrocultuur;
- f) identificatie van de embryo's ;
- g) in voorkomend geval, ras en identificatie van het ontvangerdier waarbij een embryo is ingeplant.

Elk embryo(productie)team houdt een opslagregister bij dat ten minste volgende gegevens bevat:

- a) identificatie van de aanwezige embryo's;
- b) datum van aankomst in en vertrek uit het opslaglokaal voor elk embryo;
- c) bestemming van elk embryo dat uit het opslaglokaal vertrekt.

Deze registers worden ten minste tot twaalf maanden na vertrek van het embryo uit het opslaglokaal bijgehouden.

6. Kwaliteitscontrole

a) Organisatie van de kwaliteitscontrole.

Elk embryo(productie)team bezorgt éénmaal per jaar de door een agent van de PCE in het verzamel- of productieregister aangeduide winningen/verzamelingen aan een erkend laboratorium (10% van alle in het register vermelde ingevroren winningen/verzamelingen sedert de laatste officiële kwaliteitscontrole, met een minimum van vijf verzamelingen).

Elk embryo(productie)team stuurt hiertoe binnen de door de agent van de PCE vastgestelde tijdslimiet alle monsters bedoeld onder punt b), en die betrekking hebben op de aangeduide winningen/verzamelingen, in een aangepaste verpakking naar een erkend laboratorium.

b) Te controleren monsters.

Gedegenererde embryo's, embryo's waarvan de zona pellucida beschadigd is en onbevuchte eicellen samen met de betreffende laatste wasvloeistof: alle gewonnen/verzamelde onbevuchte eicellen, embryo's waarvan de zona pellucida beschadigd is en gedegenererde embryo's van éénzelfde donordier na wassen volgens de standaardprocedure samenvoegen, identificeren en bewaren voor analyse.

c) Identificatie en bewaring van de monsters.

Alle onder punt b) vernoemde monsters verzamelen in eppendorf-tubes van 2 ml, identificeren (nummer van de winning/verzameling, datum van de winning/verzameling, identificatie van het vrouwelijk donordier, erkenningsnummer van het team) en bewaren in vloeibare stikstof op een temperatuur van -196°C .

d) Op de monsters uit te voeren analyses – interpretatie van de resultaten.

1. Kwantitatief bacteriologisch onderzoek :

Men giet de monsters samen met de laatste wasvloeistof op Columbia-agar die met 5% rode bloedlichaampjes van schapen werd verrijkt. De platen worden één dag bij 37°C geïncubeerd in een atmosfeer verrijkt met 5 – 10% CO_2 . Vervolgens wordt verder geïncubeerd aan kamertemperatuur onder een normale atmosfeer gedurende drie dagen. De resultaten van de tellingen worden uitgedrukt in kolonievormende eenheden per ml (KVE/ml).

2. De resultaten worden geïnterpreteerd als volgt :

- i. 500 KVE/ml of minder : gunstig;
- ii. meer dan 500 KVE/ml : ongunstig.

In geval van een ongunstig resultaat voor 60% of meer winningen/verzamelingen, wordt het globaal resultaat als ongunstig beschouwd. Er wordt dan een tweede reeks monsters aan het betrokken team gevraagd : deze worden gekozen door de agent van de PCE uit de in het register vermelde ingevroren winningen/verzamelingen sedert de bekendmaking van de analyseresultaten op de eerste reeks monsters.

In geval van een ongunstig resultaat voor 50% of meer van de bijkomende winningen/verzamelingen, is de procedure voor schorsing en intrekking van de erkenning van toepassing.

7. Embryo's voor eigen gebruik op het rundveebedrijf

Het KB runderembryo (KB van 3 augustus 2012 betreffende de sanitaire voorwaarden voor de productie, het verzamelen, de opslag, het inplanten, de nationale handel, het intracommunautair handelsverkeer en de invoer van embryo's van als huisdier gehouden runderen) voorziet als algemene regel dat embryo's enkel kunnen worden geproduceerd, behandeld, opgeslagen en in de handel gebracht door embryo(productie)teams die door het Agentschap zijn erkend.

In afwijking op deze bepalingen is de opslag van embryo's op een rundveebedrijf toegestaan voor zover deze embryo's uitsluitend bestemd zijn om te worden ingeplant bij de vrouwelijke runderen van dat bedrijf. Deze embryo's mogen dus niet in de handel worden gebracht en de rundveehouder dient hiervoor geen erkenning aan te vragen. Het verzamelen, het behandelen en het invriezen van deze embryo's gebeurt door een erkend embryoteam.

Deze embryo's worden op het rundveebedrijf opgeslagen in een recipiënt voor opslag en transport van embryo's dat uitsluitend voor dit gebruik is bestemd.

De verantwoordelijke rundveehouder houdt dagdagelijks:

1. een dagoverzicht bij van de ingeplante embryo's;
2. een geactualiseerde inventaris bij van de inhoud van zijn recipiënt voor de opslag van embryo's.

8. Wetgeving

- Koninklijk besluit van 3 augustus 2012 betreffende de sanitaire voorwaarden voor de productie, het verzamelen, de opslag, het inplanten, de nationale handel, het intracommunautair handelsverkeer en de invoer van embryo's van als huisdier gehouden runderen;
- Koninklijk besluit van 9 december 1992 betreffende veterinairerechtelijke en zoötechnische voorwaarden aangaande de productie, de behandeling, de bewaring, het gebruik, het intracommunautair handelsverkeer en de invoer van rundersperma;
- Beschikking 2006/168/EG van de Commissie van 4 januari 2006 tot vaststelling van de veterinairerechtelijke voorschriften en de voorschriften inzake veterinaire certificering voor de invoer van runderembryo's in de Gemeenschap.