

CAPÍTULO 4.7.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE EMBRIONES DE GANADO Y CABALLOS RECOLECTADOS *IN VIVO*

Artículo 4.7.1.

Objetivos del control

El objetivo del control sanitario oficial de los embriones recolectados *in vivo* para la exportación es garantizar la ausencia de gérmenes patógenos específicos que pueden hospedar los embriones y evitar la contaminación de las hembras receptoras y de su descendencia.

Artículo 4.7.2.

Condiciones aplicables al equipo de recolección de embriones

El equipo de recolección de embriones es un grupo de técnicos capacitados para proceder a operaciones de recolección, tratamiento y conservación de embriones, que comprende por lo menos un *veterinario* y que reúne las siguientes condiciones:

1. El equipo deberá ser aprobado por la *Autoridad Competente*.
2. El equipo debe estar supervisado por un *veterinario* miembro del mismo.
3. El *veterinario* del equipo es responsable de todas las actividades del equipo, que incluyen la inspección sanitaria de los animales donantes, la manipulación y cirugía de las hembras donantes en condiciones sanitarias apropiadas y los procedimientos de *desinfección* e higiene.
4. El personal del equipo debe estar debidamente adiestrado a aplicar las técnicas y los principios de control de *enfermedades* y debe respetar reglas de higiene estrictas para evitar la introducción de *infecciones*.
5. El equipo de recolección debe trabajar en instalaciones adecuadas y disponer del material necesario para:
 - a) la recolección de embriones;
 - b) el tratamiento y la manipulación de embriones en un laboratorio fijo o móvil;
 - c) el almacenamiento de embriones.

No es necesario que estas instalaciones estén situadas en el mismo lugar.

6. El equipo de recolección de embriones debe llevar un registro de sus actividades que conservará durante, por lo menos, los dos años consecutivos a la exportación de los embriones para presentarlo a la *Autoridad Veterinaria* en caso de inspección.
7. El equipo de recolección de embriones debe ser inspeccionado por un *veterinario oficial* periódicamente y, a lo mínimo, una vez al año para asegurarse de que respeta las normas sanitarias durante la recolección, la manipulación y la conservación de los embriones.

Artículo 4.7.3.

Condiciones aplicables a los laboratorios de manipulación

El laboratorio de manipulación utilizado por el equipo de recolección puede ser móvil o fijo. Es un local en el que los embriones son extraídos del medio de recolección, examinados y sometidos a los tratamientos necesarios, como el lavado, y examinados y preparados para su congelación y conservación.

Un laboratorio fijo puede formar parte de una unidad de recolección y tratamiento específicamente diseñada para ese fin o ser una parte expresamente acondicionada de un edificio existente, y puede estar situado en el lugar en que residen las hembras donantes. En cualquier caso, el laboratorio debe estar físicamente separado de los *animales* y, tanto en los laboratorios fijos como en los móviles, el sector sucio (mantenimiento de los *animales*) debe estar separado de forma patente del sector limpio destinado a las manipulaciones.

Además:

1. El laboratorio de manipulación debe estar bajo la supervisión directa del *veterinario* del equipo y ser inspeccionado periódicamente por un *veterinario oficial*.
2. Durante las manipulaciones que preceden la conservación de los embriones destinados a la exportación en ampollas, frascos o pajuelas, no deberá efectuarse ninguna operación con embriones de condición sanitaria inferior.
3. El laboratorio de manipulación debe estar protegido contra roedores e insectos.
4. El laboratorio de manipulación debe estar construido con materiales que permitan una limpieza y una *desinfección* eficaces. Estas operaciones deberán efectuarse con frecuencia, y siempre antes y después de cada manipulación de embriones para la exportación.

Artículo 4.7.4.

Condiciones aplicables a la admisión de los animales donantes

1. Hembras donantes
 - a) La *Autoridad Veterinaria* debe tener datos y autoridad sobre el *rebaño* del que proceden las hembras donantes.
 - b) Las hembras donantes no deben provenir de un *rebaño* o *manada* sujeto a restricciones veterinarias relacionadas con cualquiera de los agentes o las *enfermedades de la Lista de la OIE* que afectan a los *animales* de su especie (véase el Capítulo 1.2. del presente *Código*), aparte de los que la IETS clasifica en la categoría 1 para la especie de embriones que se desea recolectar (véase el Artículo 4.7.14. y la nota¹).
 - c) En el momento de la recolección, las hembras donantes deben ser examinadas clínicamente por el *veterinario* del equipo o por un *veterinario* responsable ante el *veterinario* del equipo, el cual deberá certificar que están libres de signos clínicos de *enfermedad*.
2. Reproductores donantes
 - a) El semen utilizado para la inseminación artificial de hembras donantes debe haberse obtenido y tratado de conformidad con lo dispuesto en el Capítulo 4.6.
 - b) En caso de que el reproductor donante del semen utilizado para la inseminación de hembras donantes y la producción de embriones haya muerto, o de que en el momento de la toma del semen se desconozca el estado de salud del reproductor donante respecto de una *enfermedad* infecciosa o de *enfermedades* contra las cuales conviene protegerse, se podrán exigir exámenes complementarios de las hembras donantes inseminadas después de la recolección de los embriones, para comprobar que no les han sido transmitidas esas *enfermedades* infecciosas. Otro método puede consistir en analizar una parte alícuota del semen tomado en la misma fecha.

- c) En caso de monta natural o de utilización de semen fresco, los reproductores donantes deberán reunir las condiciones sanitarias descritas en el Capítulo 4.6., según su especie.

Artículo 4.7.5.

Gestión del riesgo

En lo que concierne la transmisión de *enfermedades*, la transferencia de embriones recolectados *in vivo* es un método de intercambio de material genético animal que entraña muy poco *riesgo*. Independientemente de la especie animal considerada, el proceso de transferencia de embriones comprende tres fases que determinan el nivel final de *riesgo*:

1. La primera fase, que se aplica a las *enfermedades* no inscritas en la categoría 1 de la clasificación de la IETS¹ (Artículo 4.7.14.), está relacionada con el riesgo eventual de *infección* de los embriones, la cual depende:
 - a) de la situación zoonosanitaria del *país exportador* y/o de la zona de exportación;
 - b) del estado sanitario de los *rebaños* y de las hembras donantes de las que son extraídos los embriones;
 - c) del poder patógeno de los agentes patógenos específicos que preocupan a la *Autoridad Veterinaria* del *país importador*.
2. La segunda fase corresponde a la disminución del *riesgo* mediante la utilización de procedimientos de tratamiento de embriones internacionalmente reconocidos y definidos en el Manual de la IETS². Dichos procedimientos son los siguientes:
 - a) Los embriones serán lavados diez veces por lo menos con diluciones de 1/100 por lo menos entre cada lavado, y para transferir los embriones de un lavado a otro se utilizará una pipeta nueva.
 - b) Sólo se lavarán juntos los embriones procedentes de una misma hembra donante, y no más de diez embriones a la vez.
 - c) Cuando la inactivación o la supresión de ciertos virus (herpesvirus-1 de los bovinos y virus de la enfermedad de Aujeszky, por ejemplo) sea necesaria, se modificará el procedimiento estándar de lavado y se harán lavados suplementarios con tripsina, de acuerdo con las indicaciones del Manual de la IETS².
 - d) Después del lavado se examinará toda la superficie de la zona pelúcida de cada embrión con lentes que aumenten por lo menos 50 veces su tamaño y se certificará que está intacta y exenta de materia adherente.

[NOTA: todos los embriones expedidos deberán ir acompañados de una declaración firmada por el veterinario del equipo responsable del laboratorio, en la que éste certifique que todos estos procedimientos de tratamiento de los embriones han sido respetados.]
3. La tercera fase, que se aplica a las *enfermedades* no inscritas en la categoría 1 de la clasificación de la IETS¹ (Artículo 4.7.14.) y que preocupan a la *Autoridad Veterinaria* del *país importador*, abarca incluye las reducciones del riesgo resultantes de:
 - a) la *vigilancia* de los animales donantes y de sus *rebaños* o *manadas* de origen después de la recolección de los embriones, basándose en los períodos normales de incubación de las *enfermedades* consideradas, para determinar retrospectivamente el estado de salud de los animales donantes mientras los embriones son almacenados en el *país exportador* (si se trata de especies que pueden ser conservadas mediante crioconservación);
 - b) el análisis en un laboratorio de los líquidos de recolección de los embriones (enjuague) y de los embriones inviábiles, o de otras muestras, como la sangre, para detectar la presencia de agentes patógenos específicos.

Artículo 4.7.6.

Condiciones aplicables a la recolección y al almacenamiento de los embriones

1. Medios

Todos los productos biológicos de origen animal presentes en los medios y soluciones utilizados para la recolección, el tratamiento, el lavado o la conservación de los embriones deberán estar exentos de microorganismos patógenos. Los medios y soluciones utilizados para la recolección y la conservación de los embriones se esterilizarán con métodos reconocidos, de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS², y se manipularán de forma que permanezcan estériles. Se agregarán antibióticos a los medios de recolección, manipulación, lavado y conservación, de conformidad con las recomendaciones del Manual de la IETS².

2. Material

- a) Todo el material utilizado para la recolección, la manipulación, el lavado, la congelación y la conservación de los embriones deberá ser nuevo idealmente o al menos ser esterilizado antes de ser utilizado, de conformidad con las recomendaciones del Manual de la IETS².
- b) El material utilizado no deberá ser trasladado de un país a otro para volver a ser utilizado por el equipo de recolección de embriones.

Artículo 4.7.7.

Exámenes y tratamientos facultativos

1. El *país importador* puede solicitar que las muestras sean analizadas para confirmar la ausencia de organismos patógenos transmisibles por los embriones recolectados in vivo, o para ayudar a determinar si el grado de control de calidad del equipo de recolección (en cuanto al respeto de los procedimientos descritos en el Manual de la IETS², es de un nivel aceptable. Las muestras pueden incluir:

a) Ovocitos/embriones inviables

Cuando los embriones de una hembra donante, viables y con zona pelúcida intacta, son para la exportación, todos los ovocitos no fecundados y todos los embriones degenerados o con zona pelúcida alterada tomados de esa misma hembra donante deben ser lavados de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS² y ser agrupados para ser analizados si lo solicita el *país importador*. Se manipularán y conservarán juntos los ovocitos/embriones inviables procedentes de una la misma hembra donante.

b) Líquido de recolección de embriones (enjuague)

El líquido de recolección se depositará en un recipiente estéril y cerrado y, si es abundante, se dejará reposar durante una hora. Se retirará después el líquido sobrenadante y se decantarán en un frasco estéril los 10–20 ml del fondo que contienen los residuos acumulados. Si se utiliza un filtro para la recolección de los ovocitos/embriones, todos los residuos retenidos por el filtro se agregarán, mediante enjuagado, al líquido conservado.

c) Líquido de lavado

Se mezclarán los cuatro últimos líquidos de lavado de los ovocitos/embriones para analizarlos (Manual de la IETS²).

d) Muestras

Las muestras precitadas se conservarán a 4°C y serán analizadas en un plazo de 24 horas. Si no pudieran ser analizadas en ese plazo, se conservarán a una temperatura igual o inferior a -70°C.

2. Cuando se modifique el procedimiento de tratamiento de los embriones viables para hacer lavados suplementarios con la enzima tripsina (véase el apartado 2c) del Artículo 4.7.5.), se procederá de conformidad con las indicaciones del Manual de la IETS². El tratamiento enzimático es necesario solamente cuando puedan estar presentes agentes patógenos contra los cuales la IETS recomienda este tratamiento suplementario (con tripsina, por ejemplo). Cabe señalar que el tratamiento enzimático no es siempre benéfico y no debe ser considerado como un desinfectante general, ya que puede resultar nefasto para la viabilidad de los embriones, por ejemplo en el caso de embriones de équidos cuya cápsula embrionaria podría ser dañada por la enzima.

Artículo 4.7.8.

Condiciones aplicables al almacenamiento y transporte de los embriones

1. Los embriones para la exportación se conservarán en ampollas, frascos o pajuelas esterilizados y precintados, respetando condiciones de higiene rigurosas y en un lugar de almacenamiento autorizado por la *Autoridad Veterinaria* del *país exportador* en el que los embriones no corran ningún riesgo de contaminación.
2. Sólo se introducirán en una misma ampolla, un mismo frasco o una misma pajuela los embriones procedentes de una misma hembra donante.
3. Si fuese posible, según la especie, los embriones se congelarán, se conservarán luego en nitrógeno líquido fresco dentro de tanques o contenedores limpiados y esterilizados, respetando condiciones de higiene rigurosas en el lugar de almacenamiento autorizado.
4. Las ampollas, los frascos o las pajuelas se precintarán cuando vayan a ser congelados (o antes de ser exportados si el proceso de crioconservación no es posible) y se identificarán claramente con etiquetas, de conformidad con el sistema normalizado recomendado por el Manual de la IETS².
5. Los contenedores de nitrógeno líquido se precintarán bajo la supervisión del *veterinario oficial* antes de ser expedidos del *país exportador*.
6. Los embriones no deberán exportarse hasta que no se hayan ultimado los certificados veterinarios pertinentes.

Artículo 4.7.9.

Micromanipulación

Si se lleva a cabo la micromanipulación de embriones, se hará una vez completados los tratamientos descritos en el punto 2 del Artículo 4.7.5. y acorde con el Capítulo 4.9.

Artículo 4.7.10.

Condiciones específicas aplicables a los embriones de porcinos

El *rebaño* de origen deberá estar libre de signos clínicos de enfermedad vesicular porcina y de brucelosis.

La elaboración de métodos eficaces de crioconservación de los embriones de porcinos con zona pelúcida intacta está todavía en fase preliminar.

Artículo 4.7.11.

Condiciones o comentarios específicos aplicables a los embriones de équidos

Estas recomendaciones se aplican sobre todo a los embriones de *animales* que residen permanentemente en las poblaciones equinas nacionales y, por lo tanto, pueden considerarse inadecuadas para los embriones de équidos que participan frecuentemente en pruebas o competiciones internacionales. En algunos casos, esta condición podrá no aplicarse a caballos que viajen acompañados de un *certificado veterinario internacional* (caballos de competición, por ejemplo), siempre y cuando exista un acuerdo bilateral entre las *Autoridades Veterinarias* interesadas.

Artículo 4.7.12.

Condiciones o comentarios específicos aplicables a los embriones de camélidos

Los embriones de camélidos sudamericanos que se recuperan en la cavidad uterina mediante la técnica clásica, no quirúrgica, de la irrigación entre 6,5 y 7 días después de la ovulación se encuentran casi siempre en la fase de blastocito desarrollado y la zona pelúcida ya ha desaparecido. Puesto que los embriones de estos *animales* no penetran en el útero y no pueden ser recuperados antes de 6,5 o 7 días, sería poco realista limitar el comercio internacional a aquellos cuya zona pelúcida esté intacta. Cabe señalar, no obstante, que en 2008 el desarrollo de métodos de crioconservación de embriones de camélidos está en sus inicios, y no se ha realizado aún ningún estudio sobre las interacciones entre los agentes patógenos y los embriones de camélidos

Artículo 4.7.13.

Condiciones o comentarios específicos aplicables a los embriones de cérvidos

Estas recomendaciones se aplican sobre todo a los embriones de *animales* que residen permanentemente en las poblaciones nacionales de cérvidos domésticos o mantenidos en cautividad y pueden, por lo tanto, considerarse inadecuadas para los embriones de cérvidos que viven en libertad o en otras condiciones relacionadas con operaciones de conservación de la diversidad biológica o de patrimonios genéticos.

Artículo 4.7.14.

Recomendaciones relativas al riesgo de transmisión de enfermedades por embriones recolectados *in vivo*

Basándose en las conclusiones del Subcomité de Investigación del Comité Asesor en Sanidad e Inocuidad (HASAC) de la IETS, las *enfermedades* y los agentes patógenos siguientes se clasifican en cuatro categorías. Esta clasificación sólo se aplica a los embriones recolectados *in vivo*.

1. Categoría 1

- a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que se ha reunido un número suficiente de pruebas que indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS².

- b) Figuran en la categoría 1 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:
- *Brucella abortus* (bovinos)
 - Encefalopatía espongiiforme bovina (bovinos)
 - Enfermedad de Aujeszky (pseudorrabia) (suidos): precisa tratamiento con tripsina
 - Fiebre aftosa (bovinos)
 - Lengua azul (bovinos)
 - Leucosis bovina enzoótica
 - Prurigo lumbar (ovinos)
 - Rinotraqueítis infecciosa bovina: precisa tratamiento con tripsina.
2. Categoría 2
- a) *Enfermedades* sobre las que se han reunido pruebas sustanciales que indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS², pero que requieren transferencias suplementarias para corroborar los datos existentes.
- b) Figuran en la categoría 2 las *enfermedades* siguientes:
- Artritis/encefalitis caprina
 - Lengua azul (ovinos)
 - Peste porcina clásica.
3. Categoría 3
- a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que pruebas preliminares indican que el riesgo de transmisión es insignificante si los embriones son manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS², pero sobre los que se requieren datos experimentales complementarios *in vitro* e *in vivo* para corroborar los resultados preliminares.
- b) Figuran en la categoría 3 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:
- Adenomatosis pulmonar ovina
 - *Campylobacter fetus* (ovinos)
 - Encefalopatía espongiiforme bovina (caprinos)
 - Enfermedad vesicular porcina
 - Fiebre aftosa (suidos, ovinos y caprinos)
 - *Haemophilus somnus* (bovinos)
 - Maedi-visna (ovinos)
 - *Mycobacterium paratuberculosis* (bovinos)
 - *Neospora caninum* (bovinos)
 - Peste bovina (bovinos)
 - Síndrome disgenésico y respiratorio porcino (SDRP)
 - Virus de la diarrea viral bovina (bovinos)
 - Virus de la inmunodeficiencia bovina.
4. Categoría 4
- a) *Enfermedades* o agentes patógenos sobre los que se han realizado o están realizando investigaciones que indican:

- i) que no se pueden sacar todavía conclusiones sobre su el nivel de riesgo de transmisión, o
 - ii) que el riesgo de transmisión por transferencia de embriones podría no ser insignificante aunque los embriones sean manipulados correctamente entre su recolección y su transferencia, conforme a lo recomendado en el Manual de la IETS².
- b) Figuran en la categoría 4 las *enfermedades* o los agentes patógenos siguientes:
- Anaplasmosis bovina
 - *Chlamydia psittaci* (bovinos, ovinos)
 - Circovirus porcino (tipo 2) (cerdos)
 - Dermatitis nodular contagiosa
 - Enfermedad de la frontera (Border disease) (ovinos)
 - Enterovirus (bovinos, suidos)
 - Epididimitis ovina (*Brucella ovis*)
 - *Escherichia coli* O9:K99 (bovinos)
 - Estomatitis vesicular (bovinos, suidos)
 - Herpesvirus 4 de los bovinos
 - Lengua azul (caprinos)
 - *Leptospira borgpetersenii* serovar *hardjobovis* (bovinos)
 - *Leptospira* sp. (suidos)
 - Metritis contagiosa equina
 - *Mycobacterium bovis* (bovinos)
 - *Mycoplasma* spp. (suidos)
 - Parvovirus (suidos)
 - Peste porcina africana
 - Prurigo lumbar (caprinos)
 - Rinoneumonitis equina
 - *Tritrichomonas foetus* (bovinos)
 - *Ureaplasma/Mycoplasma* spp. (bovinos, caprinos)
 - Virus Akabane (bovinos)
 - Virus parainfluenza-3 (bovinos).

1 Basándose en los resultados de investigaciones y estudios de terreno, el Subcomité de Investigación del Comité Asesor en Sanidad e Inocuidad (HASAC) de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones ha clasificado cierto número de enfermedades en función del riesgo relativo de diseminación de las mismas por embriones recolectados in vivo y correctamente manipulados y conservados. Este Capítulo contiene la lista completa de enfermedades clasificadas por la IETS figura en el Artículo 4.7.14.

2 Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones.