

CHAPITRE 4.9.

COLLECTE ET MANIPULATION DES OVOCYTES/EMBRYONS DU BÉTAIL ET D'ÉQUIDÉS MICROMANIPULÉS

Article 4.9.1.

Introduction

Ni le chapitre 4.7., qui recommande l'application de mesures de contrôle sanitaire officielles pour les échanges internationaux d'embryons collectés *in vivo* ni le chapitre 4.8., qui recommande l'application de mesures pour les embryons produits *in vitro* et les ovocytes amenés à maturation *in vitro* ne se rapportent aux embryons qui ont été soumis à une biopsie, à des opérations de bissection, d'injection transgénique, d'injection intracytoplasmique de sperme, de transfert nucléaire, ou à d'autres interventions portant atteinte à l'intégrité de la zone pellucide. Dans le présent chapitre, ces produits sont appelés « embryons ou ovocytes micromanipulés ».

Le retrait total des cellules de la granulosa ou autre tissu recouvrant la surface extérieure de la zone pellucide des ovocytes, zygotes et embryons doit impérativement précéder toute micromanipulation, afin de ne pas porter préjudice à leur état sanitaire.

Le retrait de tel « matériel génétique » de la zone pellucide des ovocytes immatures peut se révéler délicat. Cependant, pour faire entrer dans le champ d'application des chapitres précités les embryons ou ovocytes micromanipulés, les conditions décrites ci-après doivent être respectées.

Article 4.9.2.

1. Tous les ovocytes ou embryons dont la micromanipulation implique la rupture de leur membrane pellucide doivent être collectés et traités dans les conditions sanitaires précisées au chapitre 4.7. (embryons collectés *in vivo*) ou produits dans le respect des conditions sanitaires précisées au chapitre 4.8. (embryons produits *in vitro* ou ovocytes).
2. La responsabilité des ovocytes ou embryons revient à l'équipe de collecte des embryons (embryons collectés *in vivo*) ou à l'équipe de production des embryons (embryons produits *in vitro*), et toutes les étapes de micromanipulation doivent être effectuées dans un laboratoire agréé, sous la supervision du vétérinaire agréé de l'équipe (voir, suivant le cas, les articles 4.7.2. et 4.7.3. ou les articles 4.8.2. et 4.8.3.).
3. Les femelles donneuses doivent répondre aux conditions énoncées, suivant le cas, à l'article 4.7.4. (embryons collectés *in vivo*) ou à l'article 4.8.4. (embryons produits *in vitro*). Il convient aussi de respecter les critères de gestion du risque et autres critères s'appliquant aux contrôles d'échantillons réalisés en vue de vérifier que les embryons sont exempts de micro-organismes pathogènes ; ces critères sont précisés aux articles 4.7.5. et 4.7.7. et aux articles 4.8.5. et 4.8.6. respectivement.
4. Tous les embryons à micromanipuler doivent être lavés conformément aux protocoles décrits dans le Manuel de PIETS¹, l'intégrité de leur membrane pellucide devant être vérifiée avant et après le lavage. Seuls les embryons provenant de la même femelle donneuse ou, pour certains embryons produits *in vitro*, seuls les embryons issus du même lot d'ovaires provenant d'un abattoir (voir chapitre 4.8.) doivent être lavés ensemble. Après le lavage mais avant toute micromanipulation, la zone pellucide de chaque embryon doit être examinée sur toute sa surface sous un grossissement d'au moins 50 X, et doit être certifiée intacte et exempte de toute matière adhérente.

5. Si d'autres zones pellucides sont utilisées, elles doivent être de la même espèce et les ovocytes ou embryons dont elles proviennent doivent être traités comme indiqué ci-dessus, comme s'il s'agissait d'embryons collectés *in vivo* ou produits *in vitro* destinés à des *échanges internationaux*.

Article 4.9.3.

Opérations de micromanipulation

Le terme « micromanipulation » recouvre plusieurs types de méthodes qui peuvent faire appel à différents instruments microchirurgicaux et à d'autres matériels spécialisés. Cependant, sur le plan sanitaire, toute section, pénétration ou rupture de l'intégrité de la membrane pellucide peut modifier l'état sanitaire d'un embryon. Pour maintenir cet état sanitaire durant et après la micromanipulation, il convient de respecter les conditions suivantes :

1. Milieux

Tout produit d'origine animale, y compris les cellules de co-culture et les constituants des milieux, utilisé pour la collecte ou la production d'embryons, d'ovocytes ou d'autres cellules et pour leur micromanipulation, mise en culture, lavage et conservation doit être exempt de micro-organismes pathogènes (et notamment des agents responsables des encéphalopathies spongiformes transmissibles, parfois appelés prions). Tous les milieux et toutes les solutions doivent être stérilisés selon des méthodes agréées, comme indiqué dans le Manuel de l'IETS¹, et manipulés de façon à rester stériles. Des antibiotiques doivent être ajoutés à tous les liquides et milieux, comme indiqué dans le Manuel de l'IETS¹.

2. Matériel

Tout le matériel (instruments microchirurgicaux ayant été au contact direct d'embryons par exemple) doit être à usage unique (éliminé après chaque manipulation d'un embryon ou d'un lot d'embryons) ou stérilisé efficacement entre deux manipulations d'embryons ou de lots d'embryons, conformément aux recommandations figurant dans le Manuel de l'IETS¹.

3. Noyaux pour transfert (« Transferts nucléaires »)

- a) En cas de transfert de noyaux prélevés sur des embryons préalablement à l'éclosion (zone pellucide intacte), les embryons parentaux dont proviennent ces noyaux doivent répondre aux conditions du présent chapitre. En cas de transfert de noyaux issus d'autres types de cellules donneuses (embryons éclos, cellules embryonnaires, fœtales et adultes, y compris spermatozoïdes ou spermatides pour les injections intracytoplasmiques de sperme), les embryons, fœtus ou animaux parentaux dont proviennent ces cellules donneuses, ainsi que les méthodes utilisées pour les produire, y compris la mise en culture cellulaire, doivent répondre aux normes zoosanitaires pertinentes recommandées ailleurs dans le *Code terrestre* et dans le *Manuel terrestre*.
- b) En cas de transfert d'un noyau à l'intérieur d'un ovocyte intact (par exemple, pour une injection intracytoplasmique de sperme) ou dans un ovocyte énucléé (pour un transfert nucléaire), ces ovocytes doivent être collectés, mis en culture et manipulés en respectant les recommandations du présent chapitre.

Article 4.9.4.

Examens et traitements facultatifs

Le *pays importateur* peut exiger que des contrôles soient effectués sur certains échantillons, ou que les embryons soient soumis à des traitements assurant l'absence de certains micro-organismes pathogènes.

1. Prélèvements

Les prélèvements mentionnés à l'article 4.7.7. et/ou à l'article 4.8.5. peuvent faire partie de ces prélèvements. Lorsque des cellules issues d'une autre source que d'un embryon à zone pellucide intacte sont utilisées comme cellules donneuses pour un transfert de noyaux (cellules somatiques ou spermatozoïdes par exemple), des échantillons ou des cultures de ces cellules donneuses peuvent aussi être testées.

2. Traitements

Le *pays importateur* peut exiger le traitement des embryons par la trypsine ou d'autres produits ayant la faculté d'inactiver ou d'éliminer les micro-organismes pathogènes lorsque risquent d'être présents des agents pathogènes que n'élimine pas le lavage. Ces traitements, s'ils sont utilisés, doivent également précéder les micromanipulations et être appliqués comme indiqué dans le Manuel de l'IEETS¹.

Article 4.9.5.

Conditions applicables à la conservation, à la quarantaine et au transport

Les embryons micromanipulés doivent être conservés, mis en quarantaine et transportés en respectant les conditions prévues à l'article 4.7.8. ou à l'article 4.8.7. Le *certificat vétérinaire international* doit mentionner toutes les micromanipulations effectuées et préciser le lieu et la date de leur exécution.

1 Manuel de la Société internationale de transfert d'embryons.