



**WETENSCHAPPELIJK COMITE  
VAN HET FEDERAAL AGENTSCHAP VOOR DE VEILIGHEID  
VAN DE VOEDSELKETEN**

**SNELADVIES 13-2012**

**Onderwerp: Risico van overdracht van *Brucella abortus* via kunstmatige inseminatie en via embryotransfer (dossier Sci Com 2012/17)**

Advies goedgekeurd door het Wetenschappelijk Comité op 24 april 2012.

### **Samenvatting**

Het Wetenschappelijk Comité evalueerde het risico van overdracht van *Brucella abortus* via embryotransfer in het geval dat de embryo's afkomstig zijn van een bedrijf dat naderhand een brucellosehaard is geworden, en via kunstmatige inseminatie in het algemeen.

Op voorwaarde dat de embryo's, die afkomstig zijn van een brucellosehaard, bekomen werden en correct behandeld werden door een erkend embryotransfersteam volgens het gebruikelijke IETS protocol, is het risico van overdracht van *Brucella abortus* via embryotransfer verwaarloosbaar.

Toch dringt het Wetenschappelijk Comité erop aan om, de uit een brucellosehaard verkregen embryo's, in toepassing van de geldende wetgeving, niet in de handel te brengen en uitsluitend te gebruiken voor herbevolking van de haard na de ruiming. Om het risico nog verder terug te dringen raadt het Comité ook aan om bij de transfer te voorzien in bijkomende wasbeurten van het embryo (10 maal) met een wasmedium dat efficiënte antibiotica bevat en de gezondheidstoestand van de receptorkoe, met betrekking tot brucellose, nauwgezet te volgen van bij de embryotransfer tot aan de kalving aan de hand van herhaald serologisch onderzoek. Als bijkomende maatregel stelt het Wetenschappelijk Comité voor om de laatste wasvloeistof bacteriologisch te testen op *Brucella*.

Aangezien het sperma van geïnfecteerde stieren gecontamineerd kan zijn met *Brucella abortus* is het risico van overdracht van *Brucella abortus* via kunstmatige inseminatie niet verwaarloosbaar. Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om alleen sperma te gebruiken dat afkomstig is van erkende KI-centra die de stieren geregeld testen met het oog op het opsporen van brucellose.

### **Summary**

**Rapid advice 13-2012 of the Scientific Committee of the FASFC on the risk of transmission of *Brucella abortus* via artificial insemination and embryo transfer**

The Scientific Committee has assessed the risks of transmission of *Brucella abortus* via embryo transfer in the case that the embryos originate from a herd which afterwards has become a brucellosis outbreak herd and via artificial insemination in general.

On the condition that the embryo's, which originate from a brucellosis outbreak herd, were collected and treated correctly by a certified embryo transfer team applying the usual IETS protocol, the risk of transmission of *Brucella abortus* via embryo transfer is negligible.

Yet the Scientific Committee insists, that the embryos collected from a brucellosis outbreak herd, in application of the legislation, are not used for trade but are only used to repopulate the herd after its sanitation. To further reduce the risk the Scientific Committee recommends also to include, during transfer, supplementary washing steps of the embryo (10 times) with wash media containing appropriate antibiotics and to follow scrupulously the health of the recipient by repeated serum sampling for brucellosis between the embryo transfer and the calving. As a supplementary measure the Scientific Committee proposes to bacteriologically test the last wash medium for *Brucella*.

Because the semen of infected sires can be contaminated with *Brucella abortus*, the risk of transmission of *Brucella abortus* via artificial insemination is not negligible. The Scientific Committee recommends using only semen from registered insemination centers whose sires are regularly tested for brucellosis.

## **Sleutelwoorden**

*Brucella abortus* – risico – kunstmatige inseminatie – embryo transfer

## 1. Referentietermen

### 1.1. Doelstelling

Er wordt aan het Wetenschappelijk Comité gevraagd om :

- het risico van overdracht van *Brucella abortus* via embryotransfer te evalueren in het geval dat de embryo's verkregen zijn van runderen die afkomstig zijn uit een brucellosehaard.
- het risico van overdracht van *Brucella abortus* via kunstmatige inseminatie (in het algemeen) te evalueren.

### 1.2. Wettelijke context

Hoofdstuk 4.9. van de gezondheidscode voor landdieren van de Wereldorganisatie voor Diergezondheid (OIE) over de verzameling en behandeling van eicellen/embryo's van rundvee en paarden bij middel van micromanipulatie (online beschikbaar op het adres : [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health\\_standards/tahc/2010/fr\\_chapitre\\_1.4.9.htm](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahc/2010/fr_chapitre_1.4.9.htm)).

Richtlijn van de Raad van 14 juni 1988 tot vaststelling van de veterinairerechtelijke voorschriften van toepassing op het intracommunautaire handelsverkeer in diepgevroren sperma van runderen en de invoer daarvan (88/407/EEG) (PB L 194 van 22.7.1988, p. 10)

Richtlijn van de Raad van 25 september 1989 tot vaststelling van veterinairerechtelijke voorschriften voor het intracommunautaire handelsverkeer in embryo's van als huisdier gehouden runderen en de invoer daarvan uit derde landen (89/556/EEG) (PB L 302 van 19.10.1989, p. 1)

Koninklijk besluit van 6 december 1978 betreffende de bestrijding van runderbrucellose.

Koninklijk besluit van 23 januari 1992 betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen.

Koninklijk besluit van 9 december 1992 betreffende veterinairerechtelijke voorwaarden aangaande de productie, de behandeling, de bewaring, het gebruik, het intracommunautaire handelsverkeer en de invoer van rundersperma.

### 1.3. Veronderstellingen

Het Wetenschappelijke Comité gaat er bij de evaluatie van uit dat :

- de embryo's '*per secundum artem*' worden gewonnen door een erkend embryoteam en met inachtneming van het sanitaire protocol, in het bijzonder wat de hygiëne bij de verzameling en de overplanting van embryo's en het gebruik van antibiotica in de verdunningsmiddelen betreft.
- de winning van sperma en embryo's gebeurt met inachtneming van de wettelijke voorwaarden dienaangaande.

Overwegende het advies 65-2005 van het Wetenschappelijk Comité met betrekking tot de winning en overplanting van embryo's van runderen,

Overwegende de besprekingen tijdens de werkgroepvergadering van 30 maart 2012 en de plenaire zitting van 20 april 2012,

**geeft het Wetenschappelijk Comité het volgende sneladvies :**

## **2. Gevarenanalyse**

Een zoogkoeienbedrijf werd begin maart 2012 tot brucellosehaard verklaard. De haard werd op 23 februari 2012 vastgesteld als gevolg van een kalving via keizersnede (dood kalf, 10 dagen te vroeg geboren) en op basis van een positieve serologische analyse van de moeder en een positieve bacteriecultuur van het kalf. De stam die daarbij werd geïdentificeerd is *Brucella abortus* biovar 3.

Embryo's die vóór de eerste identificatie van *Brucella abortus* in het bedrijf werden verzameld worden gecryoconserveerd.

## **3. Gevarenkarakterisatie**

### *3.1. Brucella abortus*

*Brucella abortus* is een zoönotische bacterie die vooral rundvee besmet en die een ernstige en slopende ziekte veroorzaakt bij de mens. Mensen kunnen de ziekte oplopen door contact met koeien tijdens het kalven of door de opname van niet-gepasteuriseerde melk of melkproducten.

Abortus is het belangrijkste klinische symptoom van acute brucellose bij rundvee. Abortus komt vaak voor tijdens de tweede helft van de dracht (meestal vanaf zes maanden). Acute runderbrucellose wordt gekenmerkt door voortplantingsstoornissen: abortus of geboorte van een levensvatbaar, maar zwak kalf, ophouden van de nageboorte, metritis, vaak subklinische mastitis, onvruchtbaarheid, orchitis en epididymitis bij stieren die al of niet onvruchtbaar zijn. Chronische brucellose, die vaak aangetroffen wordt in de tropen, wordt dikwijls gekenmerkt door articulaire en peri-articulaire vochttopzettingen (hygromas). Carpale hygromas zijn sterk geassocieerd met chronische brucellose.

Als een vaars of een koe aborteert als gevolg van brucellose worden grote aantallen bacteriën ( $10^{12}$ - $10^{13}$ ) uitgescheiden (Saegerman et al., 2010). De ziekte wordt meestal overgedragen door opname van voedsel, water en andere passieve dragers die zijn besmet door de baarmoeder uitvloeijsels. De incubatietijd varieert van weken tot jaren, afhankelijk van hoe de incubatietijd is gedefinieerd, of de dieren drachtig waren, en het stadium van de dracht bij besmetting. Infectie van stieren komt minder vaak voor dan koeien. Sommige kalveren geboren uit besmette koeien kunnen seronegatieve dragers van de infectie zijn en kunnen zelf het micro-organisme uitscheiden bij kalving.

De ziekte wordt regelmatig vastgesteld via serologische testen zoals de ELISA test en door isolatie van het micro-organisme uit baarmoeder uitvloeijsel, geaborteerde foetussen, melk en sperma. De diagnose van de ziekte is moeilijker bij stieren waar serologische tests minder gevoelig schijnen te zijn (Saegerman et al., 2010).

### *3.2. Embryotransfer*

Bij een embryotransfer in een brucellosehaard bestaat het gevaar enerzijds uit kruisbesmetting vanuit het verontreinigde milieu en vanwege de door het embryoteam tijdens de winning en de transfer zelf uitgevoerde handelingen en anderzijds uit eventuele besmetting van het embryo zelf.

Er is echter aanzienlijke bewijsvoering in de wetenschappelijke literatuur die aantoont dat *Brucella abortus* niet wordt overgedragen via goed voorbereide en gewassen embryo's (Barrios et al., 1988, Stringfellow en Wright 1989). *Brucella abortus* hecht niet vast aan de intacte zona pellucida of wordt efficiënt verwijderd bij het wassen van de embryo's. Het wordt echter aanbevolen dat de wasvloeistof antibiotica bevat (Riddel et al., 1989). Het is aangetoond dat *Brucella abortus* gevoelig is aan de antibiotica die gebruikt worden bij de voorbereiding van de embryo's (Stringfellow et al. 1986). Deze en andere bevindingen hebben ertoe geleid dat de International Embryo Transfer Society (IETS) *Brucella abortus* classificeert als een categorie 1 organisme. Dit betekent, een ziekte "voor dewelke voldoende bewijsvoering bestaat die aantoont dat het risico van overdracht te verwaarlozen is op voorwaarde dat de embryo's goed worden behandeld bij de collectie en overdracht" (IETS 2004). Daarom is, onder de voorwaarde dat embryo's goed verwerkt en behandeld zijn met efficiënte antibiotica, de kans dat de embryo's *Brucella abortus* bevatten, te verwaarlozen (MAF, Biosecurity New Zealand, 2009).

### 3.3. Kunstmatige inseminatie

Bij stieren zijn de voorkeursplaatsen voor infectie de voortplantingsorganen en de bijhorende lymfeklieren. Ontsteking van de zaadblaasjes en/of orchitis en infectie van de accessoire geslachtsklieren worden vaak waargenomen. Tijdens de acute fase van de infectie bevat het sperma grote aantallen *Brucella*. Als de infectie meer chronisch wordt neemt het aantal uitgescheiden *Brucella* af (Saegerman et al., 2010). Sperma van geïnfecteerde stieren kan worden besmet door *Brucella abortus* (Plant et al., 1976, Robison et al., 1998). Daarom is de kans dat sperma *Brucella abortus* bevat niet verwaarloosbaar (MAF Biosecurity New Zealand, 2009).

## 4. Blootstellingsschatting en risicoschatting

### 4.1. Embryotransfer

Mits de embryo's 'per secundum artem' werden gewonnen door een erkend embryoteam en met inachtneming van het gebruikelijke protocol, in het bijzonder wat de hygiëne en het gebruik van antibiotica in de verdunningsmiddelen betreft, zijn de risico's van overdracht van *Brucella abortus* via embryotransfer verwaarloosbaar.

### 4.2. Kunstmatige inseminatie

Als het sperma afkomstig is van een stier uit een brucellosehaard is het risico van blootstelling niet verwaarloosbaar. Het sperma kan besmet zijn met *Brucella abortus*. Inseminatie van met *Brucella abortus* besmet sperma kan aanleiding geven tot een besmetting van de receptorkoe (Crawford et al., 1990).

Als een ontvangster koe drachtig wordt bestaat de kans dat ze zal aborteren en het milieu en andere gevoelige dieren besmetten. Ook zijn de gevolgen voor de gezondheid van de mens niet te verwaarlozen.

## 5. Besluit

Op voorwaarde dat de embryo's, die afkomstig zijn van een brucellosehaard, bekomen werden en correct behandeld werden door een erkend embryotransferteam volgens het gebruikelijke IETS protocol, is het risico van overdracht van *Brucella abortus* via embryotransfer verwaarloosbaar.

Toch dringt het Wetenschappelijk Comité erop aan om, de uit een brucellosehaard verkregen embryo's, in toepassing van de geldende wetgeving, niet in de handel te brengen en uitsluitend te gebruiken voor herbevolking van de haard na de ruiming. Om het risico nog verder terug te dringen raadt het Comité ook aan om bij de transfer te voorzien in bijkomende

wasbeurten van het embryo (10 maal) met een wasmedium dat efficiënte antibiotica bevat en de gezondheidstoestand van de receptorkoe, met betrekking tot brucellose, nauwgezet te volgen van bij de embryotransfer tot aan de kalving aan de hand van herhaald serologisch onderzoek. Als bijkomende maatregel stelt het Wetenschappelijk Comité voor om de laatste wasvloeistof bacteriologisch te testen op *Brucella*.

Aangezien het sperma van geïnfecteerde stieren gecontamineerd kan zijn met *Brucella abortus* is het risico van overdracht van *Brucella abortus* via kunstmatige inseminatie niet verwaarloosbaar. Het Wetenschappelijk Comité raadt aan om alleen sperma te gebruiken dat afkomstig is van erkende KI-centra die de stieren geregeld testen met het oog op het opsporen van brucellose.

Voor het Wetenschappelijk Comité,  
De Voorzitter,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Brussel, 07/05/2012

## Referenties

Advies Sci Com FAVV 65-2005 in verband met de winning en overplanting van runderembryo's.

Barrios D., Kraemer D., Bessoudio E., Adams L. Failure to isolate *Brucella abortus* from embryos or ova from culture-positive superovulated cows. *Theriogenology* 1988, 29, 2, 353-361.

Crawford R.P., Huber J.D., Adams B.S. Epidemiology and surveillance. *In*: Nielsen K. & Duncan B. (eds). *Animal brucellosis*. CRC Press, Orlando, 1990, pp 131-151.

MAF Biosecurity New Zealand, 2009. Import Risk Analysis: cattle germ plasm from all countries.

OIE 2011 – Terrestrial Animal Health Code

Plant J., Claxton P., Jakovljevic M., De Saram W. *Brucella abortus* infection in the bull. *Australian Veterinary Journal*, 1976, 52, 17-20.

Riddel M., Stringfellow D., Wolfe D., Galik P. In vitro exposure of ovine embryos to *Brucella abortus*. *Theriogenology*, 1989, 31, 4, 895-901.

Robison C., Davis D., Templeton J., Westhusin M., Foxworth W., Gilsdorf M., Adams L. Conservation of germ plasm from bison infected with *Brucella abortus*. *J. Wildlife Diseases* 1998, 34, 3, 582-589.

Saegerman C., Berkvens D., Godfroid J., Walravens K. (2010). Chapter 77: Bovine brucellosis. *In*: *Infectious and Parasitic Disease of Livestock*. Lavoisier et Commonwealth Agricultural Bureau – International (ed.), France, 971-1001.

Stringfellow D, Wolfe D., McGuire J., Lauerman L., Gray B., and Sparling P. Effects of embryo-freezing and thawing techniques on the survivability of *Brucella abortus*. *Theriogenology* 1986, 26, 5, 553-559.

Stringfellow D., Wright J. A review of the epidemiologic aspects of embryo transfer from *Brucella abortus* infected cows. *Theriogenology*, 1989, 31, 5, 997-1006.

Van Soom A., Imberechts H., Delahaut Ph., Thiry E., Van Roy V., Walravens K., Roels S., Saegerman C. Sanitary control in bovine embryo transfer How far should we go? A review *Veterinary Quarterly* 2007; 29(1): 2-17.

## Leden van het Wetenschappelijk Comité

Het Wetenschappelijk Comité is samengesteld uit de volgende leden :

D. Berkvens, C. Bragard, E. Daeseleire, P. Delahaut, K. Dewettinck, J. Dewulf, L. De Zutter, K. Dierick, L. Herman, A. Huyghebaert, H. Imberechts, G. Maghuin-Rogister, L. Pussemier, K. Raes\*, C. Saegerman, B. Schiffers, M.-L. Scippo\*, W. Stevens\*, E. Thiry, T. van den Berg, M. Uyttendaele, C. Van Peteghem

\*: uitgenodigde experts

## Dankbetuigingen

Het Wetenschappelijk Comité dankt de Stafdirectie voor risicobeoordeling en de leden van de werkgroep voor de voorbereiding van het ontwerp advies.

De werkgroep was samengesteld uit :

Leden van het Wetenschappelijk Comité                      C. Saegerman (verslaggever), H. Imberechts

Externe experts    A. Van Soom (UGent), C. Boccart (AWE), D. Fretin (CODA)

## Wettelijk kader van het advies

Wet van 4 februari 2000 houdende oprichting van het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, inzonderheid artikel 8;

Koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen;

Huishoudelijk reglement, bedoeld in artikel 3 van het koninklijk besluit van 19 mei 2000 betreffende de samenstelling en de werkwijze van het Wetenschappelijk Comité ingesteld bij het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen, goedgekeurd door de Minister op 9 juni 2011.

## Disclaimer

Het Wetenschappelijk Comité behoudt zich, te allen tijde, het recht voor dit advies te wijzigen indien nieuwe informatie en gegevens ter beschikking komen na de publicatie van deze versie.