



**COMITÉ SCIENTIFIQUE  
DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ  
DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE**

**AVIS RAPIDE 13-2012**

**Objet : Risque de transmission de *Brucella abortus* via l'insémination artificielle et le transfert d'embryons (dossier Sci Com 2012/17)**

Avis approuvé par le Comité scientifique le 24 avril 2012.

**Résumé**

Le Comité scientifique a évalué le risque de transmission de *Brucella abortus* via le transfert d'embryons dans le cas où les embryons sont issus de bovins provenant d'une exploitation devenue, depuis lors, un foyer de brucellose, et via l'insémination artificielle en général.

A la condition que les embryons aient été récoltés et manipulés correctement par une équipe de transfert d'embryons agréée et en respectant le protocole habituel IETS, le risque de transmission de *Brucella abortus* via le transfert d'embryons est négligeable dans le cas où les embryons sont issus de bovins provenant d'une exploitation devenue depuis lors, un foyer de brucellose.

Cependant le Comité scientifique insiste que les embryons issus d'un foyer de brucellose ne soient pas mis sur le marché, en application de la législation en vigueur, et soient uniquement utilisés dans le cadre de la repopulation du foyer après son assainissement. En vue de réduire encore davantage le risque, le Comité recommande également d'inclure, lors du transfert, des étapes supplémentaires de lavage de l'embryon (10 fois) avec un milieu de lavage contenant des antibiotiques efficaces et de suivre rigoureusement l'état de la santé de la receveuse en regard de la brucellose depuis le transfert d'embryon jusqu'au vêlage par des analyses sérologiques répétées. Comme mesure supplémentaire le Comité scientifique propose de réaliser un test bactériologique sur la présence de *Brucella* dans le dernier liquide de lavage.

Comme le sperme des taureaux infectés peut être contaminé par *Brucella abortus*, le risque de transmission de *Brucella abortus* via l'insémination artificielle est non négligeable. Le Comité scientifique recommande d'utiliser seulement la semence provenant de centres d'insémination enregistrés qui testent régulièrement les taureaux en vue de la détection de la 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.

## **Mots clés**

*Brucella abortus* – risque – insémination artificielle – transfert d'embryons

## 1. Termes de référence

### 1.1. Objectif

Il est demandé au Comité scientifique :

- d'évaluer le risque de transmission de *Brucella abortus* via le transfert d'embryons dans le cas où les embryons sont issus de bovins provenant d'un foyer de brucellose.
- d'évaluer le risque de transmission de *Brucella abortus* via l'insémination artificielle (question générale).

### 1.2. Contexte législatif

Chapitre 4.9. du Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'Organisation mondiale pour la Santé animale (OIE) relatif à la collecte et manipulation des ovocytes/embryons du bétail et d'équidés micromanipulés (disponible en ligne à l'adresse suivante : [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)).

Directive du Conseil du 14 juin 1988 fixant les exigences de police sanitaire applicables aux échanges intracommunautaires et aux importations de sperme d'animaux de l'espèce bovine (88/407/CEE) (JO L 194 du 22.7.1988, p. 10)

Directive du Conseil du 25 septembre 1989 fixant les conditions de police sanitaire régissant les échanges intracommunautaires et les importations en provenance des pays tiers d'embryons d'animaux domestiques de l'espèce bovine (89/556/CEE) (JO L 302 du 19.10.1989, p. 1)

Arrêté royal du 6 décembre 1978 relatif à la lutte contre la brucellose bovine.

Arrêté royal du 23 janvier 1992 relatif aux conditions sanitaires de la collecte et du transfert des embryons de l'espèce bovine.

Arrêté royal du 9 décembre 1992 portant des dispositions zootechniques et de police sanitaire vétérinaire concernant la production, le traitement, le stockage, l'usage, les échanges intracommunautaires et l'importation du sperme de bovin.

### 1.3. Suppositions

Dans son évaluation, le Comité scientifique a considéré que :

- la récolte des embryons est réalisée '*per secundum artem*' par une équipe de transfert d'embryons agréée et en respectant le protocole sanitaire, en particulier en ce qui concerne l'hygiène de la collecte et du transfert des embryons et l'utilisation des antibiotiques dans les diluants.
- les récoltes de sperme et des embryons sont réalisées en respectant les conditions légales en la matière.

Vu l'Avis 65-2005 du Sci Com concernant la récolte et transfert d'embryons de l'espèce bovine ;

Vu les discussions durant la réunion de groupe de travail du 30 mars 2012 et la séance plénière du 20 avril 2012,

### **le Comité scientifique émet l'avis rapide suivant :**

## **2. Analyse des dangers**

Une exploitation de vaches allaitantes a été déclarée foyer de brucellose début mars 2012. Ce foyer a été détecté suite à un vêlage par césarienne (veau mort, 10 jours avant terme) le 23 février 2012, sur base d'une analyse sérologique positive de la mère et d'une culture bactérienne positive du veau. La souche identifiée est *Brucella abortus* biovar 3. Des embryons collectés dans l'exploitation avant la première identification de *Brucella abortus* sont cryoconservés.

## **3. Caractérisation des dangers**

### *3.1. Brucella abortus*

*Brucella abortus* est une bactérie zoonotique qui contamine essentiellement les bovins et qui provoque une maladie grave et invalidante chez l'homme. L'homme peut contracter la maladie par contact avec des vaches pendant le vêlage ou par la consommation de lait non pasteurisé ou de produits laitiers à base de lait non pasteurisé.

L'avortement est le principal signe clinique de la brucellose aiguë chez le bovin. Il survient souvent dans la deuxième moitié de la gestation (généralement à partir de six mois). La brucellose bovine aiguë se caractérise par des troubles de la reproduction : avortements ou naissance de veaux viables mais faibles, rétention placentaire, métrite, mammite souvent subclinique, stérilité, orchite et épидидymite chez des taureaux stériles ou non. La brucellose chronique, fréquemment observée dans les pays tropicaux, se caractérise souvent par des gonflements articulaires et péri-articulaires (hygromas). Les hygromas carpiens sont fortement associés à la brucellose chronique.

Si une vache ou une génisse avorte à cause de la brucellose, un grand nombre de bactéries ( $10^{12}$ - $10^{13}$ ) sont alors excrétées (Saegerman et al., 2010). La maladie est le plus souvent transmise par l'ingestion de nourriture, d'eau ou d'autres vecteurs passifs contaminés par des écoulements utérins. Le délai d'incubation varie de plusieurs semaines à plusieurs années, suivant la manière dont le temps d'incubation est défini, le fait que les animaux étaient gestants ou non, et suivant le stade de gestation au moment de l'infection. Les taureaux sont moins souvent infectés que les vaches. Certains veaux nés de mères infectées peuvent être porteurs séronégatifs de l'infection et peuvent même excréter le micro-organisme lors du vêlage.

La maladie est régulièrement dépistée à l'aide de tests sérologiques tels que le test ELISA, et par isolement des micro-organismes dans les écoulements utérins, les foetus avortés, le lait et le sperme. Le diagnostic de la maladie est plus difficile chez les taureaux, pour lesquels les tests sérologiques semblent être moins sensibles (Saegerman et al., 2010).

### *3.2. Le transfert d'embryons*

Lors d'un transfert d'embryons dans un foyer de brucellose le danger consiste d'une part en une infection croisée à partir de l'environnement contaminé et lors des manipulations par

l'équipe de transfert d'embryons lors de la récolte et le transfert-même, et d'autre part, en une contamination éventuelle de l'embryon lui-même.

La littérature scientifique renferme cependant une argumentation considérable prouvant que *Brucella abortus* n'est pas transmise par le biais d'embryons bien préparés et lavés (Barrios et al., 1988, Stringfellow et Wright 1989). *Brucella abortus* ne se fixe pas aux membranes pellucides intactes, où il est éliminé efficacement lors du lavage des embryons. Il est néanmoins recommandé d'incorporer des antibiotiques dans le liquide de lavage. Il a été démontré que *Brucella abortus* est sensible aux antibiotiques utilisés lors de la préparation des embryons (Stringfellow et al. 1986). Ces observations, parmi d'autres, ont mené la Société Internationale de Transfert d'Embryons (IETS) à classifier *Brucella abortus* en tant qu'organisme de catégorie 1, c'est-à-dire une maladie "à propos de laquelle les preuves réunies sont suffisantes pour affirmer que le risque de transmission est négligeable, à condition que les embryons soient manipulés correctement entre la collecte et la transplantation" (IETS, 2004). C'est pourquoi le risque que les embryons contiennent des *Brucella abortus* est négligeable, moyennant une manipulation correcte des embryons et un traitement avec des antibiotiques efficaces (MAF Biosecurity New Zealand, 2009).

### 3.3. L'insémination artificielle

Chez les taureaux, les organes reproducteurs et les ganglions lymphatiques correspondants constituent les sites d'infection privilégiés. On observe souvent une infection de la vésicule séminale et/ou une orchite, ainsi qu'une infection des glandes génitales accessoires. Pendant la phase aiguë de l'infection, le sperme contient un grand nombre de *Brucella*. Lorsque l'infection prend une tournure plus chronique, le nombre de *Brucella* excrétées diminue (Saegerman et al., 2010). Le sperme des taureaux infectés peut être contaminé par *Brucella abortus* (Robison et al., 1998). C'est pourquoi le risque que le sperme contienne des *Brucella abortus* est non négligeable (MAF Biosecurity New Zealand, 2009).

## 4. Estimation de l'exposition et estimation des risques

### 4.1. Transfert d'embryons

A la condition que les embryons aient été récoltés '*per secundum artem*' par une équipe de transfert d'embryons agréée et en respectant le protocole habituel en particulier en ce qui concerne l'hygiène et l'utilisation des antibiotiques dans les diluants, le risque de transmission de *Brucella abortus* via le transfert d'embryons est négligeable.

### 4.2. Insémination artificielle

Si la semence provient d'un taureau issu d'un foyer de brucellose, le risque d'exposition est non négligeable. La semence peut être infectée par *Brucella abortus*. L'insémination de la semence infectée par *Brucella abortus* peut donner lieu à une infection de la femelle receveuse (Crawford et al., 1990).

Si une femelle receveuse se voit fécondée, le risque d'avortement existe, entraînant une contamination de l'environnement et des autres animaux sensibles. Les conséquences sur la santé de l'homme ne doivent pas non plus être négligées.

## 5. Conclusion

A la condition que les embryons aient été récoltés et manipulés correctement par une équipe de transfert d'embryons agréée et en respectant le protocole habituel IETS, le risque de transmission de *Brucella abortus* via le transfert d'embryons est négligeable dans le cas où les embryons sont issus de bovins provenant d'une exploitation devenue depuis lors, un foyer de brucellose. .

Cependant le Comité scientifique insiste que les embryons issus d'un foyer de brucellose ne soient pas mis sur le marché, en application de la législation en vigueur, et soient uniquement utilisés dans le cadre de la repopulation du foyer après son assainissement. En vue de réduire encore davantage le risque, le Comité recommande également d'inclure, lors du transfert, des étapes supplémentaires de lavage de l'embryon (10 fois) avec un milieu de lavage contenant des antibiotiques efficaces et de suivre rigoureusement l'état de la santé de la receveuse en regard de la brucellose depuis le transfert d'embryon jusqu'au vêlage par des analyses sérologiques répétées. Comme mesure supplémentaire le Comité scientifique propose de réaliser un test bactériologique sur la présence de *Brucella* dans le dernier liquide de lavage.

Comme le sperme des taureaux infectés peut être contaminé par *Brucella abortus*, le risque de transmission de *Brucella abortus* via l'insémination artificielle est non négligeable. Le Comité scientifique recommande d'utiliser seulement la semence provenant de centres d'insémination enregistrés qui testent régulièrement les taureaux en vue de la détection de la brucellose.

Pour le Comité scientifique,  
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Bruxelles, le 07/05/2012

## Références

Avis 65-2005 du Sci Com de l'AFSCA concernant la récolte et transfert d'embryons de l'espèce bovine.

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.

Jacques I., Grayon M., Berthelot F., Garin-Bastuji B., Guilloteau L., Martinat-Botté F. Risk of *Brucella* transmission by porcine embryos : an in vitro study. *Int. Soc. Animal Hygiene*, Oct 2004.

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.

## **Membres du Comité scientifique**

Le Comité scientifique est composé des membres suivants :

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

\*: experts invités

## **Remerciements**

Le Comité scientifique remercie la Direction d'encadrement pour l'évaluation des risques et les membres du groupe de travail pour la préparation du projet d'avis. Le groupe de travail était composé de :

Membres du Comité scientifique	C. Saegerman (rapporteur), H. Imberechts
Experts externes	A. Van Soom (UGent), C. Boccart (AWE), D. Fretin (CERVA)

## **Cadre juridique de l'avis**

Loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, notamment l'article 8 ;

Arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Règlement d'ordre intérieur visé à l'article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 9 juin 2011.

## **Disclaimer**

Le Comité scientifique conserve à tout moment le droit de modifier cet avis si de nouvelles informations et données arrivent à sa disposition après la publication de cette version.