

Sanitaire maatregelen nodig voor internationale embryohandel

Tijdens het transplanteren van embryo's bij rundvee moet men enkele maatregelen nemen om ziekteoverdracht te voorkomen. In dit artikel gaan we hier verder op in. – ANN VAN SOOM, UGENT –

• rundvee • diergeneeskunde

Elk jaar worden wereldwijd ongeveer 700.000 embryo's gespoeld uit koeien, waarvan er ongeveer 500.000 worden overgeplant in een ontvangster. In de Benelux worden de meeste embryo's niet vers, maar als ingevroren-ontdood embryo overgeplant. Embryotransplantatie bestaat meestal uit 5 stappen, namelijk de hormonale synchronisatie van donorkoe en ontvangster; de superovulatie van de embryodonor; de inseminatie van de donor met sperma van een superieure stier; het uitspoelen en de identificatie van de embryo's (meestal gevolgd door invriezen); de transplantatie van topembryo's in synchrone ontvangsters (figuur 1). Vaak worden ingevroren runderembryo's internationaal verhandeld. Een embryo naar Canada transporteren kost immers veel minder en is veel diervriendelijker dan een koe op het vliegtuig zetten. De risico's op ziekteoverdracht zijn veel minder groot bij transport van een embryo in vergelijking met diertransport. Toch zijn er een aantal maatregelen die getroffen moeten worden tijdens embryotransplantatie om ziekteoverdracht te voorkomen en daar willen we in dit artikel even op ingaan.

Uitbraken van ziekten bij rundvee

Het is een feit dat ziekteverwekkers (meestal bacteriën en virussen) ook aanwezig kunnen zijn in de geslachtstrac-

tus van de koe en zo de embryo's kunnen besmetten tijdens de periode tussen de bevruchting en de collectie van de embryo's. Al in 1970 werd voor de eerste maal vastgesteld dat besmette embryo's ziekten kunnen veroorzaken bij het ontvangsterdier. Theoretisch zou het dus mogelijk kunnen zijn dat een Holstein-embryo, dat in Vlaanderen gespoeld is tijdens de uitbraak van het blauwtongvirus in 2007 en dat onmiddellijk werd ingevroren en nu verkocht wordt aan een veehouder in de Verenigde Staten, de ontvangsterkoe besmet en voor een lokale uitbraak van de ziekte zorgt. Het Office International des Epizooties (OIE) of World Organization for Animal Health (www.oie.int) en de International Embryo Transfer Society (IETS) zijn 2 internationale organisaties die betrokken zijn bij onderzoek naar besmettelijke ziekten en embryotransplantatie bij dieren. Op de IETS-website (www.iets.org) kan je bijvoorbeeld meer dan 400 referenties vinden in verband met onderzoek naar ziekten en embryotransplantatie. Bij runderen werden 89 ziekteverwekkers onderzocht, waaronder een aantal heel belangrijke virussen zoals mond-en-klauwzeer, runderpest, blauwtong en boviene virale diarree.

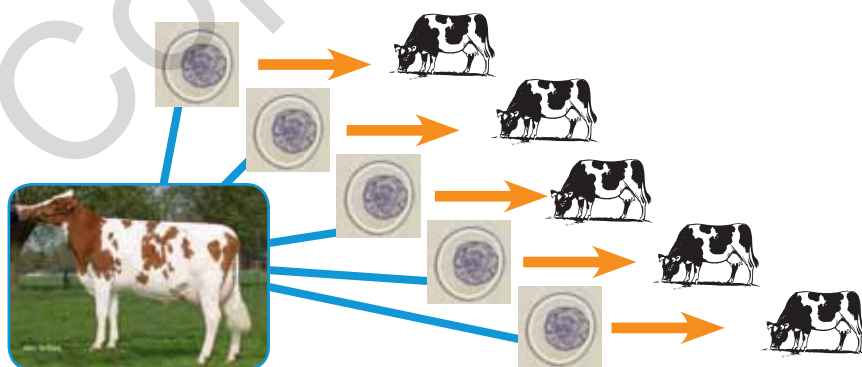
Sommige van deze ziekten kunnen economisch zeer belangrijk zijn, denk maar aan de mond-en-klauwzeer in Enge-

land van 2001, waarbij 6 miljoen schapen, runderen en varkens werden geslacht en vernietigd en men 8 miljard pond verlies leed in de landbouw en aanverwante industrieën, of aan de blauwtonguitbraak in België en Nederland in 2006-2007. Bij de mond-en-klauwzeer was de oorzaak van de besmetting waarschijnlijk het voederen van besmet vlees aan varkens. De blauwtonguitbraak kwam er omdat de overbrenger van de ziekte – de knut – in onze noordelijke gebieden voor de eerste maal, besmet was met het virus. Besmettelijke ziekten worden echter ook overgebracht door direct contact tussen dieren en door natuurlijke dekking. Kunstmatige inseminatie (KI) is in dit opzicht veel veiliger dan natuurlijke dekking, omdat alle stieren getest worden op besmettelijke ziekten tijdens de periode van spermabname. Enkel ingevroren sperma van stieren die vrij zijn van besmettelijke ziekten, zoals infectieuze boviene rhinotracheitis (IBR) of boviene virale diarree (BVD), wordt gebruikt voor KI.

Embryotransplantatie kan ziekteoverdracht voorkomen

Embryotransplantatie verschilt in een aantal opzichten van kunstmatige inseminatie. Embryocollectie wordt gedaan op het bedrijf van de veehouder, terwijl spermacollectie in gespecialiseerde KI-centra gebeurt met stieren die in quarantaine worden gehouden. De embryo's worden opgezocht in de spoelvloeistof op het bedrijf van de veehouder en daar eventueel ook ingevroren, terwijl het invriezen van sperma in het KI-centrum gebeurt.

Theoretisch zou er dus bij embryotransplantatie meer kans op infectie kunnen bestaan, maar gelukkig is dit niet zo. Embryo's verschillen van sperma omdat ze beschermd worden door een soort eierschaal, de *zona pellucida*, waar geen virussen of bacteriën doorheen kunnen dringen. Kiemen kunnen zich echter wel vasthechten aan de zona. Daarom moeten er tijdens de embryocollectie een aantal richtlijnen gevolgd worden, om ziekteoverdracht te voorkomen. Deze richtlijnen zijn kort samengevat de volgende (zie KB van 23 januari 1992 betreffende de sanitaire voorwaarden voor het verzamelen en overplanten van embryo's van runderen): de handelingen moeten uitgevoerd worden door een erkend embryotransplantatieteam; de donorkoe moet vrij zijn van ziekte; het sperma moet van een geteste stier

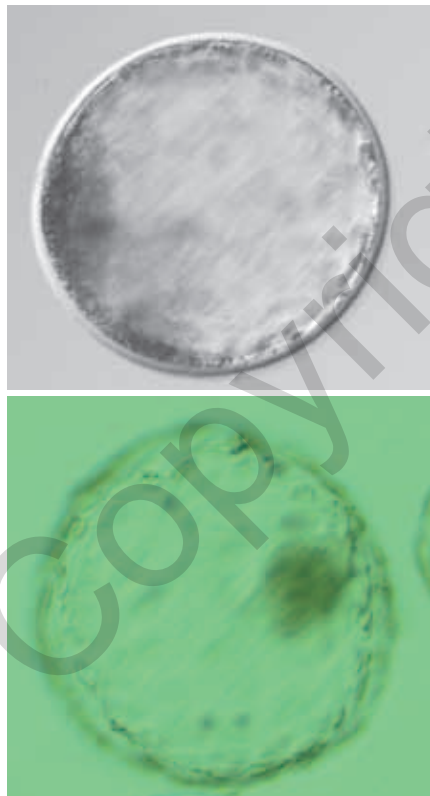


Figuur 1 Een gemiddelde spoeling levert na superovulatie en inseminatie van een topkoe 5 embryo's op, die elk apart in een ontvangster kunnen overgeplant worden. De kalfjes dragen het genetisch materiaal van het gespoelde topdier.

zijn; op de dag van de spoeling mogen de donorkoeien niet ziek zijn en niet op een bedrijf met verbodsmaatregelen verblijven; alle cultuurplaatjes, flessen en instrumenten moeten steriel zijn; alle media moeten steriel zijn en vrij van ziekteverwekkers; spoelvloeistoffen, wasvloeistoffen en gedegeneerde embryo's moeten bewaard worden voor sanitaire controle.

Internationaal zijn er een aantal richtlijnen vooropgesteld, die gepubliceerd werden in het IETS-handboek en die ook in het KB vermeld staan. Al deze richtlijnen moeten uitgevoerd worden vooraleer het embryo een biopsie ondergaat of ingevroren wordt. Embryo's die volgens de IETS-richtlijnen gewassen en vervolgens ingevroren worden, zijn geschikt voor internationale handel, op voorwaarde dat de donorkoe, het sperma en het team voldoen aan het eisen gesteld in het KB.

Zona inspecteren De zona van de embryo's moet geïnspecteerd worden met de stereomicroscop. Door de zona zijn de embryo's beschermd en kunnen ze gewassen worden. Zelfs een enzymatische behandeling, die virussen kan inactiveren, kan zonder risico voor het embryo worden toegepast. Voorwaarde is wel dat de zona intact moet zijn en niet met andere cellen mag bedekt zijn. Onder een stereomicroscop, bij een vergroting van 50 x, moet de dierenarts de embryo's aan alle kanten



Figuur 2 Het bovenste embryo heeft een intacte zona en geen aangehechte cellen. Het is geschikt voor internationale handel, na wassen en trypsinebehandeling. Het onderste embryo is uit de zona gekipt en mag niet verhandeld worden.

inspecteren, om na te gaan of er nergens een breuk in de zona is en of de zona niet bedekt is met cellen, waarin nog virus kan aanwezig zijn (figuur 2).

Embryo's moeten gewassen worden

De mechanische handeling van wassen van de embryo's en verdunnen 1:100 in 10 opeenvolgende wasstappen is voldoende om de meeste kiemen en virussen te verwijderen (figuur 3). Voor een aantal virussen is echter een bijkomende trypsinebehandeling (trypsine is een enzym dat bepaalde eiwitten van het virus kan uitschakelen waardoor het niet meer infectieus is) nodig. Voor een aantal kiemen is

lige techniek mag beschouwd worden, is gepubliceerd op de OIE-website en bestaat momenteel voor het rund uit de volgende ziekteverwekkers: mond-en-klauwzeer (alhoewel embryo-uitvoer uit een besmet land niet toegestaan is); enzoötische rundleukose; blauwtong (niet voor serotype 8); brucella abortus; infectieuze bovine rhinotracheitis (trypsinebehandeling nodig); bovine spongiforme encefalopathie.

Voor bepaalde andere virussen, zoals bovine virale diarrreevirus (BVD), zijn wassen en trypsinebehandeling niet altijd voldoende gebleken om het virus te verwijde-



Figuur 3 De embryo's worden vijfmaal gewassen in gewone fosfaatgebufferde zoutoplossing met albumine (PBS met BSA), dan 60 tot 90 seconden in trypsine gewassen en dan weer 5 keer gewassen in PBS met serum om de trypsine te inactiveren (Bron: IETS 2010)

zelfs deze trypsinebehandeling niet voldoende om het embryo kiemvrij te maken.

Trypsinebehandeling Embryo's moeten een trypsinebehandeling ondergaan. Om embryo's vrij te krijgen van het IBR-virus is een bijkomende trypsinebehandeling nodig. Toen deze ziekte nog veelvuldig voorkwam in België (IBR komt nu steeds minder voor in ons land) was deze behandeling noodzakelijk om de embryo's te kunnen exporteren naar bepaalde landen. Nu meer en meer landen IBR-vrij worden, blijft deze trypsinebehandeling een waardevolle techniek om ziekteoverdracht door embryotransplantatie te voorkomen, zeker bij geïmporteerde embryo's die afkomstig zijn uit landen waar de ziekte nog wel voorkomt.

Ziekten voorkomen door embryotransplantatie

Het is natuurlijk de bedoeling om alleen embryotransplantatie uit te voeren bij klinisch gezonde dieren. Onderzoek heeft echter uitgewezen dat, zelfs indien embryo's (accidenteel) gespoeld worden uit een besmette donor, er onder bepaalde voorwaarden en voor bepaalde kiemen geen ziekteoverdracht optreedt. Deze voorwaarden zijn de juiste behandeling van de donordieren en de embryo's (zie hierboven). De lijst met kiemen waarvoor embryotransplantatie als een relatief vei-

ren, toch niet voor bepaalde veldisolaten. Ook leptospiren en mycoplasmen kunnen nog niet van de zona verwijderd worden door wassen of door antibioticabehandeling. Meer onderzoek is dus nodig om dit verder na te gaan.

Besluit

Embryotransplantatie blijft de veiligste manier om genetisch materiaal uit te wisselen tussen rundveebedrijven, gebieden en continenten, tenminste wanneer het om gespoelde embryo's gaat. In vitro (buiten het lichaam van de koe, dus in het laboratorium) bevruchte embryo's hebben andere zona-eigenschappen en hun gevoeligheid voor kiemen moet apart nagegaan worden in nieuwe wetenschappelijke studies. Het strikt toepassen van de sanitaire maatregelen zoals voorgeschreven door de IETS blijft noodzakelijk om ziekteoverdracht te voorkomen. Geïnteresseerden kunnen een exemplaar van het handboek bestellen op de website www.iets.org/pubs_educational.asp. ■

Ann Van Soom is verbonden aan de Reproductieve Biologie Unit (RBU) van de vakgroep Voortplanting, Verloskunde en Bedrijfsdiergeneeskunde van de Faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Gent.