

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

(NOTE : Consultation des versions antérieures à partir du 27-02-1992 et mise à jour au 02-03-2006)

Source : AGRICULTURE

Publication : 27-02-1992 numéro : 1992016019 page : 04135

Dossier numéro : 1992-01-23/35

Entrée en vigueur : 01-04-1992

CHAPTER I. Définitions.

Article 1. Pour l'application du présent arrêté, il faut entendre par :

1. (Embryon : le stade de développement initial d'un animal domestique de l'espèce bovine obtenu par fertilisation in vivo ou in vitro, ayant ou non été soumis à toute manipulation affectant l'intégrité de la zone pellucide, lorsqu'il peut être transféré chez un animal receveur.) <AR 1995-09-01/48, art. 1, 002; En vigueur : 09-11-1995>

2. Lot d'embryons : une quantité d'embryons provenant d'un seul prélèvement et d'une même donneuse et couverte par un seul certificat.

3. Collecte et transfert d'embryon : ensemble des opérations inhérentes à la récolte d'ovules fécondés, leur traitement et leur conditionnement y compris leur mise en place chez les (animaux receveurs). <Err. 1992-06-19>

4. (Animal donneur : bovin femelle sur lequel sont récoltés des embryons, des oocytes ou des ovaires, ou bovin mâle ayant servi par insémination artificielle à la fécondation en vue de produire des embryons.) <AR 1995-09-01/48, art. 1, 002; En vigueur : 09-11-1995>

5. Animal receveur : bovin femelle chez lequel est transféré un embryon en vue de son développement.

6. " Equipe " : un groupe agréé, composé d'un vétérinaire responsable, assisté éventuellement d'un ou de plusieurs vétérinaires et/ou de techniciens, compétents pour assumer la collecte, le traitement et le stockage d'embryons.

7. Laboratoire de diagnostic agréé : l'Institut national de Recherches vétérinaires (I.N.R.V.).

8. Médecin vétérinaire responsable : Le Médecin vétérinaire agréé responsable de la surveillance de l'équipe.

9. (Agence : l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire;) <AR 2006-01-16/46, art. 33, 004 ; En vigueur : 15-03-2006> Service : Le Service de l'Inspection vétérinaire du Ministère de l'Agriculture.

(10.Equipe de production d'embryons : un groupe agréé composé d'un vétérinaire responsable assisté éventuellement d'un ou plusieurs vétérinaires et/ou de techniciens, compétents pour assurer la collecte, le traitement et le stockage d'embryons obtenus par fertilisation et/ou culture in vitro.

11. Lot de donneurs : femelles donneuses d'ovaires ou d'autres tissus prélevés après l'abattage, abattues au même moment, dans le même abattoir.) <AR 1995-09-01/48, art. 1, 002; En vigueur : 09-11-1995>

Art. 1bis. <inséré par AR 1995-09-01/48, art. 2, 002; En vigueur : 09-11-1995> Le présent arrêté ne s'applique pas aux embryons résultant d'un transfert de noyaux.

CHAPITRE II. - Dispositions générales.

Art. 2. La collecte et le transfert d'embryons doivent être effectués conformément aux dispositions énoncées ci-après :

Art. 3. § 1. Les équipes agréées conformément au chapitre III sont seules habilitées à effectuer la collecte, le traitement et le stockage des embryons ainsi que leur transfert.

§ 2. En dérogation aux dispositions du § 1, la mise en place d'un embryon peut être effectuée par un vétérinaire sans l'intervention d'une équipe, pour autant que l'embryon ait été prélevé, traité et le cas échéant, stocké, par une équipe agréée.

§ 3. En dérogation aux dispositions du § 1er, le Ministre peut autoriser la collecte, le transfert, le stockage et le traitement d'embryons à des fins de recherche ou d'enseignement.

CHAPITRE III. - Conditions d'agrément des équipes.

Art. 4. Pour obtenir l'agrément, l'équipe candidate doit répondre aux conditions fixées à l'annexe I du présent arrêté et se soumettre à la surveillance permanente et à l'autorité du Service. (...). <AR 2006-01-16/46, art. 34, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

Art. 4bis. <inséré par AR 1995-09-01/48, art. 3, 002; En vigueur : 09-11-1995> § 1er. Pour obtenir l'agrément, l'équipe de production d'embryons doit répondre aux conditions fixées à l'annexe I du présent arrêté et se soumettre à la surveillance permanente et à l'autorité du Service. (...). <AR 2006-01-16/46, art. 35, 1°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

§ 2. (L'abattoir dans lequel des ovaires et autres tissus sont prélevés par l'équipe de production d'embryons doit être agréé par l'Agence et placé sous le contrôle sanitaire du vétérinaire-expert responsable de l'examen ante et post mortem des animaux donneurs.) <AR 2006-01-16/46, art. 35, 2°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

§ 3. Les ovaires et autres tissus ne peuvent entrer dans le laboratoire visé à l'annexe I, point 1) du présent arrêté avant l'achèvement de l'inspection post mortem du lot d'animaux donneurs.

Si une certaine pathologie est constatée dans le lot susvisé ou sur les animaux abattus le jour même dans l'abattoir, tous les tissus provenant de ce lot doivent être retrouvés et éliminés.

Art. 5. L'octroi de l'agrément est fonction de l'avis (du chef de l'UPC), il est valable un an et est reconduit tacitement si l'équipe a satisfait aux dispositions du présent arrêté au cours de cette période et aux contrôles de qualité visés à l'article 5. <AR 2006-01-16/46, art. 32, 2°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

Chaque équipe est identifiée par un numéro qui lui est propre. Tout changement majeur dans l'organisation de l'équipe est à signaler au Service dans les huit jours. L'agrément de l'équipe doit être renouvelé chaque fois que le vétérinaire responsable est remplacé ou que des changements majeurs sont apportés à l'organisation de l'équipe ou aux locaux, laboratoires et équipements dont elle dispose. (L'Agence) contrôle le respect de ces dispositions et retire l'agrément lorsqu'une ou plusieurs des dispositions du présent arrêté cessent d'être respectées. <AR 2006-01-16/46, art. 32, 1°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

CHAPITRE IV. - Contrôle de qualité.

Art. 6. L'équipe soumet des échantillons des liquides d'extraction par rincage, des liquides de lavage, des embryons dégénérés, des ovules non fécondés, issus de ses activités, à un examen annuel, au laboratoire de diagnostic agréé, dont les modalités sont fixées à l'annexe III du présent arrêté. Les frais inhérents à cet examen, sont à charge de l'équipe. Toutefois, (l'Agence) peut procéder à des contrôles supplémentaires. <AR 2006-01-16/46, art. 32, 1°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

CHAPITRE V. - Conditions relatives à la collecte, au traitement, au stockage et au conditionnement des embryons.

Art. 7. Les embryons sont collectés, traités et identifiés par lots répondant aux mêmes conditions sanitaires.

Art. 8. Les embryons sont collectés dans un lieu isolé de l'exploitation en bon état, nettoyé et désinfecté.

Art. 9. Les conditions de traitement des embryons font l'objet de l'annexe IV du présent arrêté. Ceux-ci ne peuvent être traités dans un lieu faisant l'objet de mesures d'interdiction ou de quarantaine.

Art. 10. Tous les instruments entrant en contact avec les embryons et avec l'animal donneur pendant la collecte et le traitement, sont soit à usage unique soit désinfectés ou stérilisés avant chaque utilisation.

Art. 11. Les récipients de stockage et de transport sont désinfectés ou stérilisés avant chaque opération de remplissage.

Art. 12. § 1. Chaque embryon est, le cas échéant, congelé dans les plus brefs délais et stocké.

§ 2. L'agent cryogénique utilisé ne doit pas avoir servi antérieurement pour d'autres produits d'origine animale.

Art. 13. § 1. Chaque embryon porte un numéro d'identification qui lui est propre.

§ 2. Toutes les entrées et sorties d'embryons ainsi que leur destination finale, sont consignées en permanence dans un registre, dont le modèle est fixé conformément à l'annexe V du présent arrêté.

CHAPITRE VI. - Conditions relatives aux animaux donneurs.

Art. 14. <AR 1995-09-01/48, art. 4, 002; En vigueur : 09-11-1995> § 1er. Les embryons destinés aux échanges intracommunautaires doivent provenir :

1° d'animaux donneurs qui :

a) ont séjourné sur le territoire de la Communauté européenne ou dans le pays tiers de collecte durant au moins les six derniers mois précédant la collecte d'embryons;

b) ont séjourné dans le troupeau d'origine pendant au moins les trente derniers jours précédant la collecte;

c) proviennent de troupeaux :

officiellement indemnes de tuberculose; officiellement indemnes ou indemnes de brucellose; indemnes de leucose bovine enzootique.

En dérogation aux dispositions du point c), troisième alinéa, les animaux donneurs peuvent provenir d'un ou de troupeaux non indemnes de leucose bovine enzootique mais dont il est certifié qu'aucun cas clinique de leucose bovine enzootique n'y a été enregistré au cours des trois dernières années;

d) proviennent de troupeaux n'ayant présenté durant l'année précédente, aucun signe clinique de rhinotrachéite infectieuse bovine/vulvovaginite pustuleuse infectieuse;

2° de femelles donneuses qui, le jour de la collecte, ne peuvent :

a) séjourner dans une exploitation faisant l'objet de mesures de restriction ou de quarantaine;

b) présenter de signes cliniques de maladie;

3° de femelles donneuses sur lesquelles sont prélevés des oocytes par ponction ovarienne ou ovariectomie répondant aux dispositions des points 1° et 2° du présent paragraphe;

4° de femelles donneuses d'ovaires ou d'autres tissus prélevés après l'abattage, n'ayant pas fait l'objet d'un ordre d'abattage dans le cadre d'un programme d'éradication de maladie ou provenant d'une exploitation non soumise à des restrictions de police sanitaire, dans un abattoir situé dans une zone non soumise à des mesures de quarantaine ou d'interdiction.

§ 2. Les embryons destinés à la mise sur le marché national doivent provenir :

1° de femelles donneuses ayant séjourné durant les six mois précédant la collecte d'embryons dans au maximum deux troupeaux différents répondant aux conditions suivantes :

- officiellement indemne de tuberculose;

- officiellement indemne de brucellose ou indemne de brucellose;

- indemne de leucose bovine enzootique, ou n'ayant présenté durant les trois dernières années aucun signe clinique de leucose bovine enzootique;

2° de femelles donneuses d'ovaires ou d'autres tissus prélevés après l'abattage, n'ayant pas fait l'objet d'un ordre d'abattage dans le cadre d'un programme d'éradication de maladie et provenant d'une exploitation non soumise à des restrictions de police sanitaire.

§ 3. Seuls des embryons congelés peuvent être importés de pays tiers qui procèdent à la vaccination contre la fièvre aphteuse. Ces embryons doivent être stockés dans des conditions agréées pendant une période minimale de trente jours avant l'expédition.

Les animaux donneurs doivent provenir d'une exploitation dans laquelle aucun animal n'a été vacciné contre la fièvre aphteuse dans les trente jours précédant la collecte et qui ne fasse l'objet d'aucune mesure d'interdiction ou de quarantaine.

Art. 15. Les femelles donneuses doivent avoir été inséminées, au moyen de sperme répondant aux conditions de la directive 88/407/CEE du 14 juin 1988 fixant les conditions de police sanitaire applicables aux échanges intracommunautaires et aux importations de sperme surgelé d'animaux de l'espèce bovine.

Art. 15bis. <inséré par AR 1995-09-01/48, art. 5, 002; En vigueur : 09-11-1995> Les embryons destinés aux échanges intracommunautaires doivent avoir été conçus à la suite d'une insémination artificielle ou d'une fertilisation in vitro avec du sperme d'un donneur d'un centre de collecte de sperme agréé pour la collecte, le traitement et le stockage de spermes, ou, par du sperme importé conformément à la directive 88/407/CEE.

Art. 16. Le jour de la collecte d'embryons, les donneuses doivent ne présenter aucun signe clinique de maladie et résider dans une exploitation qui ne fasse pas l'objet de mesures d'interdiction.

Art. 17. Toutefois, dans le cadre de programmes spécifiques de lutte contre les maladies des animaux, (l'Agence) peut accorder des dérogations aux obligations découlant des articles 14, 15, 16 du présent arrêté. Les embryons collectés en application de ces dérogations ne peuvent en aucun cas faire l'objet d'échanges nationaux et intracommunautaires. <AR 2006-01-16/46, art. 32, 1°, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

CHAPITRE VII. - Transport.

Art. 18. Les embryons faisant l'objet d'échanges doivent être transportés dans des conditions hygiéniques satisfaisantes, dans des paillettes, ampoules ou autres récipients scellés depuis les locaux de stockage agréés jusqu'à leur destination.

Art. 19. <AR 1995-09-01/48, art. 6, 002; En vigueur : 09-11-1995> Les récipients visés à l'article 18 ne peuvent contenir que des embryons appartenant à un même lot. Chaque récipient doit être accompagné du certificat sanitaire conforme à l'annexe VI du présent arrêté.

CHAPITRE VIII. - Identification.

Art. 20. § 1. Chaque récipient pour embryons ainsi que le récipient dans lequel ils sont stockés et transportés sont marqués de façon à permettre d'établir aisément la date de collecte des embryons, la race, l'identification du donneur et de la donneuse et le numéro d'agrément de l'équipe.

§ 2. Les récipients doivent être marqués de telle manière qu'il y ait correspondance avec le numéro figurant sur le certificat sanitaire visé à l'article 19.

CHAPITRE IX. - Interdiction.

Art. 21. Le stockage d'embryons par quiconque ne faisant pas partie d'une équipe est interdit.

CHAPITRE X. - Sanctions.

Art. 22. Sans préjudice du retrait de l'agrément visé à l'article 4, les infractions aux dispositions du présent arrêté sont recherchées, constatées et sanctionnées conformément aux chapitres V et VI de la loi du 24 mars 1987 relative à la santé des animaux.

CHAPITRE XI. - Dispositions finales.

Art. 23. Le présent arrêté entre en vigueur le premier jour du deuxième mois qui suit sa parution au Moniteur belge.

Art. 24. Notre Ministre des Affaires étrangères et Notre Secrétaire d'Etat à l'Agriculture sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté.

Annexes.

Art. N1. Annexe 1. <AR 1995-09-01/48, art. 7, 002; ED : 09-11-1995> Conditions d'agrément des équipes de collecte et de transfert d'embryons et des équipes de production d'embryons.

Pour pouvoir être agréée, chaque équipe doit satisfaire aux exigences suivantes :

a) la collecte, le traitement, le transfert et le stockage d'embryons doivent être effectués soit par un médecin-vétérinaire responsable, soit sous sa responsabilité, par un ou plusieurs vétérinaires ou techniciens compétents et formés aux méthodes et techniques d'hygiène;

b) elle doit avoir à sa disposition, afin d'examiner, de traiter et d'emballer les embryons, des installations permanentes et éventuellement mobiles de laboratoire se composant d'au moins une surface de travail, un microscope et un équipement cryogénique;

c) elle doit, disposer :

- d'un local où les embryons peuvent être manipulés, voisin mais physiquement séparé de la zone utilisée pour la manipulation des animaux donneurs pendant la collecte;
- d'un local ou d'une zone équipés pour le nettoyage et la stérilisation des instruments et du matériel utilisés pour la collecte ou la manipulation des embryons.

Elle doit avoir à sa disposition, lorsqu'il s'agit d'un laboratoire mobile, une partie spécialement équipée du véhicule se composant de deux sections séparées dont :

- l'une pour l'examen et la manipulation des embryons, qui doit être une section propre et;
- l'autre pour accueillir l'équipement et le matériel utilisés en contact avec les animaux donneurs;
- un laboratoire mobile doit toujours maintenir le contact avec un laboratoire en site permanent, afin d'assurer la stérilisation de ses équipements et de pouvoir s'y approvisionner en liquides et autres produits nécessaires pour la collecte et la manipulation des embryons;

d) lorsqu'une micromanipulation de l'embryon qui implique une pénétration de la zone pellucide doit être mise en oeuvre, cette opération doit se faire à l'aide d'un dispositif de flux laminaire. Ce dispositif doit être convenablement nettoyé et désinfecté entre chaque lot;

e) chaque équipe de collecte doit consigner ses activités de collecte d'embryons pendant les douze mois précédant et suivant le stockage et noter :

- la race, l'âge et l'identification des donneurs et des donneuses concernés;
- le lieu de collecte, de traitement et de stockage des embryons collectés par l'équipe;
- l'identification des embryons avec le détail de leur destination si celle-ci est connue;
- les modalités des techniques de micromanipulation qui impliquent la pénétration de la zone pellucide ou d'autres techniques telles que la fertilisation in vitro et/ou la culture in vitro qui ont été mises en oeuvre sur les embryons;
- dans le cas des embryons résultant d'une fertilisation in vitro, l'identification peut être effectuée par lot, mais elle doit être accompagnée de la date et du lieu de la récolte des ovaires et/ou des oocytes. Il doit être possible d'identifier le troupeau d'origine des animaux donneurs;

f) pour être agréée comme équipe de production et de traitement des embryons résultant d'une fertilisation in vitro, et/ou d'une culture in vitro, l'équipe de collecte d'embryons doit satisfaire aux exigences complémentaires suivantes :

- le personnel doit être formé aux techniques appropriées de contrôle des maladies et de laboratoire notamment aux procédures relatives au travail en milieu stérile;

- elle doit disposer d'un laboratoire en site permanent qui doit :

- i) avoir les installations et les équipements appropriés y compris des locaux séparés pour la récupération des oocytes dans les ovaires et des locaux ou des zones séparées pour traiter les oocytes et les embryons et pour stocker les embryons;

- ii) avoir des dispositifs de flux laminaire sous lesquels tous les oocytes. Le sperme et les embryons doivent être traités; toutefois, le sperme pourra être centrifugé hors du dispositif à flux laminaire à condition que les règles d'hygiène soient respectées;

- Lorsque des oocytes et d'autres tissus doivent être collectés dans un abattoir, l'équipe doit avoir à sa disposition un équipement approprié garantissant la collecte et le transport des ovaires et autres tissus jusqu'au laboratoire de traitement dans des conditions d'hygiène et de sécurité.

Art. N2. Annexe 2. (Abrogée) <AR 2006-01-16/46, art. 101, 002 ; En vigueur : 15-03-2006>

Art. N3. Annexe 3. Modalités du contrôle de qualité des équipes agréés.

I. Echantillons à traiter :

1. les liquides d'extraction par rinçage : les liquides utilisés lors de la collecte des embryons d'une même donneuse doivent être placés dans un récipient stérile;

2. les liquides de lavage : le milieu utilisé pour les (trois) derniers lavages des embryons d'une même donneuse doit être mélangé et conservé; <Err. 1992-06-19>

3. embryons dégénérés et ovules non fécondés : tous les embryons dégénérés et tous les oeufs non fécondés collectés d'une même donneuse doivent être rassemblés, lavés dix fois et conservés.

II. Conservation des échantillons :

4. tous les échantillons précités doivent être conservés dans l'azote liquide à - 196 °C.

III. Organisation du contrôle de qualité :

5. chaque équipe doit remettre au Laboratoire de diagnostic agréé une fois par an, à la demande de ce dernier, la liste des donneuses ayant fait l'objet d'une récolte d'embryons;

6. les échantillons prélevés à l'occasion de chaque collecte doivent être soigneusement identifiés : numéro de collecte, date de collecte, identification de la donneuse, numéro d'agrément de l'équipe;

7. le laboratoire de diagnostic agréé désigne au hasard sur cette liste les donneuses pour lesquelles les échantillons conservés feront l'objet d'examens virologiques et bactériologiques en vue de la détection des éventuelles contaminations.

IV. Modalités d'examens bactériologiques et virologiques pratiques sur les échantillons, interprétation des résultats :

8. Dès réception de la liste visée au point 5, un tirage au sort est effectué sur 10 % des collectes, avec un minimum de cinq collectes.

L'équipe agréée faisant l'objet du contrôle doit alors expédier au laboratoire agréé les échantillons relatifs aux collectes qui ont été tirées au sort.

9. Les échantillons expédiés en container d'azote liquide sont soumis aux examens suivants :

- une recherche bactériologique quantitative : par dénombrement, effectuée à partir des liquides de collecte et de lavage sur gélose columbia enrichie en extrait globulaire et sérum de veau (10 %).

L'incubation s'effectue en atmosphère normale pendant quatre jours. Les résultats des comptages sont exprimés en unités formant colonies (UFC/ml).

Les résultats sont interprétés comme suit :

moins de cinq UFC = 0;

entre cinq et cent UFC = +;

entre cent et mille UFC = ++;

entre mille et dix mille UFC = +++;

plus de dix mille UFC = ++++.

- une recherche bactériologique qualitative :

à partir des liquides de collecte et de lavage; sur gélose columbia enrichie de sang de mouton (10 %).

L'incubation est réalisée en atmosphère à 10 % de CO₂. Les boîtes sont observées toutes les vingt-quatre heures pendant quatre jours.

- une recherche qualitative des mycoplasmes, par ensemencement sur milieux spéciaux des liquides de collecte et de lavage.

- une recherche virologique de BHV1 et de BVDV, à partir des liquides de lavage et sur les embryons dégénérés et non fécondés.

10. L'interprétation des résultats s'effectue de la manière suivante :

- collecte favorable :

l'analyse du mélange des trois derniers liquides de lavage doit être stérile;

aucune recherche de virus ne peut être positive à partir des liquides de lavage et des embryons non fécondés et dégénérés;

la contamination des liquides de collecte est tolérée, elle ne doit toutefois pas être systématique.

Un résultat global favorable ne peut être obtenu que si toutes les collectes prises une à une ont conduit à une conclusion favorable.

V. Sanctions :

Dans le cas où les résultats des examens visés en IV conduisent à l'obtention d'un résultat défavorable, une deuxième série d'échantillons est demandée à l'équipe mise en cause, après tirage au sort de trois collectes supplémentaires.

(Si les seconds résultats confirment les premiers la procédure de suspension et de retrait de l'agrément est d'application.) <AR 2006-01-16/46, art. 36, 003 ; En vigueur : 15-03-2006>

Art. N4. Annexe 4. <AR 1995-09-01/48, art. 7, 002; ED : 09-11-1995> Conditions de traitement et de stockage des embryons.

Art. 1N3. I. Exigences générales :

1. La chambre où les embryons sont traités, c'est-à-dire lavés, examinés et le cas échéant congelés, doit être propre, désinfectée, elle ne peut contenir d'animaux (aucun animal de laboratoire).

(2. Tous les milieux de culture et les solutions doivent être rendus stériles suivant des méthodes reconnues, conformément aux recommandations du manuel de la " International Embryo Transfert Society" (IETS). Des antibiotiques peuvent être ajoutés aux milieux de culture conformément au manuel IETS.

Tous les conteneurs, les équipements et les ampoules utilisés au cours du processus de traitement des embryons doivent être stériles.) (Le texte français du Mon. B. étant erroné, on a traduit le texte néerlandais.)

3. Seuls les embryons provenant d'une même donneuse doivent être manipulés, traités et stockés ensemble, ils constituent une seule entité sur le plan sanitaire.

4. Dans le cas des embryons produits par fécondation in vitro à partir d'ovaires récoltés après l'abattage, seuls les embryons provenant du même lot de donneurs peuvent être stockés dans la même ampoule ou paillette.

Art. 2N3. II. Lavage des embryons :

5. Les embryons d'une même donneuse doivent être lavés par groupe de dix au maximum et le milieu de lavage doit être changé dix fois. La micro-pipette utilisée pour transférer les embryons doit être changée à chaque transfert dans un milieu frais. Chaque lavage doit correspondre à une dilution au 100e par rapport au précédent lavage.

6. Le lavage des embryons doit précéder la congélation, le cas échéant.

7. Le lavage des embryons obtenus par fertilisation et culture in vitro, doit être réalisé après achèvement du processus de culture.

Art. 3N3. III. Examen des embryons :

8. La zone pellucide de chaque embryon doit être examinée sur l'entière de sa surface à un grossissement de minimum 50 fois : elle doit être intacte et libre de matériel adhérent.

9. L'examen de la zone pellucide doit être réalisé après le lavage et avant la congélation.

10. L'examen des embryons obtenus par fertilisation et culture in vitro, doit être réalisé après achèvement du processus de culture.

11. Toute micromanipulation qui implique la pénétration de la membrane pellucide doit être mise en oeuvre conformément aux dispositions prévues sous III, 8, après le processus de lavage visé sous II, 5.

Art. 4N3. IV. Traitement à la trypsine :

12. Lorsque les autorités sanitaires du pays destinataire l'exigent, les embryons destinés aux échanges et à exportations vers les pays tiers seront traités à la trypsine selon la procédure suivante :

Les embryons sont transférés dans cinq bains successifs de tampon phosphate (PBS) sans Ca^{++} ni Mg^{++} mais qui contiennent des antibiotiques et 0,4 % d'albumine sérique bovine (BSA). Ensuite les embryons sont plongés dans deux bains de parties aliquotes de trypsine pH 7. 6-7. 8. pendant 60 à 90 secondes. La trypsine stérile (1:250) qui a une activité telle que 1 g hydrolyse 250 g de caséine à 25 C° pH 7,6 en dix minutes dans une solution salée équilibrée de HANK sans Ca^{++} ni Mg^{++} est utilisée à une concentration de 0,25 %.

Après le traitement à la trypsine les embryons sont transférés dans cinq bains successifs de PBS contenant des antibiotiques et 2 % de sérum. Il est important de replacer la BSA avec le sérum dans ces bains après la trypsinisation. Afin de s'assurer de l'inactivation de la trypsine.

Art. N5. Annexe 5. Modèle du registre de stockage des embryons. <Non reprise pour des raisons techniques. Voir MB 27/02/1992, p. 4143>

Art. N6. Annexe VI. <insérée par AR 1995-09-01/48, art. 8, En vigueur : 09-11-1995> <Non reprise pour motifs techniques. Voir M.B. 09-11-1995, p. 30994-5>