

第4.8章 家畜及马体内受精胚胎的采集和处理

第4.8.1条

控制目的

对国际流通的体内分离胚胎进行官方卫生监管，旨在确保控制可能与胚胎相关的特定病原微生物，以避免通过胚胎将这些病原微生物传播给易感动物或后代。

第4.8.2条

关于胚胎采集小组的规定

胚胎采集小组应由具有资质的技术人员组成，应至少有一名兽医参加。小组负责胚胎采集、处理加工和贮存，并应符合下列条件：

- 1) 小组应经过兽医主管部门批准认可。
- 2) 小组应由小组兽医监督指导。
- 3) 小组兽医负责小组的各项操作，包括供体动物的卫生状况判定、卫生处理、外科手术、消毒和卫生程序。
- 4) 小组成员应接受关于疫病控制原则和技术的充分培训，应按标准严格执行卫生措施，以防止感染。
- 5) 应为下述操作配备足够的设施和装备：
 - a) 胚胎采集；
 - b) 在固定场所或流动实验室进行胚胎加工和处理；
 - c) 胚胎贮存。

上述设备不必放置在同一地点。

- 6) 胚胎采集小组应将其各项工作记录在案，该记录在胚胎出口后至少保存两年，供兽医主管部门检查之用。
- 7) 胚胎采集小组应定期接受官方兽医检查，每年至少一次，确保胚胎采集、加工和贮存符合相关规程。

第4.8.3条

关于胚胎处理实验室的规定

胚胎采集小组可使用流动或固定实验室，在该实验室完成的主要操作包括从采集培养液中回收胚胎、对胚胎进行检查和各种必要处理，如洗涤和冷冻、贮存前的检查及准备工作。

固定实验室可以是胚胎采集和加工专用建筑的一部分，也可以是现有建筑的改建部分，也可设在供体动物所在养殖场内。无论实验室地点安排如何，均应将胚胎处理实验室与动物进行有效物理性隔离。在流动或固定实验室内的洁净加工区和污染区（动物处理区）之间也应设置有效隔离。

此外：

- 1) 实验室应由采集小组兽医直接监督，并接受官方兽医的定期检查。
- 2) 出口胚胎加工处理并完成安瓿、小瓶或吸管保存分装前，不应在该实验室同时处理卫生等级状况较差的胚胎。
- 3) 实验室应做好防啮齿类动物和防虫工作。
- 4) 实验室的建筑材料应便于有效清洁和消毒。应经常对实验室进行清洁和消毒，并在每次处理出口胚胎加工的前后按照程序进行清洁和消毒。

第4.8.4条

关于供体动物入场的规定

1. 供体母畜

- a) 兽医主管部门应掌握供体母畜的原产畜群情况，并拥有管辖权。
- b) 供体母畜不应来自因出现OIE名录疫病或病原体（参见本法典第1.3章）而处于兽医限制状态的畜群，除国际胚胎技术协会（IETS）一类目录所列疫病和病原体（参见本法典第4.8.14条）外。
- c) 采集胚胎时，应由采集小组兽医或对小组兽医负责的兽医对供体母畜进行临床检查，证实无疫病临床症状。

2. 精液供体

- a) 用于供体动物人工授精的精液应按照本法典第4.6章的规定进行生产和处理。
- b) 如为供体母畜提供人工授精精液的公畜发生死亡，或精液采集时供精公畜的某传染病感染情况不明，在胚胎采集后，可要求对供体母畜进行补充检测，以证实没有感染这些传染病。替代方案是检测同一天采集的留样精液。
- c) 如自然交配或使用新鲜精液，供体公畜应符合本法典第4.6章所列有关不同畜种的卫生条件要求。

第4.8.5条

风险管理

就疫病传播而言，体内胚胎移植是一种疫病传播风险很低的动物遗传物质转移方式。

无论动物种类如何，在胚胎转移过程中主要有三个阶段决定最终风险水平：

- 1) 第一阶段涉及胚胎感染潜在风险，适用于非国际胚胎技术协会目录一类疫病（参见本法典第4.8.14条），该风险取决于：
 - a) 出口国或地区的疫病状况。
 - b) 畜群和胚胎供体动物的卫生状况。
 - c) 进口国/地区兽医主管部门所关注特定病原体的致病特性。
- 2) 第二阶段涉及根据《国际胚胎技术协会手册》规定，使用国际公认的胚胎加工规程降低风险，加工规程如下：
 - a) 胚胎至少清洗10次，每次清洗应至少达到稀释100倍，每次清洗均使用新的移液管转移胚胎。
 - b) 只有来自同一供体的胚胎才能一起清洗，每次洗涤不能多于10个胚胎。
 - c) 如需灭活或消除某一特定病毒，如牛疱疹病毒1型、伪狂犬病病毒，应根据《国际胚胎技术协会手册》的规定，修改标准清洗流程，增加胰酶清洗处理环节。
 - d) 在50倍以上显微镜下观察胚胎整个表面的透明带，确保完整无损并没有黏附物。
 - e) 每批胚胎应附有胚胎采集小组兽医签发的证书，证明已完成各项加工处理程序。
- 3) 第三阶段涉及采取以下降低风险措施 [适用于非国际胚胎技术协会目录一类疫病（参见本法典第4.8.14条），但为进口国/地区兽医主管部门所关注的疫病]：
 - a) 根据已知疫病潜伏期对供体动物及其原产畜群进行采集后监测，在胚胎贮存期间（如低温保存），对出口国/地区供体动物卫生状况进行回顾性确定。
 - b) 对胚胎采集液（冲洗液）和不能存活的胚胎或如血样等其他样本进行检测，确定是否存在特定病原体。

第4.8.6条

关于胚胎采集和贮存的规定

1. 培养基

胚胎采集、加工、洗涤或贮存所用培养基和溶液中的任何动物性生物制品应不含致病微生物。应按《国际胚胎技术协会手册》批准的方法，对胚胎采集和贮存培养基和溶液进行灭菌消毒，无菌操作，以确保保持无菌状态。应根据《国际胚胎技术协会手册》的建议在采集、洗涤和贮存用培养基中添加抗生素。

2. 设备

- a) 胚胎采集、处理、洗涤、冷冻和贮存的理想设备是新设备，或至少在使用前按《国际胚胎技术协会手册》进行灭菌消毒。
- b) 不可使用其他国家转让的二手设备。

第4.8.7条

备选检测和处理

- 1) 进口国/地区可要求对样本进行检测，以确认不存在可能通过体内受精胚胎传播的病原体，或帮助评估胚胎采集小组的质量控制程度（《国际胚胎技术协会手册》相关规程符合情况）是否达到可接受水平。样本可以是：
 - a) 无活性胚胎和卵
出口某供体动物有活性、透明带完整的胚胎时，对该供体动物的非受精卵、退化或透明带受损的胚胎，应按《国际胚胎技术协会手册》的规定进行清洗并混合保存，以备进口国/地区要求检测时使用。应同时处理和贮存同一供体的无活性胚胎和卵。
 - b) 胚胎采集（冲洗）液
采集液应置于无菌密闭容器内。量大时应静置1小时，然后弃去上清液，取10~20毫升底层液体连同沉积物轻轻倒入无菌瓶中。如采用滤膜收集胚胎和卵，滤膜上的所有沉积物均应冲洗到回收液中。
 - c) 洗涤液
应根据《国际胚胎技术协会手册》的规定，混合胚胎和卵的最后4次洗涤液。
 - d) 样本
上述样本均应4℃保存，并在24小时内进行检测。如不能在24小时内检测，样本应-70℃或更低温度保存。
- 2) 用胰酶对活性胚胎进行额外洗涤时（本法典第4.8.5条第2c点），应按《国际胚胎技术协会手册》的规定方法进行。仅在可能存在病原体感染风险时，方可使用国际胚胎技术协会推荐的额外处理（如胰酶处理）。须注意，酶处理并非总是有益的，对胚胎活力，如马胚胎可能会产生副作用，酶可能会损伤胚囊，因此，不能作为常规消毒剂使用。

第4.8.8条

关于胚胎贮存与运输的规定

- 1) 应严格按照卫生标准，将出口胚胎保存在无菌密闭的安瓿、小瓶或吸管中，并存放在经出口国/

- 地区兽医主管部门批准的无污染风险的贮藏室内。
- 2) 仅同一供体胚胎可存放在同一安瓿、小瓶或吸管中。
 - 3) 应尽可能在严格的卫生条件下, 在经批准的贮藏点根据动物种类用新鲜液氮冷冻胚胎, 并贮存在灭菌的干净容器中。
 - 4) 安瓿、小瓶或吸管必须在冷冻时或出口到无低温冷冻条件地区之前密封, 并根据《国际胚胎技术协会手册》推荐的标准化体系明确标识。
 - 5) 应在从出口国/地区起运前, 在官方兽医的监督下进行液氮容器密封。
 - 6) 兽医证书手续完整后方可出口胚胎。

第4.8.9条

显微操作程序

若需对胚胎进行显微操作, 应在完成本法典第4.8.5条2)要求的相关处理后, 按照本法典第4.10章的规定进行。

第4.8.10条

关于猪胚胎的特别规定

胚胎来源产群应无猪水疱病和布鲁氏菌病的临床症状。

透明带完整的猪胚胎的有效低温冷冻保存技术还处于早期研究阶段。

第4.8.11条

关于马胚胎的特别规定

有关建议主要适用于长期生活于国内马群的马胚胎采集, 可能不适用于经常参加国际活动或赛事的马, 例如, 国际运输附有国际兽医证书的马匹时, 可根据两国兽医主管部门达成的双边协议, 免除相关限制。

第4.8.12条

关于骆驼科动物胚胎的特别规定

采用常规非手术技术在排卵后6.5~7天从子宫腔内冲洗采集到的南美骆驼科动物胚胎几乎均处

于孵化期囊胚阶段，而透明带已消失。鉴于排卵后6.5~7天之前胚胎尚未进入子宫而无法回收，所以，要求只有透明带完整的骆驼胚胎才能进行国际贸易显然与现实不符。骆驼胚胎冷冻保存方法的研究还处于早期阶段，尚未开展关于病原体对骆驼胚胎影响的研究。

第4.8.13条

关于鹿类胚胎的特别规定

有关建议适用于长期驯养鹿群或农场化饲养鹿群的胚胎采集，可能不适用于野生鹿胚胎采集或生活在生物多样性或遗传资源保护项目条件下的鹿群胚胎采集。

第4.8.14条

关于体内获得胚胎疫病传播风险的建议

根据国际胚胎技术协会的结论，将以下疫病和病原体划分为四个类别，该分类仅适用于体内分离胚胎。

1. 一类

- a) 一类疫病或病原体是指在按照《国际胚胎技术协会手册》规定正确操作胚胎采集和运输的前提下，有足够证据证明其传播风险可忽略不计。
- b) 一类疫病或病原体如下：
 - 蓝舌病（牛）
 - 牛海绵状脑病（牛）
 - 流产布鲁氏菌病（牛）
 - 地方流行性牛白血病
 - 口蹄疫（牛）
 - 伪狂犬病病毒感染（猪）：胚胎需经胰酶处理
 - 牛传染性鼻气管炎/传染性脓疱阴户阴道炎：胚胎需经胰酶处理
 - 痒病（绵羊）

2. 二类

- a) 二类疫病指在按照《国际胚胎技术协会手册》规定正确操作胚胎采集和运输的前提下，有大量证据表明其传播风险可忽略不计，但需进行补充评估来验证现有数据。
- b) 二类疫病如下：

- 蓝舌病（绵羊）
- 山羊关节炎/脑炎
- 古典猪瘟病毒感染

3. 三类

- a) 三类疫病或病原体是指在按照《国际胚胎技术协会手册》正确操作胚胎采集和运输的前提下，有初步证据表明其传播风险可忽略不计，但需其他体内和体外补充实验数据证实初步结论。
- b) 三类疫病或病原体如下：
- 非典型痒病（非OIE名录疫病）
 - 牛免疫缺陷性病毒（非OIE名录疫病）
 - 牛海绵状脑病（山羊，非山羊OIE名录疫病）
 - 牛病毒性腹泻病毒（牛）
 - 胎儿弯曲杆菌（绵羊，非绵羊OIE名录疫病）
 - 口蹄疫（猪、绵羊和山羊）
 - 睡眠嗜血杆菌（牛，非OIE名录疫病）
 - 牛瘟病毒感染（牛）
 - 梅迪-维斯纳病（绵羊）
 - 副结核分枝杆菌（牛）
 - 犬新孢子虫（牛，非OIE名录疫病）
 - 绵羊肺腺瘤病（非OIE名录疫病）
 - 猪圆环病毒（2型）（猪，非OIE名录疫病）
 - 猪繁殖与呼吸综合征
 - 猪水疱病（非OIE名录疫病）

4. 四类

- a) 四类疫病或病原体是已进行或正在进行研究，结果表明：
- i) 尚未就传播风险程度得出结论；或
 - ii) 通过胚胎传播的风险可能不可忽略，即使已按照《国际胚胎技术协会手册》正确操作胚胎采集和运输。
- b) 四类疫病或病原体如下：
- 非洲猪瘟
 - 赤羽病（牛，非OIE名录疫病）
 - 牛无浆体病
 - 蓝舌病（山羊）

- 边界病（绵羊，非OIE名录疫病）
- 牛疱疹病毒4型（非OIE名录疫病）
- 鸚鵡热亲衣原体（牛，绵羊）
- 马传染性子宫炎
- 肠病毒（牛，猪，非OIE名录疫病）
- 大肠杆菌O9: K99（牛，非OIE名录疫病）
- 马疱疹病毒1型感染（马鼻肺炎）
- 马病毒性动脉炎感染
- 博氏钩端螺旋体（牛，非OIE名录疫病）
- 钩端螺旋体属（猪，非OIE名录疫病）
- 牛结节性皮肤病
- 牛分枝杆菌（牛）
- 支原体属（猪）
- 绵羊附睾炎（绵羊布鲁氏菌）
- 副流感病毒3型（牛，非OIE名录疫病）
- 细小病毒（猪，非OIE名录疫病）
- Q热（伯内特考克斯体）
- 痒病（山羊）
- 胎儿三毛滴虫（牛）
- 脲原体属和支原体属（牛、山羊，非OIE名录疫病）
- 水疱性口炎（牛，猪，非OIE名录疫病）

注：于1986年首次通过，于2015年最新修订。