

## Ochrona materiału genetycznego zwierząt metodami *ex situ* – aspekty prawne

### Cz. I. Regulacje prawne, zasady funkcjonowania centrów pozyskiwania i przechowywania materiału biologicznego

Jarosław Wieczorek, Jacek Sikora, Oksana Pulkowska, Barbara Szczęśniak-Fabiańczyk

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy,  
Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa*

Wdobie dużej presji ekonomicznej na opłacalność chowu i hodowli zwierząt gospodarskich ochrona rodzimych ras, które nie mogą sprostać wysokim wymaganiom hodowlanym, jest działaniem służącym zachowaniu unikalnych genotypów. Niekonkurencyjność starych, mniej wydajnych ras wymusza tworzenie programów i projektów, które w swoim założeniu umożliwiają zachowanie bioróżnorodności. Ochrona ras zagrożonych wyginięciem jest więc bardzo ważnym działaniem, przyczyniającym się do zachowania unikalnych genotypów w hodowli (Martyniuk, 2010; Sikora, 2007). Ważnym zadaniem związanym z zachowaniem bioróżnorodności jest także gromadzenie i ochrona materiału biologicznego pochodzącego od wysoko wydajnych ras obecnie funkcjonujących w hodowli na terenie kraju oraz mieszańców, wytworzonych w konkretnych celach produkcyjnych. W związku z tym podjęto działania, których celem jest zmniejszenie skutków ograniczania bioróżnorodności i zasobów genetycznych zwierząt. Cel ten jest osiąganym poprzez wprowadzenie szeregu metod chroniących zwierzęta w normalnych systemach produkcyjnych (tzw. metody *in situ*). Do tego typu ochrony zaangażowano hodowców posiadających swoje gospodarstwa i zwierzęta na obszarach chronionych (np. Natura 2000). Realizowane są również różnego rodzaju formy subwencji dla hodowców w ramach odpowiednich projektów. Jedną z takich form jest przekazanie hodowcom realizującym programy rolnośrodowiskowe dotacji

do utrzymywanych zwierząt, reprezentujących rasy zagrożone wyginięciem. Właśnie taka forma ochrony hodowli zwierząt w gospodarstwach rolnych, oparta o system dotacji jest realizowana w naszym kraju poprzez udział w programie ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich (Litwińczuk, 2011; Martyniuk, 2010; Ochap, 2000).

Innym sposobem ochrony bioróżnorodności, który jest komplementarny do metod ochrony *in situ*, są działania związane z gromadzeniem materiału biologicznego w postaci nasienia, zarodków, komórek somatycznych lub DNA w specjalnie do tego celu zorganizowanych magazynach – bankach materiału biologicznego. Taki sposób ochrony zasobów genetycznych określany jest jako metoda *ex situ*. Zakłada ona przechowywanie w ciekłym azocie zamrożonego materiału genetycznego w postaci nasienia, zarodków i oocytów, jak również głęboko zamrożonego wyizolowanego DNA oraz komórek somatycznych (ERFP, 2003; FAO, 2010). Z pomocą w realizacji tych metod ochrony przychodzi dynamicznie rozwijające się biotechnologie, a zwłaszcza techniki i metody przygotowywania nasienia do mrożenia oraz doskonalenia rozcieńczalników. Bardzo ważnym aspektem rozwoju tych metod są stale doskonalone techniki pobierania i odpowiedniego mrożenia zarodków. Pozwalają one na magazynowanie coraz większej ilości wyizolowanego materiału genetycznego od interesujących nas gatunków i ras (Boettcher i in.,

2005; ERF, 2003; OECD, 2007).

Działalność w tym zakresie jest regulowana przepisami prawnymi i nadzorowana urzędowo przez Inspekcję Weterynaryjną. Przepisy prawne określają szczegółowe wymagania sanitarno-weterynaryjne oraz zasady pozyskiwania, konserwacji, obróbki, przechowywania materiału biologicznego w postaci nasienia, zarodków i oocytów zwierząt gospodarskich: bydła, świń, koniowatych, owiec i kóz.

### 1. Regulacje prawne

Zasady działania i organizacji, a także wymogi dotyczące wyposażenia centrów pozyskiwania i przechowywania materiału genetycznego są określone przez przepisy krajowe w postaci ustaw i rozporządzeń (tab. 1) lub dyrektywy międzynarodowe oparte na zaleceniach podanych przez OIE (International Animal Health Code). W przepisach krajowych najważniejsza jest Ustawa z 11.03.2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. Na jej podstawie Minister Rolnictwa i Rozwoju Wsi wydał przepisy wykonawcze w formie rozporządzeń, dotyczące wymagań weterynaryjnych, związanych z wytwarzaniem, pozyskiwaniem, konserwacją, obróbką, przechowywaniem nasienia, oocytów i zarodków, pochodzących od: bydła, świń, koniowatych, owiec i kóz. Przepisy

regulują prowadzenie obrotu lub wykorzystywanie oraz przywóz z krajów UE i krajów nie stowarzyszonych z UE ww. materiału. Dodatkowo, hodowlę i zachowanie zasobów genetycznych zwierząt regulują Ustawa z 29.06.2007 r. (Dz. U., 2007, Nr 133, poz. 921) o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich oraz wydane do niej rozporządzenia.

Na podstawie Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 6.06.2008 r. w sprawie podmiotu upoważnionego do realizacji lub koordynacji działań w zakresie ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich (Dz. U., 2008, Nr 108, poz. 691) do realizacji lub koordynacji ww. działań oraz gromadzenia i przechowywania materiału biologicznego upoważniony jest Instytut Zootechniki PIB w Krakowie.

Ochrona zasobów genetycznych *ex situ* jest często prowadzona przez ośrodki badawcze i odbywa się w ramach realizacji projektów i zadań naukowych. Należy uwzględnić zatem zachowanie dobrostanu zwierząt – dawców i biorców materiału genetycznego w badaniach naukowych. Kwestie te reguluje Ustawa z 15.01.2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych (Dz. U., 2015, poz. 266), w której są określone zasady i warunki wykorzystania zwierząt, w tym gospodarskich w badaniach naukowych.

Tabela 1. Zestawienie aktów prawnych dotyczących pozyskiwania i przechowywania materiału biologicznego zwierząt

Table 1. List of legal acts on the collection and storage of animal biological material

Lp.	Akt prawny	Tytuł	Publikacja
1.	Ustawa z 11.03.2004	o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt	Dz. U., Nr 69, poz. 625 z 20.04.2004
2.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 30.04.2004	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła	Dz. U., Nr 108, poz. 1152 z 11.05.2004
3.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 10.03.2011	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia owiec, kóz i koniowatych oraz komórek jajowych i zarodków owiec, kóz, koniowatych i świń	Dz. U., Nr 63, poz. 330 z 24.03.2011

4.	Obwieszczenie Ministra RiRW z 30.05.2016	w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia owiec, kóz i koniowatych oraz komórek jajowych oraz zarodków owiec, kóz i koniowatych	Dz. U., 2016, Nr 0, poz. 844
5.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 5.04.2013	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia świń	Dz. U., poz. 1016 z 4.09.2013
6.	Rozporządzenie Ministra RiRW z dn. 20 maja 2009 r.	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła	Dz. U., Nr 87, poz. 726 z 9.06.2009
7.	Obwieszczenie Ministra RiRW z 11.09.2013	w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła	Dz. U., 2014, poz. 69
8.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 28.12.2004	zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła	Dz. U., Nr 4, poz. 25 z 10.01.2005
9.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 13.09.2004	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla chowu lub hodowli zwierząt dzikich utrzymywanych przez człowieka, jak zwierzęta gospodarskie	Dz. U., Nr 215, poz. 2188, z 1.10.2004
10.	Ustawa z 29.06.2007	o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich	Dz. U., Nr 133, poz. 921 z 24.07.2007
11.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 6.06.2008	w sprawie podmiotu upoważnionego do realizacji lub koordynacji działań w zakresie ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich	Dz. U., Nr 108, poz. 691 z 24.06.2008
12.	Rozporządzenie Ministra RiRW z 26.11.2009	w sprawie materiału biologicznego wykorzystywanego w rozrodzie zwierząt gospodarskich	Dz. U., Nr 209, poz. 1610 z 10.12.2009
13.	Dz. U. 91.27.112 Konwencja Międzynarodowa	o międzynarodowym handlu dzikimi zwierzętami i roślinami gatunków zagrożonych wyginięciem sporządzona w Waszyngtonie 3.03.1973	Dz. U., 1991, Nr 27, poz. 112
14.	Ustawa z 15.01.2015	o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych	Dz. U., 2015, poz. 266

Należy pamiętać, że obowiązujące przepisy odnoszą się wyłącznie do materiału genetycznego w ujęciu komercyjnym i nie dotyczą badań naukowych. Wymogi te nie dotyczą produkcji, przetwarzania i przechowywania materiału genetycznego w warunkach doświadczalnych i laboratoryjnych, który nie będzie wykorzystany i wprowadzony do hodowli. Materiał genetyczny

przeznaczony do wykorzystania w hodowli, ale wytworzony w trakcie badań naukowych posiada, w rozumieniu prawnym, status wolnego od chorób zakaźnych, co oznacza, że musi przejść przez centrum pozyskiwania i przechowywania. W obowiązujących przepisach brakuje regulacji prawnych dotyczących materiału genetycznego innego niż nasienie, komórki jajowe i zarodki.

W odniesieniu do komórek somatycznych, stanowiących przecież materiał genetyczny, nie ma obecnie prawnych wytycznych dotyczących ich wytwarzania, obróbki, przechowywania i wykorzystania. Jedynym odniesieniem prawnym, dotyczącym komórek somatycznych, jest zapis dotyczący bydła (umieszczony w załączniku nr 2 rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Dz. U., 04.108.1152). Zapis ten nie określa jednak komórek somatycznych jako materiał genetyczny.

Bardzo istotnym ograniczeniem jest brak jakichkolwiek regulacji prawnych dotyczących materiału genetycznego gatunków zwierząt żyjących dziko. W związku tym istnieje możliwość pozyskiwania, przechowywania i wykorzystania materiału wyłącznie poza uznanymi centrami. Ograniczenie to jest o tyle istotne, że w przypadku konieczności transportu wewnątrz i między krajami UE niezbędna jest zgoda władz weterynaryjnych, która nie będzie udzielona bez zapewnienia odpowiedniego i udokumentowanego statusu sanitarnego materiału. Obecnie znaczącym problemem jest brak regulacji prawnych, analogicznych do obowiązujących w przypadku zwierząt hodowlanych, dotyczących pozyskiwania, przechowywania i wykorzystania materiału genetycznego pochodzącego od dzikich gatunków zwierząt objętych programami ochrony. Niezbędne jest również opracowanie wytycznych dotyczących składowania przychodzących i odbieranych próbek materiału o niskim statusie zdrowotnym oraz ich wykorzystania przez zespoły naukowe (ERFP, 2003; Morrow i in., 2009; Strucka, 2012).

## **2. Wymagania sanitarne i zasady działania centrum pozyskiwania nasienia, centrum przechowywania nasienia, laboratorium materiału genetycznego**

Pozyskiwanie i obróbka odbywa się w centrach pozyskiwania, a przechowywanie konserwowanego materiału w centrach przechowywania materiału genetycznego, które spełniają wymogi sanitarne i są zarejestrowane przez Inspekcję Weterynaryjną. Przepisy prawne, które obowiązują od dnia wejścia Polski do UE (1.05.2004), ograniczyły zakres działania centrów do pozyskiwania i przetwarzania materiału tylko jednego gatunku zwierząt hodowlanych. Wyjątkiem są owce i kozy, których materiał ge-

netyczny może być pobierany w jednym centrum. W myśl obowiązujących przepisów nasienie i zarodki powinny być pozyskiwane i przechowywane w osobnych centrach oraz podlegać obróbce w osobnych laboratoriach. Odstępstwo od tej zasady może mieć miejsce w przypadku obróbki nasienia nie pozyskanego w centrum pozyskiwania, pod warunkiem, że nie będzie ono miało kontaktu z nasieniem przeznaczonym do handlu ani nie będzie sprzedawane. Obróbka takiego materiału musi być prowadzona przy użyciu innego sprzętu niż użyty do obróbki nasienia będącego przedmiotem handlu.

## **3. Centrum pozyskiwania materiału genetycznego**

Centrum pozyskiwania powinno składać się z pomieszczeń: dla zwierząt, do pobierania nasienia, laboratorium do obróbki nasienia, przestrzeni do przechowywania nasienia oraz administracyjnych. W ośrodku powinna funkcjonować stacja kwarantanny dla zwierząt i izolatka dla osobników chorych, zlokalizowane w osobnym miejscu. Dla poszczególnych części centrum konieczne jest określenie stopnia obostrzenia sanitarnego (Thibier, 2005). Generalnie przyjmuje się dwa lub trzy stopnie zagrożenia. Pierwszy, będący strefą otwartą obejmuje pomieszczenia administracyjne z wolnym dostępem dla osób z zewnątrz. Drugi, będący już wyłącznie strefą ściśle zamkniętą dla osób nieuprawnionych, obejmuje pozostałe części centrum. W tej części można dodatkowo wyodrębnić strefę o obniżonym statusie epizootycznym, obejmującą osobne pomieszczenia dla zwierząt: hodowlane, kwarantannę i izolatkę oraz magazyny paszy, inne pomieszczenia związane z utrzymaniem zwierząt, a także pobieralnię materiału, pomieszczenia dla personelu i obsługi, włącznie z osobnymi szatniami oraz węzłem sanitarnym. Powinno zwracać się szczególną uwagę na kontakt personelu ze zwierzętami z zewnątrz ze względu na możliwość przenoszenia chorób zakaźnych. Stąd, bardzo istotne jest sprawne funkcjonowanie służby sanitarnej i przestrzeganie obostrzeń higienicznych przez pracowników, a także pozostałe osoby wchodzące na teren centrum. Niezbędne jest ograniczenie ruchu pojazdów z zewnątrz. Najlepsze wydaje się rozmieszczenie budynków w taki sposób, aby załadunek i wyładunek zwierząt, paszy czy wywóz odchodów mógł odbywać się na zewnątrz centrum. Po-

mieszkania kwarantanny i izolatki zwierząt powinny znajdować się w bezpiecznej odległości od pomieszczeń hodowlanych oraz posiadać własne magazyny paszy i odchodów. W tej części centrum należy także wydzielić pobieralnię materiału. Pomieszczenie wymaga zachowania wzmożonych rygorów sanitarnych, a budowa i kubatura powinny zapewnić komfort pobierania materiału oraz bezpieczeństwo dla ludzi i zwierząt. Bezwzględnie wymagane jest utrzymanie czystości przed, w trakcie i po pobraniu materiału. Służę, jako miejsce odbioru pobranego materiału oraz wymiany sprzętu do pobierania i połączenie pobieralni z laboratorium powinien charakteryzować najwyższy stopień ochrony sanitarnej. Zaleca się zatem zastosowanie służy podwójnej oraz podwójne, poprawne oznakowanie pobranego materiału (Graffer i in., 1988; Thibier, 2005).

Najwyższy poziom zabezpieczenia sanitarnego obejmuje laboratoria do przetwarzania, obróbki i konserwacji oraz pomieszczenia kwarantanny, magazynowania, pakowania i wysyłania materiału, a także pomieszczenia do mycia i dezynfekcji sprzętu. Na tę część powinny składać się osobne pomieszczenia socjalne dla pracowników z szatnią i węzłem sanitarnym. Bezpieczeństwo sanitarne wiąże się również z ograniczeniem wizyt osób z zewnątrz do bezwzględnego minimum, z koniecznością ich ewidencji i zapewnienia odpowiedniej jednorazowej odzieży ochronnej. Laboratorium powinno być wyposażone w sprzęt jednorazowy. Dobra praktyka obejmuje kwarantannę pozyskanego materiału, w trakcie której uzyska on status bezpieczeństwa epizootycznego. Pomieszczenia wysyłkowe powinny posiadać odpowiednią służę zabezpieczającą przed środowiskiem zewnętrznym. Bezwzględnie powinna być przestrzegana zasada dotycząca przemieszczania materiału genetycznego, która wyklucza krzyżowanie dróg lub powrót materiału, przechodzącego z pobieralni przez laboratorium i kolejno przez poszczególne pomieszczenia, aż do wysyłki (Boettcher i in., 2005; FAO, 2010; [www.brg.prd.fr](http://www.brg.prd.fr)).

### 3.1. Wymagania sanitarne dotyczące pobierania materiału genetycznego

Materiał genetyczny powinien być pobierany, poddawany obróbce i przechowywany

w pomieszczeniach łatwych do czyszczenia i odkażania, bez możliwości kontaktu z materiałem nie spełniającym wymagań sanitarnych oraz bez ryzyka przenoszenia chorób zakaźnych i zakażenia wtórnego. Do obróbki i konserwacji zarodków powinno się stosować preparaty i rozrzedzalniki z dodatkiem stabilizatorów flory bakteryjnej, np. antybiotyków. Pobrane oocyty i zarodki powinny być oczyszczone za pomocą pożywek lub roztworów sterylizowanych przy zastosowaniu zatwierdzonych metod, zgodnie z wymaganiami Międzynarodowego Stowarzyszenia Transferu Embrionów (IETS) i Międzynarodowego Biura Epizootycznego (OIE) (ERFP, 2003; FAO, 2010). Oocyty i zarodki są przepłukiwane dziesięciokrotnie w pożywce do krótkotrwałej hodowli i konserwacji, która każdorazowo podlega wymianie, a pożywka użyta do każdego następnego płukania powinna stanowić stukrotne rozcieńczenie składników poprzedniej. W razie konieczności oocyty i zarodki poddaje się obróbce enzymatycznej za pomocą trypsyny, zgodnie z międzynarodowymi wymaganiami określonymi przez Międzynarodowe Biuro Epizootyczne (OIE) i Międzynarodowe Stowarzyszenie Transferu Embrionów (IETS). Zarodki pochodzące od tego samego zwierzęcia płucze się w tej samej pożywce i przechowuje w tym samym pojemniku. Po zakończeniu ostatniego płukania oocyty i zarodki bada się w celu ustalenia nienaruszalności i ciągłości osłonki przejrzystej oraz potwierdzenia usunięcia wszystkich, przywierających do niej ciał obcych. Czynności mające charakter mikromanipulacji powinny być wykonywane jedynie na komórkach mających nienaruszoną osłonkę przejrzystą. Płukanie i badanie wykonuje się po zakończeniu hodowli. Pobrane i ocenione oocyty i zarodki powinny być umieszczone w szczelnym, sterylnym, oznakowanym pojemniku w pomieszczeniu przeznaczonym na kwarantannę. Każdorazowo po pozyskaniu oocytów i zarodków sporządza się protokół z dokonanych czynności i manipulacji na ww. komórkach (FAO, 2010; Lonergan, 2007; [www.brg.prd.fr](http://www.brg.prd.fr)).

Niezbędne jest także prowadzenie stałej ewidencji zwierząt przebywających w centrum. Identyfikacja obejmuje: numer siedziby stada, rasę, datę urodzenia. Gromadzone są również informacje o stanie zdrowia zwierzęcia: wyni-

ki weterynaryjnych badań kontrolnych, historie chorób, wyniki wszystkich przeprowadzonych testów, przeprowadzone szczepienia. Odnotowywane są również przemieszczania zwierząt: przybycie i opuszczenie centrum. Materiał genetyczny powinien być identyfikowalny pod kątem: daty i miejsca pozyskania, przetworzenia oraz przechowywania, a w przypadku oocytów i zarodków ewidencja powinna uwzględniać dodatkowo szczegółowe dane na temat technik mikromanipulacyjnych, które obejmują penetrację osłonki przejrzystej oraz zapłodnienie lub hodowlę *in vitro* (Boettcher i in., 2005; Lonergan, 2007).

### 3.2. Zasady pobierania zarodków i funkcjonowania zespołów pobierających

Celem kontroli weterynaryjnej zarodków pozyskanych *in vivo* i *in vitro* jest wykluczenie kontaminacji zarodka specyficznymi organizmami patogennymi oraz zapobieganie przeniesieniu infekcji na inne zwierzęta (biorców i ich potomstwo). Zarodki mogą być produkowane *in vivo* i pobierane przez zespół pobierania zarodków lub przez zapłodnienie *in vitro* i pobierane przez zespół produkcji zarodków. Zespół taki musi posiadać pomieszczenia i wyposażenie do pobierania, obróbki i przetwarzania zarodków w stałym lub ruchomym laboratorium. W wypadku produkcji zarodków *in vitro* z wykorzystaniem materiału pobieranego w rzeźni niezbędne jest stałe i mobilne laboratorium, odpowiednie wyposażenie podręczne oraz możliwość transportu materiału biologicznego (jajników i innych tkanek). Wymaga się, by sprzęt oraz materiały pozostające w kontakcie z zarodkami były jednorazowe, czyste, zdezynfekowane i wysterylizowane przed użyciem. Identyfikacja każdej słomki/próbówki zawierającej zarodki (data pobrania, rasa, identyfikacja dawcy) musi być przeprowadzona zgodnie z międzynarodowymi wymogami ICAR i IETS (Boettcher i in., 2005).

### 3.3. Pozyskiwanie materiału poza centrum

Zgodnie z obowiązującymi wymogami sanitarno-weterynaryjnymi dopuszcza się pozyskiwanie i produkcję zarodków wszystkich zwierząt gospodarskich poza centrum. W drodze wyjątku możliwe jest pozyskiwanie nasienia od tryków i kozłów w gospodarstwach. W przypadku

ogierów, buhajów i knurów pobieranie nasienia jest możliwe wyłącznie w centrum pozyskiwania nasienia.

#### 3.3.1. Pozyskiwanie zarodków poza centrum

Zarodki są pozyskiwane przez zatwierdzony zespół pozyskiwania zarodków. Personel zespołu musi posiadać kwalifikacje związane z pozyskiwaniem zarodków i ich produkcją, a także być przeszkolony pod kątem stosowanych metod dezynfekcji i sterylizacji oraz zasad kontroli chorób zakaźnych. Zespół pracuje pod stałym nadzorem lekarza weterynarii. Pozyskiwanie zarodków jest prowadzone w stacjonarnym lub ruchomym laboratorium, w którym istnieje możliwość ich badania, przetwarzania i pakowania. Minimalne wyposażenie składa się z powierzchni roboczej, mikroskopu optycznego lub stereoskopowego oraz, w razie potrzeby, sprzętu kriogenicznego. Laboratorium mobilne musi posiadać specjalnie wyposażoną część pojazdu, składającą się z dwóch odrębnych sekcji: czystej i brudnej. W sekcji czystej zarodki podlegają badaniu i obróbce. W sekcji brudnej gromadzony jest sprzęt i materiały używane w kontakcie z dawcami oraz wykorzystane przy obróbce zarodków. Zalecane jest używanie wyłącznie sprzętu jednorazowego, chyba że można zapewnić sterylizację sprzętu w laboratorium stacjonarnym. Przechowalnia zarodków musi posiadać co najmniej jedno pomieszczenie nadające się do łatwego czyszczenia i dezynfekcji. W pomieszczeniach przechowalni zarodków, za zgodą Inspekcji Weterynaryjnej, można składować także nasienie. Nasienie takie musi być jednak wyprodukowane zgodnie z wymogami weterynaryjnymi dotyczącymi nasienia i trzymane w osobnych pojemnikach (Boettcher i in., 2005; FAO, 2010; OECD, 2007).

#### 3.3.2. Pozyskiwanie nasienia poza centrum

Obowiązujące regulacje uniemożliwiają pobieranie nasienia poza centrum pozyskiwania od innych gatunków zwierząt niż owce i kozy. Pozyskiwanie nasienia od tryków i kozłów może przebiegać w gospodarstwach, o ile zachowane są wymogi dotyczące zdrowotności zwierząt. Samce muszą być urodzone na terytorium UE lub przywiezione z państwa trzeciego zgodnie z wymogami obowiązującymi w tym zakresie. Zwierzęta

muszą być zidentyfikowane i zarejestrowane oraz nie mogą wykazywać żadnych klinicznych objawów choroby w dniu pobrania nasienia. W ciągu 30 dni przed pozyskaniem nasienia wykonuje się u nich badania w kierunku brucelozy (*B. melitensis*), brucelozy zakaźnej (*B. ovis*) i wirusa choroby granicznej. Jako dawców nasienia kwalifikuje się samce z wynikiem ujemnym ww. testów, niewykorzystywane do krycia naturalnego w okresie co najmniej 30 dni przed pozyskaniem nasienia i do momentu zakończenia pozyskiwania. Dawcami nasienia nie mogą być zwierzęta przeznaczone do uboju lub ubite w ramach krajowego programu eliminowania chorób zakaźnych. Dotyczy to szczególnie brucelozy, wąglika, wścieklizny, zakaźnej bezmleczności owiec i kóz, serowaciejącego zapalenia węzłów chłonnych, gruczolakowatości płuc owiec, choroby Maedi Visna, wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz, trzęsawki owiec, pryszczycy. Nasienie pobrane w gospodarstwie objętym zakazem przechowuje się oddzielnie. Materiał ten nie może być wprowadzony do obrotu do czasu przywrócenia statusu zdrowotnego gospodarstwa przez urzędowego lekarza weterynarii i zakończenia odpowiednich urzędowych badań przechowywanego nasienia na obecność patogenów (Graffer i in., 1988; Sikora, 2007; Swanson i in., 2007).

#### 4. Centrum przechowywania materiału genetycznego

W centrum przechowywania gromadzony jest materiał pobrany wyłącznie w zatwierdzonych ośrodkach pobierania. Wyjątek stanowi nasienie bydła, które zgromadzono i dopuszczono do obrotu przed 1.05.2004 r., tj. przed wejściem Polski do UE. W tym przypadku „dopuszcza się przechowywanie i umieszczanie na rynku, wyłącznie na terytorium Rzeczypospolitej Polskiej, nasienia pozyskanego przed dniem 1 maja 2004 r., jeżeli jest ono przechowywane w oddzielnym pomieszczeniu i będzie użyte wyłącznie do za-

biegów sztucznego unasienniania lub w celu kontynuacji programu hodowlanego określonego w przepisach” (Dz. U., Nr 87, poz. 726). Każde centrum przechowywania materiału genetycznego musi być zatwierdzone przez Inspekcję Weterynaryjną i posiadać numer rejestracyjny. W sytuacji, gdy w jednym budynku przechowywany jest materiał kilku gatunków zwierząt, numer nadawany jest dla każdego gatunku osobno. Centrum przechowywania podlega stałemu nadzorowi lekarza weterynarii. Podobnie jak w przypadku centrum pozyskiwania, zakłada się co najmniej dwie strefy sanitarne. Część otwarta obejmuje pomieszczenia biurowe i socjalne pracowników, natomiast w części zamkniętej jest gromadzony materiał genetyczny.

Pomieszczenia części zamkniętej muszą być łatwe do czyszczenia i dezynfekcji. Należy wykluczyć możliwość kontaktu zgromadzonego materiału ze środowiskiem, w tym ze zwierzętami przebywającymi na terenie centrum. Kontenery do przechowywania lub transportu materiału biologicznego powinny być oczyszczone, odkażone lub wysterylizowane przed każdym napełnieniem. Ciekły azot, stosowany jako środek chłodzący nie może być uprzednio używany do innych produktów pochodzenia zwierzęcego. W opakowaniach jednostkowych (ampułce, próbownice lub słonce) powinno się przechowywać materiał od tego samego dawcy. Każda pojedyncza dawka nasienia lub zarodków powinna być czytelnie oznakowana na indywidualnym opakowaniu. Oznakowanie powinno zawierać: datę pozyskania, rasę i cechy identyfikacyjne zwierzęcia, od którego pozyskano materiał.

Dokumenty dotyczące dostawy materiału powinny zawierać: status zdrowotny dawcy, weterynaryjny numer identyfikacyjny centrum pozyskiwania nasienia lub zespołu pozyskiwania zarodków oraz datę dostarczenia i wysyłki materiału z centrum pozyskania (Boettcher i in., 2005; OECD, 2007).

#### Literatura

- Boettcher P.J., Stella A., Pizzi F., Gandini G. (2005). The combined use of embryos and semen for cryogenic conservation of mammalian livestock genetic resources. *Genet. Sel. Evol.*, 37 (6): 657–675.
- ERFP (2003). Guidelines for the Constitution of National Cryopreservation Programmes for Farm Animals. Publication No. 1 of the European Regional Focal Point on Animal Genetic Resources. S.J. Hiemstra (ed.).
- FAO (2010). FAO Guidelines for Cryopreservation of Animal Genetic Resources (Draft). FAO, Rome, Italy.

- Graffer T., Solbu H., Filseth O. (1988). Semen production in artificial insemination bulls in Norway. *Theriogenology*, 30 (5): 1011–1021.
- Litwińczuk Z. (2011). Ochrona zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich i dziko żyjących. PWRiL, Warszawa.
- Lonergan P. (2007). State-of-the-art embryo technologies in cattle. *Soc. Reprod. Fertil., Suppl.*, 64: 315–325.
- Martyniuk E. (2010). Ochrona Zasobów Genetycznych Zwierząt Gospodarskich. Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Warszawa, 25 ss.
- Morrow C.J., Penfold L.M., Wolfe B.A. (2009). Artificial insemination in deer and non-domestic bovids. *Theriogenology*, 71 (1): 149–165.
- National Cryobank Bureau des Ressources Genetique ([www.brg.prd.fr/brg/pages/les\\_rg\\_en\\_france/rga\\_cryobanque\\_an.php](http://www.brg.prd.fr/brg/pages/les_rg_en_france/rga_cryobanque_an.php)).
- Obwieszczenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 11 września 2013 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła (Dz. U., 2014, poz. 69).
- Obwieszczenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 30 maja 2016 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia owiec, kóz i koniowatych oraz komórek jajowych i zarodków owiec, kóz, koniowatych (Dz. U., 2016, nr 0, poz. 844).
- Ochap E. (2000). Analiza możliwości zachowania jako rezerwy genetycznej utrzymywanych w gospodarstwach indywidualnych wschodniej Polski tzw. „Białogrzbietów”. Pr. mgr., Katedra Hodowli Bydła, AR Lublin.
- OECD (2007). OECD Best Practice Guidelines on Biosecurity for Biological Resource Centers, OECD.
- Programy Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt Gospodarskich. Dział Ochrony Zasobów Genetycznych Zwierząt Gospodarskich IZ PIB ([www.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl](http://www.bioroznorodnosc.izoo.krakow.pl)).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 30 kwietnia 2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła (Dz. U., Nr 108, poz. 1152).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 13 września 2004 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla chowu lub hodowli zwierząt dzikich utrzymywanych przez człowieka jak zwierzęta gospodarskie (Dz. U., Nr 215, poz. 2188, z dn. 1 października 2004 r.).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 28 grudnia 2004 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła (Dz. U., Nr 4, poz. 25).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 06.06.2008 r. w sprawie podmiotu upoważnionego do realizacji lub koordynacji działań w zakresie ochrony zasobów genetycznych zwierząt gospodarskich (Dz. U., Nr 108, poz. 691 z dn. 24 czerwca 2008 r.).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 20 maja 2009 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła (Dz. U., Nr 87, poz. 726).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 26 listopada 2009 r. w sprawie materiału biologicznego wykorzystywanego w rozrodzie zwierząt gospodarskich (Dz. U., Nr 209, poz. 1610 z dn. 10 grudnia 2009 r.).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 10 marca 2011 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia owiec, kóz i koniowatych oraz komórek jajowych i zarodków owiec, kóz, koniowatych i świń (Dz. U., Nr 63, poz. 330).
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dn. 05 kwietnia 2013 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia świń (Dz. U., poz. 1016 z dn. 04 września 2013 r.).
- Sikora J. (2007). Sympozjum: „Ochrona zasobów genetycznych owiec w Polsce w latach 2004–2013”. *Wiad. Zoot.*, XLV, 4: 3–5.
- Strucka E. (2012). Ochrona *ex situ* żubra *Bison bonasus* w Polsce ([www.projektexsitu.sggw.pl/wp-content/uploads/2012/02/zubr\\_ex\\_situ.pdf](http://www.projektexsitu.sggw.pl/wp-content/uploads/2012/02/zubr_ex_situ.pdf)).
- Swanson W.F., Magarey G.M., Herrick J.R. (2007). Sperm cryopreservation in endangered felids: developing linkage of *in situ-ex situ* populations. *Soc. Reprod. Fertil.*, 65: 417–432.
- Thibier M. (2005). The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: current methods and perspectives. *Reprod. Nutr. Dev.*, 45 (3): 235–242.
- Ustawa z dn. 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt (Dz. U., Nr 69, poz. 625 z dn. 20 kwietnia 2004 r.).
- Ustawa z dn. 29 czerwca 2007 r. o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich (Dz. U., Nr 133, poz. 921 z dn. 24 lipca 2007 r.).



**EX SITU CONSERVATION OF GENETIC MATERIAL FROM LIVESTOCK  
– LEGAL ASPECTS**

**PART I. LEGAL REGULATIONS, FUNCTIONING OF THE CENTRES  
FOR THE COLLECTION AND STORAGE OF BIOLOGICAL MATERIAL**

**Summary**

The operating procedures, organization and required equipment of the centres for the collection and storage of genetic material are determined by national provisions (laws and regulations) or international provisions (directives based on the recommendations of the International Animal Health Code). In accordance with applicable regulations, the production, processing, conservation and storage of genetic material may take place only in the collection centres and storage centres approved and inspected by the Veterinary Inspection. The semen and egg collection and storage centres must be operated separately for every species (cattle, pigs and horses) except the sheep and goats, for which the centres for the collection and storage of genetic material can be shared. The centres for processing the biological material (semen and embryos) should also operate separately for each species, unless a District Veterinary Officer approves joint operation.



Fot. A. Kawęcka