

## **Ochrona sanitarna materiału genetycznego przeznaczonego do długotrwałego przechowywania**

**Jarosław Wieczorek**

*Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy,  
Dział Biotechnologii Rozrodu Zwierząt, 32-083 Balice k. Krakowa*

**P**rodukcja, przechowywanie, obrót i wykorzystanie materiału genetycznego są powszechnie stosowaną metodą biotechnologii w hodowli zwierząt. Przykładowo, tylko u bydła co roku wykonuje się 100 milionów zabiegów inseminacji i 550 tysięcy zabiegów przenoszenia zarodków (Thibier, 2005). Wymaga to w produkcji dużej liczby dawek nasienia spełniających wysokie normy sanitarno-weterynaryjne. Przedmiotem ochrony sanitarnej jest materiał genetyczny w postaci nasienia, oocytów i zarodków w różnym stadium rozwoju, a obecnie także komórek somatycznych zwierząt gospodarskich i ginących gatunków zwierząt wolno żyjących, objętych programami zachowawczymi.

Celem ochrony sanitarnej materiału genetycznego jest zapewnienie bezpieczeństwa epizootycznego, ograniczenie do minimum ryzyka przenoszenia chorób, w tym chorób odzwierzęcych, zapewnienie odpowiedniej jakości i możliwości właściwego wykorzystania zebranego materiału.

Cele te realizowane są poprzez stały monitoring swoistych i nieswoistych czynników patogennych, zabezpieczenie sanitarne pomieszczeń i sprzętu, szczegółowe teoretyczne i manualne szkolenie personelu, wprowadzanie i egzekwowanie systemów kontroli jakości oraz ścisłą współpracę z ośrodkami zajmującymi się materiałem genetycznym i instytucjami kontrolującymi, głównie Inspekcją Weterynaryjną.

Ochrona sanitarna materiału genetycznego odbywa się w bardzo szerokim zakresie. Obejmuje wszystkie etapy postępowania z materiałem genetycznym: pozyskiwanie, przetwarzanie i obróbkę, konserwację, przechowywa-

nie, wprowadzanie do obrotu, transport oraz wykorzystanie zebranego materiału (Le Tallec i in., 2001).

### **System monitoringu swoistych i nieswoistych czynników patogennych**

Głównym sposobem zabezpieczenia materiału genetycznego jest stały monitoring obejmujący identyfikację czynników patogennych. Monitoring powinien pozwalać na eliminację możliwości przenoszenia chorób z pozyskiwanym materiałem, zaś przechowywany materiał powinien posiadać status „wolnego od chorób zakaźnych” (Thibier i in., 2000).

Głównym założeniem jest zabezpieczenie dawców przed specyficznymi i niespecyficznymi czynnikami chorobotwórczymi, bowiem ich stan zdrowotny bezpośrednio przekłada się na stan sanitarny pozyskiwanego materiału. Z założenia uznaje się, że materiał genetyczny posiada taki sam status sanitarny, jaki mają jego dawcy. W związku z tym pobieranie materiału od dawców uznanych za wolnych od chorób zakaźnych gwarantuje taki sam status pozyskanego materiału. Z punktu widzenia celowości, efektywności, organizacji i kosztów badań takie rozwiązanie jest jedynym możliwym do przyjęcia, zwłaszcza że część z przeprowadzanych badań dawców materiału jest z urzędu objęta programami zwalczania chorób zakaźnych zwierząt. Badanie każdej partii lub części pobranego materiału jest bowiem nierealne i niemożliwe do wykonania.

Ścisły system monitoringu wymaga szczegółowego i rygorystycznie przestrzegane go programu kontroli zdrowia zwierząt. Zakres

Tabela 1. Zakres monitoringu chorób zakaźnych zwierząt, dawców materiału genetycznego (na podstawie obowiązujących przepisów)  
 Table 1. Scope for monitoring infectious diseases of animals, donors of genetic material (based on current regulations)

Monitoring	Gatunek – Species		
	bydło – cattle	owce i kozy – sheep and goats	świnie – pigs
Status sanitarny stada pochodzenia Sanitary status of the herd of origin	urzędowo wolne od gruźlicy, brucellozy bydła i enzoocytecznej białaczki bydła <i>officially free of tuberculosis, bovine brucellosis and enzootic bovine leukosis</i>	nie stwierdzono objawów: brucellozy owiec ( <i>B. ovis</i> ), brucellozy kóz i owiec ( <i>B. melitensis</i> ), gruźlicy, pryszczycy, zakaźnej bezmleczności owiec ( <i>M. agalactiae</i> ), zakaźnej bezmleczności kóz ( <i>M. agalactiae</i> , <i>M. capricolum</i> , <i>M. mycoides</i> ), enzoocytecznego ronienia owiec ( <i>Chlamydia psittaci</i> ) oraz ronienia owiec na tle <i>salmonella</i> <i>officially free of brucellosis for abortus ovis</i> od 6 miesięcy, trzęsawki owiec, 12 months, no incidence of choroby Maedi/Visna, gruźlakowatości płuc Aujeszky'ego od 12 miesięcy przez minimum 2 lata, paratuberkulozy, months, no vaccinations against wirusowego zapalenia gruczołów chłonnych, foot and mouth disease for 12 gorączki Q, wirusowego zapalenia stawów i months dni, węglika od 15 dni <i>no symptoms found for: ovine brucellosis (B. ovis), caprine and ovine brucellosis (B. melitensis), tuberculosis, foot and mouth disease, contagious agalactia of sheep (M. agalactiae), contagious agalactia of goats (M. agalactiae, M. capricolum, M. mycoides), enzootic abortion in sheep (Chlamydia psittaci) and Salmonella abortus ovis-induced abortion in sheep from 6 months, scrapie, Maedi-visna, ovine pulmonary adenomatosis for at least 2 years, paratuberculosis, viral lymphadenitis, Q fever, viral caprine arthritis encephalitis from 12 months, rabies from 30 days, anthrax from 15 days</i>	świnie wolne od brucellozy (zarazy stadniczej, nosacizny, niedokrwiistości zakaźnej koni, pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej, wirusowego zapalenia mózgu i rdzenia koni od 6 miesięcy, każdego zapalenia macy klaczy od 60 dni, wirusowego zapalenia tętnic i wścieklizny od 30 dni, węglika od 15 dni <i>no incidence of: dourine, glanders, equine infectious anaemia, vesicular stomatitis, equine encephalomyelitis for 6 months, contagious equine metritis for 60 days, equine viral arteritis and rabies for 30 days, anthrax for 15 days</i>
Termin i zakres badania zwierząt przed wprowadzeniem do kwarantanny: Date and scope of animal tests before acceptance into quarantine:	w okresie 28 dni: – 28 days: gruźlica, brucelloza, enzoocyteczna białaczka bydła, zakaźne zapalenie nosa i tchawicy/otret bydła (IBR/IPV), choroba błon śluzowych i wirusowa biegunka bydła (BVD/MD) <i>tuberculosis, brucellosis, enzootic bovine leuko-sis, infectious bovine rhino-tracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV), bovine viral diarrhoea/mucosal disease (BVD/MD)</i>	nie określono – not determined	w okresie 21 dni: – 21 days: brucelloza, choroba Aujeszky'ego, klasyczny pomór <i>brucellosis, Aujeszky disease, classical swine fever</i>

	28 dni – 28 days	nie określono – not determined	30 dni - 30 days	nie określono not determined
Czas trwania kwarantanny i zakres wykonanych badań <i>Duration of quarantine and scope of tests:</i>	28 dni – 28 days brucelloza, zakaźne zapalenie nosa i tchawicy/otręt bydła (IBR/IPV), zaraza rżęsikowa ( <i>Trichomonas foetus</i> ), choroba mętwikowa ( <i>Campylobacter foetus ssp. veneralis</i> ), choroba i wirusowa biegunka bydła (BVD/MD) <i>brucellosis, infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV), trichomoniasis (Trichomonas foetus), genital campylobacteriosis (Campylobacter foetus ssp. veneralis), bovine viral diarrhoea/mucosal disease (BVD/MD)</i>	nie określono – not determined	30 dni - 30 days brucelloza, choroba Aujeszky'ego <i>brucellosis, Aujeszky disease</i>	nie określono not determined
Częstotliwość i zakres badań okresowych: <i>Frequency and scope of checks:</i>	raz w roku – once a year gruźlica, brucelloza, enzootyczna białaczka bydła, zakaźne zapalenie nosa i tchawicy/otręt bydła (IBR/IBV), choroba mętwikowa ( <i>Campylobacter foetus ssp. veneralis</i> ), zaraza rżęsikowa ( <i>Trichomonas foetus</i> ), choroba błon śluzowych lub jej odmiana w formie wirusowej biegunki bydła (BVD/MD) <i>tuberculosis, brucellosis, enzootic bovine leukosis, infectious bovine rhino-tracheitis/infectious pustular vulvovaginitis (IBR/IPV), genital campylobacteriosis (Campylobacter foetus ssp. veneralis), trichomoniasis (Trichomonas foetus), bovine viral diarrhoea/mucosal disease (BVD/MD)</i>	30 dni przed dniem pozyskania 30 days before acquisition	wszystkie raz w roku, w chwili opuszczenia centrum oraz 25% zwierząt co 3 miesiące <i>all animals once a year on leaving the centre and 25% of animals every 3 months</i>	raz w roku <i>once a year</i>
				niedokrwistość zakaźna na koni, wirusowe zapalenie tętnic koni, zakaźne zapalenie macicy klaczy, nosacizna, zaraza stadnicza <i>equine infectious anaemia, equine viral arteritis, contagious equine metritis, glanders, dourine</i>



Tabela 2. Wykaz chorób umieszczonych na liście A OIE z uwzględnieniem etiologii, drogi przenoszenia i źródła zakażenia (Z – zachorowanie, P – przenoszenie)  
 Table 2. Diseases notifiable to the OIE (List A) with regard to aetiology, transmission routes, and sources of infection (Z – disease, P – transmission)

Choroba Disease	Etiologia Aetiology	Drogi przenoszenia Transmission routes	Źródło zakażenia Sources of virus	Owce		
				Bydło Cattle	Kozy Sheep	Konie Horses
Pryszczycza Foot and mouth disease	wirus, rodzina <i>Picornaviridae</i> , rodzaj <i>Aphthovirus</i> virus, family <i>Picornaviridae</i> , genus <i>Aphthovirus</i>	kontakt bezpośredni i pośredni, czynniki ożywione (zwierzęta i ludzie), nieoży- wione, droga powietrzna do 60 km nad lądem i do 300 km nad morzem <i>direct or indirect contact, animate vec- tors (animals and humans), inanimate vectors, airborne up to 60 km overland and 300 km by sea</i>	zwierzęta chore i w okresie inkubacji, wydy- chane powietrze, ślina, kał, mocz, mleko, nasienie (na 4 dni przed wystąpieniem zmian klinicznych) <i>Z, P</i>	Z, P	Z, P	Z, P
Zakażenie pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej <i>Vesicular stomatitis</i>	wirus, rodzina <i>Rhabdoviridae</i> , rodzaj <i>Vesiculovirus</i> virus, family <i>Rhabdoviridae</i> , genus <i>Vesiculovirus</i>	zakażenie przez skórę, błony śluzowe, ślazonogi; moskity i komary <i>contamination by transcutaneous or transmucosal routes, arthropod trans- mission: mosquitoes and gnats</i>	ślina, płyn i nabłonek z otwartych pęcherzy, ziemia i rośliny <i>saliva, exudate or epithelium of open vesi- cles, soil and plants</i>	Z, P		P
Choroba pęcherzykowa świń <i>Swine vesicular disease</i> – <i>SVD</i>	wirus, rodzina <i>Picornaviridae</i> , rodzaj <i>Enterovirus</i> virus, family <i>Picornaviridae</i> , genus <i>Enterovirus</i>	ubytki lub rany skóry i błon śluzowych, kontakt z wydalninami chorych świń <i>lesions in skin and mucosa, contact with excretions from infected pigs</i>	przewód pokarmowy w początkowym okre- sie, wszystkie tkanki w okresie wirerii <i>intestinal tract is the primary site of infec- tion, all tissues during the viraemic period</i>			Z, P
Pomór bydła (ksiego- susz) <i>Rinderpest</i>	wirus, rodzina <i>Paramyxoviri- dae</i> , rodzaj <i>Morbillivirus</i> virus, family <i>Paramyxoviridae</i> , genus <i>Morbillivirus</i>	kontakt bezpośredni i pośredni <i>direct or indirect contact</i>	łyzy, wydzielina z nosa, ślina, mocz, kał 1–2 dni przed objawami klinicznymi, wszystkie tkanki przed wystąpieniem objawów <i>shedding of virus begins 1-2 days before pyrexia in tears, nasal secretions, saliva, urine and faeces, all tissues before the ap- pearance of clinical signs</i>	Z, P	Z, P	Z
Pomór małych przeżu- waczy <i>Peste des petits rumi- nans</i> – <i>PPR</i>	wirus, rodzina <i>Paramyxoviri- dae</i> , rodzaj <i>Morbillivirus</i> virus, family <i>Paramyxoviridae</i> , genus <i>Morbillivirus</i>	kontakt bezpośredni i pośredni <i>direct or indirect contact</i>	łyzy, wydzielina z nosa, ślina, mocz, kał <i>tears, nasal discharge, saliva, urine, faeces</i>	Z, P	Z, P	
Zaraza płucna bydła <i>Contagious bovine pleu- ropneumonia</i> – <i>CBPP</i>	<i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>mycoides</i> SC (bovine biotype)	droga kropelkowa, wykrztusina, ślina, mocz; do kilku kilometrów przy sprzyja- jących warunkach pogodowych <i>droplets emitted by coughing animals, saliva, and urine; transmission up to</i>	pluca, limfa, mózg, wątroba, nerki, węzły chłonne, macica, płody <i>lungs, lymph, brain, liver, kidneys, lymph nodes, uterus, foetus</i>			Z, P

		several kilometres under favourable climatic conditions	
Choroba guzowatej skóry bydła <i>Lumpy skin disease – LSD</i>	wirus, rodzina <i>Poxviridae</i> , rodzaj <i>Capripoxvirus</i> wirus, family <i>Poxviridae</i> , genus <i>Capripoxvirus</i>	ślina, stawonogi: moskity i muchy <i>saliva, arthropods: mosquitoes and flies</i>	skóra (przeżywa do 40 dni w ubytkach i strupach), ślina, wydzielina z nosa, mleko, nasienie, mięśnie, śledziona, węzły chłonne <i>skin (survives up to 40 days in lesions and scabs), saliva, nasal discharge, milk, semen, muscles, spleen, lymph nodes</i>
Gorączka doliny Rift <i>Rift Valley fever</i>	wirus, rodzina <i>Bunyaviridae</i> , rodzaj <i>Phlebovirus</i> genus <i>Phlebovirus</i>	moskity – <i>mosquitoes</i>	działki zwierzęta – <i>wild animals</i>
Choroba niebieskiego języka <i>Bluetongue</i>	wirus, rodzina <i>Reoviridae</i> , rodzaj <i>Orbivirus</i>	komary – <i>gnats</i>	komary, krew, nasienie <i>mosquitoes, blood, semen</i>
Ospa owiec i ospa kóz <i>Sheep pox and goat pox</i>	wirus, rodzina <i>Poxviridae</i> , rodzaj <i>Capripoxvirus</i> wirus, family <i>Poxviridae</i> , genus <i>Capripoxvirus</i>	kontakt bezpośredni: zwierzęta chore, kontakt pośredni: błony śluzowe, układ oddechowy, skóra, sprzęt hodowlany <i>direct contact, sick animals; indirect contact: mucous membranes, respiratory system, skin, implements</i>	skóra, ślina, wydzielina z nosa, kał <i>skin, saliva, nasal discharge, faeces</i>
Afrykański pomór koni <i>African horse sickness</i>	<i>viscerotropic virus</i> , rodzina <i>Reoviridae</i> , rodzaj <i>Orbivirus</i> <i>viscerotropic virus</i> , family <i>Reoviridae</i> , genus <i>Orbivirus</i>	kontakt bezpośredni: sporadycznie, kontakt pośredni: komary, Moskity, kleszcze <i>direct contact occasionally, indirect contact gnats, mosquitoes and ticks</i>	narządy wewnętrzne i krew, nasienie, mocza, kał, u koni wirus może się uiryzymować do 18 dni, u zebry i osłów do 28 dni <i>viscera and blood, semen, urine and faeces, viraemia in horses may extend for 18 days; in zebras and donkeys viraemia may last up to 28 days</i>
Afrykański pomór świń <i>African swine fever – ASF</i>	wirus nieklasyfikowany, (prawdopodobnie <i>Iridovirus</i> i <i>Poxvirus</i> ) wirus not classified (has characteristics of an <i>Iridovirus</i> and a <i>Poxvirus</i> )	kontakt bezpośredni: między chorymi, kontakt pośredni: karna, obrzeżek psasi <i>direct contact between sick and healthy animals, indirect contact feed, soft ticks of genus Ornithodoros</i>	Z
Klasyyczny pomór świń <i>Classical swine fever – CSR</i>	wirus, rodzina <i>Flaviviridae</i> , rodzaj <i>Pestivirus</i> wirus, family <i>Flaviviridae</i> , genus <i>Pestivirus</i>	kontakt bezpośredni: między chorymi, kontakt pośredni: ludzie, zwierzęta, środki transportu, sprzęt hodowlany – <i>direct contact between animals, indirect contact: humans, animals, vehicles, implements</i>	krew, tkanki, wydaliny, wydzieliny chorych i padłych zwierząt, obrzeżek psasi <i>blood, tissues, secretions and excretions of sick and dead animals, soft ticks of genus Ornithodoros</i>

i czas badań wykonywanych dla poszczególnych gatunków ujętych w obowiązujących przepisach przedstawiono w tabeli 1. Obejmuje on trzy etapy: badanie zwierząt przed kwarantanną (w stadzie, z którego pochodzą), w trakcie kwarantanny i badania okresowe w stacji pozyskiwania materiału. Zwierzęta muszą pochodzić z miejsc, w których nie obowiązują ograniczenia wydane na podstawie przepisów o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt. Zwierzęta hodowlane, z wyjątkiem owiec i kóz, nie mogą być używane do krycia naturalnego.

Monitoring obejmuje obowiązkowe badania kliniczne zwierząt przed kwarantanną, po okresie kwarantanny i każdorazowo przed pozyskaniem materiału oraz badania laboratoryjne w kierunku głównych chorób zakaźnych obejmujących choroby zakaźne wymienione na listach A i B OIE. W przypadku owiec i kóz obowiązujące przepisy nie określają terminu i zakresu badań przed wprowadzeniem zwierząt do kwarantanny, dodatkowo w przypadku owiec, kóz i koni nie określają czasu trwania kwarantanny i zakresu badań w trakcie kwarantanny. Do systemu kontroli należy także prowadzenie ewidencji obejmującej wszystkich dawców materiału z uwzględnieniem m.in.: gatunku, rasy, daty urodzenia, cech identyfikacyjnych, informacji o stanie zdrowia, wyników badań kontrolnych, prowadzonej profilaktyki, historii chorób i przemieszczania zwierząt.

Elementem kontroli sanitarnej jest także badanie pozyskanego materiału genetycznego. Istnieje bowiem realna możliwość bezpośredniego lub pośredniego przenoszenia tą drogą czynników chorobotwórczych. W większym stopniu dotyczy to czynników niespecyficznych, co do których nie ma możliwości prowadzenia stałego monitoringu, a które dostają się do materiału najczęściej wtórnie w trakcie pozyskiwania, obróbki, konserwacji i wykorzystania. W uzasadnionych przypadkach niezbędna jest także identyfikacja czynników saprofitycznych, które, choć potencjalnie niechorobotwórcze, w wysokiej koncentracji mogą wpływać na jakość materiału genetycznego i ograniczać możliwość jego wykorzystania. W tym przypadku najważniejszym sposobem

identyfikacji są badania laboratoryjne, z określeniem jakościowym i ilościowym flory oraz wykonaniem testu lekooporności.

### **Biologiczne zanieczyszczenie materiału genetycznego**

#### **Czynniki specyficzne – główne choroby z listy A i B (OIE List A i B)**

Według Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) niektóre z czynników specyficznych dostają się do materiału genetycznego na skutek wirerii lub bakteriemii, inne w momencie wystąpienia miejscowych infekcji układu płciowego. Wynikiem infekcji jest często proces nawrotowy, z okresową wysoką koncentracją patogenów w nasieniu, następnie niską koncentracją lub brakiem czynników chorobotwórczych (Thibier, 2000).

W tabeli 2 przedstawiono 15 głównych chorób umieszczonych przez OIE na Liście A. Wszystkie są chorobami wirusowymi, z wyjątkiem pleuropneumonii bydła, która jest powodowana przez *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides* SC. W związku z wirusową etiologią chorób z listy A należy spodziewać się ich w materiale genetycznym w trakcie fazy wirerii. Wydaje się, że tak jest we wszystkich przypadkach z wyjątkiem zakaźnego pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej i gorączki doliny Rift (Hare i in., 1985; Philpott, 1993; Thibier i in., 2000).

Na listę B OIE wpisano około 80 chorób zakaźnych, wywołanych przez wirusy, bakterie, mykoplazmy i pierwotniaki. Najgroźniejsze z nich są objęte rządowymi programami zwalczania chorób zakaźnych.

W przypadku stwierdzenia lub uzasadnionego podejrzenia obecności czynników patogennych wywołujących choroby z listy A i B OIE może zajść konieczność zniszczenia przechowywanych materiałów.

#### **Czynniki niespecyficzne**

Do niespecyficznych czynników patologicznych zalicza się gatunki bakterii saprofitycznych i oportunistycznych, z których szereg ma charakter warunkowo chorobotwórczy (tab. 3).





Tabela 3. Najczęściej stwierdzane gatunki bakterii w nasieniu zwierząt gospodarskich  
 Table 3. Most common bacteria species found in the semen of farm animals

Gatunek – Species		
konie – horses (Vanner i in., 1998)	bydło – cattle (Kendrick i in., 1975)	świnie – pigs (Althouse i in., 2000)
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus spp.</i>
<i>Streptococci spp.</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Salmonella maltophilis</i>
<i>Klebsiela pneumoniae</i>	<i>Enterobacter spp.</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Micrococcus spp.</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Comamonas testosteroni</i>
	<i>Staph. epidermidis</i>	<i>Klebsiella spp.</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
		<i>Corynebacterium spp.</i>
		<i>Pasteurella multocida</i>
		<i>Proteus mirabilis</i>
		<i>Streptococcus suis</i>

W trakcie zmiany warunków środowiska niektóre z nich mogą stać się patogenami zjadliwymi. Źródłem zanieczyszczeń są najczęściej wydaliny zwierząt, wydzielina jamy napletka, skóra, włosy, a także wydzielina układu oddechowego (Wierzbowski, 1982). Gdy zanieczyszczenia florą niespecyficzną nie mają bezpośredniego związku z dawcami materiału, do kontaminacji dochodzi w trakcie pobierania, obróbki i przechowywania materiału, a źródłem może być personel, woda i substancje (szczególnie pochodzenia organicznego) dodawane do rozcieńczalników, płynów konserwujących oraz mediów, sprzęt i wyposażenie wykorzystywane w kontakcie z materiałem genetycznym, a także systemy wentylacji (Althouse i in., 2000). Źródłem zanieczyszczeń może być również płynny azot, który jest efektywnym konserwantem patogenów (Aires i in., 2003; Bielański i in., 2003; Mazurova i in., 1990).

W zestawieniu najczęściej identyfikowanych gatunków bakterii przedstawionych w tabeli 3 znaczną część stanowią bakterie warunkowo chorobotwórcze. Dlatego ważne jest monitorowanie stopnia tych zanieczyszczeń

i stosowanie odpowiednich antybiotyków (Pickett i in., 1978; Shin i in., 1988). Badania laboratoryjne obejmujące identyfikację drobnoustrojów i wykonanie testów lekooporności mogą być pomocne w określeniu kombinacji chemioterapeutyków. Przyjęta zasada postępowania celowanego i stosowania jednego leku przeciw określonym patogenom w warunkach terenowych ustępuje miejsca niecelowanej chemioterapii skojarzonej, o możliwie szerokim spektrum. Wskazania do stosowania dwóch lub więcej preparatów obejmują: leczenie przypadków trudnych do rozpoznania, zapobieganie rozwojowi oporności na dany antybiotyk, uzyskanie synergicznego działania leków i leczenie zakażeń mieszanych (Roliński, 1990). Rutynowo jako stabilizatory stosuje się mieszaninę streptomycyny z penicyliną oraz linkomycyny ze spektynomycyną. Według obowiązujących przepisów możliwe jest także stosowanie innych antybiotyków lub ich połączeń, jeśli działają one zarazem przeciw mętlikowi, leptospirom i mykoplazmom. Do stosowanych antybiotyków należą m.in.: amikacyna, gentamycyna, neomycyna, polimiksyna czy tylozyna (Chohan i in., 2004;

Eaglesome i in., 1995; Gliedt i in., 1996; Kim, 2000; Kohler-Samouilidis, 1984).

### **Centrum pozyskiwania, centrum przechowywania oraz laboratorium obróbki materiału genetycznego**

Pozyskiwanie, obróbka i przechowywanie konserwowanego materiału odbywa się w centrum pozyskiwania i przechowywania materiału genetycznego spełniającym wymagania sanitarne i uznanym przez Inspekcję Weterynaryjną.

Przepisy prawne, które weszły w życie z dniem 1.05.2004 r. ograniczyły zakres działania centrów do jednego gatunku. Oznacza to, że na terenie centrum może być pozyskiwany i przetwarzany materiał tylko jednego gatunku zwierząt. W myśl obowiązujących przepisów praktycznie dla każdego rodzaju materiału genetycznego, tj. nasienia i zarodków, powinny istnieć osobne centra pozyskiwania i przechowywania oraz laboratoria do ich obróbki. W uzasadnionych przypadkach istnieje możliwość przechowywania zarodków w centrum przechowywania nasienia, po uzyskaniu zgody powiatowego lekarza weterynarii i pod warunkiem, że znajdują się one w osobnych pojemnikach.

Dla poszczególnych części centrum konieczne jest określenie stopnia obostrzenia sanitarnego. Generalnie przyjmuje się dwa lub trzy stopnie. Pierwszy, będący strefą otwartą, obejmuje pomieszczenia administracyjne, z wolnym dostępem osób z zewnątrz. Drugi, będący już wyłącznie strefą ściśle zamkniętą dla osób nieuprawnionych, obejmuje pozostałe części centrum. W nim można dodatkowo wyodrębnić część o obniżonym statusie epizootycznym, obejmującym osobne pomieszczenia dla zwierząt hodowlanych, kwarantannę i izolatkę oraz magazyny paszy i inne związane z utrzymaniem zwierząt, a także pobieralnie materiału i pomieszczenia dla personelu i obsługi, włącznie z osobnymi szatniami i węzłem sanitarnym. Przechodzenie zwierząt, personelu i innych uprawnionych osób powinno być każdorazowo odnotowane. Powinno się zwracać szczególną uwagę na kontakt personelu ze zwierzętami z zewnątrz jako na bardzo realną drogę przeniesienia chorób zakaźnych.

Obligatoryjne jest rozmieszczenie budynków w taki sposób, aby załadunek i wyładunek zwierząt, paszy czy odchodów mógł odby-

wać się na zewnątrz centrum. Pomieszczenia kwarantanny i izolatki zwierząt powinny znajdować się w bezpiecznej odległości od pomieszczeń hodowlanych i posiadać własne magazyny paszy oraz odchodów.

W pobieralni materiału muszą panować wzmożone rygory sanitarne, a budowa i kubatura powinny zapewnić komfort pobierania materiału oraz bezpieczeństwo dla ludzi i zwierząt, musi być także utrzymana czystość przed, w trakcie i po pobraniu materiału. Bardzo istotna jest śluza, będąca miejscem odbioru pobranego materiału, miejscem wymiany sprzętu do pobierania i połączeniem pobieralni z laboratorium, będącym na najwyższym stopniu ochrony sanitarnej. W tym miejscu zaleca się zabezpieczenie podwójną śluzą oraz podwójne, poprawne oznakowanie pobranego materiału (Thibier, 2000).

Najwyższy poziom zabezpieczenia sanitarnego obejmuje laboratoria do obróbki i konserwacji oraz pomieszczenia kwarantanny, magazynowania i wysyłania materiału, a także pomieszczenia do mycia i dezynfekcji sprzętu. Ta część powinna obejmować osobne pomieszczenia socjalne dla pracowników z szatnią i węzłem sanitarnym. Laboratorium powinno być wyposażone w sprzęt jednorazowy. Powinna obowiązywać zasada kwarantanny pozyskanego materiału. Pomieszczenia wysyłkowe powinny posiadać odpowiednią śluzę zabezpieczającą przed środowiskiem zewnętrznym. Bezwzględnie należy przestrzegać zasady, która mówi, że materiał genetyczny na drodze, którą przechodzi z pobieralni przez laboratorium i kolejno przez poszczególne pomieszczenia aż do wysyłki, nie może mieć możliwości krzyżowania lub powrotu.

### **Pobieranie i przechowywanie materiału genetycznego**

Przy wykonywaniu zabiegów związanych z pozyskiwaniem i obróbką materiału genetycznego korzysta się z narzędzi i materiałów jednorazowego użytku utylizowanych bezpośrednio po użyciu. W przypadku zarodków pobieranie wykonywane jest przez zespół pozyskiwania zarodków. Oocyty i zarodki powinny być oczyszczone za pomocą pożywek, przy zastosowaniu zatwierdzonych metod, zgodnie z wymaganiami Międzynarodowego Stowarzyszenia Transferu Embrionów (IETS) i Międzynarodowego Biura Epizootycznego (OIE) (Thi-



bier, 2001). Każdy oocyt i zarodek powinien być płukany 10-krotnie w pożywce, która każdorazowo podlega wymianie, a pożywka użyta do każdego następnego płukania powinna stanowić 100-krotne rozcieńczenie składników poprzedniej. Oocyty i zarodki przeznaczone do mrożenia powinny być dodatkowo dwukrotnie płukane w roztworze trypsyny. Po zakończeniu ostatniego płukania oocyty i zarodki podlegają badaniu mikroskopowemu, w co najmniej 50-krotnym powiększeniu. Celem oględzin jest ustalenie, czy w trakcie pozyskiwania i płukania została naruszona osłonka przejrzysta oocytów (*zona pellucida*) oraz usunięte wszystkie przylegające ciała obce z oocytów i zarodków. Mikromanipulacje powinny być wykonywane jedynie na oocytach mających nienaruszoną osłonkę przejrzystą. W przypadku hodowli płukanie i badanie wykonuje się po jej zakończeniu. Pobrane i ocenione oocyty oraz zarodki powinny być umieszczone w szczelnym, sterylnym, oznakowanym pojemniku, w pomieszczeniu przeznaczonym na kwarantannę.

Materiał genetyczny przeznaczony do mrożenia powinien być zamrożony niezwłocznie po pobraniu i przechowywany w oddzielnych pojemnikach. Pojemniki do przechowywania i transportu powinny być oczyszczone, odkażone lub wysterylizowane przed każdym napełnieniem. Stosowany środek chłodzący nie może być wcześniej używany. Każdy pojemnik, w którym jest przechowywany lub transportowany materiał genetyczny, powinien być zaplombowany i wyraźnie oznakowany za pomocą kodu określającego: datę pozyskania, cechy identyfikacyjne dawcy nasienia oraz dawczyni pozyskiwanych komórek i numer identyfikacyjny zespołu pobierającego. Dodatkowo każdorazowo po pozyskaniu oocytów i zarodków powinien być sporządzony protokół z czynności dokonanych podczas pozyskiwania, mrożenia i przenoszenia komórek.

Zalecane jest także gromadzenie informacji dotyczących metodyki pozyskiwania i krio-konserwacji materiału, a w przypadku oocytów i zarodków dodatkowo informacji na temat superowulacji i szczegółowych danych odnoszących się do technik mikromanipulacyjnych, które obejmują m.in.: penetrację osłonki przejrzystej (*zona pellucida*), hodowlę i zapłodnienie *in vitro*, metody klonowania i transgenezy.

### Zabezpieczenie materiału genetycznego zwierząt objętych programami zachowawczymi

Według danych Międzynarodowej Unii Ochrony Przyrody i jej Zasobów (IUCN) z 5416 gatunków ssaków 1101 uznano za zagrożone i wpisano do rejestru czerwonej księgi (Jonathan i in., 2004). Część z nich objęto programami ochronnymi. Programy obejmują ochronę zwierząt w środowisku naturalnym, z ograniczonym i częściowo kontrolowanym wykorzystaniem metod hodowlanych zabezpieczających liczebność zwierząt na poziomie zapewniającym minimalną zmienność genetyczną populacji i możliwość adaptacji do zmiennych warunków środowiska. Programy te określane są jako działania *in situ*. Dodatkowo, w ostatnim czasie wprowadzono programy ochronne w oparciu o w pełni kontrolowane metody hodowlane i biotechnologiczne określane jako *ex situ* (Thibier, 2005). Polegają one na prowadzeniu odpowiedniej selekcji zwierząt, w tym selekcji wstecznej, przemyślanym doborze par rodzicielskich, gromadzeniu i swobodnym wykorzystaniu ich materiału genetycznego bez względu na wiek, stan zdrowia i – o ile materiał pobrano odpowiednio wcześniej – aktualny status epizootyczny zwierząt dawców. Metody *ex situ* zapewniają odpowiednią zmienność genetyczną i liczebność populacji na poziomie wyższym niż pozwalają na to metody *in situ*. Najistotniejsza wydaje się jednak możliwość korzystania z niepowtarzalnych zasobów genetycznych wielu pokoleń zwierząt na długo po śmierci dawców. Do tego niezbędne są odpowiednie warunki do przechowywania zabezpieczonego materiału. O ile z punktu widzenia ochrony środowiska, ekonomii czy możliwości technicznych długotrwałe przechowywanie materiału genetycznego gatunków i ras ginących zwierząt jest niezbędne i nie stanowi problemu, o tyle z punktu widzenia ochrony sanitarnej istnieje szereg istotnych wątpliwości i ograniczeń. Problem stanowi materiał pełnowartościowy pod względem biologicznym, ale nieodpowiedni pod względem sanitarnym. Za materiał taki uznaje się materiał pobrany od zwierząt chorych, martwych lub o nieustalonym statusie epizootycznym czy pochodzących z rejonów objętych chorobami zakaźnymi. W takich sytuacjach konieczne jest pozyskiwanie materiału od zwierząt w ich naturalnym środowisku, bez konieczności transportu

dawców, z zastosowaniem bezpiecznych metod nieinwazyjnych, niezbędne jest także wykonanie dodatkowych badań dawców materiału, pobranych próbek, a także wiarygodne określenie statusu epizootycznego rejonu, w którym żyją zwierzęta (Thibier, 2005). Dopiero na podstawie wyników tych badań możliwe jest wykorzystanie zabezpieczonego materiału. Kolejne kwestie dotyczą transportu i przechowywania. Do momentu uzyskania wyników badań i dopuszczenia materiału do użycia pobrane próbki powinny być transportowane i przechowywane dla każdego dawcy w osobnych pojemnikach, co umożliwi eliminację nieodpowiednich próbek lub pochodzących od nieodpowiednich dawców. Przechowywanie powinno się odbywać w pomieszczeniach kwarantanny osobnych dla każdej partii materiału. Po uzyskaniu pozytywnych wyników badań zabezpieczony materiał można przenosić do wspólnych kontenerów i do pomieszczeń przechowywania.

### Regulacje prawne

Obowiązujące przepisy dotyczą ochrony sanitarnej nasienia, komórek jajowych i zarodków zwierząt hodowlanych: bydła, świń, kóz, owiec i koni. Nie ma odpowiednich regulacji prawnych dotyczących materiału genetycznego królików, ptaków, ryb i zwierząt wolno żyjących.

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, produkcja, obróbka, konserwacja i przechowywanie materiału genetycznego mogą odbywać się wyłącznie w centrach pozyskiwania i centrach przechowywania zatwierdzonych i kontrolowanych przez Inspekcję Weterynaryjną.

Regulacje prawne obejmują przepisy krajowe w postaci ustaw i rozporządzeń lub międzynarodowe w postaci dyrektyw opartych na zaleceniach podanych przez OIE w International Animal Health Code. Tylko w ustawodawstwie krajowym istnieje 12 aktów prawnych (tab. 4) bezpośrednio lub pośrednio dotyczących omawianego zagadnienia.

Tabela 4. Zestawienie obowiązujących krajowych aktów prawnych dotyczących materiału genetycznego (według daty publikacji)

Table 4. List of current Polish legal acts on genetic material (by publication date)

Lp. No.	Akt prawny – <i>Legal act</i>	Tytuł – <i>Title</i>	Publikacja <i>Publication</i>
1	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 3 marca 2006 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 3 March 2006</i>	zmieniające rozporządzenie w sprawie materiału biologicznego wykorzystywanego w rozrodzie zwierząt gospodarskich <i>amending regulation on biological material used for reproduction of livestock</i>	Dz. U. Nr 44, poz. 316 z dnia 17 marca 2006 r. <i>Journal of Laws No. 44, item 316 of 17 March 2006</i>
2	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 17 stycznia 2006 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 17 January 2006</i>	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia bydła <i>on detailed veterinary requirements concerning cattle semen</i>	Dz. U. Nr 21, poz. 159 z dnia 9 lutego 2006 r. <i>Journal of Laws No. 21, item 159 of 9 February 2006</i>
3	USTAWA z dnia 21 stycznia 2005 <i>LAW of 21 January 2005</i>	o doświadczeniach na zwierzętach <i>concerning experiments on animals</i>	Dz.U. Nr 33, poz. 289 z dnia 24 lutego 2005 r. <i>Journal of Laws No. 33, item 289 of 24 February 2005</i>

---

---

*Ochrona sanitarna materiału genetycznego*

---

---

4	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 28 grudnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 28 December 2004</i>	zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła <i>amending regulation on detailed veterinary requirements concerning cattle embryos</i>	Dz. U. Nr 4, poz. 25 z dnia 10 stycznia 2005 r. <i>Journal of Laws No. 4, item 25 of 10 March 2005</i>
5	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 grudnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 24 December 2004</i>	zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia świń <i>amending regulation on detailed veterinary requirements concerning pig semen</i>	Dz. U. Nr 4, poz. 24 z dnia 10 stycznia 2005 r. <i>Journal of Laws No. 4, item 24 of 10 January 2005</i>
6	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 13 września 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 13 September 2004</i>	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla chowu lub hodowli zwierząt dzikich utrzymywanych przez człowieka jak zwierzęta gospodarskie <i>on detailed veterinary requirements concerning husbandry or breeding of wild animals kept by humans as livestock</i>	Dz. U. nr 215, poz. 2188 z dnia 1 października 2004 r. <i>Journal of Laws No. 215, item 2188 of 1 October 2004</i>
7	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 kwietnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 30 April 2004</i>	w sprawie materiału biologicznego wykorzystywanego w rozrodzie zwierząt gospodarskich <i>on biological material used for reproduction of livestock</i>	Dz. U. nr 111, poz. 1177 z dnia 14 maja 2004 r. <i>Journal of Laws No. 111, item 1177 of 14 May 2004</i>
8	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 30 kwietnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 30 April 2004</i>	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła <i>on detailed veterinary requirements concerning cattle embryos</i>	Dz. U. Nr 108, poz. 1152 z dnia 11 maja 2004 r. <i>Journal of Laws No. 108, item 1152 of 11 May 2004</i>
9	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 kwietnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 27 April 2004</i>	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia świń <i>on detailed veterinary requirements concerning pig semen</i>	Dz. U. Nr 100, poz. 1017 z dnia 1 maja 2004 r. <i>Journal of Laws No. 100, item 1017 of 1 May 2004</i>



10	USTAWA z dnia 11 marca 2004 r. <i>LAW of 11 March 2004</i>	o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt  <i>on animal health protection and control of infectious diseases of animals</i>	Dz. U. Nr 65, poz. 625 z dnia 20 kwietnia 2004 r.  <i>Journal of Laws No. 65, item 625 of 20 April 2004</i>
11	Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 27 kwietnia 2004 r. <i>Regulation of the Minister of Agriculture and Rural Development of 27 April 2004</i>	w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do nasienia, komórek jajowych i zarodków owiec, kóz i koni  <i>on detailed veterinary requirements concerning sheep, goat and horse semen, eggs and embryos</i>	Dz. U. Nr 100, poz. 1016 z dnia 1 maja 2004 r.  <i>Journal of Laws No. 100, item 1016 of 1 May 2004</i>
12	Dz.U.91.27.112 Konwencja Międzynarodowa <i>Journal of Laws 91.27.112</i> <i>International Convention</i>	konwencja o międzynarodowym handlu dzikimi zwierzętami i roślinami gatunków zagrożonych wyginięciem sporządzona w Waszyngtonie dnia 3 marca 1973 r.  <i>Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, signed at Washington D.C. on 3 March 1973</i>	Dz. U. Nr 27, poz. 112 z 1991 r.  <i>Journal of Laws No. 27, item 112 of 1991</i>

Zestawienie przedstawione w tabeli nie obejmuje rozporządzeń dotyczących rządowych programów zwalczania chorób zakaźnych zwierząt, które również w pośredni sposób odnoszą się do materiału genetycznego. Przepisy te określają szczegółowe wymagania sanitarno-weterynaryjne w zakresie wytwarzania, pozyskiwania, konserwacji, obróbki, przechowywania, prowadzenia obrotu lub wykorzystywania oraz przywozu z krajów UE i krajów niestowarzyszonych z UE oraz zakres kontroli przez Inspekcję Weterynaryjną. Należy pamiętać, że obowiązujące przepisy odnoszą się wyłącznie do materiału genetycznego w ujęciu komercyjnym i nie dotyczą materiału genetycznego pozyskiwanego na potrzeby badań naukowych. W warunkach doświadczalnych i laboratoryjnych możliwa jest zatem swobodna produkcja, przetwarzanie i przechowywanie materiału genetycznego, ale bez możliwości wykorzystania na szeroką skalę i wprowadzenia do hodowli. Materiał genetyczny w rozumieniu prawnym wytworzony w trakcie badań naukowych z przeznaczeniem do wykorzystania w hodowli musi posiadać status wolnego od chorób zakaźnych, powinien zatem przejść przez centrum pozyskiwania i przechowywania.

W obowiązujących przepisach brak re-

gulacji dotyczących materiału genetycznego innego niż nasienie, komórki jajowe i zarodki. W odniesieniu do komórek somatycznych stanowiących materiał genetyczny nie ma obecnie prawnych możliwości wytwarzania, obróbki, przechowywania i wykorzystania. Jedynym odniesieniem prawnym dotyczącym komórek somatycznych jest zapis w załączniku nr 2 Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych mających zastosowanie do zarodków bydła, określający wymagania sanitarne tkanek wykorzystywanych do zapładniania i hodowli *in vitro*. Zapis ten nie określa jednak komórek somatycznych jako materiału genetycznego. 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, tylko w celach naukowo-badawczych, bez możliwości komercyjnego wykorzystania takiego materiału. Ograniczenie to jest o tyle istotne, że w przypadku konieczności transportu wewnątrz i między krajami niezbędna jest zgoda władz weterynaryjnych, która nie będzie udzielona bez za-

pewnienia odpowiedniego i udokumentowanego statusu sanitarnego materiału. Wydaje się, że w obecnej sytuacji, gdy wdrażane są programy ochronne ginących gatunków zwierząt, największym problemem jest brak regulacji prawnych dotyczących pozyskiwania, przechowywania i wykorzystania materiału genetycznego, analogicznych jak w przypadku zwierząt hodowlanych. Niezbędne jest zatem opracowanie wytycznych dotyczących pozyskiwania, konserwacji i przechowywania materiału genetycznego pochodzącego od tych zwierząt. Szczególnie dotyczy to wartościowych dawców o nieustalonym lub niskim statusie zdrowotnym oraz wykorzystania

pobranego materiału przez zespoły naukowe.

### Wnioski

Pozyskiwanie, obróbka, przechowywanie materiału genetycznego jest powszechnie stosowaną metodą biotechnologii w hodowli zwierząt i badaniach naukowych. Niezwykle istotne jest utrzymanie właściwego standardu sanitarnego przechowywanego materiału. Szczegółowe wymagania sanitarne określone są w przepisach międzynarodowych i krajowych. Problemem są zwierzęta ginące, o nieustalonym statusie epizootycznym i objęte programami zachowawczymi.

### Literatura

- Aires V.A., Hinsch K.D., Mueller-Schloesser F., Bogner K., Mueller-Schloesser S., Hinsch E. (2003). *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*, 60 (2).
- Althouse G.C., Kuster C.E., Clark S.G., Weisiger R.M. (2000). Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. *Theriogenology*, 15, 53 (5).
- Althouse G.C., Lu K.G. (2005). Bacteriospermia in extended porcine semen. *Theriogenology*, 63.
- Baillie J.E.M., Bennun L.A., Brooks T.M., Butchart S.H.M., Chanson J.S., Cokeliss Z., Hilton-Taylor C., Hoffmann M., Mace G.M., Mainka S.A., Pollock C.M., Rodrigues A.S.L., Stattersfield A.J., Simon N.A. (2004). Global Species Assessment, IUCN Red List of Threatened Species.
- Bielanski A., Bergeron H., Lau P.C., Devenish J. (2003). Microbial contamination of embryos and semen during long term banking in liquid nitrogen. *Cryobiology*, 46 (2).
- Chohan K.R., Hunter A.G. (2004). *In vitro* maturation, fertilization and early cleavage rates of bovine fetal oocytes. *Theriogenology*, 15, 61 (2-3): 373–380.
- Eaglesome M.D., Garcia M.M. (1995). Comparisons of antibiotic combinations to control *Pseudomonas aeruginosa* in bovine semen. *Can. J. Vet. Res.*, 59 (1).
- Gliedt D.W., Rosenkrans C.F. Jr., Rorie R., Munyon A., Pierson J., Miller G., Rakes J. (1996). Effects of media, serum, oviductal cells, and hormones during maturation on bovine embryo development *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 79 (4).
- Hare W.C.D. (1985). Diseases transmissible by semen and embryo techniques. Office International des Epizooties, Paris. Technical series, 4.
- Kendrick J.W., Harlan G.P., Bushnell R.B., Kronlund N. (1975). Microbiologic contamination of bovine semen. *Theriogenology*, 4 (4).
- Kim S. (2000). Failure of antibiotics gentamicin, tylosin, lincomycin and spectinomycin to eliminate *Mycoplasma bovis* in artificially infected frozen bovine semen. *Theriogenology*, 1, 54 (1).
- Kohler-Samouilidis G. (1984). Antibiotic sensitivity of bacterial flora of ram semen. *Dtsch Tierarztl. Wochenschr.*, 8, 91 (3).
- Le Tallec B., Ponsart C., Marquant-Le Guienne B., Guerin B. (2001). Risks of transmissible diseases in relation to embryo transfer. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41 (5).
- Madec F., Albina E., Vannier P. (1994). Les agents infectieux dans le sperme de verrat. In: Association, Française de Medecine Veterinaire Porcine AFMVP, 1–2.
- Mazurova J., Krpatova J. (1990). The risks of the cryopreservation of bull semen. *Veterinarstvi*, 40.
- Philpott M. (1993). The dangers of disease transmission by artificial insemination and embryo transfer. *Br. Vet. J.*, 149.
- Pickett B.W., Berndtson W.E., Sullivan J.J. (1978). Influence of seminal additives and packaging systems

on fertility of frozen bovine spermatozoa. *J. Anim. Sci.*, 47, Suppl., 2.

Roliński Z. (1990). *Zarys farmakoterapii weterynaryjnej*, PWRIL, Warszawa, s. 65.

Shin S.J., Lien D.H., Patten V.H., Ruhnke H.L. (1988). A new antibiotic combination for frozen bovine semen: I. Control of *Mycoplasma*, *Ureaplasmas*, *Campylobacter fetus* subsp., *Venerealis* and *Haemophilus somnus*. *Theriogenology*, 29.

Thibier M. (2001). Identified and unidentified challenges for reproductive biotechnologies regarding infectious diseases in animal and public health. *Theriogenology*, 1, 56 (9).

Thibier M. (2005). The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: current methods

and perspectives. *Reprod. Nutr. Dev.*, 45 (3).

Thibier M., Guerin B. (2000). Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 62.

Thibier M., Stringfellow D.A. (2003). Health and Safety Advisory Committee (HASAC) of the International Embryo Transfer Society (IETS) has managed critical challenges for two decades. *Theriogenology*, 59 (3–4).

Varner D.D., Scanlan C.M., Thompson J.A., Brumbaugh G.W., Blanchard T.L., Carlton C.M., Johnson L. (1998). Bacteriology of preserved stallion semen and antibiotics in semen extenders. *Theriogenology*, 50 (4).

Wierzbowski S. (1982). Występowanie i znaczenie warunkowo patogennych i wszechobecnych bakterii w nasieniu buhajów. *Med. Wet.*, 1, 3.

## SANITARY PROTECTION OF GENETIC MATERIAL INTENDED FOR LONG-TERM STORAGE

### Summary

The experimental techniques introduced to biotechnology in animal reproduction 40 years ago are now routine and commonly used methods in animal breeding. Recently the methods used in biotechnology have also found wide application in the conservation of the genetic resources of rare local breeds of farm and wild animals in *ex situ* programmes. Because the semen, oocytes and embryos in different stages of development as well as somatic cells are types of genetic material commonly used in animal breeding and reproduction, a very important issue is the appropriate sanitary protection of the resources. This should be done to ensure epizootic security, to reduce the risk of spreading diseases, including zoonoses, and to provide the good quality of stored material and its appropriate utilization. Detailed sanitary requirements are defined in national and international regulations. The current strict sanitary and veterinary regulations often stand in contradiction to the interests of farmers and



different subjects dealing with the recovery, processing, conservation and utilization of genetic resources. An important problem seems to be the endangered species and breeds, animals of unknown epizootic status, and those included in conservation programmes.

fot. red.