

**Provozní řád ÚOCHB AV ČR v.v.i. pro experimentální zvěřinec pro práci
s GM zvířaty,
dle přílohy 4 k zákonu č. 78/2004 Sb.**

a-c) Identifikační údaje uživatele

Název organizace: Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

Sídlo a identifikační číslo uživatele: Praha 6, Flemingovo nám. 542/2, PSČ 160 00

IČO 61388963. Ředitel: RNDr. PhDr. Zdeněk Hostomský, CSc, ředitel: tel.: 220183333,

e-mail: uochb@uochb.cas.cz

**d) jméno, příjmení, trvalý pobyt, číslo telefonu, případně též číslo faxu a adresa
elektronické pošty odborného poradce**

RNDr. Milan Kožíšek, Ph.D., Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.,
Flemingovo nám. 2, Praha 6, PSČ 166 10, tel. 220183518

e-mail: milan.kozisek@uochb.cas.cz

trvalý pobyt: Vršní 393/3, Praha 8, PSČ 182 00

**e) kategorie rizika nakládání s geneticky modifikovaným organismem, které smí být na
pracovišti prováděno:**

Kategorie rizika I a II

f) osoba odpovědná za provoz pracoviště

Ředitel: RNDr. PhDr. Zdeněk Hostomský, CSc, ředitel: tel.: 220183333

e-mail: uochb@uochb.cas.cz

trvalý pobyt: Bruselská 183/16, Praha 2

**g) Charakter, účel, popis technických prvků zajišťujících uzavření prostoru, pokud
se jedná o uzavřené nakládání**

V prostorách budovy A jsou jednotlivé laboratorní komplexy uzavřeny uzamčenými dveřmi. Vstup pouze pro povolané pracovníky na naprogramovanou kartu. Mrazicí boxy pro úschovu tkání i lednice jsou rozděleny na oddíly pro úschovu materiálů z GM myši (popř. potkanů) a myši (popř. potkanů) u těchto zvířat s běžnou genetickou výbavou. Pro práci s GM myšmi je vyhrazena jedna ze dvou laboratoří. Povolení vstupu pracovníci proškolení pro práci s GM modely a platným osvědčením o absolvování kursu o odborné způsobilosti podle § 15d odst. 3 nebo podle § 15d odst. 4 zákona č. 246/1992 Sb., v platném znění.

Proti úniku zvířat jsou mezi dveřmi zvýšené prahy, jak mezi chovnou místností a laboratoří, tak mezi laboratoří pro GM myši a laboratoří pro práci se zvířaty s normální genetickou výbavou a spojovací chodbou.

Pro likvidaci všech odpadů používaných v laboratoři pro práci s GMO se používá autoklávování v GMO oddíle budovy C, hnůj od zvířat je odvážen firmou Ekom CZ, a.s pro nebezpečné odpady a usmrcená zvířata budou likvidována firmou Asavet, a.s., jako vedlejší živočišný produkt I. kategorie (VŽP I. kategorie).

h) Seznam a popis závazných pracovních postupů, užívaných na pracovišti

Na pracovišti se provádí vědecká práce. Základní přístupy spočívají v konstrukci plasmidových vektorů kódující geny hepatitidy B (HBV). Tyto plasmidy budou aplikovány pomocí hydrodynamické injekce do myšího kmene B6(Cg)Ces1c/J, který má nefunkční alely karboxylesterasy 1C. Plasmidy primárně transfekují myší jatra, které budou exprimovat a sekretovat do krve HBV proteiny HBsAg a HBeAg.

i) Seznam pracovníků proškolených na práci na pracovišti s GMOa) osoby pečující o pohodu zvířat

Ludmila Jandová, Karolína Müllerová, Pavlína Hovorková

b) skupina Vyléčení hepatitidy B:

- Markéta Pimková Polidarová
- Lenka Vaneková
- Markéta Koutová
- Gabriel Birkuš

Zápis o provedeném školení a individuální listy školení pracovníků nakládajících s GMO jsou uloženy u vedoucího testovacího zařízení.

Tento seznam pracovníků bude každoročně aktualizován přílohou.

j) Výčet a přibližné množství geneticky modifikovaného organismu nebo produktu, se kterým bude na pracovišti nakládáno

Geneticky modifikovaný kmen laboratorních myší B6(Cg)-Ces1c^{tm1.1Loc}/J bude dovezen z chovů The Jackson Laboratories v množství 3 párů. Zvířata budou množena pro potřeby experimentů, maximálně do 300 ks dospělých a odstavů.

k) Organizační a technologické zajištění pracoviště

Organizační zajištění je dáno organizačním řádem ÚOCHB a vymezením prostor pro experimentální zvěřinec v podlaží -2 tzn. bez oken (místnost A.02.05c a A.02.05d).

GM linie myší bude chována v akreditovaném experimentálním zařízení. S GM kmeny je z hlediska chovu manipulováno a nakládáno stejným způsobem jako s běžnými kmeny laboratorních hlodavců s těmito rozdíly:

- GM myši jsou chovány v oddělené v označené místnosti (viz plánek v příloze č. 2)
- chov GM myší je kontrolován častěji, než je tomu v případě běžných laboratorních zvířat (počty zvířat v klecích, bezpečnostní zábrany ve dveřích atd.)
- materiál – tkáň, podestýlka a odpady jsou označovány a uchovávány zvlášť
- uhynulá zvířata jsou před předáním k likvidaci uchovávána odděleně od zvířat nemodifikovaných
- manipulace s GM zvířaty jsou prováděny separátně

GM zvířata a jejich tkáň likviduje firma ASAVET, a.s., jako vedlejší živočišný produkt I. kategorie.

Při práci s laboratorními zvířaty je nutno používat ochranné pomůcky (bílé pláště, košile a kalhoty, pracovní obuv s protiskluzovou podrážkou, gumové rukavice). V případě kousnutí nebo škrábnutí zvířaty poranění ihned ošetřit a provést zápis do knihy úrazů. Dodržovat základní hygienická pravidla. Při práci s dezinfekčními prostředky dodržovat návod na použití. Pracovní povrchy stolů a pomocných zařízení jsou omyvatelné.

Úklid je prováděn úklidovými pomůckami (kbelík, hadry, smeták), které jsou zvlášť pro každou chovnou místnost.

Chovné místnosti jsou uzavřené a klimatizované (stabilní teplota $22 \pm 2^\circ \text{C}$, vlhkost vzduchu 30 – 70%, přetlak 40 Pa). V chovných místnostech je zaveden světelný režim 12 hodin světla a 12 hodin tmy.

Při čištění klecí je vysypávána podestýlka do zvláštních označených pytlů a myty jsou až v závěrečném cyklu, po kterém je myčka vyčištěna. Obdobně probíhá mytí napájecích lahví a pítek.

Veškeré ostatní nebiologické odpady jsou autoklávovány v budově C.

Chovné klece se zvířaty jsou kontrolovány denně. Denně je kontrolováno i uzavření chovných klecí při příchodu do chovné místnosti i při odchodu z ní. Dveře chovné místnosti jsou trvale uzamčeny, vstup do chovné místnosti mají pouze zaměstnanci pracující s transgenními zvířaty.

Všemi technickými a organizačními opatřeními uvnitř uzavřeného prostoru je zajištěno, že k úniku GM organismů z chovné místnosti nemůže dojít. GM zvířata budou ustájena tak, že jejich případný únik do okolí by vyžadoval překonání mnoha bariér: chovná klec (chovné klece jsou z bikarbonátu, kryty shora nerezovými víky, rozestupy mezi jednotlivými dráty nedovolí únik myši, v profilu kovových vík jsou místa k přiložení napáječky s pitnou vodou a k vyspání pelet krmné diety), zvýšený práh mezi dvěma chovnými místnostmi a dvěma laboratořemi do spojovací chodby, vedoucí na chodbu hlavní.

Použitá podestýlka od zvířat je ukládána v označených igelitových pytlích a odvážena firmou Ekom CZ, a.s. pro likvidaci nebezpečných odpadů.

Používané pracovní oděvy jsou ošetřeny stejně jako ostatní laboratorní oděvy a oděvy z chovu. Jsou však skladovány odděleně.

Usmrčená a zvířata uhynulá během pokusu se vloží do dvojitých PE sáčků, sáčky se zaváží a uloží do určeného označeného koše v mrazicím boxu na -20°C , který je následně uzamčen. Všechny prostory chovné části jsou periodicky myty dezinfekčními roztoky.

Chovná místnost pro chov GMO je uzavřena a přístup do ní mají pouze zaměstnanci, kteří jsou školení pro práci s GMO. Na chovné místnosti i na přilehlé laboratoři jsou symboly „Biologické nebezpečí“.

Veškeré ostatní nebiologické odpady jsou autoklávovány v budově C.

l) Opatření pro případ havárie a požáru, včetně havarijního plánu podle § 20

Jakékoliv poruchy provozu je nutné hlásit vedoucímu oddělení BF nebo řediteli ústavu.

V případě zjištění závady na klimatizačním zařízení je nutné zajistit okamžitou nápravu. Do provedení opravy zajistit podmínky pro laboratorní zvířata dostatečné k udržení stabilního prostředí. V případě úhynu zvířat v pokuse je kontaktován experimentátor, aby se vyjádřil, zda tento úhyn je možný přičíst na vrub experimentu. Při zjištění změny zdravotního stavu laboratorních zvířat ihned zaměstnanci uživatelského zařízení kontaktují a pozvou smluvního veterinárního lékaře, který posoudí situaci a zajistí nápravu. Uhynulá zvířata jsou co nejdříve uložena do igelitového pytle a vložena na určené místo v mrazáku.

Osoba, která zpozoruje požár je povinná se podle svých sil a možností pokusit se požár zlikvidovat v jeho zárodku za použití vhodného přenosného hasicího přístroje, nebo provést nutná opatření k zamezení jeho šíření. Každý vzniklý požár, který byl uhašen a byť nezpůsobil žádnou škodu je nutno nahlásit bezpečnostnímu technikovi.

m) Povinnosti pracovníků při práci (dodržování pracovních postupů, postup sanitace prostorů a zařízení po ukončení pracovní činnosti, postup dekontaminace nástrojů, osobních a ochranných prostředků a oděvů).

Správce chovu zvířat:

Kontroluje dodržování předepsaných pracovních postupů při péči o laboratorní zvířata i provádění dezinfekce chovných místností i chovných klecí, kontroluje správné uložení krmných pelet i čisté podestýlky. Kontroluje správné uložení použité podestýlky i uhynulých zvířat a biologického odpadu z nich.

Povinnosti ošetřovatelů zvířat:

Ošetřovatelé pečují o zvířata podle Standardního operačního postupu „Chov transgenních myší“ a aktuálních instrukcí.

Práce prováděné denně

- Bezprostředně po příchodu do zvěřince vizuální kontrola stavu v chovných místnostech (chod vzduchotechniky, teplota, vlhkost). Změny proti normálu zaznamenat do sešitu „Provoz vzduchotechniky“.
- Kontrola správnosti uzavření klecí s laboratorními zvířaty, se zvláštním důrazem na zvířata GMO
- Kontrola zdravotního stavu zvířat

Práce prováděné podle potřeby, minimálně ale vždy jedenkrát týdně

- Doplnění pitné vody v napájecích lahvích
- Doplnění krmiva do krmítek
- Výměna podestýlky, použitou podestýlku uskladňovat v igelitových pytlích, od GM zvířat zvlášť, před likvidací odděleně skladovat
- Setření podlahy v chovných místnostech dezinfekčním roztokem s přídavkem saponátu
- Výměna 5% roztoku Chloraminu T v dezinfekčních nášlapných rohožích
- Dezinfekce stojanů na klece
- Výměna chovných klecí a jejich čištění

Specifické požadavky na ustájení GM zvířat

Tato zvířata jsou chována v samostatné chovné místnosti. Denně musí být zkontrolovány počty geneticky modifikovaných laboratorních zvířat, aby byl vyloučen možný únik těchto zvířat, eventuálně se mohl rychle tento únik zlikvidovat. V aplikační místnosti případně chovné místnosti pracovník vždy uzavře dveře. Pokud zvíře unikne z klece, pak musí pracovník zvíře chytit za jakoukoliv část těla. Pokud se toto nepovede, vzniklou situaci ihned ohlásí vedoucímu zvěřince a následně запиše do deníku „Péče o GM zvířata“.

Trvale ponechané dveřní zábrany v laboratoři a chovných místnostech brání úniku GM laboratorních zvířat do dalších prostor.

Postup dekontaminace zařízení a nástrojů při ukončení pracovní činnosti se řídí podle charakteru činnosti, určuje ho vedoucí týmu a provádí experimentátor.

n) Systém a četnost kontrol prostoru, zařízení a ochranných opatření

Druh kontroly	Četnost	Kým kontrolováno
Klimatické parametry v chovných místnostech	Denně	Zaměstnanci experimentálního zvěřince
Zdravotní stav GM laboratorních zvířat	Denně	Zaměstnanci experimentálního zvěřince
Stav uživatelského zařízení	1 x za měsíc	Veterinární dozor
Stav uživatelského zařízení	1x ročně	Krajská veterinární správa
Bakteriologické a virologické vyšetření chovaných zvířat	Podle množství chovaných zvířat	AnLab s.r.o. Vídeňská 1082, Krč
Pitná voda používaná k napájení zvířat	2 x ročně	Státní veterinární ústav Praha Zkušební laboratoř hygieny potravin a krmiv

o) Povinnosti pracovníků při údržbě

Pracovníci údržby jsou povinni při údržbářských pracích v chovu GM myši a laboratoři pro práci s nimi, dodržovat pravidla provozního řádu a používat ochranné oděvy. Jsou povinni dbát pokynů pracovníků školených pro práci s GMO, v jejichž prostorách údržbu provádějí.

p) Zásady hygieny a bezpečnosti práce v souladu s ustanovením zvláštních právních předpisů

Vzhledem k běžné práci na malých laboratorních zvířatech není třeba upravovat vžité pracovní návyky, stačí dodržovat stávající předpisy. Práce s GM zvířaty představuje jen oddělený režim zacházení se zvířaty, nutnost odděleně hospodařit se vzorky tkání a odděleně zacházet s odpadním materiálem.

Pracovníci mají povinnost používat v prostorách pro práci s GMO ochranné oděvy. Z prostor pro práci s GMO nesmí být přemísťováno žádné zařízení, aniž by bylo preventivně dekontaminováno.

q) Způsob nakládání s odpady a kontaminovanými materiály a předměty, zejména postupy zneškodnění geneticky modifikovaného organismu a způsob kontroly jejich účinnosti

Odpady pevného charakteru jsou autoklávovány, tekuté odpady budou inaktivovány dezinfekcemi činidly (2% roztok Chloraminu T, SAVO nebo Ajatin). Použitá podestýlka od laboratorních zvířat je ukládána v označených igelitových pytlích a uchovávána do doby odvozu v určené části výstupní chodby. Usmrcená a zvířata uhynulá během pokusu nebo části těl GM zvířat se vloží do igelitových sáčků, sáčky se zaváží a uloží na určené místo v uzamčeném mrazáku. Dále potom budou jako odpad kat. č. 180201 a č. 180202 (odpady, na jejichž sběr a odstraňování jsou kladeny zvláštní požadavky s ohledem na prevenci infekce)

dle vyhlášky č. 381/2001 Sb. zákona 185/2001 Sb. o odpadech, likvidovány specializovanou firmou Ekom CZ, a.s. a firmou na odvoz VŽP I. kategorie ASAVET, a.s.

r) Seznam povinných pracovních pomůcek a prostředků osobní ochrany s uvedením činností, ke kterým musí být používány

Bílé pláště, bílé košile nebo haleny, bílé kalhoty, předepsané pracovní boty, chirurgické gumové rukavice, při úklidu chovných místností zvláštní pracovní obuv.

s) Zakázané činnosti na pracovišti

V laboratoři a chovné místnosti pro GM zvířata je zakázáno jíst, pít a kouřit.

t) Zásady vedení evidence o provozu zařízení, prováděné sanitaci a kontrolách zabezpečovacích prvků

Pro používané přístroje a zařízení jsou zavedeny provozní deníky, kde jsou vedeny záznamy o veškerých prováděných sanitačních opatřeních. Záznamní kniha je zavedena i pro odvoz kadáverů a likvidaci odpadů.

O práci se zvířaty jsou vedeny následující záznamy:

Druh evidence	Obsah evidence
1) Pokusná zvířata	Jméno vedoucího projektu pokusů a číslo projektu pokusů
	Datum přijetí zvířat
	Kmen, linie zvířete (pohlaví, věk či hmotnost)
	Počet zvířat
2) Nákup zvířat	Datum dovozu zvířete
	Druh zvířete (myš, potkan, kmen, linie)
	Počet, pohlaví, věk či hmotnost zvířat
	Jméno vedoucího a název „Projektu pokusů“
	Veterinární osvědčení z chovatelského zařízení
3) Dodávka krmiva	Datum dovozu krmiva
	Druh a množství krmiva
	Doba expirace krmné směsi
4) Úhyn zvířat	Datum úhynu
	Pravděpodobná příčina úhynu
5) Likvidace kadáverů a biologického odpadu	Odběrný list odpadu
	Evidenční list pro přepravu nebezpečných odpadů po území ČR
6) Vyšetření pitné, vody, určené k napájení	Protokoly ze Státního veterinárního ústavu, Sidlištní 24, 165 03. Praha - Lysolaje
8) Dodávka steliva	Datum objednávky a dovozu, množství
9) Zvířata v chovných nádobách	Štítky, kde je uvedeno : Kmen, počet kusů a pohlaví, čísla zvířat, datum narození mláďat a jejich počet, číslo vrhu, datum odstavu mláďat, počet samečů a samic ve vrhu.

10) Kontrola zdravotního stavu zvířat	Datum odvozu zvířat do AnLabu, s.r.o., Vídeňská 1082, 142 00, Praha 4 a certifikát zdravotního stavu, platný pro EU.
---------------------------------------	--

u) Opatření k zabránění vstupu nepovolaných osob

Kontrola vstupu do budovy je zajištěna, vstupem přes hlavní vrátnici, dveře pro vstup do experimentálního zvěřince jsou nepřetržitě uzavřeny, návštěvy mohou vstupovat jen s doprovodem a v ochranném oděvu, po zápisu do knihy návštěv. Karty pro vstup jsou vydány pouze zaměstnancům s platným osvědčením pro práci s pokusnými zvířaty, zaměstnancům ostražky a zaměstnancům provádějícím technickou údržbu.

Vstup do chovných místností je povolen pouze:

- zaměstnancům uživatelského zařízení pro práci s laboratorními zvířaty
- experimentálním pracovníkům
- vstup jiných pracovníků (návštěv, inspektorů, auditorů, opravářů apod.) je možný jen se souhlasem vedoucího

v) Uvádění GMO do životního prostředí

GM zvířata nebudou uváděna do životního prostředí.

w) Údaj o případném časovém omezení platnosti provozního řádu

Tento provozní řád ÚOCHB má charakter interního předpisu a vstupuje v platnost dnem jeho schválení ředitelem. Platí do odvolání učiněného ředitelem.

7. února 2022



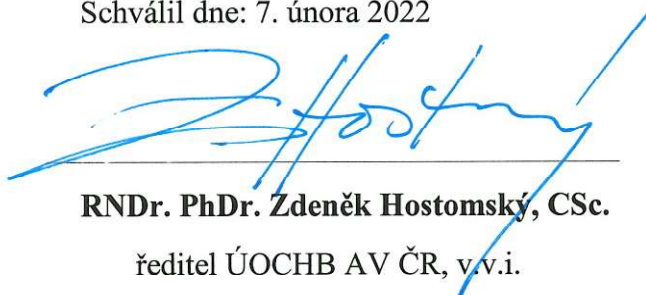
RNDr. Milan Kožíšek, Ph.D.
odborný poradce pro nakládání s GMO

Zpracovali:

Schválil dne: 7. února 2022



Ing. Ludmila Jandová



RNDr. PhDr. Zdeněk Hostomský, CSc.
ředitel ÚOCHB AV ČR, v.v.i.

Přílohy:

1. Požadavky na uzavřený prostor a ochranná opatření pro uživatelská zařízení pro živočichy podle Vyhlášky č. 209/2004 Sb

Příloha 1. Požadavky na uzavřený prostor a ochranná opatření pro uživatelská zařízení pro živočichy podle Vyhlášky č. 209/2004 Sb.

	kategorie rizika II	
1. Zvířetník je oddělená jednotka	požadováno	splněno
2. Prostory pro živočichy oddělené uzavíratelnými dveřmi	požadováno	splněno
3. Prostory pro živočichy a pomocná zařízení provedeny tak, aby se daly snadno čistit a dekontaminovat (materiály nepropustné pro vodu, snadno omyvatelné a dezinfikovatelné)	požadováno	splněno
4. Podlaha a stěny místností snadno omyvatelné	požadováno pro podlahu	splněno
5. Zvířata jsou chována v přiměřených bariérových zařízeních, jako jsou chovné nádoby, boxy nebo nádrže	požadováno	splněno
6. Filtry na izolátorech nebo izolovaných místnostech	požadováno jen, pokud tak vyplýne z hodnocení rizika	netýká se
7. V případě využívání produktů živočišného původu vytvoření podmínek pro kontrolu (např. veterinární hygienická kontrola)	požadováno	netýká se
8. Sprcha	požadováno v budově	splněno (v budově)
9. Ochranný oděv a ochranná obuv	požadován vhodný ochranný oděv (konkrétní typ a frekvence výměny vyplnou z hodnocení rizika), ochranná obuv požadována jen, pokud tak vyplýne z hodnocení rizika	splněno
10. Osobní ochranné pracovní prostředky	požadováno (konkrétní typ a frekvence výměny vyplnou z hodnocení rizika)	splněno
11. Odpočinková místnost	požadováno jen, pokud tak vyplýne z hodnocení rizika	splněno (v budově)