

# GLP v biologii – syllabus (Luděk Bláha, RECETOX)

GLP v biologii – základy QA/QC

Přehled aplikací a postupů vyžadujících GLP + příkladová studie

Vybraná témata detailněji:

Léčiva a jejich regulace

Zajištění zdraví člověka (a zajištění parametrů kvality)

Bezpečnost látek pro člověka - toxikologické studie

Laboratorní a pokusná zvířata

Bezpečnost látek pro prostředí - ekotoxikologie

Alternativní testovací systémy

Problematika GMO

# Co vyžaduje SLP ? ...zákony

[http://www.mvcr.cz/  
clanek/sbirka-zakonu.aspx](http://www.mvcr.cz/clanek/sbirka-zakonu.aspx)

MINISTERSTVO VNITRA  
ČESKÉ REPUBLIKY

Mapa serveru ▶ Textová verze ▶ English ▶ Rozšíření

Úvod O nás Služby pro veřejnost Informační servis eGovernment EU Nabídky a zakázky Pr

SBÍRKA ZÁKONŮ

## Stejnopisy Sbírký zákonů

Ministerstvo vnitra zveřejňuje **stejnopis** Sbírký zákonů a Sbírký mezinárodních smluv v souladu s § 12 zákona 309/1999 Sb., o Sbírcé zákonů a o Sbírcé mezinárodních smluv. Aktuálně jsou zveřejňovány všechny nově vydávané částky Sbírký. V červenci 2005 byly doplněny na webovém serveru Ministerstva vnitra všechny částky Sbírký vydané v předchozích letech. Tím Ministerstvo vnitra naplňuje ustanovení uvedeného zákona. Není úkolem ani cílem Ministerstva vnitra poskytovat textové vyhledávání ve zveřejněných zákonech. K vyhledávání v zákonech doporučujeme využít stránku [Vyhledávání v předpisech ze Sbírký zákonů](#) na Portálu veřejné správy.

[Sbírký zákonů a mezinárodních smluv - archiv od roku 1945 do června 2008](#)

## Zákony od 30. června 2008

5. listopadu 2010  
[Částka 111, 301-305](#) (pdf, 699 kB)  
301 / 2010

Vyhláška, kterou se zrušuje vyhláška Ministerstva financí č. 85/1997 Sb., o nájemném z bytů pořízených v družstevní bytové výstavbě a úhradě za plnění poskytovaná s užíváním těchto bytů

Archiv do 2008

Nové

# GLP v biologii - úvod

- BIOLOGIE – experimentální věda vs. Praktická biologie/biochemie/mikrobiologie atd.
- Nutnost dodržovat GLP zejména, když výsledky jsou využity při rozhodování

## = Praktická biologie a biochemie

- Léčiva (registrace/povolení, výroba, kontrola, přípravy...)
- Lékařská biologie a biochemie
- Mikrobiologická kvalita (potraviny, pitná voda)
- Průmyslové chemické látky, potravní aditiva, potenciálně nebezpečné agens (geneticky modifikované organismy) .. a jejich bezpečnost = toxikologie, ekotoxikologie, biodegradabilita,
- Další zákonem dané oblasti ve vztahu k biologii – dodržení etických požadavků (např. práce se zvířaty/obratlovci)

# GLP v biologii – základní principy a příkladová STUDIE

- V Biologii platí stejné principy jako pro chemické analýzy (viz předchozí přednášky – QA/QC, detailní SOPs, dokumentace ...)
- Příklad - „jednoduché“ STUDIE v režimu GLP



# Příkladová STUDIE (*viz příloha*)

- Cíl studie:
- Podkladový materiál pro registraci (povolení) využití aspirinu u prasat
- Jeden z dílčích podkladových materiálů - popis farmakokinetiky aspirinu u prasat po jednorázovém podání (příklad)
  
- Experimentální design:
  - 8 zvířat (prasat), jednorázová aplikace aspirinu
  - odběry krve v definovaných časech (0-144 h)
  - sledování hladin metabolitů K. AcSal a vyhodnocení
  
- Realizace:
  - 1) Plán projektu (100 stran + přílohy SOPs)
  - 2) Výstup – Zpráva z realizace (detailní dokumentace vč. Veškerých odchylek)
  - Přímá – jmenovitá – odpovědnost konkrétních osob ... atd.

# GLP v biologii 1 – Léčiva

# GLP v biologii 1 – Léčiva

- GLP & přesná dokumentace vyžadována u humánních i veterinárních léčiv:
  - Registrace před použitím
    - průkaz a dokumentace farmakokinetiky, cílové aktivity ve srovnání s existujícími postupy, bezpečnost pro lidi + nově i pro životní prostředí ...
  - Dokumentace celého životního cyklu - výroba, přípravy v lékárnách, kontrola kvality, aplikace, reporting vedlejších účinků, likvidace (nebezpečný odpad)
  - Státní authority:
    - SÚKL (Státní úřad pro kontrolu léčiv)
    - ÚSKVBL (Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv)



Home » Činnost SÚKL

## Činnost SÚKL

❖ Činnost SÚKL

❖ Důležité informace a upozornění SÚKL

❖ Přehledy a databáze - léčiva

❖ Přehledy cen a úhrad léčiv

❖ Přehledy a databáze - další

❖ Hlášení pro SÚKL

❖ Spotřeby a jiná hodnocení

❖ Informační středisko

❖ Komunikace s médii

❖ Archiv

❖ Kontakty, mapy, spojení



INFORMAČNÍ PORTÁL PRO  
VĚŘEJNOST



[Centrální úložiště](#)



[Ceny a úhrady léčiv](#)



[Hraniční přípravky](#)



[Registrace léčiv](#)



[Klinické hodnocení léčiv](#)



[Specifické léčebné programy](#)



[Léčiva výdej, prodej a příprava](#)



[Farmakovigilance](#)



[Hemovigilance](#)



[Distribuce léčiv](#)



[Dozor nad výrobou léčiv](#)



[Lidské tkáně a buněk](#)



[Prosazování práva - Enforcement](#)



[Dozor nad reklamou](#)



[Laboratorní činnosti a lékopisy](#)



[Zdravotnické prostředky](#)



[Publikační činnost](#)



[Administrační činnost](#)



[Konzultace SÚKL](#)



[Legislativa](#)





Organizační schéma

Historie

Činnost ústavu ▶

Politika jakosti

Úřední deska

Zlepšete si ÚSKVBL

Kontakty ▶

Výběrová řízení

Home ▶ Agentura ▶ Činnost ústavu

## Činnost ústavu

Napsal uživatel Jiří Bureš

### Činnost Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů

Zřizovatelem Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv je Ministerstvo zemědělství ČR. Činnost Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv je založena a vychází z obecně závazných právních předpisů - zejména zákona č. **378/2007 Sb.**, o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů.

Dalšími zákony, které upravují opodvědnost Ústavu jsou:

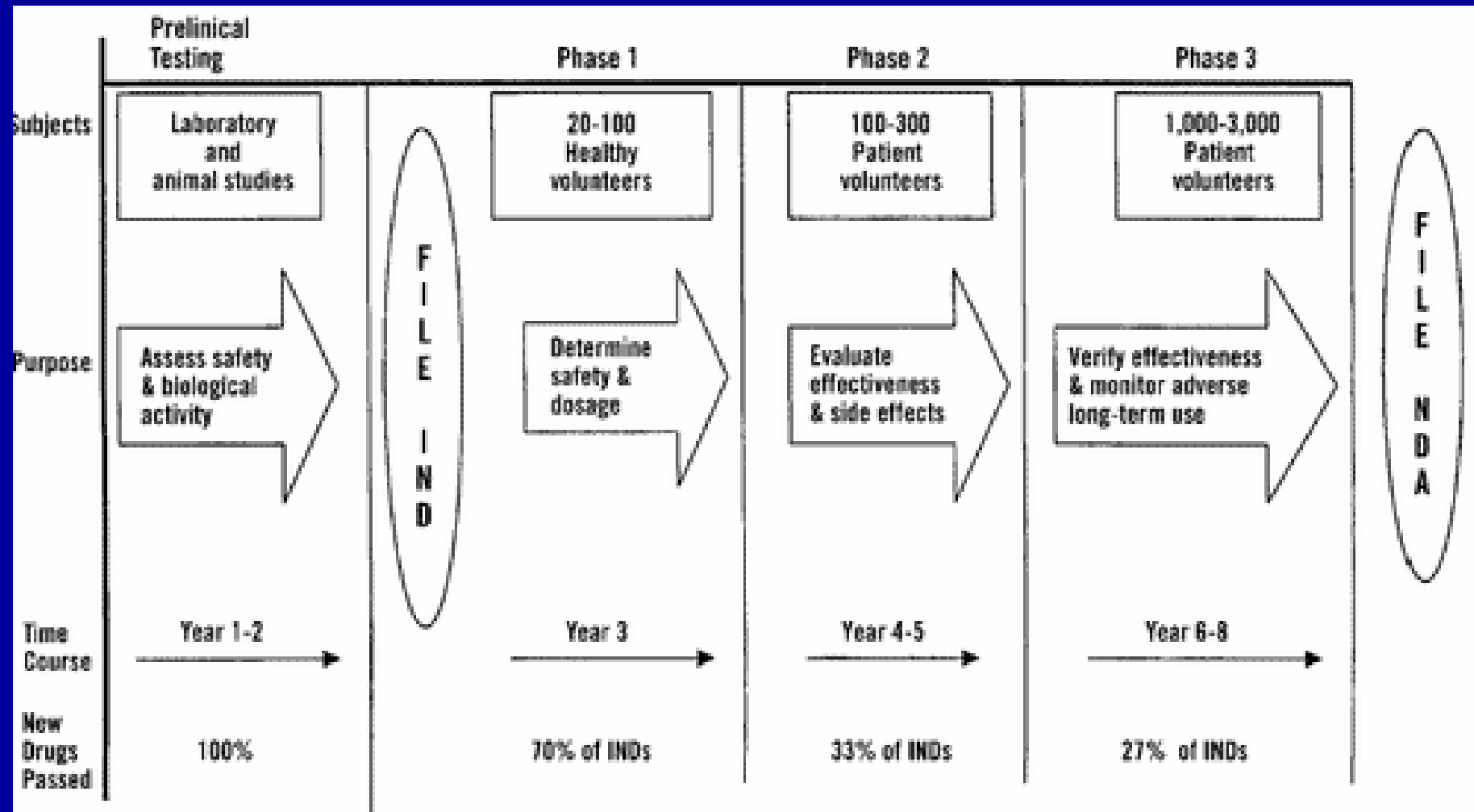
- zákon č. **166/1999 Sb.**, o veterinární péči
- zákon č. **78/2004 Sb.**, o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty,
- zákon č. **477/2001 Sb.**, o obalech a o změně některých zákonů,
- zákon č. **40/1995 Sb.**, o regulaci reklamy a o změně a doplnění zákona č. 468/91 Sb., o provozování rozhlasového a televizního vysílání, ve znění pozdějších předpisů

Ústav tak vykonává činnost v oblasti regulace veterinárních léčiv, veterinárních přípravků a veterinárních technických prostředků.

Kromě vnitrostátní právních předpisů vykonává Ústav činnost v souladu s požadavky přímo použitelných předpisů Společenství. Jde zejména o nařízení (ES) č. **726/2004**, kterým se upravuje činnost v oblasti registrace centralizovaným postupem a dále činnost ve



# Vývoj nových léčiv



# Vývoj nových léčiv

## Fáze výzkumu, vývoje a registrace nových léků

	Preklinická fáze	Fáze I.	Fáze II.	Fáze III.	Fáze schvalování	Fáze IV.
<b>Počet let</b>	3-5	1 rok	2 roky	3 roky	2,5 roku	
<b>Studovaná populace</b>	Laboratorní a experimentální testování	20-80 zdravých dobrovolníků	100-300 zdravých dobrovolníků	1000-4000 zdravých dobrovolníků	Proces hodnocení a schvalování	Další sledování v každodenní klinické praxi po registraci
<b>Cíl</b>	Hodnocení bezpečnosti a biologické aktivity	Bezpečnost a dávkování	Účinnost a nežádoucí účinky	Verifikace účinnosti a monitorace reakcí v delším sledování	1 látka z původních 5000	Zrušení registrace?
<b>Úspěšnost</b>	5 000 látek	Studováno pouze 5 látek				

12 (ale také až 16) let

900 milionů - 1 miliarda USD

Jen 3 z 10 produktů na trhu vydělají tolik, že to uhradí náklady na výzkum a vývoj

# GLP v biologii 1 – Léčiva

- Základní zákonný dokument:
- Český lékopis  
(viz *příklad*: ke zkoušce znát vnitřní strukturu a základní obsah)
- Aktuální: Vyhl. MZd z roku 2009 (dopl. 2010)
- Požadavky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv
- *Řada dalších dílčích norem*  
(např. požadavky na přípravy/nakládání s cytotoxickými léčivy = vedlejší karcinogenní účinky ...)

# GLP v biologii 2

– ochrana (zdraví) člověka -

# GLP v biologii 2 – zdraví člověka

- Zdraví člověka ovlivňuje řada faktorů, jejichž KVALITA musí být kontrolována (státem) a GLP hraje významnou roli:
  - preklinické studie léčiv (viz dříve)
  - potraviny, pitná voda, rekreační voda, vnější ovzduší, pracovní ovzduší, hluchost ... (+léčiva)
  - zdravotní péče (vyšetření, analýzy ... správná lékařská praxe)
- Zajištění kvality = Authority – Ministerstva (MZe, MZd, MŽP) a zřizované ústavy (řada překryvů v kompetencích)
  - Státní zdravotní ústav
  - Zdravotní ústavy (zpr. krajské)
  - Hygienické stanice
  - Státní veterinární správa



5. listopad 2010

Zadejte hledaná slova



OBČAN  
PACIENT



ODBORNÍK  
ZDRAVOTNÍK



VEŘEJNÉ ZDRAVÍ



EVROPSKÁ UNIE

## Občan | Pacient

### Ministerstvo zdravotnictví

- O ministerstvu
- Poradní orgány ministra
- Přímou řízené organizace
- Zdroje informací
- Dotace
- Veřejné zakázky
- Pracovní příležitosti
- Protikorupční opatření ve zdravotnictví
- Informatika MZ
- Výroční zprávy dle zákona 106
- Závěrečný účet kap.335

### Úřední deska

- Žádost o informace
- Pište MZ
- Reforma na míru

[Hlavní stránka](#) / [Ministerstvo zdravotnictví](#) / [Přímou řízené organizace](#)

## Přímou řízené organizace

### Státní ústavy

Název organizace	Adresa	Telefon	Fax
<a href="#">Státní ústav pro kontrolu léčiv</a>	Šrobárova 48, Praha 10 - Vinohrady, 100 41	272 185 111, 255 726 111	272 739 995
<a href="#">Státní zdravotní ústav</a>	Šrobárova 48, Praha 10 - Vinohrady, 100 42	267 081 111	272 744 354

### Ústavy

Název organizace	Adresa	Telefon	Fax
<a href="#">Endokrinologický ústav</a>	Národní 8, Praha 1, 116 94	224 905 111	224 905 325
<a href="#">Masarykův onkologický ústav</a>	Žlutý kopec 7, Brno, 656 53	543 131 111	543 211 169

Nás

Tisknout  
 Odeslat

Informa

Publiko  
Poslední úprava: C

# Krajské hygienické stanice (www.khsbrno.cz)

www.khsbrno.cz

## Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně

KHS Jmk

**DATOVÁ SCHRÁNKA** - IČ: 71009191, ID schránky: jaaai36, typ schránky: **Orgán veřejné moci**  
povolený formát zasílaných příloh: **.pdf** aktualizace 1.7.2010

### Informace o orgánu ochrany veřejného zdraví ve smyslu zákona č. 106/1999 Sb., ve znění pozdějších předpisů

**Sídlo**

**Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně**  
Jeřábkova 4, 602 00 BRNO, ČR  
telefon: ředitelství – 545 113 034  
fax: 545 113 099  
E-mail: sekretariat@khsbrno.cz

**Charakteristika organizace**

**Krajská hygienická stanice Jihomoravského kraje se sídlem v Brně**  
(dále jen KHS JMK) je správní úřad, zřízený na základě § 78, písm. b) zákona č.258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů, a to k datu 1.1.2003.  
KHS JMK byla zřízena k výkonu státního zdravotního dozoru a dalších činností, vycházejících z platných právních předpisů. V čele KHS JMK je ředitel KHS JMK.




[O SZÚ](#)
[Kontakt](#)
[Vzdělávání](#)
[Publikace /  
Statistické](#)
[Povinně zveřejněné  
informace](#)
[Nabídka  
zaměstnání](#)
[Služby](#)
[Home](#) » [O SZÚ](#) » [Poslání ústavu](#)
[údaje](#)

## Poslání ústavu

Státní zdravotní ústav je příspěvkovou organizací ministerstva zdravotnictví. Jeho postavení a úkoly jsou stanoveny § 86 zákona č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a opatřením ministryně zdravotnictví čj: 31334/2002 ze dne 17. 12. 2002. Statutárním orgánem ústavu je ředitel, kterého jmenuje a odvolává na návrh hlavního hygienika České republiky ministr zdravotnictví. Sídlem ústavu je Praha.

V § 86 citovaného zákona se uvádí, že ústav se zřizuje k přípravě podkladů pro národní zdravotní politiku, pro ochranu a podporu zdraví, k zajištění metodické a referenční činnosti na úseku ochrany veřejného zdraví, k monitorování a výzkumu vztahů životních podmínek a zdraví k mezinárodní spolupráci ke kontrole kvality poskytovaných služeb k ochraně veřejného zdraví, k postgraduální výchově v lékařských oborech ochrany a podpory zdraví a pro zdravotní výchovu obyvatelstva.

Státní zdravotní ústav je zdravotnické zařízení a je oprávněn zpracovávat za účelem přípravy podkladů pro tvorbu státní zdravotní politiky a sledování dlouhodobých trendů výskytu infekčních a jiných hromadně se vyskytujících onemocnění údaje o zdraví fyzických osob v souvislosti s předcházením vzniku a šíření infekčních onemocnění, ohrožení nemocí z povolání a jiných poškození zdraví z práce, o expozici fyzických osob škodlivinám v pracovním a životním prostředí a o epidemiologii drogových závislostí a předávat je orgánům ochrany veřejného zdraví.

[> Témata zdraví a bezpečnosti](#)
[> Aktuality](#)
[> Integrovaný operační program - IOP](#)
[> Autorizace a kvalita služeb v ochraně veřejného zdraví](#)
[> Věda a výzkum](#)
[> Knihovna](#)
[> Odkazy](#)

# Zdravotní ústavy (příspěvkové organizace) – např. www.zubrno.cz



## ZDRAVOTNÍ ÚSTAV SE SÍDLEM V BRNĚ



[Domů](#) [Poradny](#) [Objednávky](#) [O nás](#)

### Zdravotnické služby

Očkování a cestovní medicína  
Fyziologie a psychologie práce  
Zdravotní rizika  
Pracovní lékařství

### Klinické služby

Genetická toxikologie  
Bakteriologie  
Diagnostika TBC

### Laboratorní služby

Vzorkování a servis  
Anorganické analýzy  
Organické analýzy  
Biologické analýzy  
Faktory prostředí

### Provádíme rozbor

#### Vody

Rozbor pitné vody  
Rozbor vody ze studni  
Rozbor povrchové vody  
Rozbor bazénové vody  
Rozbor dialyzační vody  
Rozbor odpadní vody

#### Zemin Kalů Sedimentů Odpadů Potravin

#### Výluhy

Předměty běžného užívání  
Před. přicházejících do sytku s pit. vodou

#### Rozbor účinnosti desinfekčních látek

#### Kontrola účinnosti sterilizace

#### Ekotoxikologické testy



### ZDRAVOTNÍ ÚSTAVY POKRAČUJÍ VE SVÉ ČINNOSTI!

V nedělních televizních novinách (10.10.) byla zveřejněna reportáž o zrušení Zdravotních ústavů. Protože Zdravotní ústavy nebyly o této skutečnosti dosud oficiálně informovány, máme zato, že jde pouze o jednu z pracovních verzí nadále pokračující transformace hygienických stanic a Zdravotních ústavů.

Ujistujeme tímto všechny naše klienty a veřejnost, že veškerý odborný personál Zdravotního ústavu se sídlem v Brně je vám nadále k dispozici na obvyklých místech a telefonních číslech.

# Státní veterinární **správa**

→ krajské veterinární správy (dozorující orgány jako KHS)

Státní veterinární správa  
České republiky

Hlavní stránka | Tiskové zprávy | Úřední deska | Kontakty

Základní informace »  
Adresář organizací SVS ČR »  
Zákazy a omezení »  
Informační systém »  
Informace z legislativy »  
Publikace SVS ČR »  
Zdraví zvířat »  
Pohoda zvířat - welfare »  
Formuláře ke stažení »  
Krajské veterinární správy »  
Laboratorní diagnostika »  
Registrované subjekty »  
Tiskové zprávy »

## O Státní veterinární správě ČR

16.04.2006

**Státní veterinární správa České republiky (SVS ČR)** je organizací, která ze zákona vykonává dozor nad zdravím zvířat, nad tím, aby nebyla týrána, nad zdravotní nezávadností potravin živočišného původu, nad ochranou našeho území před možným zavlečením nebezpečných nákaz nebo jejich nositelů. Přímou i nepřímou zodpovídá i za zdraví občanů. Všechny povinnosti a práva SVS ČR jsou nejnověji vyjmenovány a popsány ve veterinárním zákoně č.166/1999 Sb., který platí od 28.9.1999.

- [Zpráva o činnosti Státní veterinární správy ČR za rok 2006](#)
- [Výkaznictví organizačních složek státu](#)
- [Výkaznictví příspěvkových organizací](#)
- [Organizační schéma SVS ČR](#)

# Státní **veterinární ústav** (příspěvková organizace MZe)



**SVU Praha**  
Státní veterinární ústav Praha

- ▶ [Home](#)
- ▶ [Diagnostika](#)
- ▶ [Vyšetření potravin](#)
- ▶ [Akreditace](#)
- ▶ [BSE](#)
- ▶ [Svozně linky](#)
- ▶ [Školící středisko](#)
- ▶ [Aktuality](#)
- ▶ [Mapa](#)
- ▶ [Napište](#)
- ▶ [Objednávky](#)

**Stanovení dibenzodioxinů, furanů (PCDD/PCDF)**  
a planárních kongenerů PCB metodou HRGC/HRMS (vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie a plynové chromatografie) na

**Stanovení hladiny protilátek proti viru vztekliny**  
Na základě rozhodnutí EU komise SCoFCAH ze dne 19.8.2005 je SVÚ Praha oprávněn k vykonávání testace na přítomnost protilátek proti

**Diagn**  
**PrioS**  
nejrych  
během

## Úvodní stránka - Home



**Státní veterinární ústav Praha** (SVÚ Praha) je příspěvkovou organizací zřízenou Ministerstvem zemědělství ČR.

Provádí:

# GLP v biologii 2 – zdraví člověka

- Pro každou kategorii, tj.:
  - Potraviny, Pitná voda, Rekreační voda, Ovzduší
  - Zdravotní péče

definovány různé požadavky na kvalitu

- Chemické rozbory - limity pro vybrané toxické látky (různé druhy potravin, různé limity): toxické kovy – př. Hg, toxiny plísní, persistentní látky (polychlorované bifenyly, dioxiny), pesticidy, nepovolené náhražky
- Mikrobiologická bezpečnost (kultivace nebo jiný průkaz patogenů - např. metody molekulární biologie - Listerie)
- Specifické požadavky (např. prašnost – např. limity pro PM10 = particulate matter >10micrometrů, hlučnost ...)
- Lékařská vyšetření a analýzy (např. průkaz rakovinných biomarkerů, těhotenství, přítomnost HIV ...)

# GLP v biologii 2 – zdraví člověka

- Pro každou kategorii, tj.:
  - Potraviny, Pitná voda, Rekreační voda, Ovzduší
  - Zdravotní péče

definovány různé požadavky na kvalitu

- Chemické rozbor - limity pro vybrané toxické látky (různé druhy potravin, různé limity): toxické kovy – př. Hg, toxiny plísní, persistentní látky (polychlorované bifenoly, dioxiny), pesticidy, nepovolené náhražky
- Mikrobiologická bezpečnost (kultivace nebo jiný průkaz patogenů - např. metody molekulární biologie - Listerie)
- Specifické požadavky (např. prašnost – např. limity pro PM10 = particulate matter >10micrometrů, hlučnost ...)
- Lékařská vyšetření a analýzy (např. průkaz rakovinných biomarkerů, těhotenství, přítomnost HIV ...)

# GLP v biologii 2 – zdraví člověka

- Ten sleduje kvalitu (odpovědnost)
  - výrobci (voda, potraviny...), ale i prodejci
  - zdroje potenciálního znečištění (průmysl, čistírny Odp. vod ...)
  - ale i běžný občan, NGO ...
- Musí (může) objednávat požadované rozbory:
  - Zajištění rozborů
    - **akreditované laboratoře**
      - Soukromé laboratoře
      - Státní zdravotní ústav, Zdravotní ústavy, Veterinární ústavy ...

## **GLP v biologii 3**

# **Využití obratlovců jako modelů v biologii**



# GLP v biologii 3 – MODELŮ v biologii

- Existuje mnoho přístupů v biologii  
(řada **musí** být využívána při hodnocení  
„bezpečnosti“ pro zdraví člověka – viz předchozí  
diskuze – léčiva, bezpečnost chemických látek ...)
- Obratlovci:
  - in vivo (zvířata)
  - ex vivo (orgány zvířat)
  - in vitro (buňky, buněčné linie)
- Bezobratlí
- Rostliny
- Bakterie

# Využití zvířat (=obratlovců)

– *zvláštní případ (etické aspekty...)*

- Právní rámec – nutnost regulace
  - Zákon na ochranu zvířat proti týrání 246/1992
  - Vyhláška 311/1997 (o využití pokusných zvířat)
- Odpovědný úřad
  - Ministerstvo zemědělství a jeho Ústřední komise pro ochranu zvířat

### Ochrana zvířat

Uživatelské jméno: Heslo: [Přihlásit](#)

- [Aktuality v ochraně zvířat](#)
- [Ochrana zvířat obecně](#)
- [Oddělení ochrany zvířat](#)
- [Ústřední komise pro ochranu zvířat](#)
- [Obce - náhrady, vyhlášky](#)
- [Veřejná vystoupení a chov zvířat](#)
- [Pokusná zvířata](#)
- [Přeprava zvířat](#)
- [Druhy zvířat vyžadující zvláštní péči](#)
- [Kursy k získání odborných způsobilostí](#)
- [Legislativa](#)
- [Publikace a dokumenty](#)
- [Formuláře a podání](#)
- [Často kladené otázky](#)

### Ochrana zvířat



**především Ministerstvo zemědělství, včetně Ústřední komise pro ochranu zvířat, a orgány veterinární správy.**

Zákon zakazuje týrání zvířat i všechny formy propagace týrání zvířat. Jeho účelem je chránit zvířata, jež jsou živými tvory schopnými pociťovat bolest a utrpení, před týráním, poškozováním jejich zdraví a jejich usmrcením bez důvodu, pokud byly způsobeny, byť i z nedbalosti, člověkem.


Zákon stanoví, které činnosti jsou považovány za týrání zvířat, důvody k usmrcení zvířete, upravuje ochranu zvířat při usmrcování, použití znečitlivění, ochranu zvířat při veřejném vystoupení a povinnosti pořadatelů těchto akcí, ochranu zvířat při přepravě. Stanoví podmínky, které je nutno dodržovat při chovu hospodářských zvířat a zvířat v zájmových chovech, podmínky chovu a


„Zvířata jsou stejně jako člověk živými tvory, schopnými na různém stupni pociťovat bolest a utrpení, a zasluhují si proto pozornost, péči a ochranu ze strany člověka.“ Tak zní preambule zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, základního právního předpisu týkajícího se ochrany zvířat, na jehož základě je postavena činnost všech státních orgánů ochrany zvířat v České republice. Těmi jsou

#### eAGRI

Vítejte na internetovém portále Ministerstva zemědělství eAGRI, který nahradil internetové stránky [www.mze.cz](http://www.mze.cz).

#### Novinky

[Vyjádření k problematice označování psů čipem podle obecně závazné vyhlášky obce a k vlivu čipování na zdravotní stav psa](#)  (PDF, 150 KB)

[Vyjádření k problematice zřizování útulků a tzv. depozitů](#)  (PDF, 103 KB)

#### Náhrady

31.5.2010

[Další novinky >](#)

#### Kalendář

« « **listopad 2010** » »

# Využití zvířat (=obratlovců)

## – zvláštní případ (etické aspekty...)

- Zákon 246/1992 a Vyhláška 311/1997 definují
  - CO je zvíře = jen OBRATLOVEC (kromě embryí a plodu)
    - typy zvířat, laboratorní / pokusné ...
  - KDO smí zvířata využívat
    - Vyžaduje se registrace ÚKOZ (MZe)
    - Etické komise jednotlivých pracovišť
  - (mimo jiné) KDY se smí zvířata využívat pro pokusy
    - Ochrana zdraví člověka a prostředí
    - Výuka tam, kde je to nezbytné
  - JAK lze experimenty realizovat (dodržování pravidel GLP)
    - Zdůvodnění využití zvířat (musí být schváleno etickou komisí)
    - projekt pokusu, protokol pokusu, evidence

# Význam využití zvířat (obratlovců, savců / pokusných zvířat)

- Unikátní 3D prostorové uspořádání
- Fyziologické a Farmako(Toxo)kinetické procesy (podobné s člověkem)
- Lze pozorovat komplexní účinky (podobné s člověkem)
- Mnoho látek má více mechanismů toxického efektu
- Z těchto a dalších důvodů - nutno testovat in vivo
  - Účinnost léčiv (vč. Vedlejších účinků)
  - Bezpečnost kosmetických přípravků
  - Toxicita chemických látek pro člověka



**LEGISLATIVA EU  
„REACH“**

## Zákon stanoví kdy lze pokusných zvířat využít

- výroba, vývoj, kontrola kvality, nezávadnosti a účinnosti léčiv, biopreparátů, potravin a event. jiných výrobků
- studium nemocí, prevence, diagnostika, léčení
- studium fyziologických procesů
- ochrana životního prostředí
- výuka na SŠ a VŠ

## Zákon stanoví - kdy se zkoušení vyžaduje

### OCHRANA ČLOVĚKA a HOSP. ZVÍŘAT

potraviny, zemědělské látky

kontrola léčiv

výroba léčiv - farmakologické preklinické studie

farmakokinetika

nežádoucí účinky

toxická (akutní, chronická)

mutagenita, kancerogenita

reprodukční toxicita

# GLP 4

## Bezpečnost chemických látek - úvod

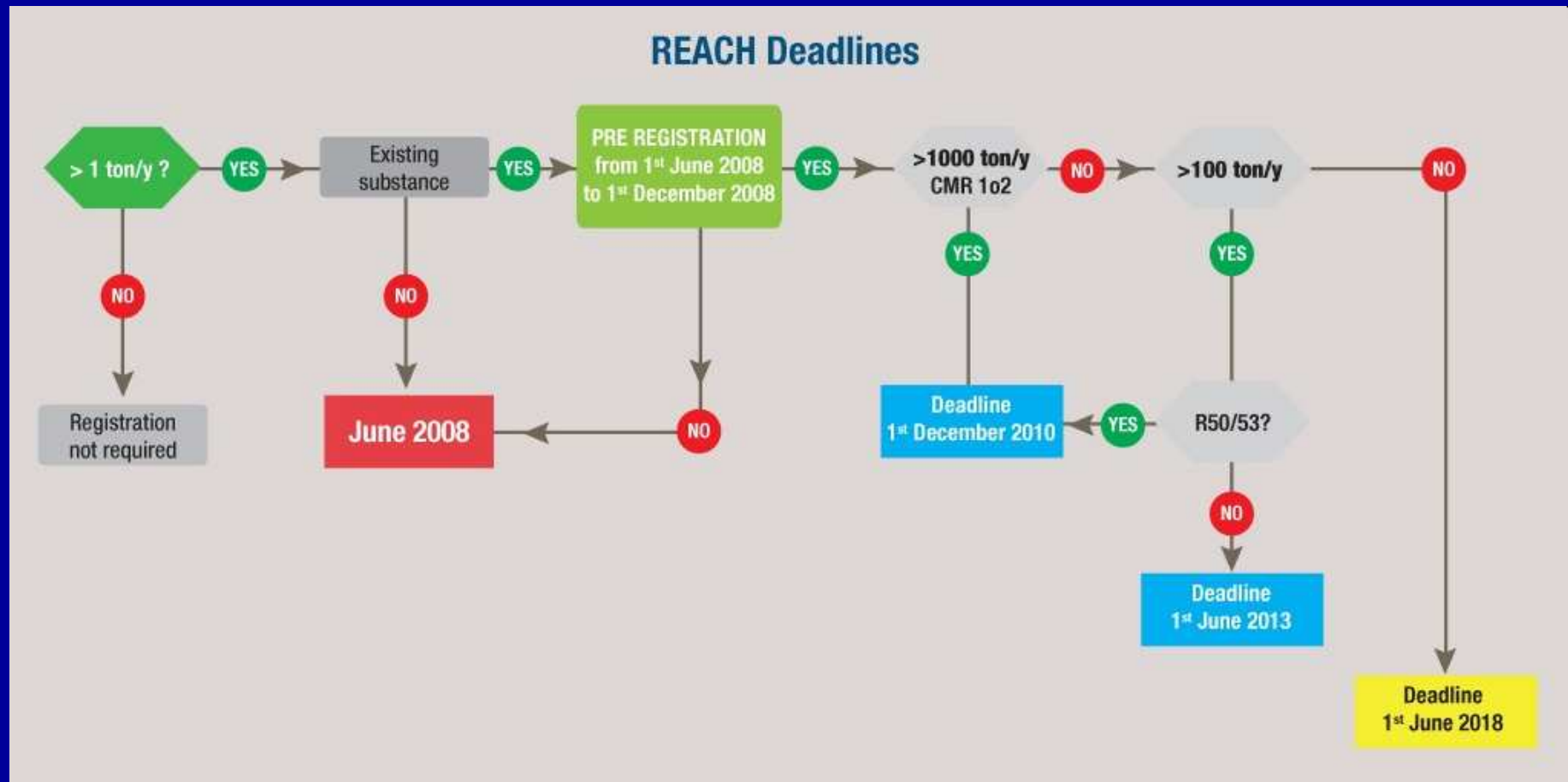
# Jsou nebezpečné/toxické látky regulovány ?

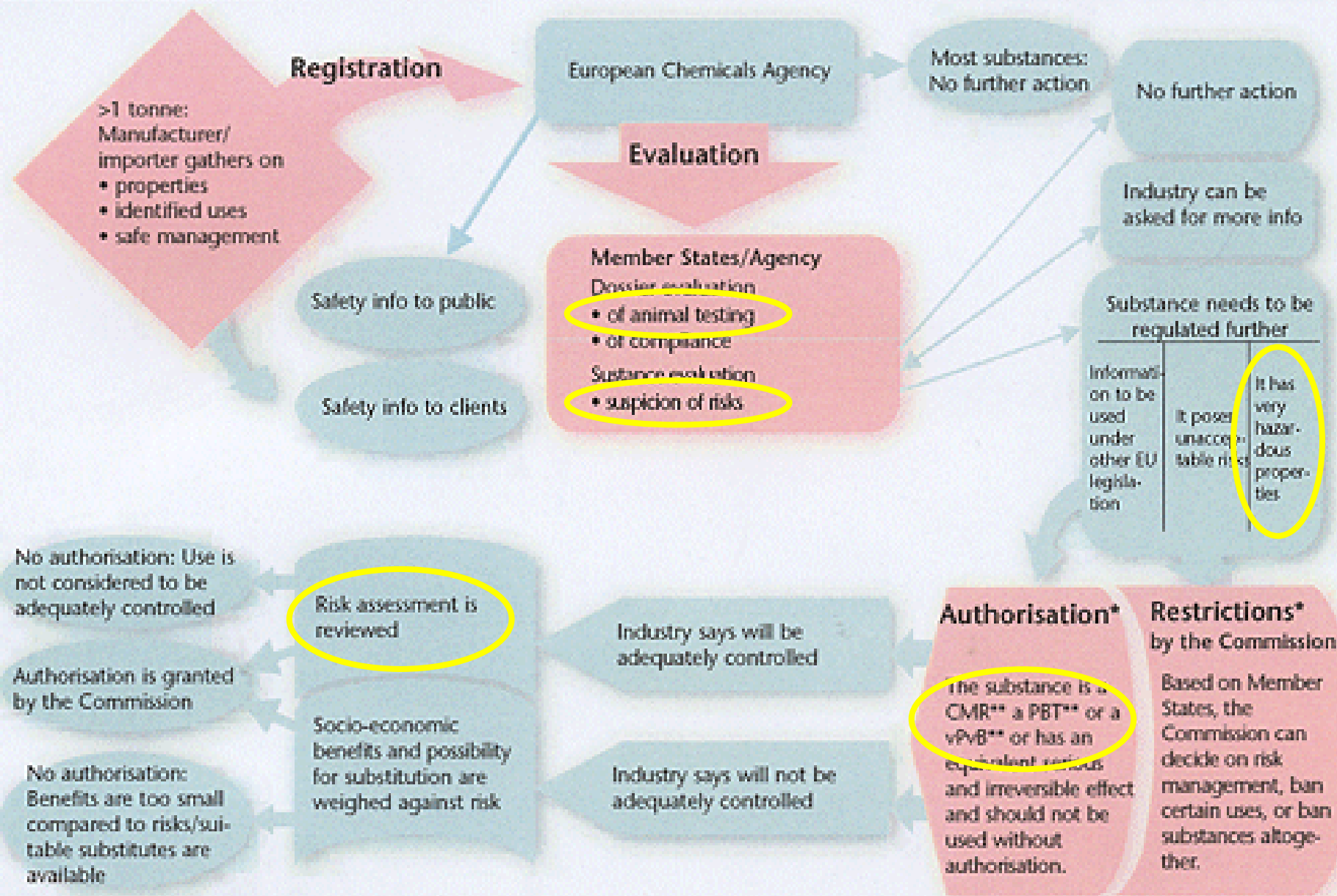
- Do nedávna – neexistovala povinnost průmyslu prokazovat bezpečnost chemikálií
- Existovala řada různých (často protichůdných) regulací
- Současnost
  - EU = sjednocení – nová legislativa REACH
  - USA, Japonsko, Canada atd. – podobný vývoj
- *Pro zvláštní případy stále existují specifické direktivy (např. pesticidy ...)*



# REGULACE chem. látek v EU

- Evropská unie - ECHA (*European Chemical Agency*)
- REACH (*Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*)





\* Substances do not have to be registered or evaluated to be placed under authorisation or restriction. They can be identified in other ways.

\*\* Can cause cancer or mutations, or is toxic to reproduction; or is persistent, bio-accumulative and toxic, or very persistent and very bio-accumulative.

# *REACH (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals)*

- Všechny chemikálie vyráběné nebo dovážené do EU musí být registrovány, zhodnoceny (testovány) a autorizovány (náklady nese průmysl)
- Hodnocení rizik – cca 30000 chemikálií
  - harmonogram dle důležitosti (nejdříve HVP - High Volume Production chemicals > 1000 t/rok, postupně ostatní)
- Hodnocené parametry
  - Fyz.chemi. vlastnosti + degradabilita, persistence
  - Toxicita pro člověka
  - Nebezpečnost pro prostředí - ekotoxicita

## REACH EU - předp. počty testovaných chemikálií

Table 6. Estimated testing needs (% of total number of substances)

Endpoint	Minimum	Average	Maximum
6.3 Skin sensitisation	7486 (25.5)	10293 (35.1)	13728 (46.8)
6.2 Eye irritation (incl. <i>in vivo</i> )	5923 (20.1)	6910 (23.5)	8182 (27.9)
6.4.4 <i>In vivo</i> mutagenicity study	6580 (22.4)	6580 (22.4)	6580 (22.4)
7.1.2 Growth inhibition algae	2638 (9.0)	5277 (18.0)	11466 (39.1)
7.1.4 Active sludge respiration test	4616 (15.7)	4616 (15.7)	4616 (15.7)
7.1.1 Short-term <i>Daphnia</i> toxicity	2321 (7.9)	4096 (14.0)	8798 (30.0)
6.1 Skin irritation/corrosion (incl. <i>in vivo</i> )	1974 (6.7)	3949 (13.4)	5817 (19.9)
7.2.2.1 Hydrolysis	2691 (9.2)	3425 (11.7)	4518 (15.4)
6.4.1 Gene mutation study in bacteria	875 (3.0)	2916 (9.9)	6424 (21.9)
6.4.2 Cytogenicity study in mammalian cells	875 (3.0)	2916 (9.9)	6424 (21.9)
6.7.2 Development toxicity study	2408 (8.2)	2893 (9.9)	3711 (12.6)
7.2.1.1 Ready biodegradability test	1574 (5.4)	2624 (8.9)	5752 (19.6)
6.7.3 Two-generation reproduction toxicity	1665 (5.7)	2135 (7.3)	2699 (9.2)

# REACH EU

## *předp. náklady na testování*

Table 8. Estimated testing costs for most costly endpoints (Million EURO)

Endpoint	Minimum	Average	Maximum
6.7.2 Development toxicity study	396	476	611
6.7.3 Two-generation reproduction toxicity	293	376	475
6.4.4 <i>In vivo</i> mutagenicity study	129	129	129
6.6.2 Sub-chronic toxicity	76	111	210
6.6.3 Long-term repeated dose toxicity study (incl. 6.9 Carcinogenicity study)	44	52	73
6.6.1 Short-term repeated dose toxicity study	13	49	189
6.4.2 Cytogenicity study in mammalian cells	16	52	116
6.3 Skin sensitisation	29	40	54
7.2.1.1 Ready biodegradability test	19	32	71
7.3.2 Accumulation	14	28	67
7.1.2 Growth inhibition algae	13	26	57
6.7.1 Development toxicity screening	12	26	101
7.2.2.1 Hydrolysis	16	21	28

# GLP 4

## Bezpečnost chemických látek pro člověka

*(toxicita, karcinogenita / lab. zvířata)*

# Které látky jsou toxické ?

- Každá látka je toxická, záleží jen na **DÁVCE** a **DOBĚ PODÁNÍ** (expozice)
  - Krátkodobá (**akutní**) **expozice**
    - > akutní rychlé účinky (smrt)
  - Dlouhodobá (**chronická**) **expozice**
    - > problematictější efekty (nemoci, nádory, imunotoxicita, reprodukční toxicita ...)
- Hodnocení a srovnání toxicity:
  - nejč. **LD50 (letální dávka 50)** – dávka, která s největší pravděpodobností způsobí smrt 50% exponovaných jedinců (vyjádření jako koncentrace – např. mg/kg živé váhy)
  - další parametry „bezpečnosti“ – např. **TDI –tolerovatelný denní příjem** (např. mg/kg živé váhy/den)

# AKUTNÍ TOXICITA

## perorální podání – lab. zvíře: potkan

DL <sub>50</sub> perorálně, potkan	charakteristika	Přibližně odpovídající smrtelná dávka pro člověka	porovnávací látka, DL <sub>50</sub> perorálně, potkan
< 5 mg/kg	krajně jedovatá	Špetka (cca 0,1 g)	TEPP 1,2 mg/kg fluorocyan sodný 1,5 mg/kg
5 - 50 mg/kg	velmi jedovatá	Čajová lžička (4 ml)	KCN 13 mg/kg HgCl <sub>2</sub> 37 mg/kg
50 - 500 mg/kg	Jedovatá	Polévková lžice (30g)	NaF 200 mg/kg DDT 400 mg/kg
0,5 - 5 g/kg	málo jedovatá	Šálek (250 g)	amylalkohol 1,0 g/kg ethylenglykol 6,1 g/kg
5 - 15 g/kg	prakticky nejedovatá	půllitr	aceton 9,8 g/kg ethanol 14,0 g/kg
>15 g	relativně neškodná	Litry nebo kg	glycerin 28,0 g/kg

**Tab. č. I :** Rozdělení toxických látek podle akutní toxicity (Marhold: Přehled průmyslové toxikologie, SZdN - Praha 1964) Pozn.: TEPP je tetraethylpyrofosfát tj.  $(C_2H_5O)_2PO_2OPO_2(O.C_2H_5)_2$



# CHRONICKÁ TOXICITA

- Vyšetření méně specifických efektů při dlouhodobém (opakovaném) podávání
- Dávky pro testování se odvozují z akutní toxicity  
(nejvyšší koncentrace odpovídající LD50, dále 10x a 50x nižší)

- Délka studie závisí na „předpokládaném“ schématu podávání látky

- př. Léčivo

<b>předpokládané podávání</b>	<b>délka studie</b>
• 1-2 d/wk	2 wks
• 1,2,3 ...7 d	4 wks
• Opak 1-30 d	4 months
• Opak > 30 d	6 months

- Složitý design a řada požadavků
  - Zvířata (více druhů, stáří, pohlaví...), počty ve skupině
- Vyhodnocení - pitva (definované úkony), statistika ...
- Ekonomická náročnost , etické problémy ... GLP!

# REPRODUKČNÍ TOXICITA

- Zjišťuje se vliv na
  - sexuální chování zvířat
  - prenatální mortalitu
  - fetální abnormality & poškození během života
- Experimenty
  - změny fertility, vliv na F a M gamety (poměry narozených F a M); toxicita pro embrya a féty, změny gravidity ovlivňující féty, vliv na růst a vývoj dělohy a placenty, porod, postnatální vývoj a laktaci matky, vliv na potomstvo (*schopnost učení*)
- Složitý design a náročné vyhodnocení
  - viz chronická toxicita

# HODNOCENÍ KANCEROGENITY

- **Mutagenní a genotoxické látky** – zpravidla považovány za karcinogenní
  - Rakovina – velký problém pro západní civilizaci
  - Oproti jiným toxickým látkám - karcinogeny jsou považovány za „bezprahově působící“
    - Neexistuje bezpečná dávka (i jedna molekula může vyvolat efekt)
- **Experimentální průkaz karcinogenity** – nejnáročnější studie (*celoživotní expozice, stovky zvířat v experimentu ...*)
  - POZOR - ne vždy však existují korelace výsledků - zvíře vs. člověk (!)
- Řada klasifikačních schémat chemických látek
  - WHO (Světová zdravotnická organizace)
  - IARC - Intern. Agency for Research of Cancer

<http://www.iarc.fr>

International Agency for Research on Cancer

ENGLISH

FRANÇAIS

 Search

ABOUT IARC

RESEARCH SECTIONS

EDUCATION & TRAINING

MEETINGS

VACANCIES

PUBLICATIONS

MEDIA CENTRE

DATABASES

RESEARCH PROGRAMMES

USEFUL LINKS

CONTACT US

The International Agency for Research on Cancer (IARC) is part of the [World Health Organization](#).

IARC's mission is to coordinate and conduct research on the causes of human cancer, the mechanisms of carcinogenesis, and to develop scientific strategies for cancer prevention and control. The Agency is involved in both epidemiological and laboratory research and disseminates scientific information through publications, meetings, courses, and fellowships.

### IARC News

#### Prostate cancer incidence and mortality trends in 37 European countries: An overview



04/11/2010 -

Dr Bray and colleagues publish today in the European Journal of Cancer a paper describing prostate cancer incidence and mortality trends in Europe.

F. Bray, J. Lortet-Tieulent, J. Ferlay, D. Forman, A. Auvinen

Prostate cancer incidence and mortality trends in 37 European countries: An overview

European Journal of Cancer

Volume 46, Issue 17, Pages 3040-3052, November 2010, doi:10.1016/j.ejca.2010.09.013

Prostate cancer has emerged as the most common cancer in men in Europe, with incidence increasing rapidly in many European countries over the past two decades. In contrast, prostate cancer mortality has been decreasing in higher-resource countries within each region.

[Read more](#) , [Read article at the EJC website](#)

Global Cancer Statistics

GLOBOCAN 2008 is released and is part of the [CANCERmondial](#) website

# KLASIFIKACE IARC

- Group 1: The agent (mixture) is carcinogenic to humans.
- Group 2
  - Group 2A: The agent (mixture) is probably carcinogenic to humans.
  - Group 2B: The agent (mixture) is possibly carcinogenic to humans.
- Group 3: The agent (mixture or exposure circumstance) is not classifiable as to its carcinogenicity to humans.
- Group 4: The agent (mixture) is probably not carcinogenic to humans.

## Příklad

### Karcinogenita cytostatických (protinádorových) léčiv

Risk / Benefit analýza → využití jako léčiva

#### Group 1 (Carcinogenic to humans)

Arsenic trioxide  
Azothioprin  
Chlorambucil  
Chlomaphazine  
Cyclophosphamide  
Myleran  
Melphalan  
Semustine  
Tamoxifen  
Thiotepa  
Treosulfan  
Mustargen-Oncovin-Procarbazine-Pednisone (MOPP)  
Etoposide-Cisplatin-Bleomycin (ECB)

#### Group 2A (Probably carcinogenic)

Azacitidine  
BCNU  
CCNU  
Chlorozolocin  
Cisplatin  
Doxorubicin HCL  
N-Ethyl-N-Nitrosourea  
Etoposide  
Mechlorethamine HCL  
N-Methyl-nitrosourea  
Procarbazine HCL  
Teniposide

## GLP 5

Bezpečnost chemických látek pro  
prostředí

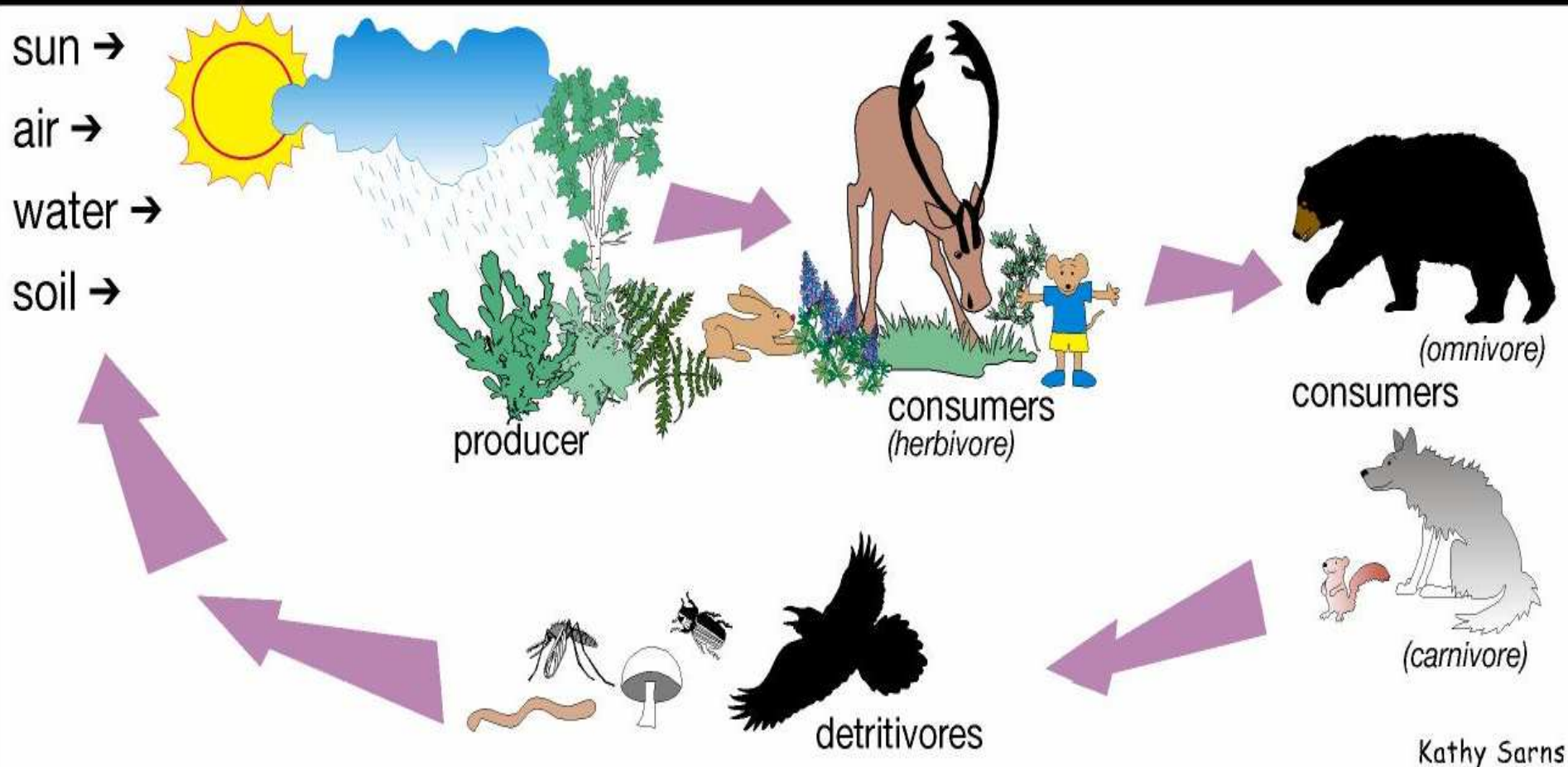
= *ekotoxikologie*

# Ekotoxikologie

- Věda s řadou aplikací, jejímž cílem je **racionálně chránit EKOSYSTÉM, populace a společenstva organismů**  
(na rozdíl o toxikologie – předmětem je ochrana jednoho druhu = člověk)
- Ekosystém – složitá struktura a funkce bioty
- Nutná je **ochrana všech stupňů (trofické úrovně)**
  - Producenti (řasy, rostliny ...)
  - Konzumenti různých řádů (bezobratlí, obratlovci)
  - Destruenti (mikroorganismy)
- Nelze otestovat účinky na všechny druhy
  - existují „modely“ = zástupci významných skupin (trofických stupňů)
- Hodnocení ekotoxicity – podobné principy jako toxikologie
  - LC50 (letální koncentrace 50), EC50 (efektivní koncentrace 50 – např. reprodukční toxicita)
  - NOEC – bezpečná hladina („no observed effect concentration“)



# Rovnováha ekosystému a význam potravních sítí



# Příklady modelů hodnocení – Ekotoxikologické biotesty

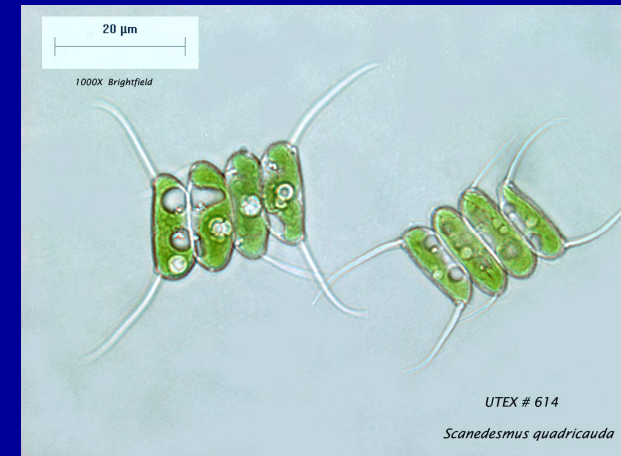
## Producenti

- ve vodě
- v půdním prostředí

## Řasové testy toxicity

### Řasy

*Selenastrum capricornutum*  
*Scenedesmus subcapitatus*  
*Sc. quadricauda*  
*Chlorella vulgaris*

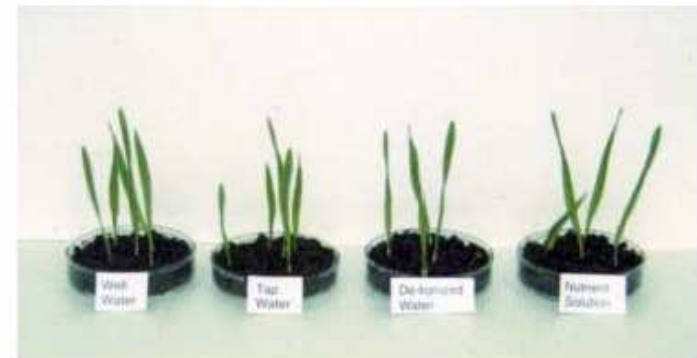


## Toxicita pro rostliny (terestrický ekosystém)

- zástupci jednoděložných i dvouděložných (užívá se více druhů)



**14-d Shoot Length  
IC50 = 29.7 mg/g**



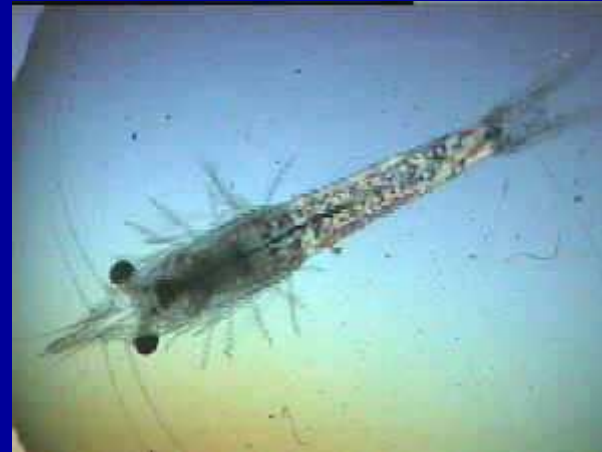
# Příklady - Ekotoxikologické biotesty

## Konzumenti – bezobratlí – vodní prostředí

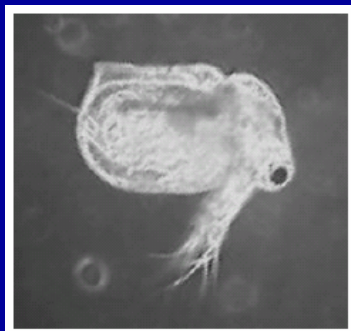
*Daphnia magna*



*Artemia salina*



*Ceriodaphnia dubia*



*Gammarus*



*Chironomus riparius*



# Příklady - Ekotoxikologické biotesty

## Konzumenti – obratlovci – vodní prostředí

Živorodka duhová (Paví očko), *Poecilia reticulata*



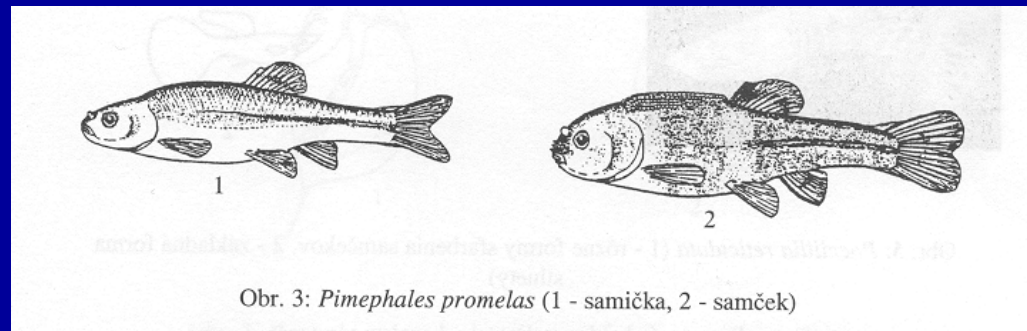
Karas (zlatá forma)



Zebříčka - *Danio rerio* (syn. *Brachydanio rerio*)



Sřevle - *Pimephales promelas*



Pstruh



# Experimentální uspořádání – testování ekotoxicity ve vodním prostředí



# BAKTERIE – významný model v testování

- Snadná kultivace, krátký generační čas, jednoduché uspořádání (jediná membrána), jednoduchý genetický aparát
- Využití při testování „bezpečnosti“ látek (i jiných vzorků – extrakty z potravin ...)
  - rychlé (skreeningové) **testy akutní toxicity** (MICROTOX)
  - **Testy na genotoxicitu** - jednoduché sledování poškození DNA: Amesův test

# Mikrobiální ekotoxikologické biotesty

## TEST AKUTNÍ TOXICITY - MICROTOX

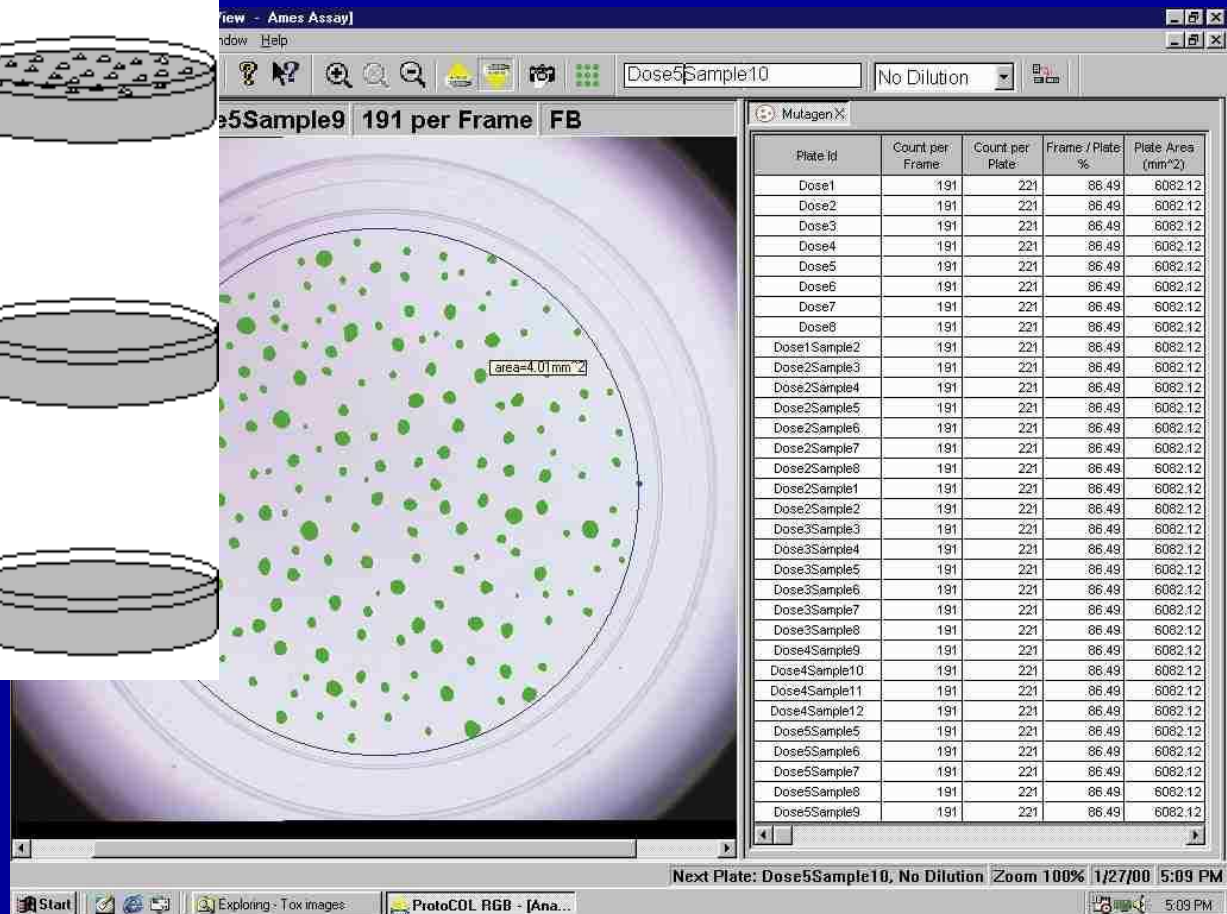
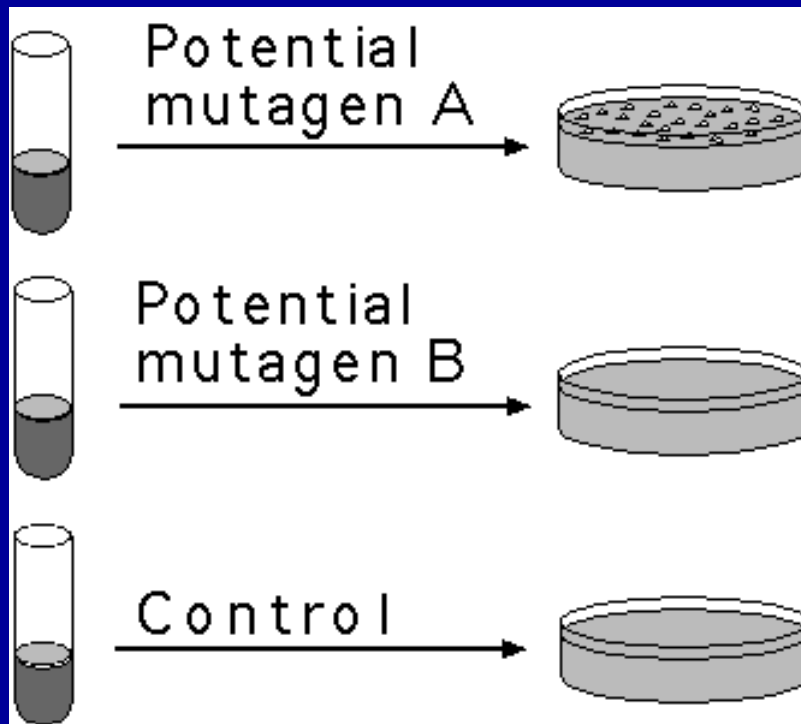
- mořská luminiscenční bakteri *Vibrio fischeri*
- krátkodobá expozice testované látky (5-30 min)
- sledování změn přirozené luminiscence – odpovídá toxicitě
- uspořádání:  
kyvety (zkumavky), stanovení v luminometru





# Amesův test

- Test na reverzní mutace se Salmonella typhimurium
  - Původní kmen neroste na živném médiu
  - Látka vyvolá (reverzní) mutaci -> bakterie rostou



Jaké testy se reálně užívají?  
Existují alternativy k in vivo testům ?

Standardizace v biologii  
vs. alternativy

# Standardní metody

- V odborné literatuře ... velké množství experimentálních metod
- Méně metod je standardizovaných a validovaných:
- **STANDARDIZACE** metod – výsledky akceptovatelné mezi státy – snižování nákladů / omezení opakovaných hodnocení
- Přejímání standardizovaných metod do legislativ
  - např. ČR – Vyhl. 433/2004 Sb.
  - *Metody testování toxicity* (vychází z *OECD guidelines* – viz příklad zákon !)
- Standardizační agentury:
  - OECD.org** (! Velký význam – viz úvod do GLP/chemie)
  - ISO.org (spíše Evropský dopad)
  - ASTM.org (USA)

# OECD GUIDELINES – Chemicals Testing

[www.oecd.org](http://www.oecd.org)

## **5 hlavních sekcí OECD GUIDELINES**

– v rámci každé „standardizované postupy“

Section 1: Physical Chemical Properties

**Section 2: Effects on Biotic Systems (16 postupů)**

**Section 3: Degradation and Accumulation (8 postupů)**

**Section 4: Health Effects (86 postupů)**

Section 5: Special Activities



Environment  
Directorate

Chemical Safety

- Biocides
- Chemical Accidents
- Chemicals Classification and Labelling
- Chemicals Hazard/Risk Assessment
- Chemicals Risk Management

Chemicals Testing - Guidelines

- Co-operation on the Investigation of Existing Chemicals
- Good Laboratory Practice
- New Chemicals
- Pesticides
- Pollutant Release and Transfer Registers
- Safety of Manufactured Nanomaterials

Biodiversity, Water and Natural Resource Management

- Biosafety - BioTrack
- Climate Change

## Chemicals Testing - Guidelines

- > [About](#)
- > [Publications & Documents](#)
- > [Information by Country](#)

The OECD [Guidelines for the Testing of Chemicals](#) are a collection of the most relevant internationally agreed testing methods used by government, industry and independent laboratories to assess the safety of chemical products.

- o [Work Plan for the Test Guidelines Programme \(TGP\) July 2010](#)
- o [Test Guidelines with components covered by Material Transfer Agreements](#)
- o Peer Reviews:
  - [Endocrine Disrupters](#)
  - [Peer reviews of ecotoxicity and human health test methods](#)
- o [Toxicogenomics](#)
- o [OECD Harmonised Templates](#)
- o [\(Q\)SARs](#)

### What's new

Don't miss

- > [OECD Guidelines for the Testing of Chemicals](#)
- > [Draft Test Guidelines](#)
- > [Questions & Answers regarding the OECD Test Guidelines Programme \(TGP\)](#)
- > [Animal Welfare](#)
- > [Other Publications / Draft Publications](#)
- > [OECD Harmonised Templates](#)
- > [Contact Us](#)
- > [Site Map](#)

...and also  
Guidance  
Document 1



## Příklady – OECD Guidelines – sekce „2“ Effects on biotic systems (2010 - celkem 33 návodu)

**201** Alga, Growth Inhibition Test (Updated Guideline, adopted 7th June 1984)

**202** Daphnia sp. Acute Immobilisation Test and Reproduction Test (Updated Guideline, adopted 4th April 1984)

**203** Fish, Acute Toxicity Test (Updated Guideline, adopted 17th July 1992)

**204** Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**205** Avian Dietary Toxicity Test (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**206** Avian Reproduction Test (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**207** Earthworm, Acute Toxicity Tests (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**208** Terrestrial Plants, Growth Test (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**209** Activated Sludge, Respiration Inhibition Test (Original Guideline, adopted 4th April 1984)

**210** Fish, Early-Life Stage Toxicity Test (Original Guideline, adopted 17th July 1992)

**211** Daphnia magna Reproduction Test (Original Guideline, adopted 21st September 1998)

**212** Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages (Original Guideline, adopted 21st September 1998)

## Příklady – OECD Guidelines – sekce „3“

### **301** Ready Biodegradability

**A:** DOC Die-Away Test

**B:** CO<sub>2</sub> Evolution Test

**C:** Modified MITI Test (I)

**D:** Closed Bottle Test

**E:** Modified OECD Screening Test

**F:** Manometric Respirometry Test (Updated guideline, adopted 17th July 1992)

**302A** Inherent Biodegradability: Modified SCAS Test (Original Guideline, adopted 12th May 1981)

**302B** Inherent Biodegradability: Zahn-Wellens/EMPA Test (Updated Guideline, adopted 17th July 1992)

**302C** Inherent Biodegradability: Modified MITI Test (II) (Original Guideline, adopted 12th May 1981)

### **303** Simulation Test - Aerobic Sewage Treatment

**303A** Activated Sludge Units - **303B:** Biofilms (Updated Guidelines, adopted 22nd January 2001)

**304A** Inherent Biodegradability in Soil (Original Guideline, adopted 12th May 1981)

**305** Bioconcentration: Flow-through Fish Test (Updated Guideline, adopted 14th June 1996)

**306** Biodegradability in Seawater (Original Guideline, adopted 17th July 1992)

**307** Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil (Original Guideline, adopted 24th April 2002)

**308** Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems (Original Guideline, adopted 24th April 2002)

## Příklady – OECD Guidelines – sekce „4“

– Toxicita pro člověka – celkem 86 postupů (příklady dole)

- Standardní postupy - akutní, chronickou, reprod. toxicita (viz dříve)

No.	Title	Original Adoption	No. of Updates	Updates	Most Recently Updated
401	Acute Oral Toxicity	12 May 1981	1		Date of Deletion: 20 December 2002
402	Acute Dermal Toxicity	12 May 1981	1		24 February 1987
403	Acute Inhalation Toxicity	12 May 1981	1		7 September 2009
404	Acute Dermal Irritation/Corrosion	12 May 1981	2	17 July 1992	24 April 2002
405	Acute Eye Irritation/Corrosion	12 May 1981	2	24 February 1987	24 April 2002
406	Skin Sensitisation	12 May 1981	1		17 July 1992
407	Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents	12 May 1981	2	27 July 1995	3 October 2008
408	Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents	12 May 1981	1		21 September 1998
409	Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents	12 May 1981	1		21 September 1998



# Možnosti využití různých modelů v biologii

- **Obratlovci – tj. in vivo** (celá zvířata)
  - Řada etických a praktických (finančních) limitací
- Náhrada in vivo experimentů - **koncept "3R"**
  - Reduction (Snižování),
  - Refinement (Zmírňování),
  - Replacement (Nahrazování)
- **Alternativní metody**
  - ex vivo (orgány zvířat)
  - in vitro (buňky, buněčné linie, enzymy ...)

## Výhody alternativních metod

- snižování počtů zvířat
- mechanistické metody ("dioxinová" toxicita)
- rychlejší, levnější, možnost hodnocení více vzorků

# Alternativní metody

- **Mezinárodní agentury pro validaci alternativních postupů** (cílem je „3R“)
  - ICVAM (USA)
  - EU: [ecvam.jrc.it](http://ecvam.jrc.it)
    - ECVAM (European Centre for Validation of Alternative Methods)
    - Časopis ATLA (Alternatives to Laboratory Animals)
- Kompletní návody na validované postupy (tedy ověřené), které splňují 3R, ale nejsou zatím registrovány standardizačními agenturami

<http://ecvam.jrc.ec.europa.eu/>



[About ECVAM](#)

[Activities](#)

**[Validated Methods](#)**

[Publications](#)

[Submission of new Test Methods to ECVAM](#)

[News Events and Meetings](#)

[Downloads and E-Learning](#)



> **Validated Methods**

- [New Scientifically Validated Methods](#)
- [Recommendations for Method Deletions](#)
- [Regulatory Acceptance](#)

**New Scientifically Validated Methods**

- **ELISA test for batch potency testing of erysipelas vaccines**  
Date of the ESAC statement: 28 June 2002  
Links: [ESAC Statement](#)
- **Embryonic stem cell test for embryotoxicity**  
Date of the ESAC statement: 01 May 2002  
Links: [INVITTOX Protocol](#), [ESAC Statement](#)
- **Micromass embryotoxicity assay**  
Date of the ESAC statement: 01 May 2002  
Links: [INVITTOX Protocol](#), [ESAC Statement](#)
- **Whole rat embryo embryotoxicity assay**  
Date of the ESAC statement: 01 May 2002  
Links: [INVITTOX Protocol](#), [ESAC Statement](#)
- **CORROSITEX assay for skin corrosivity**  
Date of the ESAC statement: 06 December 2000  
Remarks: The ESAC statement is based on the outcome of the US NTP-NICEATM study.  
Links: [INVITTOX Protocol](#), [ESAC Statement](#)
- **ELISA test for batch potency testing of tetanus vaccines for human use**





**NICEATM-ICCVAM Home**

[About NICEATM](#)

[Project Milestones](#)

[About ICCVAM](#)

[Advisory Committee \(SACATM\)](#)

[International Cooperation \(ICATM\)](#)

[Frequently Asked Questions \(FAQ\)](#)

**Meetings and Workshop Schedule**

**Alternative Test Method Evaluations**

**Nominations and Submissions**

**Testing Regulations and Guidelines**

**Search NICEATM-ICCVAM Documents**

**Search Federal Register Notices**

**Search Agency Guidelines/Regulations**

**Search Public Comments**

**Related Links**

**Contact NICEATM**

**Contact the Webmaster**



## The NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM)

and the

## Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM)

*Advancing Public Health and Animal Welfare*

*ICCVAM Workshop Series on  
Best Practices for Regulatory Safety Testing  
Registration Now Open  
Workshops are Open to the Public - No Registration Fee*

[View NICEATM-ICCVAM news updates](#)   [View NICEATM-ICCVAM press releases](#)

**ICCVAM is an interagency committee of the U.S. Government**, with members representing **15 U.S. Federal regulatory and research agencies** that use, generate, or disseminate toxicological information used to determine the safety or potential adverse health effects of chemicals and products to which workers and consumers may be exposed.

- ICCVAM was formally established by law with signing of the ICCVAM Authorization Act of 2000. The committee was originally organized by NIEHS in 1997 in collaboration with the other 14 Federal agencies.
  - [Read the ICCVAM Authorization Act of 2000 \[PDF\]](#)
- ICCVAM coordinates interagency technical reviews of new and revised safety testing methods with regulatory applicability, including alternative test methods that may reduce, refine, or replace the use of animals in order to advance animal welfare while ensuring human health and safety.
- ICCVAM also coordinates cross-agency issues relating to development, validation, acceptance, and national and international harmonization of new, modified, and alternative toxicological test methods.

Since 1998, ICCVAM has contributed to the national and international regulatory acceptance of 33 alternative safety-testing methods, including 18 that do not use live animals.

[View summary of regulatory acceptance of alternative toxicological methods](#)

**NICEATM administers ICCVAM** and provides scientific and operational support for ICCVAM-related activities.

- NICEATM works closely with ICCVAM to carry out test method evaluations, organize peer reviews and workshops, and communicate with ICCVAM stakeholders.
- NICEATM also conducts independent validation studies for new proposed safety testing methods to characterize their usefulness and limitations for regulatory applications.

# Příklad – validovaná in vitro technika hodnocení embryotoxicita

## EMBRYONIC STEM CELL TEST (EST)

The embryotoxic potential of chemicals is determined by the evaluation of the inhibition of differentiation of embryonic stem cells (ES) and the inhibition of growth of ES and 3T3 cells.

### Objectives and Application

TYPE OF TESTING : screening, reducing and refining  
LEVEL OF ASSESSMENT : toxic potential, toxic potency  
PURPOSE OF TESTING : classification and labelling, ranking

The Embryonic Stem cells Test (EST) has been proposed as a screen assay for potentially embryotoxic substances and for their classification into three different classes of *in vivo* embryotoxicity (*strong*, *weak* and *embryotoxic*) (Genschow *et al.*, 2002; Spielmann *et al.*, 1997).

The positive outcome of the recent ECVAM validation study confirmed possibility for the use of the test within the context of OECD test guideline 414, and Annex V, part B of the EU-Dangerous Substance Directive, for reducing and/or refining the use of animal procedures (Anon., 1998a and 2002).

According to the study outcome, the Management Team concluded that rather than representing a complete replacement, the test should be used in the context of testing strategies (Genschow *et al.*, 2002).

Step 1 Prepare a concentration range of test chemical in assay medium (=test solution) with ES cells ( $3.75 \times 10^4$ /ml)



#### Cell culture in "hanging drops"

(use one petri dish per concentration of test chemical; untreated control = assay medium)  
Incubate (37 °C/5% CO<sub>2</sub> /3 days)

#### Induction of ES cell aggregates

Step 2 Prepare the same test solution as Step 1

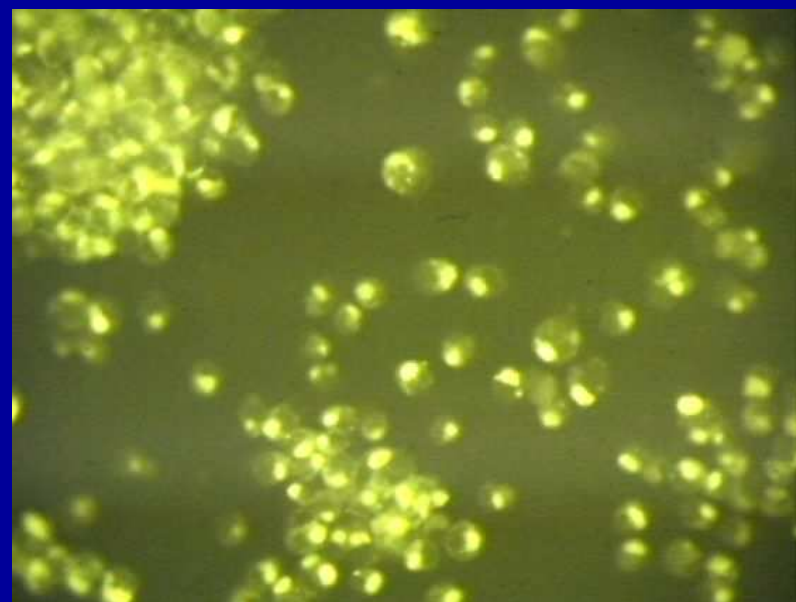


#### Cell culture in suspension culture

(use one petri dish per concentration of test chemical; untreated control = assay medium)  
Incubate (37 °C/5% CO<sub>2</sub> /2 days)

#### Differentiation in "embryoid bodies" (EBs)

# in vitro buněčné techniky



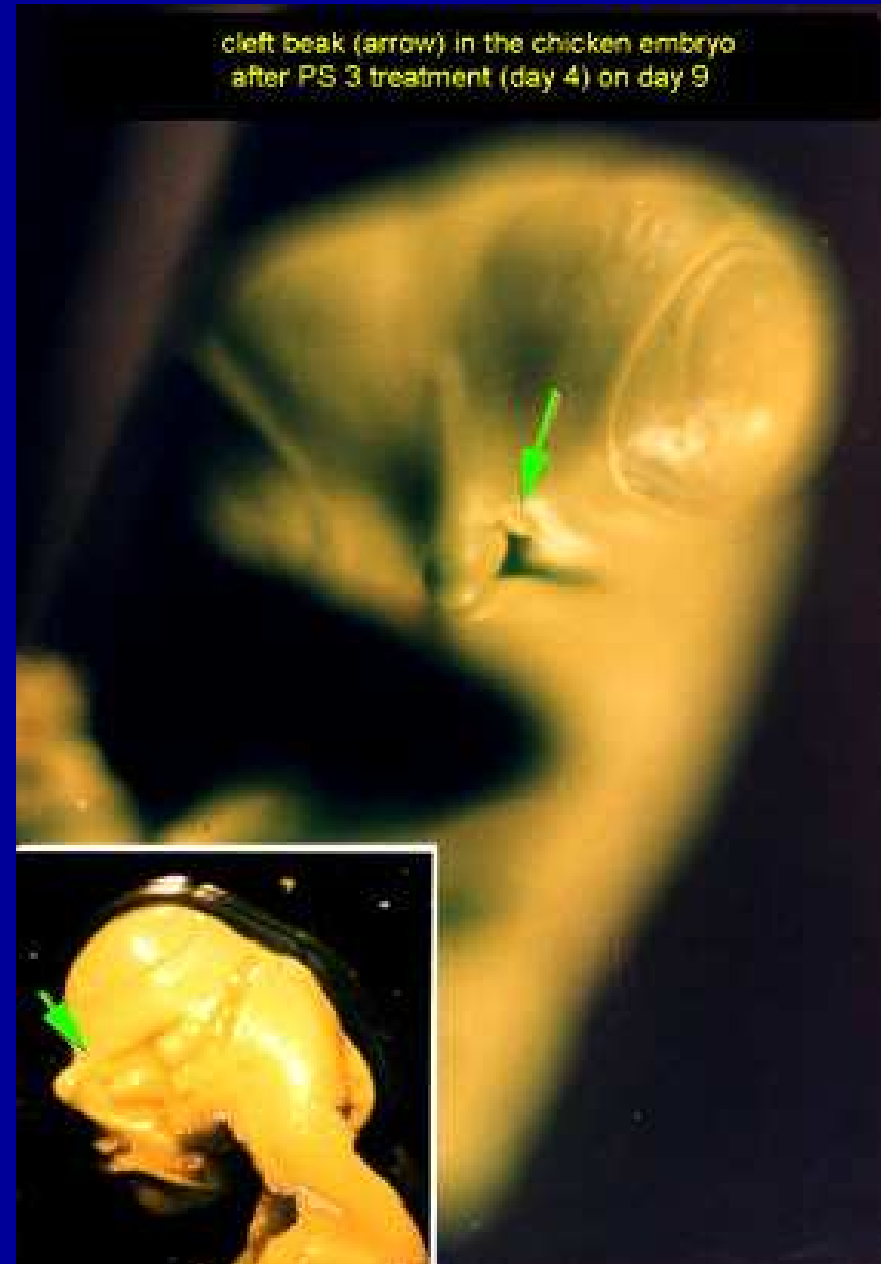
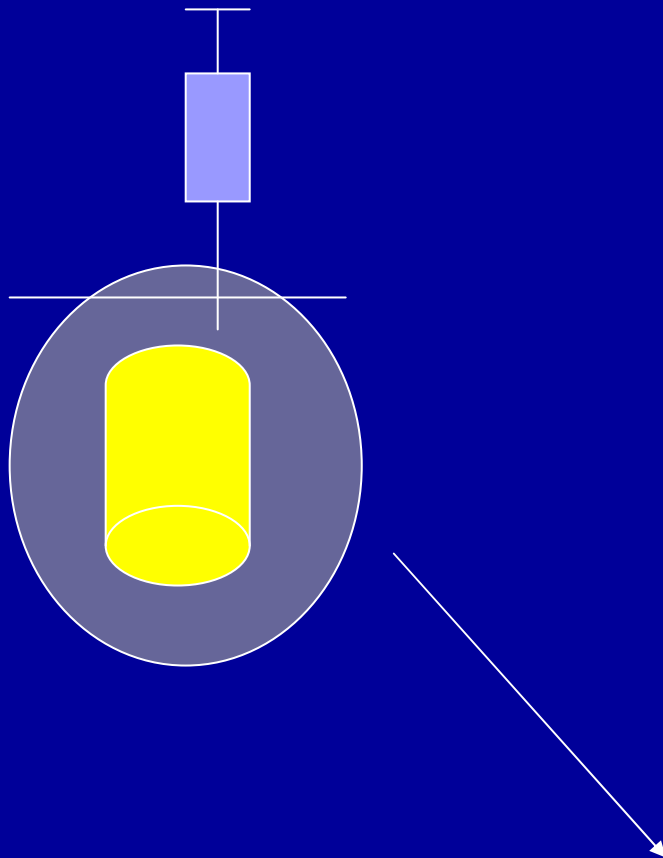
## další příklady - "alternativní" techniky (dle ECVAM)

- Embrya a plody  
(ze zákona nejsou považovány za „zvíře“)
  - CHEST *Chick Embryotoxicity Screening Test*
  - FETAX *Frog Embryo Teratogenesis Assay Xenopus* (validovaná alternativa testů teratogenity)

## CHEST test

- Injekce testované látky  
do vyvíjejícího se vajíčka

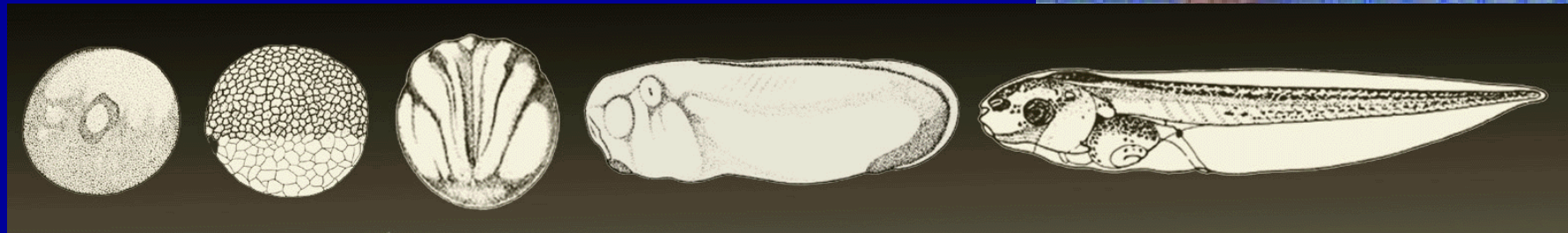
→ Hodnocení malformací





## FETAX test

- Hormonální stimulace žab *X. laevis*  
→ vajíčka
- Expozice oplozených vajíček
- 96 hodin kompletní vývoj embrya



Příklad – vliv herbicidu – paraquat  
Kontrolní embryo



Malformace páteře



**Problematika regulace  
Geneticky Modifikovaných  
Organismů (GMO)**

# GMO v ČR

- Zákon 153/2000
- Vyhlášky 372, 373, 374/2000 MŽP
- Definice:
  - Organismus
    - biologická jednotka (buněčná nebo nebuněčná) schopná rozmnožování nebo přenosu dědič. materiálu včetně virů
    - ...
  - GMO
    - organismus (kromě člověka) změněný gen. modifikací

# Genetická modifikace - zákon

- **Co je Genetická modifikace: ?**

- rekombinantní techniky vytvářející nové kombinace DNA - vložení nového úseku jakýmkoliv způsobem do NK, plazmidu, vektoru ...
- techniky zavádějící děd. materiál připravený mimo organismus do organismu (mikroinjekce, mikroenkapsulace ...)
- techniky buněčné fúze, hybridizace buněk (!produkce monoklonálních protilátek)

- **Co není Genetická modifikace?**

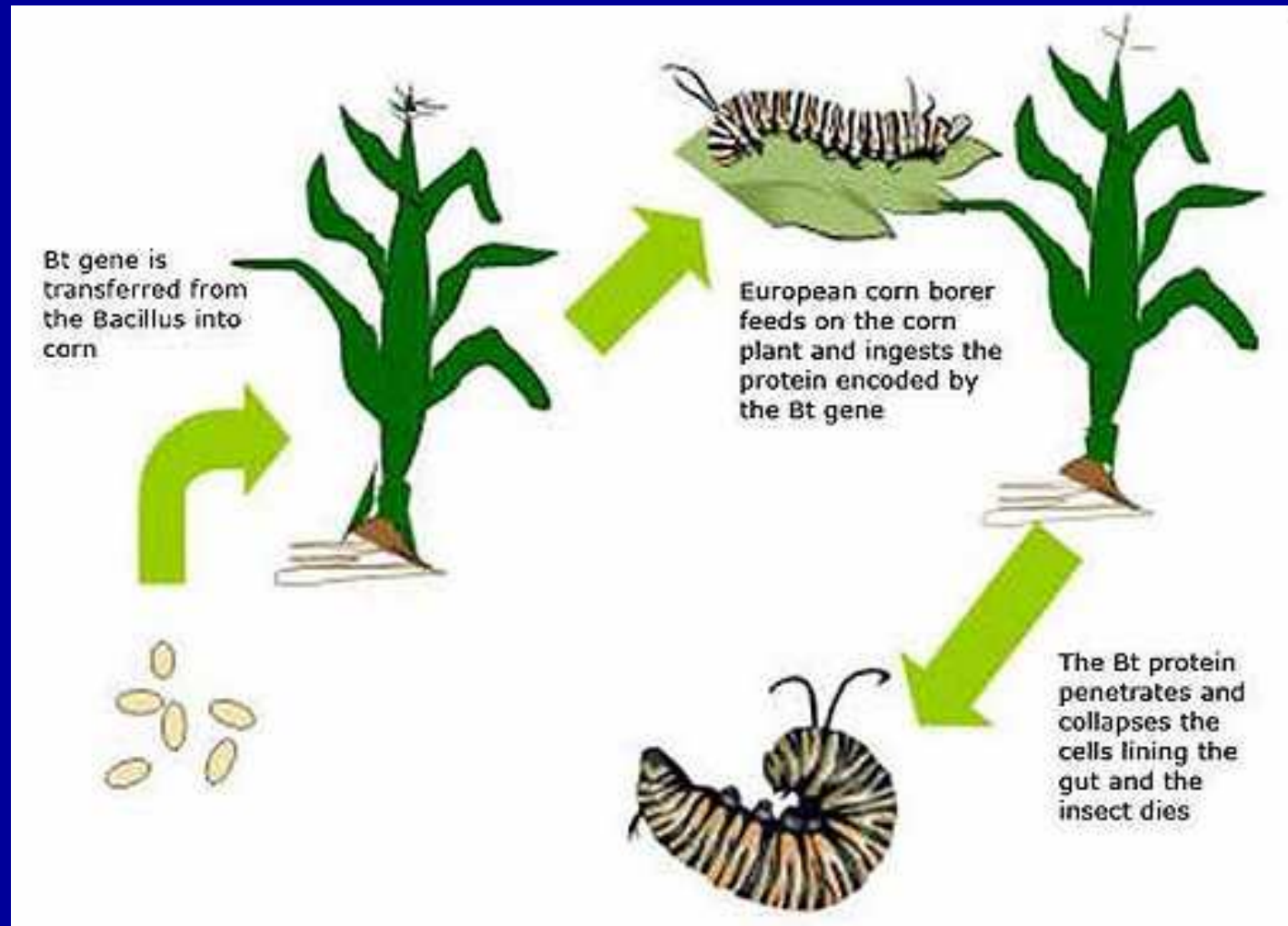
- oplození in vitro
- bakteriální konjugace a všechny podobné přirozené procesy
- indukce polyploidie a haploidie
- mutageneze
- křížení

# Proč regulovat GMO ?

- **Předběžná opatrnost**
  - stále málo prostudováno
  - neznáme **možné důsledky** vnášení do prostředí, například:
    - přímé nebo nepřímé škodlivé působení na člověka, zvířata, rostliny
      - » onemocnění (GM bakterie)
      - » alergizace, toxicita
    - vliv na dynamiku populací a genetickou rozmanitost
    - omezení možnosti léčby (rezistence vůči ATB)
    - účinky na biogeochemické procesy (fixace dusíku, koloběh uhlíku ...)

## Příklad

- GM kukuřice s geny pro „Bt“ toxin z *Bacillus thuringiensis*
  - Toxiny působí proti škůdcům
- (? Působení toxinů z opadaných listů na biotu v půdě/vodě)



# Regulace GMO v ČR

- Hlavní orgán: Ministerstvo ŽP, které registruje:
  - seznamy uživatelů (právnícké osoby)
  - seznamy GMO
    - pro uzavřené nakládání
    - pro vnášení do prostředí (experimentální hodnocení v prostředí)
    - pro vnášení do oběhu (povoleno pro obchodování)
- Další orgány
  - ČIŽP, celní orgány, orgány veterinární správy, ÚKSÚZ, SZÚ, ÚSKVBL, ČZPI

# Povinnosti uživatele GMO

- **REGISTRACE**

- Složitá forma žádosti - řada požadavků (*př. přesná definice genetické změny pro účely identifikace...*)
- Pověřené osoby (vzdělání, praxe ...)
- Odborný poradce

- Před zápisem do seznamu je nutné provedení analýzy rizika a kategorizace konkrétního GMO - *popis náležitostí je ve vyhlášce*



# Analýza rizika GMO - 4 kategorie

- A - bez rizika nebo s min. rizikem škodlivého působení
- B - riziko, které může být odstraněno obecně známými opatřeními
- C - riziko, které může být odstraněno jen zvláštními náročnými zásahy
- D - riziko, které zanechává trvalé následky a nemůže být zcela odstraněno
- **Podle kategorie rizika je nutno zabezpečit provoz zařízení**
  - vybavení
  - provozní řád (režim SLP)
    - identifikace, osoby, seznam a popis pracovních postupů, výčet GMO a jejich počet, zásady vedení evidence o provádění sanitace, hygiena, vedení dokumentace ...
    - opatření pro případ havárie - speciální havarijní plán

# Nakládání s GMO – důkladná dokumentace (SLP režim)

- **PLÁN ETAPY**
  - účel, údaje o organismu, osoby, specifikace materiálu, postupy nakládání, likvidace, odpady
  - schválení odborným poradcem
- **Provozní deník** (*každý zápis s podpisem*)
  - plán etapy, průběh etapy
  - primární údaje (!)
  - zápisy o kontrolách
- Závěrečná **zpráva etapy**
- Průběžná archivace a reporting -> MŽP