

Vyplňujte jen bílé kolonky!

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Stanovení akutní toxicity na vodním obratlovci – rybě <i>Poecilia reticulata</i> – A5	
Doba trvání projektu pokusů	Do 30.5.2019
Klíčová slova - maximálně 5	<i>Poecilia reticulata</i> , akutní toxicita
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	☐ základní výzkum
	☐ translační nebo aplikovaný výzkum
	☐ vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☒	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
	☐ zachování druhů
	☐ vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
	☐ trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem projektu pokusů při testu odpadů je zjistit nebezpečnost testovaných látek pro vodní organismy (ryby), zařazení vzorku odpadu a odpadních vod do tříd odpadů pro zacházení s nimi a jejich další možné využití dle platné legislativy České republiky a EU. Pro bližší specifikaci je výstupem pokusu zajištění ekotoxicity (ve smyslu zákona č. 185/2001 Sb. o odpadech), což je vlastnost odpadu představující akutní nebo pozdní nebezpečí pro biotu (jednu nebo více složek vodního prostředí). Jde o ukazatel využívaný k hodnocení odpadů z hlediska možnosti jejich využití na povrchu terénu dle vyhlášky č. 294/2005 Sb. a k hodnocení nebezpečných vlastností odpadu HP14 Ekotoxicita podle vyhlášky č. 94/2016 Sb. Stanovení ekotoxicity je prováděno jednotnými metodami na předepsaných organismech, z nichž jeden je ryba <i>Poecilia reticulata</i>. V širším slova smyslu jde ochranu a hodnocení složek (voda, půda) životního prostředí. Přínosem pokusů je odhad rizika, které testované odpady představují pro životní prostředí. V případě, že bude testovaný vzorek nepříznivě působit na pokusné zvíře, bude následně s veškerým odpadem, který daný vzorek reprezentuje nakládáno takovým způsobem, aby nedocházelo k jeho úniku do životního prostředí. Cílem testů s referenční látkou – dichromanem draselným je ověření citlivosti ryb v rozmezí 50–200 mg/l ve výše uvedeném rozmezí. Přínosem testů s referenční látkou je v případě nevybočujících hodnot umožnění vlastních testů na odpadech za podmínek zajišťujících kvalitní a validní výsledky.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Zjištěná ekotoxicita představuje ukazatel využívaný k hodnocení odpadů z hlediska možnosti jejich využití na povrchu terénu a k hodnocení nebezpečné vlastnosti odpadu HP14 podle platné legislativy. Výsledky slouží k prevenci před nežádoucím znečištěním životního prostředí.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Sladkovodní akvarijní ryba <i>P. reticulata</i> ; počet použitých ryb je na jeden test v závislosti na používané vyhlášce (č. 294/2005 Sb. nebo č. 94/2016 Sb.) 36–105 ks (v závislosti na nutnosti použití koncentrační řady ředění v základním testu – stanovena je řada 6–8 koncentrací), při testu s referenční látkou – dichromanem draselným je počet 70 ks, tzn. při max. denním stavu: 1 000 ks a do 7 000 ks do konce platnosti Projektu pokusů.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Jako nežádoucí účinky se očekávají fyziologická poškození neslučitelná se životem. Míra závažnosti pokusu je závažná. Ihned po ukončení pokusu jsou zvířata usmrcena (mimo jedinců z kontrolních vzorků) použitím oxidu uhličitého, tzn. jsou přeloveny do kádiny s vodou nasycenou oxidem uhličitým.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uvedte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Použití ryb v pokusu vychází z platné legislativy v ČR (norma ČSN EN ISO 7346 – 2). V současné době u nás není legislativně povolena jiná, nebo alternativní metoda. Pouze v souladu s dodržením požadavku platné	

legislativy lze rybu *Poecilia reticulata* nahradit rybou *Brachydanio rerio*. *P. reticulata* reprezentuje důležité články ekosystému s možnou rozdílnou citlivostí k různým látkám obsažených v odpadu.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet použitých ryb je dán metodikou testů ekotoxicity, která vychází z normy ČSN EN ISO 7346-2 a s drobnou úpravou také s interního standardního operačního postupu. Úprava spočívá v použití pouze testu základního (po testu předběžném), kde pro ověření a zpřesnění výsledku je použito pro každou koncentraci včetně neředěného vzorku a kontroly 10 ryb. Norma uvádí použití nejméně 7 ryb na každou koncentraci pro test základní a 10 ryb pro každou koncentraci v testu limitním. Test limitní se neprovádí, z důvodu minimalizace počtu použitých pokusných zvířat. Vyšší počet použitých ryb v testu např. snáze zachytí nehomogenost zdánlivě netoxického neředěného vzorku a v případě použití koncentrační řady ředění také umožňuje přesnější stanovení výsledné hodnoty LC 50. Nižší počty zvířat by neumožnily kvalitní a validní výsledky.

V případě provádění více souběžných vzorků, se jak u testu předběžného, tak základního, používá jedna kontrola. Tj. buď 3 nebo 10 ks ryb, které se vztahují k dalším vzorkům, zahájeným ve stejném datumu.

Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.

Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.

Pokusy na rybách jsou prováděny v souladu s normou ČSN EN ISO 7346-2. Jedná se o laboratorní chov tj. cyklicky množící se populaci, čímž je zabráněno např. odebrání alternativních druhů ryb z volné přírody. S rybami bude zacházeno maximálně šetrně v souladu s požadavky zákona č. 246/1992 Sb. v platném znění. Povaha pokusu neumožňuje používat znečlivující prostředky. Ihned po ukončení pokusu budou zvířata utracena.

Personál má potřebnou kvalifikaci, všichni jsou školeni dle zákona na ochranu zvířat proti týrání. Zacházení se zvířaty během chovu i během pokusu je schváleno příslušnou KVS.