

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Stanovení akutní letální toxicity odpadů pro sladkovodní ryby *Poecilia reticulata*

Doba trvání projektu pokusů do 25.7.2020

Klíčová slova - *maximálně 5* ekotoxicita, *Poecilia reticulata*, odpad

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
x	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 je posouzení ekotoxicity odpadů ve vodném prostředí pro ryby a následné posouzení, zda je splněna limitní hodnota daná vyhláškou č. 294/2005 Sb., Tab. č. 10.2 pro ukládání odpadu na povrch terénu nebo posouzení nebezpečné vlastnosti odpadu H14 Ekotoxicita, kdy je ve vyhlášce č. 94/2016 Sb., Tab. č. 1.1 nebezpečný odpad charakterizovaný limitní hodnotou $LC_{50} = 10 \text{ ml/l}$.

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)

Přínosem projektu pokusů je odhad rizika, které odpady představují pro zdraví lidí a životní prostředí. V případě, že vzorek nepříznivě působí na zkušební organismus, je s veškerým odpadem nakládáno způsobem, aby nedocházelo k jeho úniku do životního prostředí. Zkoušenými vzorky jsou kapalné odpady nebo vodné výluhy pevných odpadů (kontaminované zeminy, stavební sutě a ostatní odpady definované zákonem o odpadech č. 185/2001 Sb.).

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Sladkovodní ryba *Poecilia reticulata* – živorodka duhová, předpokládaná spotřeba za dobu trvání projektu pokusů bude nejvýše 2000 ryb.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Zkouškou se stanovuje letální účinek zkoušeného vzorku na ryby. Míra závažnosti pokusů je vysoká. Pokusná zvířata jsou po ukončení pokusu usmrcena oxidem uhličitým, s výjimkou ryb z kontroly, které jsou určeny pro opakované použití. Mrtvé ryby jsou v polyetylenových sáčcích skladovány v mrazicím kafilerním boxu (min – 20 °C ± 2°C), vyhrazeném pro tento účel a likvidovány firmou ASAVET a.s.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Použití sladkovodních ryb *Poecilia reticulata* předepisuje legislativa pro hodnocení ekotoxicity odpadů (vyhláška č. 294/2005 Sb. a vyhláška č. 94/2016 Sb., v platném znění). Podle normy ČSN EN ISO 7346-2 i legislativy lze rovněž použít sladkovodní rybu *Brachydanio rerio*, jedná se však rovněž o obratlovce. Možnost nahrazení zkoušky s pokusnými zvířaty jinými alternativními postupy legislativa neumožňuje.

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

Zkouška je prováděna s minimálním počtem ryb, doporučeným normou ČSN EN ISO 7346-2. Další snížení počtu ryb by mělo za následek snížení věrohodnosti výsledku. Základní test se stanovením LC_{50} je aplikován zřídka, obvykle se provádí ověřovací test bez ředění vzorku, tj. s minimální spotřebou ryb. Podle okolností, praktických zkušeností se zkoušeným odpadem nebo podle požadavků zákazníka mohou být použity jen některé dílčí testy, kdy je počet použitých ryb příslušně redukován. Omezení počtu použitých ryb je dosaženo i tím, že ryby z kontroly se opakovaně zařazují do chovného akvária v případě, že po dobu minimálně 1 týdne v samostatném akváriu nejeví známky stresu a onemocnění. V případě, že ryby z kontroly jeví známky stresu či onemocnění, budou rovněž utraceny.

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.

Druh použitých pokusných zvířat je dán normou ČSN EN ISO 7346-2: Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby a legislativou pro hodnocení ekotoxicity odpadů (vyhláška č. 294/2005 Sb. a vyhláška č. 94/2016 Sb., v platném znění). Ryby jsou chovány v akváriích za optimálních podmínek pro jejich růst a rozmnožování (teplota, pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, světlo, krmení, filtrace vody). Pouze při provádění zkoušky jsou po dobu 96 h ± 1 h vystaveny účinku toxických látek, pokud jsou ve vzorku přítomny.