

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Účinek mikroplastů na složení střevního mikrobiomu dánía pruhoaného (Danio rerio).
(The effects of microplastics on the intestinal microbiota in fish Danio rerio)

Doba trvání projektu pokusů v měsících	4
Klíčová slova	mikroplasty
mikrobiom	toxická
Danio rerio	expozice

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

Ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví nebo dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat [PE40]

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem projektu je posoudit účinky dvou typů mikroplastů (polyetylenové mikrokuličky 0,96g/cc o velikosti 1 – 1700µm (1,7mm) a polystyrenové mikročástice o velikosti 8 µm) na střevní mikrobiom dánía pruhoaného.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Pochopení změn složení střevní mikrobioty a specifických interakcí mezi mikroby a hostiteli po expozici mikroplastům významně přispěje k poznání mechanismu působení tohoto toxikantu na organismus. Dánío pruhoané se ukázalo jako vynikající zvířecí modelový systém pro řešení interakcí hostitel-mikrob pro normální fyziologii i patogenezi in vivo (Lee et al., 2021). Dále bylo zjištěno, že přibližně 70% sekvence lidského genomu je ortologických k sekvenci referenčního genomu dánía pruhoaného (Howe et al., 2013), což vede k širokému použití dáníí při studiu vlivu znečišťujících látek na lidské zdraví.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Manipulace se zvířaty bude zahrnovat provedení 2 orientačních testů, ve kterých budou dánía vystavena po dobu jednoho týdne třem rozdílným koncentracím mikroplastů (zvoleným na základě předchozích sedimentačních testů bez ryb). Na konci orientačního testu budou přeživší ryby usmrceny předávkováním MS-222 (200-300 mg/l). V hlavním pokusu budou ryby nejdříve po dobu 14 dní aklimatizovány a následně po dobu 28 dnů vystaveny dvěma typům polystyrenových mikroplastů rozptýlených ve vodě. V průběhu expozice nebude s rybami manipulováno. Na konci expozice budou ryby usmrceny předávkováním MS-222 (200-300 mg / l), následně jim budou odebrány vzorky tkání pro další zpracování.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Celkem 360 dáníí bude po provedených testech usmrceno a použito k odběru vzorků tkání pro analýzy. Ryby v orientačním testu mohou vykazovat známky otravy, nicméně tyto testy jsou nevyhnutelné z důvodů eliminace nežádoucích příznaků v hlavním testu.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
dánío pruhoané (Danio rerio) [A34]	0	0	360	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Usmrcení ryb na konci experimentu bude provedeno z důvodů odběru vzorků pro další analýzy.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Ryby jsou standardním modelovým organismem pro hodnocení účinků chemických látek na vodní organismy. Ke studiu účinků mikroplastů na rybí organismus nelze využít žádné alternativní testy.

Omezení používání zvířat

Plánovaný počet jedinců je omezen na nezbytné minimum, které by mělo poskytnout dostatečný materiál pro další sofistikované analýzy, jako jsou mikrobiomové, transkriptomické a proteomické analýzy, histologie atd. Tento počet jedinců by měl umožnit získat dostatečné množství vzorků pro plánované statistické analýzy a jejich vypovídací schopnost.

Šetrné zacházení se zvířaty

Se zvířaty bude zacházeno šetrně odborně způsobilým personálem v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů. Po celou dobu pokusu i jeho přípravy bude v souladu s uvedenými normami dbáno na to, aby ryby nebyly vystavovány teplotním šokům, nedostatku rozpuštěného kyslíku, či nedostatku potravy. Voda použitá k testům bude mít takovou kvalitu, aby zajistila podmínky odpovídající požadavkům testovaného druhu ryby.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Dáňio pruhoované (Danio rerio) je standardním modelovým organismem pro hodnocení účinků chemických látek a léčiv na vodní organismy. Dáňio má různorodou mikrobiotu, a jako nejjednodušší modelový organismus ze skupiny obratlovců lze adekvátně využít pro studium složitých interakcí hostitel-mikroflóra. Dáňio pruhoované se ukázalo jako vynikající zvířecí modelový systém pro řešení interakcí hostitel-mikrob pro normální fyziologii i patogenezi in vivo (Lee et al., 2021). Dále bylo zjištěno, že přibližně 70% sekvence lidského genomu je ortologických k sekvenci referenčního genomu dáňia pruhoovaného (Howe et al., 2013), což vede k širokému použití dáňií při studiu vlivu znečišťujících látek na lidské zdraví.