

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

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

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

12

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

ekotoxicita, *Poecilia reticulata*, odpad

Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ☐ | základní výzkum |
| ☐ | translační a aplikovaný výzkum |
| ☐ | kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže) |
| ☐ | legislativní účely |
| ☒ | a běžná výroba |
| ☐ | zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie |
| ☐ | běžná výroba |
| ☒ | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat |
| ☐ | zachování druhů |
| ☐ | vyšší vzdělávání |
| ☐ | odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí |
| ☐ | trestní řízení a jiné soudní řízení |
| ☐ | udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech |

Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb

Cílem projektu pokusů je posouzení ekotoxicity odpadů ve vodním 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 LC₅₀ = 10 ml/l.

Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)

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.).

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

Nebudou prováděny žádné chirurgické zákroky.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Letální účinek vzorků, doba trvání účinků 96 h ± 1h.

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

Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Ostatní ryby (ostatní Pisces)	1000	0	0	0	1000
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití	0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

Ryby z netoxické kontroly lze za definovaných podmínek opakovaně použít.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu

Použití sladkovodních ryb <i>Poecilia reticulata</i> 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 <i>Brachydanio rerio</i>, jedná se však rovněž o obratlovce. Možnost nahrazení zkoušky s pokusnými zvířaty jinými alternativními postupy legislativa neumožňuje.
Omezení používání zvířat - vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).
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 LC₅₀ 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 - uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu
Ryby jsou chovány v akváriích za optimálních podmínek pro jejich růst a rozmnožování (teplota, pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, světlo, krmění, filtrace vody). Pouze při provádění zkoušky jsou po dobu 96 h ± 1 h vystaveny účinku toxických látek, pokud jsou ve vzorku přítomny.
Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií
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). Použijí se sladkovodní ryby <i>Poecilia reticulata</i> s velikostí (3,0 ± 0,5) cm, v přirozeném poměru pohlaví (nejčastěji 1:1).

- ¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu
- ²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „**nespecifikovaného savce**“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech