

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Transformace farmak v prostředí běžného recipientu vyčištěných komunálních odpadních vod (GAČR)	
Doba trvání projektu pokusů	IX/2019
Klíčová slova - maximálně 5	ČOV; ryby; bioakumulace; biodegradace; metabolity
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Projekt je zaměřen na základní výzkum transformačních procesů a degradačních cest farmak vyskytujících se v reálném prostředí běžného recipientu vyčištěných komunálních odpadních vod.	
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)	
Projekt je zaměřen na komplexní výzkum transformačních procesů reziduí farmak v reálných podmínkách recipientu „vyčištěných“ odpadních vod. Modelovým recipientem je rybník používaný pro dočištění odpadních vod z ČOV Vodňany (7000 obyvatel). Výzkum bude zaměřen na hodnocení vlivu sezónních změn ovlivňujících transformační procesy v rybníce (voda, sedimenty) a vodních organismech (makrofyta, bezobratlí, ryby). Získané údaje o koncentracích mateřských polutantů a jejich metabolitů nebo transformačních produktů v různých maticích budou použity pro přesnější charakterizaci distribuce kontaminantů v různých složkách vodního prostředí. In situ odvozené bioakumulační faktory a distribuční koeficienty jsou stále málo dostupné, avšak hodnotnější než laboratorně odvozené. Omezené nebo zcela chybějící informace popisující hlavní expoziční cesty a transformační procesy v měnících se podmínkách životního prostředí budou v předkládaném projektu studovány inovativním přístupem kombinujícím cílené instrumentální analýzy s metodami vysokorozlišující hmotnostní spektrometrie a biochemickými testy.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Cca 1000 ks ročka kapra obecného (<i>Cyprinus carpio</i>) bude skupinově označeno (VIE tag) a vypouštěno do rybníka Čezarka v roce 2018 a následně v roce 2019. Předpokládáme vysokou přirozenou mortalitu juvenilních ryb. Statistické zpracování výsledků je podmíněno dostatečným počtem analyzovaných vzorků (ryb). Při každém z 6 plánovaných odběrů bude vzorkováno 12 jedinců.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Předpokládáme mírnou závažnost pokusu. Kapři budou exponováni v přirozených podmínkách rybníku pod výpustí čističky komunálních odpadních vod. Stres ryb v průběhu odběru vzorků bude eliminován šetným zacházením. Odlov ryb bude proveden pomocí sítí. Ryby budou uchovány v prostorných nádržích s prokysličenou vodou. Pokusná zvířata určená k odběrům vzorků pravděpodobně pocítí krátkodobou mírnou bolest při šetném odběru krve z vena kaudalis. Ihned po odběru krve budou vzorkované ryby šetně usmrceny.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Ryby jsou standardním modelovým organismem pro hodnocení účinků cizorodých látek na vodní organismy. Alternativní testy k dosažení cílů pokusu nelze využít. Neexistují jiné metody, jak zjistit vliv reálného znečištění na exponované obratlovce. Alternativní metody s použitím bezobratlých organismů, případně in vitro pokusy, není možné využít pro sledování metabolických transformací koktejlu cizorodých látek ve složkách reálných ekosystémů zatížených vyčištěnými komunálními odpadními vodami. Neexistuje alternativní metoda bez použití pokusných zvířat pro sledování transformačních procesů a trofického přenosu u obratlovců exponovaných v reálných podmínkách zatížených v odních ekosystémů.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
V projektu pokusů bude při jednotlivém vzorkování použito minimální množství zvířat (12 jedinců) vyžadované při obdobných studiích pro dostatečnou průkaznost získaných dat a statistické vyhodnocení výsledků pro publikaci dat v prestižních mezinárodních vědeckých časopisech. Vysoký počet ryb použitých při zahájení experimentu je plánován z důvodu předpokládané vysoké přirozené mortality raných stádií ryb, tak aby byl zaručen dostatečný počet exponovaných ryb pro vzorkování v průběhu celého experimentu (2 roky). Design pokusu počítá s odběrem vzorků širokého spektra tkání ryb ve replikátech, které budou sloužit jako případná záloha, pro předcházení nutnosti opakovat pokus z důvodu znehodnocení vzorků. Skladování vzorků určených pro metabolické a transformační bioeseje je bohužel časově omezené i při použití skladování při -80 C. Replikáty odebraných vzorků budou nabídnuty spolupracujícím laboratorům pro rozšíření spektra analýz vedoucímu k maximálnímu vytěžení dat z provedených pokusů.	
Šetné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetnější použití z hlediska vědeckých cílů.	

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

Kapr obecný bude exponován v přirozených podmínkách rybníku Čezarka (2,6 ha) a není tedy předpoklad dlouhodobého stresu. Stres ryb v průběhu odběru vzorků bude eliminován šetrným zacházením. Odlov ryb bude proveden pomocí sítí. Po ulovení budou ryby krátkodobě umístěny do prostorných manipulačních nádrží s dostatečně prokysličenou vodou.

Ryby jsou standardním modelovým organismem pro hodnocení účinků cizorodých látek na vodní organismy. Alternativní testy k dosažení cílů pokusu nelze využít. Neexistují jiné metody, jak zjistit vliv reálného znečištění na exponované obratlovce.

Anestezii ryb v průběhu odběru vzorků není možné použít z důvodů ovlivnění výsledků pokusu. Ihned po odběru krve budou vzorkované ryby šetrně usmrceny.