

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Je aditivum hexabromocyklododekan (HBCD) zodpovědné za toxické účinky polystyrenových mikročastic ve vodním prostředí? (toxikologická studie na pstruhovi duhovém)

Doba trvání projektu pokusů v měsících	2
Klíčová slova	mikroplasty
toxicita	polystyren
bromované zpomalovače hoření	ryby

Účely projektu pokusů

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

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem experimentu je posouzení toxických účinků polystyrenových (PS) mikročastic u ryb a dále zjištění, zda a do jaké míry se na těchto toxických účincích podílí hexabromocyklododekan (HBCD), který se při výrobě polystyrenu používá jako aditivum za účelem snížení hořlavosti výsledného materiálu.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Toxicita mikroplastů ve vodním prostředí je v dnešní době velmi populárním tématem, kterou potenciálně ovlivňuje řada faktorů. Existuje mnoho studií, které řeší, do jaké míry tuto toxicitu ovlivňuje například typ polymeru, velikost mikročastic či jejich barva nebo třeba také schopnost adsorpce jiných polutantů na povrch mikročastic. Pro nás dost překvapivě je však ve vědecké komunitě opomíjena možnost, že se na toxických účincích mikroplastů podílejí různé druhy aditiv používaných při výrobě plastů k zajištění požadovaných vlastností produktů. V rámci experimentální studie na juvenilních jedincích pstruha duhového chceme zjistit případné toxické účinky expozice ryb polystyrenovými mikročasticemi podanými do krmiva a posoudit zda a do jaké míry je za tyto účinky zodpovědný HBCD, který je používán jako tzv. zpomalovač hoření. Výsledky studie poskytnou zcela nové informace o toxicitě mikročastic i aditiv používaných při výrobě plastů ve vodním prostředí.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Juvenilní jedinci pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) budou po dobu šesti týdnů exponováni polystyrenovým mikročasticím dotovaným různými koncentracemi HBCD (nebo samotným HBCD), které jim budou přidány do krmiva na bázi pelet. Jedná se o toxikologickou studii, během níž nebudou prováděny jakékoli chirurgické zákroky. Bezprostředně před ukončením experimentu bude rybám odebrána krev k následným hematologickým a biochemickým analýzám, ryby budou ihned poté usmrceny tupým úderem do hlavy.

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

Jedná se o toxikologickou studii, při které podávání zkoumané látky rybám může, ale také nemusí, vyvolat různé druhy toxických účinků. Analýzy po ukončení experimentu budou zaměřeny na zjištění možného vlivu expozice ryb na jejich krevní profil, na biochemické parametry krevní plasmy či oxidativní stres. Zjišťován bude také případný výskyt patologických změn v tkáních exponovaných ryb nebo změny exprese zánětlivých či protizánětlivých genů v jejich organismu. Díky použití juvenilních jedinců bude dále možno sledovat vliv expozice na růst ryb.

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
losos, pstruh, siven a lipan (<i>Salmonidae</i>) [A39]	0	144	0	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				
Bude použito celkem 144 ryb (6 skupin v duplikátu, 12 ryb do každého z akvárií). Po ukončení experimentu je plánováno usmrcení všech ryb bez ohledu na to, zda se bude jednat o ryby exponované testovanými mikročásticemi/aditivem (120 kusů ryb) nebo o ryby z kontrolních skupin (24 ryb). Ryby budou usmrceny, aby bylo možno odebrat vzorky tkání k následným analýzám prováděným za účelem posouzení toxicity sledovaných mikročástic (resp. aditiva) na organismus ryb.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Jedná se o komplexní toxikologickou studii in vivo účinků polystyrenových mikročástic a HBCD na organismus sladkovodních ryb (O. mykiss). Použití jiných (in vitro) metod bohužel nepředstavuje vhodnou alternativu, žádným z těchto postupů bychom totiž nebyli schopni získat dostatečnou a relevantní informaci o chování testované látky v živém organismu.				
Omezení používání zvířat				
Počet jedinců použitých v experimentu zohledňuje zásadu 3R a představuje minimum nezbytně nutné k zajištění kvalifikovaného statistického zpracování získaných dat pro dosažení validity výsledků studie.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
V průběhu studie bude s pokusnými zvířaty zacházeno v úplném souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání ve znění pozdějších předpisů a s jeho prováděcí vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Péče o zvířata bude zajišťována výhradně odborně způsobilými osobami. Před zahájením vlastního experimentu budou ryby po dobu 2 týdnů adaptovány laboratorním podmínkám ve skleněných nádržích o objemu 200 l vybavených filtračním zařízením i vzduchováním. Ryby budou rovnoměrně rozmístěny do nádrží tak, aby byly splněny požadavky na jejich maximální povolené osazení. Vždy v čase krmení budou probíhat pravidelné kontroly zahrnující sledování zdravotního stavu ryb, změn jejich chování či příjmu krmiva. Zaznamenávána bude případná mortalita. Jedenkrát denně budou měřeny základní charakteristiky vody v nádržích (teplota, pH, obsah kyslíku). Jednou za dva dny bude dále stanovována hladina amoniaku, dusitanů, dusičnanů a chloridů. Výše uvedená opatření přispějí k zajištění ochrany pokusných ryb během experimentu a k minimalizaci jejich případného stresu.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Plánovaný postup testování vychází z metodiky OECD 215 (růstový test na juvenilních jedincích ryb). Pro tento typ testu je v metodice doporučeno použití pstruha duhového (*O. mykiss*), protože se jedná o běžný, široce rozšířený druh ryb, o jehož fyziologických procesech v organismu existuje mnoho dostupných informací. Z pohledu současného stavu poznání je důležité, že se jedná o druh sladkovodní, protože v naprosté většině předchozích studií hodnotících toxicitu mikroplastů ve vodním prostředí byly používány pouze ryby mořské. Použití juvenilních jedinců (ve stáří do jednoho roku) je v souladu s metodikou OECD 215. Výhodu použití tohoto typu testu představuje také možnost sledování vlivu podání testované toxické látky na růst ryb.