

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Stanovení akutní letální toxicity se standardní látkou pro sladkovodní ryby *Poecilia reticulata*

Doba trvání projektu pokusů do 25.7.2024

Klíčová slova - *maximálně 5* ekotoxicita, *Poecilia reticulata*, dichroman draselný

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

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 zajištění platnosti výsledků zkoušky Stanovení akutní letální toxicity pro sladkovodní ryby *Poecilia reticulata* podle ČSN EN ISO 7346-2 a tím se umožní následné potvrzení platnosti výsledků zkoušek s odpady podle stejné normy (samostatný projekt pokusů).

Zkouška se provádí s dichromanem draselným $K_2Cr_2O_7$, s certifikátem od výrobce .

Zkouška je nezbytná pro správné posouzení výsledků zkoušek s odpadem podle vyhlášky č. 294/2005 Sb., Tab. č. 10.2 pro ukládání odpadu na povrch terénu nebo podle vyhlášky č. 94/2016 Sb., Tab. č. 1.1, o hodnocení nebezpečných odpadů, jejichž přínosem je správný odhad rizika, které představují odpady hodnocené podle ČSN EN ISO 7346-2 pro zdraví lidí a životní prostředí.

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 umožnění správného odhadu rizika, které odpady představují pro zdraví lidí a životní prostředí, pokud je posuzována jejich ekotoxicita samostatným projektem pokusů podle vyhlášky č. 294/2005 Sb., Tab. č. 10.2 pro ukládání odpadů na povrch terénu nebo podle vyhlášky č. 94/2016 Sb., Tab.č. 1.1, o hodnocení nebezpečných vlastností odpadů. Pravidelná kontrola provedení zkoušky se standardní látkou je jedním z kritérií zajišťování platnosti výsledků zkoušky a je jednou z podmínek akreditace zkoušky podle ČSN EN ISO/IEC 17025, přičemž akreditace laboratoře je požadována legislativou.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Sladkovodní ryba *Poecilia reticulata* – živorodka duhová, předpokládaná roční spotřeba ryb bude nejvýše 200 ryb. Pro stanovení akutní toxicity standardní látky s různou koncentrací základním testem pro určení hodnoty LC_{50} se spotřebuje 49 ryb včetně kontroly. Provedení zkoušky se předpokládá minimálně 1krát za 2 roky, a dále při změně dodavatele ryb.

Pro stanovení akutní toxicity dichromanu draselného při koncentraci 130 mg/l se spotřebuje 14 ryb včetně kontroly.

Zkouška se provádí s každou novou šarží 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 kafilémím 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.

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. Omezení počtu použitých ryb je dosaženo 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. Omezení použití pokusných zvířat je rovněž dosaženo tím, že stanovení LC_{50} se provádí 1krát za 2 roky.

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, krmění, filtrace vody). Pouze při provádění zkoušky jsou po dobu $96 \text{ h} \pm 1 \text{ h}$ vystaveny účinku toxických látek zkoušeného vzorku.