

FETAX

Frog Embryo Teratogenesis Assay- Xenopus

podle metodiky ASTM E 1439-98: Standard
Guide for Conducting the Frog Embryo
Teratogenesis Assay-Xenopus (FETAX).

- Laboratorní test pro odhad rizika embryotoxicity a teratogenity chemických látek a environmentálních směsí v roztoku

- Akutní, semistatický test

- využívaný organismus

 - *Xenopus laevis* (drápatka vodní)
čeleď Pipidae

vajíčka

po 96h expozici se hodnotí změny

ve vývoji embrya v porovnání s kontrolou

- Stanovení jedné chemické látky se provádí na třech nezávislých měření s různými rodičovskými páry



Laboratorní chov

- Skleněné nebo plastové nádoby, výška aspoň 30cm
- voda - dechlorovaná nebo přírodní
 - výška hladiny 7-14cm
 - teplota $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} \leq 7$
 - provzdušňování u mladých jedinců
- Fotoperioda 12h den/12h noc
- Krmení 2-3krát týdně, následně výměna vody
 - směs mletého hovězího masa (játra, srdce, plíce)
 - doplnění o vitamíny

Průběh testu

- [Před založením testu](#)
 - stimulace jednoho rodičovského páru hormonem choriogonadotropinem (den před snůškou)
 - injekčně do zadního lymfatického vaku
 - samice 500-1000 IU, samec 250-500 IU
 - následná stimulace stejného jedince nejdříve po 90 dnech
 - pár do samostatné nádrže – provzdušnění, teplota vody $21 \pm 2^\circ\text{C}$
 - amplexus po 2-6h
 - kladení vajíček po 9-12h od injekce
 - do testu vybíráme vajíčka kulatého tvaru, nakladena jednotlivě
 - co nejkvalitnější, oplozená
 - dobrá snůška: $\leq 75\%$ oplozených vajíček

- [Fetax médium](#)

625 mg NaCl, 96 mg NaHCO₃, 30 mg KCl, 15 mg CaCl₃, 60 mg CaSO₄·2H₂O, 75 mg MgSO₄ na litr destilované vody

- se připravuje čerstvé, s důrazem na správné pH, (pH 7,6-7,9)

- [Založení testu](#)

- 5 h po fertilizaci, nutné před započítím neurulace

25 vajíček na Petriho misky + 10ml fetax média + testovaná látka

koncentrační řada, každá koncentrace ≥ 2misky

negativní kontrola ≥ 4 misky

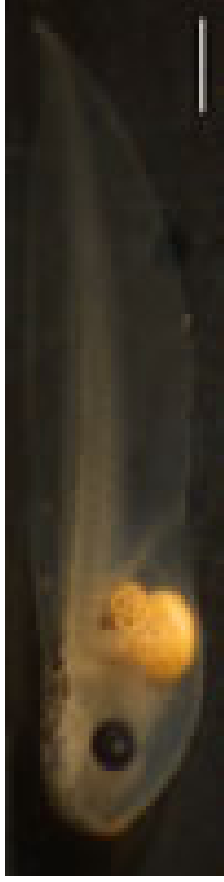


- referenční materiál: pozitivní kontrola 6-aminonicotinamid

all-trans retinová kyselina (ATRA)

- Průběh testu

- teplota $24 \pm 2^\circ\text{C}$ (nižší zpomalí vývoj, vyšší znásobí výskyt malformací)
- pH 7,7 (reálně mezi pH 6,5 a pH 9,0)
- náhodné uspořádání misek v prostoru
- výměna média a odběr uhynulých embryí po 24,48, 72 hodinách
- ukončení testu po 96h, 90% embryí by mělo dosáhnout 46.stádia vývoje



46. stádium

- [Závěr testu a vyhodnocení](#)

- fixace embryí ve 3% formaldehydu
- vyhodnocení pod mikroskopem

Výsledky po ukončení 96h expozice:

- LC₅₀ - koncentrace způsobující 50% úhyn embryí
- EC₅₀ - koncentrace způsobující malformace u 50% embryí
- teratogenní index TI - hodnota podílu 96h LC₅₀ a 96h EC₅₀
- MCIG - minimální koncentrace způsobující inhibici růstu

Další endpointy:

- zpomalení vývoje
- inhibice růstu
- malformace orgánu
- biochemické markery
- změny chování

