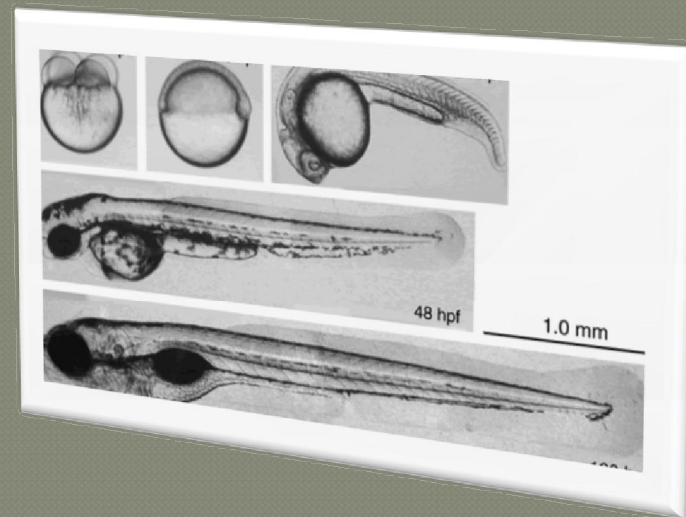
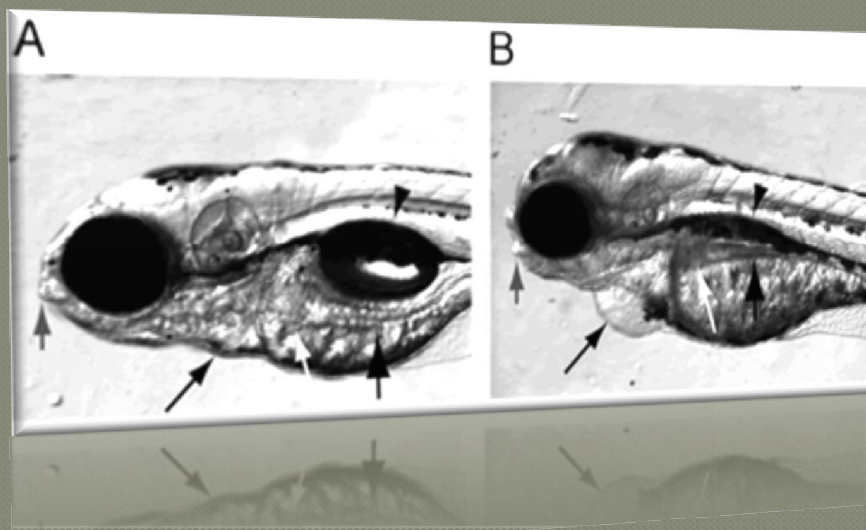


Fetax

Frog Embryo Teratogenesis Assay



© **FETAX** je test embryotoxicity a teratogenity na časných vývojových stádiích drápatky vodní (*Xenopus laevis*), normovaný podle metodiky ASTM E 1439-98



Fetax medium

- ◉ FETAX médium se připravuje čerstvé, o pH 7,6-7,9.
- ◉ Složení (na litr destilované vody):
 - 625 mg NaCl
 - 96 mg NaHCO₃
 - 30 mg KCl
 - 15 mg CaCl₂
 - 60 mg CaSO₄·2H₂O
 - 75 mg MgSO₄
 - Rozpouštědlo v nezbytně nutném množství (DMSO, aceton, propylen glykol <1,6% v.v.)

Příprava na test

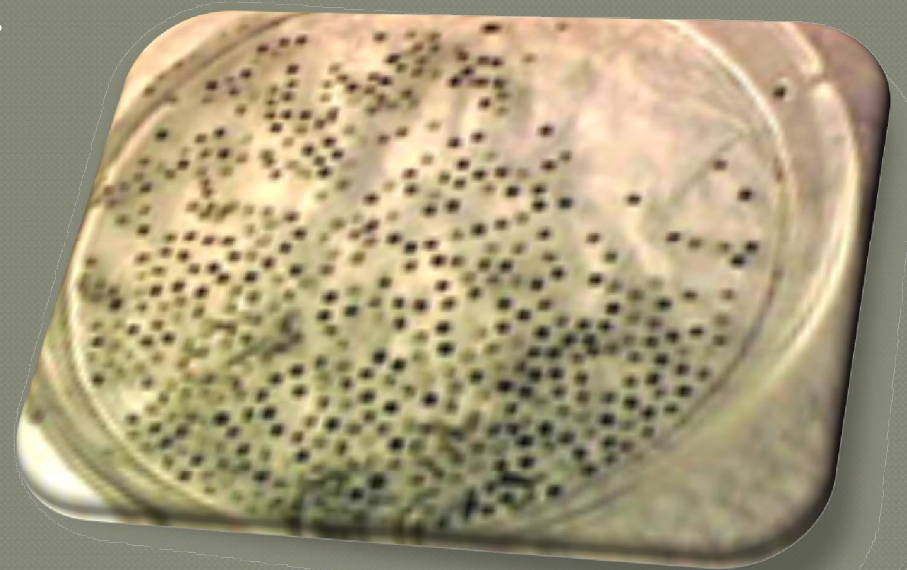
- ⊙ Rodičovský pár se hormonálně stimuluje injekcí humánního choriongonadotropinu do hřbetního lymfatického vaku (samice 500-1000 IU, samec 250-500 IU).
- ⊙ Stimulovaný pár je umístěn do nádrže s FETAX médiem.
- ⊙ Po 9 až 12 hodinách od injekce hormonu dochází ke kladení oplozených vajíček.
- ⊙ Ve snůšce by mělo být více než 75% oplozených vajíček.
- ⊙ Do testu se vybírají vajíčka, která jsou nakladena jednotlivě a mají dokonale kulatý tvar.

Příprava na test

- Po celou dobu je nutné vodu provzdušňovat a udržovat teplotu na $21 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Vytvoří se koncentrační řada testované látky, pro každou koncentraci tři opakování, každé na vajíčka jiného rodičovského páru.
- Pět hodin po fertilizaci se vybere 25 oplozených vajíček na Petriho miskou a přidá se 10 ml FETAX média a testovaná látka v požadované koncentraci.
- Jako negativní kontrola slouží FETAX medium.

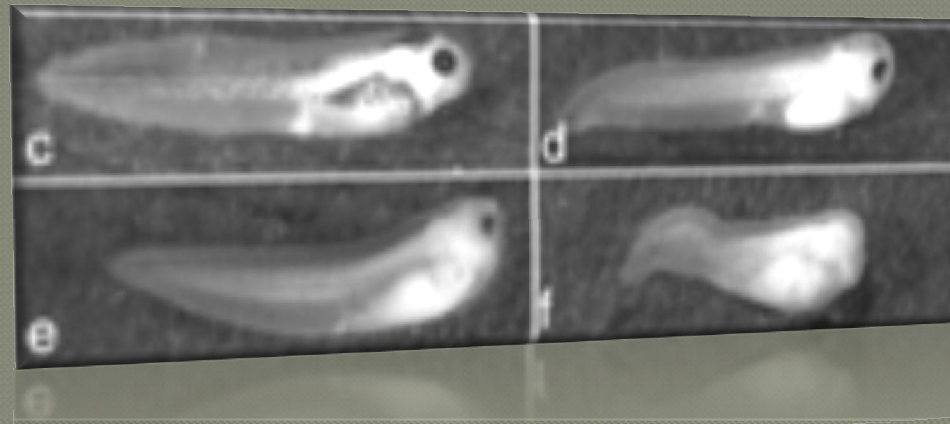
Test

- Akutní semistatický test
- Doba expozice je 96 hodin
- Výměna média a odběr uhynulých embryí a larev se provádí po 24, 48 a 72 hodinách od založení testu.
- Larvy se během testu nekrmí.



Test

- Test se zakládá mezi fází střední blastuly a začátkem neurulace embryí, tzn. přibližně 5 hodin po fertilizaci
- Teplota v průběhu testu se udržuje na $24\pm 2^{\circ}\text{C}$
- Jako negativní kontrola slouží embrya, která se vyvíjela pouze v roztoku FETAX, bez přidání testované látky, ve čtyřech opakováních.
- Jako pozitivní referenční látka se používá teratogen 6-aminonikotinamid



Vyhodnocení

- Po 96 hodinách se test ukončí, embrya se zafixují v 3% formaldehydu.
 - Vyhodnotí se jejich stav pod mikroskopem, tj. tělesná délka a výskyt malformací se porovnává s negativní kontrolou.
 - Výsledkem testu jsou hodnoty získané po ukončení 96hodinové expozice:
 - LC[10], **LC[50]**, LC[90] - koncentrace způsobující 10%, 50%, 90% úhyn embryí, ale většinou se stanovuje pouze LC[50]
 - EC[10], **EC[50]**, EC[90] - koncentrace způsobující malformace u 10%, 50%, 90% embryí
- (Výsledky LC a EC se hodnotí pomocí statistické probit analýzy)

Vyhodnocení

◎ **TI - Teratogenní index**

- Hodnota podílu 96h LC[50] a EC[50].
- Slouží k hodnocení potenciálu testované látky způsobit teratogenní poškození.
- Látka se považuje za neteratogenní pokud je $TI < 1,5$ pokud je teratogenní index větší než 3, považuje se látka za silný teratogen.

◎ **MCIG** - minimální koncentrace způsobující inhibici růstu

- Porovnání velikosti embryí ve srovnání s negativní kontrolou.

(Potenciální teratogenita vzrůstá s rostoucím TI a klesající hodnotou MCIG)

◎ **Hodnocení vzniklých malformací**

- Atlas abnormalit

Využití FETAXu

- Test FETAX je dobře standardizovanou metodou, která umožňuje snadno a rychle (screeningové hodnocení) získat důležité informace o letálním a neletálním působení látek
- Používá se pro hodnocení vývojové toxicity jak čistých látek, tak komplexních směsí, povrchových a podzemních vod, sedimentů, výluhů a dalších environmentálních vzorků.
- Může pomoci v hodnocení ekotoxicity, embryotoxicity a teratogenity vodních organismů, i obratlovců všeobecně (při zohlednění toxikokinetických specifíků)

Výhody a nevýhody



- Validita
- Rychlost
- Cena
- Dokumentace
- Alternativní druhy



- Exotický druh

Děkujeme za pozornost!



V případě dalšího zájmu lze originální verzi normy FETAX z 1.4. 2004 získat například na <http://eshop.normservis.cz> za 820.80 Kč ☺.