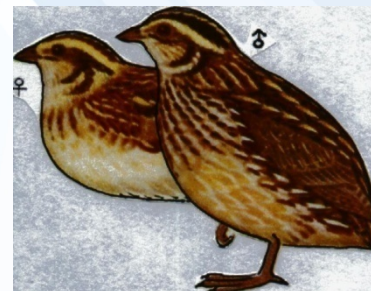




Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí

Ekotoxikologické biotesty s ptáky a savci



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Ptáci a savci

- Sekundární a terciární konzumenti
- Druhy z řádu dravců a sov, šelmy – konečný článek potravní pyramidy
- Delší doba života – potenciál bioakumulace
- ? zakoncentrování/
metabolizace látek v potravních řetězcích



3 R PRINCIP

1959: Russel & Burch: “**3Rs principle**”

Replacement - nahrazení *in vivo* experimentů alternativami

Reduction - snížení počtu zvířat pro zjištění požadovaných informací

Refinement - snížení bolesti a utrpení

Ochrana zvířat a etika práce s laboratorními zvířaty

- **Zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání** - novelizován zákonem č. 359/2012
- **Vyhláška č. 207/2004 Sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat, ve znění pozdějších předpisů**

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely

- použití minimálního počtu zvířat, při němž lze zajistit spolehlivé výsledky, co nejšetrnější metody
- upravuje odbornou přípravu k získání kvalifikace a odborné způsobilosti pracovníků provádějících experimenty na zvířatech – musí absolvovat náležité vzdělání a odbornou přípravu

Doporučení Komise týkající se pokynů pro umístění zvířat používaných pro pokusné a jiné vědecké účely a péči o ně (2007/526/ES)

- stanoví podmínky chovu a ochrany pokusných zvířat



Ochrana zvířat a etika práce s laboratorními zvířaty

státní orgány ochrany zvířat v České republice:

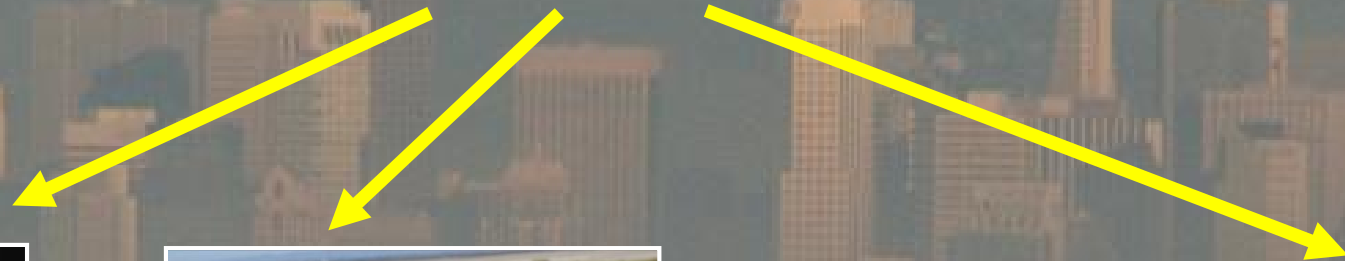
- ministerstvo zemědělství (www.eAGRI.cz)
 - Výbor pro ochranu zvířat používaných pro vědecké účely (VOZPVU)
 - Ústřední komise pro ochranu zvířat (ÚKOZ)
 - orgány veterinární správy
-
- pracovníci provádějící experimenty na zvířatech musí být držiteli osvědčení odborné způsobilosti pro práci s pokusnými zvířaty podle § 17 zákona 246/1992 Sb.
 - pracoviště musí splňovat podmínky zákona 167/1993 Sb. o Státním veterinárním dozoru a být držitelem akreditace uživatelského zařízení a osvědčení pro chovné a dodavatelské zařízení dle zákona 246/1992 Sb. v platném znění (uděluje MZe)
 - akreditované pracoviště - nezávislá odborná komise dle zákona - posuzuje a schvaluje všechny projekty pokusů podle předpisů, dohlíží, ověřuje odbornou způsobilost



Ptáci

- terestrické i vodní prostředí

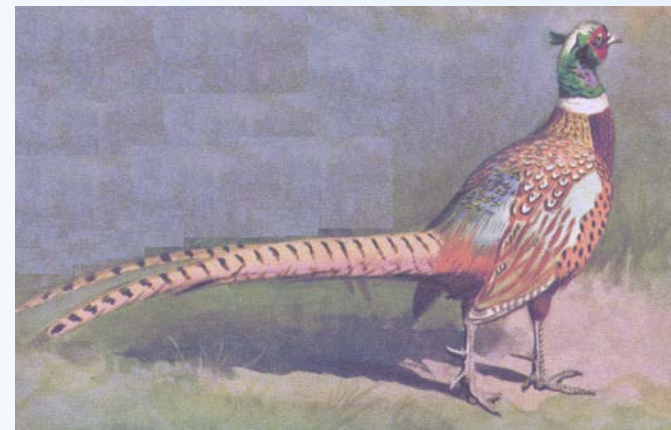
kontaminant



Ptáci - skupina necílových organismů pro pesticidy

- Primární intoxikace
- Sekundární intoxikace

- Údaje o toxicitě látek pro ptáky jsou nenahraditelné
 - akutní toxicita
 - chronická toxicita



Riziko pro poškození ptačích populací



Divocí ptáci v prostředí

Druhy citlivé na pesticidy, těžké kovy, POPs, sinicové toxiny

Především rybožravé druhy – vrchol potravního řetězce

- Vliv na centrální nervový systém
 - Změny chování
 - Poruchy smyslů
- Endokrinní účinky
- Poruchy reprodukce
- Mortalita embryí
- Malformace embryí



Snížení reprodukční kondice populací

Testy toxicity na volně žijících ptácích

Cíl: hodnocení vlivu antropogenních kontaminantů (pesticidy, odpady atd.)

podpora registrace takových nových látek a přípravků, které:

- mohou představovat chronickou expozici ptáků
- jsou persistentní
- se mohou kumulovat v rostlinách a zvířatech
- vykazaly vliv na reprodukci laboratorních savců.

2 základní typy studií:

"screening field studies" - +/- toxicita? Mortalita, pohybová aktivita

„definitive field studies" - ? rozsah poškození? Biodiverzita, abundance, biochemie krve, orgánů, hnízdní a pohybová aktivita, aktivita páření, počet vajec, síla skořápky, líhnivost



Testy toxicity na ptácích

OECD guidelines

Section 2: Effects on Biotic Systems



- **OECD GUIDELINES FOR TESTING OF CHEMICALS**

205, 1984: Avian dietary toxicity test

206, 1984: Avian reproduction test

223, 2016: Avian Acute Oral Toxicity Test



EPA Series 850

Ecological Effects Test Guidelines

850.2000 Background and Special Considerations - Tests with Terrestrial Wildlife

850.2100 Avian acute oral toxicity test

850.2200 Avian dietary toxicity test

850.2300 Avian reproduction test

850.2400 Wild mammal toxicity testing

850.2500 Field Testing for Terrestrial Wildlife

http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/publications/Test_Guidelines/series850.htm



OECD 205 Avian dietary toxicity test



Test akutní perorální toxicity u ptáků

Testovací organismy: křepelka japonská (*Coturnix coturnix japonica*),
bažant obecný (*Phasianus colchicus*),
(případně: koroptev, vrána, kavka, špaček, racek, vlaštovka, kos,
drozd, pěnice, holub, káně, poštolka, volavka, kormorán).

Design:

ptáci ze stejné populace, 10-17 dní staří, známý původ

Před testem min. 7 dní aklimatizace, na začátku zvažení jedinců,

(U volně žijících ptáků: večerní odlov, jedinec dostane při svítání jednorázově dávku v kapsuli).

Osvětlení 12 až 16 hodin denně

Expozice v potravě 5 dní (120 hodin), pak 3 dny krmná směs bez testované látky

Min. 5 koncentrací látky v krmivu (limitní test 5000 ppm) – příprava rovnoměrným rozmísením testované látky se základní krmnou směsí

Pokud dochází k úmrtí 7 a 8 den, prodloužení testu, až když 2 dny po sobě bez mortality, max. 21 dnů

10 jedinců na 1 klec



Vážení křepelek

Hmotnost těla je zjišťována:

1. 0.den
2. 5.den
3. 8.den
4. na konci testu, je-li prodloužen



N-400-BC



Akutní test toxicity u ptáků

Během testování se sleduje:

Příznaky intoxikace a abnormality v chování

Mortalita

Hmotnost těla

v OECD 205: 0.- 5., 8. den a na konci testu, je-li prodloužen

Spotřeba krmiva

v OECD 205: 0.-5., 5.-8. den, 8.-poslední den testu, je-li prodloužen

Vyhodnocení:

doba od aplikace k prvním příznakům toxicity

mortalita – LC50 (V OECD 205: 24hLC50, 48hLC50, 78hLC50, 96hLC50, 120hLC50)

doba potřebná pro detoxikaci a obnovení fyziologických funkcí

Validita testu:

Mortalita kontrolních jedinců nepřekročila 10%

Koncentrace látky v krmivu neklesla pod 80%



OECD 223 (2016): Avian Acute Oral Toxicity Test

Sekvenční testování – dle účelu:

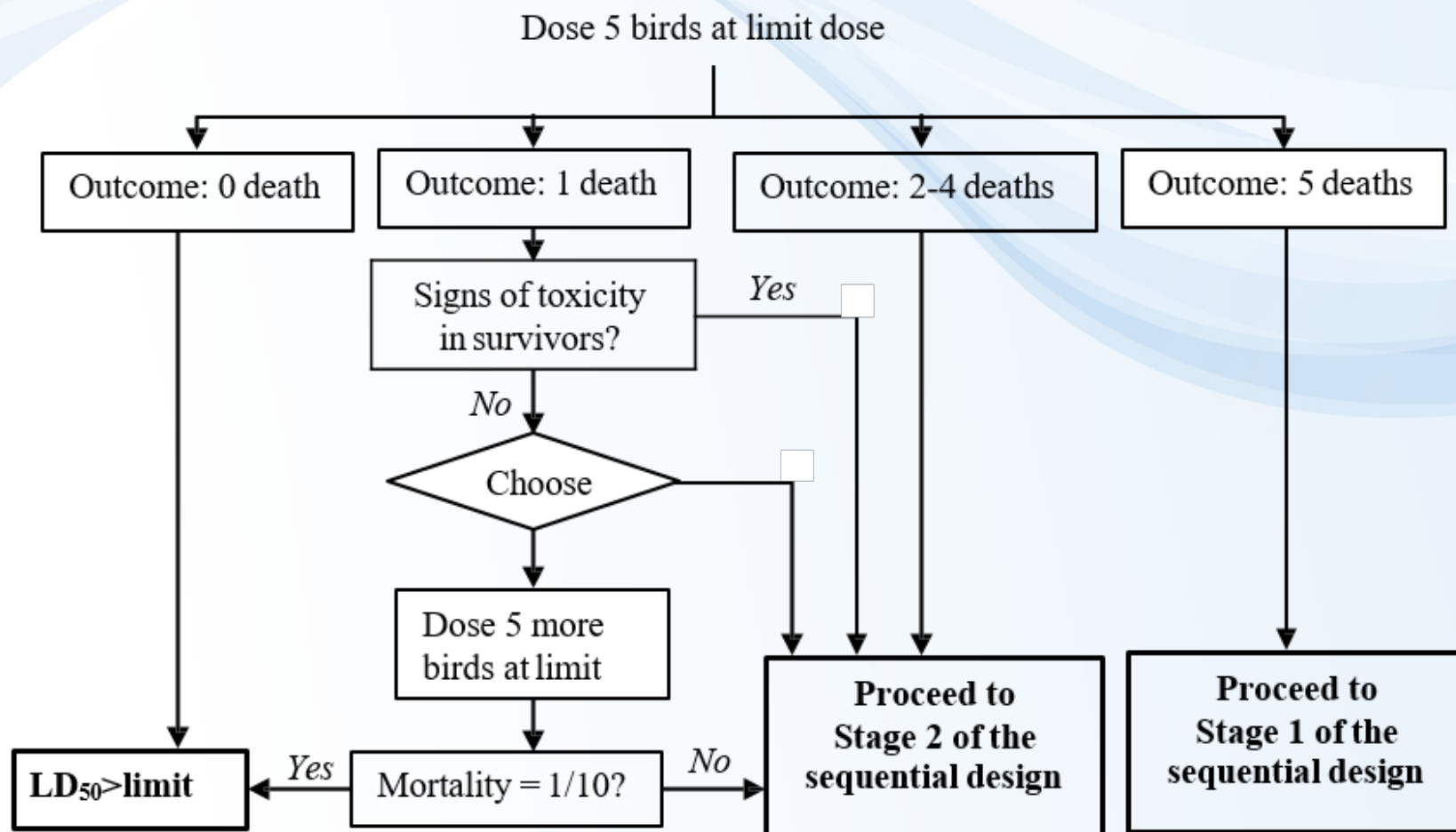
- (1) test limitní dávky – pokud očekávaná nízká toxicita, dávka obvykle 2000 mg/kg, 5 či 10 ptáků – porovnání s kontrolou
- (2) LD50-slope test – pokud je třeba znát LD50 i sklon křivky a/nebo konfidenční interval, 3-4 stupně, 24-34 ptáků + kontrola
- (3) LD50 test – pouze LD50, 2 stupně, 14 ptáků + kontrola

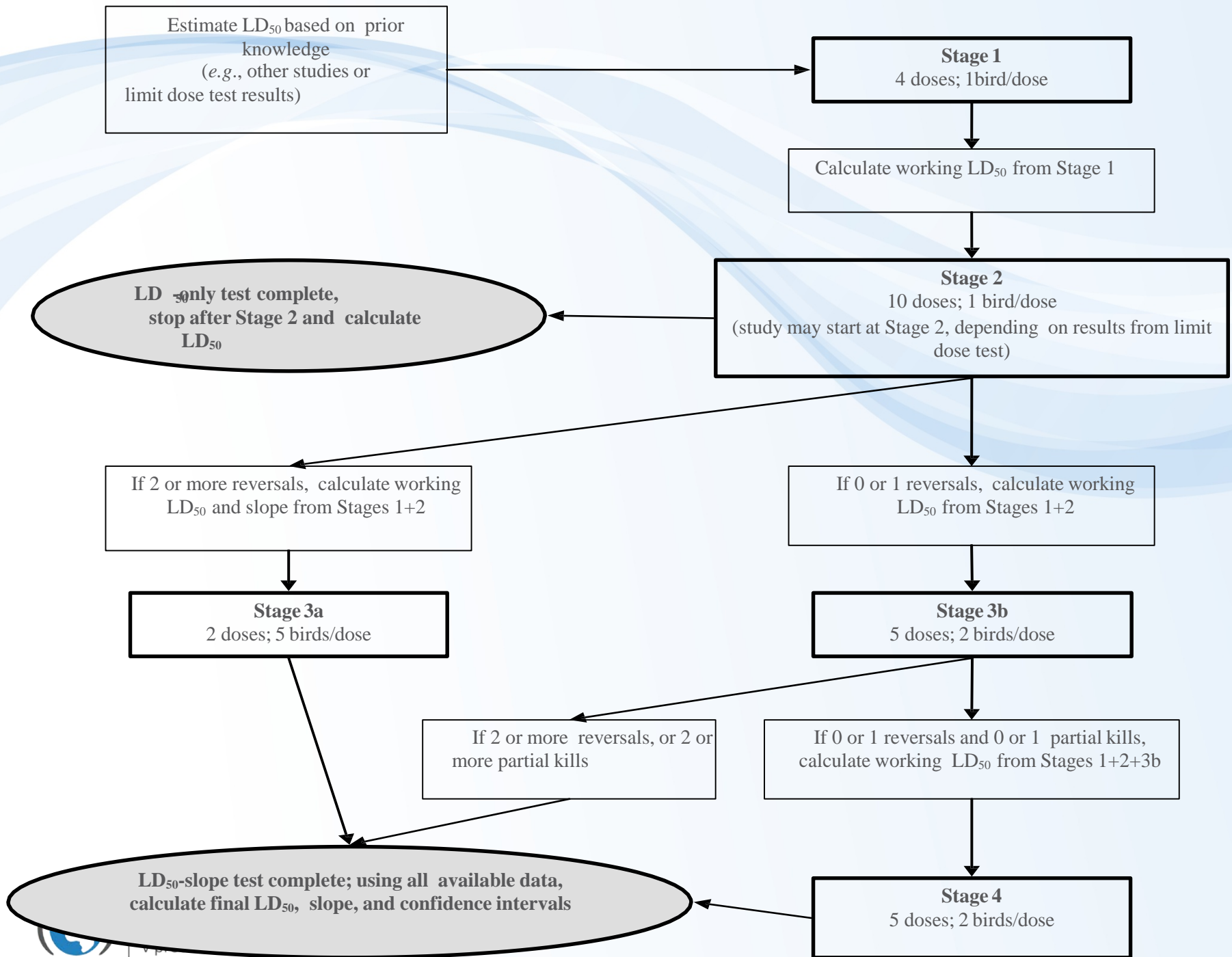
expozice gaváží - do volete nebo do žláznatého žaludku
(proventriculus)

po dávkování ptáci pozorováni 14 dní



OECD 223 – sekvenční design





EPA 850.2100: Avian Acute Oral Toxicity Test

min.14 dní aklimatizace, expozice kapsulí nebo gaváží

Mladí dospělci, min.16 týdnů

Min. 14 dní expozice

Není-li známo rozmezí koncentrací

– předběžný test – doporučeno 2, 20, 200, 2000 mg/kg b.w.
(pokud očekávána nízká toxicita stačí limitní test 2000 mg/kg
b.w.)

Definitivní test:

5 koncentrací, 10 jedinců na koncentraci – dávkování na
tělesnou hmotnost



Single-Dose Avian Embryotoxicity and Teratogenicity Test

Cíl: stanovení toxicity látky při přímé aplikaci na skořápku

Organismus - kachna divoká

Princip - přímá aplikace na skořápku (ropa, pesticidy, DDT, PCB)

Vyhodnocení:

- líhnivost
- nekrozy jater
- biochemické markery
- morfologické abnormality
- poruchy pohybu a metabolismu

Chick Embryotoxicity Screening Test (CHEST)– podobné, aplikace do vajíčka



OECD 206 Avian reproduction test (US EPA Avian chronic toxicity test.)

Cíl: stanovení reprodukční toxicity látky podávané rodičovským jedincům. Testy zahrnují účinky na reprodukci, fertilitu a teratogenitu

podpora registrace takových nových látek a přípravků, které:

- mohou představovat chronickou expozici ptáků
- jsou persistentní
- se mohou kumulovat v rostlinách a zvířatech
- vykazaly vliv na reprodukci laboratorních savců.

Testovací organismus :

kachna divoká, koroptev polní, křepelka

14 dní adaptace



Test reprodukční toxicity (OECD 206)

Design:

- minimálně 3 koncentrace látky v potravě, dle předběžných laboratorních testů (ryba, krysa), nebo takové, které jsou 5x vyšší, než aktuální koncentrace dle analýz
- Nejlépe dle výsledků akutního perorálního testu toxicity (OECD 205) – nejvyšší koncentrace cca $\frac{1}{2}$ LC10

Expozice připravena rovnoměrným rozmísením testované látky se základní krmnou směsí

Ptáci v klecích v párech

Na každou koncentraci aspoň 12 párů

- expozice začíná 10 týdnů před hnízděním a pokračuje 1-3 měsíce ve snáškové sezóně, indukce snášky prodloužením fotoperiody
- vejce jsou denně odebírány a uskladněny, kontrola prosvícením proti prasklinám
- každý týden či 14 dní dány na inkubaci v líhni
- V 6.-14. dni kontrola prosvícením
- Přemístění z inkubátoru do líhně (např. u křepelky 16.den)
- Vylíhlá mláďata se chovají 14 dní na adekvátní dietě



Test reprodukční toxicity (OECD 206)

V průběhu testu se sleduje:

- ✓ mortalita dospělců
- ✓ příznaky intoxikace
- ✓ hmotnost těla dospělců
 - ✓ produkce vajec
 - ✓ výskyt křapek
 - ✓ tloušťka skořápky
 - ✓ oplozenost vajec
 - ✓ líhnivost kuřat
- ✓ hmotnost těla mláďat
- ✓ spotřeba potravy dospělci, mláďaty
- ✓ makroskopické patologické vyšetření - dospělci

Vyhodnocení:

- mortalita, počet vajec, síla skořápky, % oplodněných
- líhnivost, % živých mláďat po 3 a 14 dnech
- malformace, deformace očí, mozku, nohou a křídel,
- biochemické parametry (bilirubin, AP, AST, GST, DNA adukty..)





VETERINÁRNÍ A FARMACEUTICKÁ UNIVERZITA BRNO

ŠKOLNÍ ZEMĚDĚLSKÝ PODNIK NOVÝ JIČÍN JINAČOVICE



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Pokusná Místnost

Regulace teploty

- optimum dle druhu
a stáří organismu

Vlhkosti (50-75%)

Světelného režimu (12-16 hod světla)

Dobrá ventilace

- **Plastové skruže**
průměr spodní 90 cm
průměr horní 100 cm
výška 40 cm
- **Výhřevné zařízení**
klobouková kvočna
závěsná BIOS





Test atraktivnosti různých rodenticidů pro ptáky (BBA – metodika)

(Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft (BBA) in Braunschweig, Germany)

- zjistit, zda je testovaná látka přijímána v množství, které způsobuje příznaky otravy nebo mortalitu
- prognoza rizika akutních otrav ptáků v reálných podmínkách
- venkovní voliery
- bažanti, křepelky, holub domácí
- adaptace 1 týden
- 16 hod. hladovění, 8 hodin
 expozice – 3x po sobě
- Pak 14 dní pozorovací doba









Pozorování



- 1. hod expoziční fáze se ptáci pozorují trvale
- Následujících 7 hod. 1x za hod.
- Cyklus se opakuje 3 dny po sobě
- Na poslední expoziční fázi navazuje 14 denní pozorování



Vyhodnocení testů

- **Test akutní perorální toxicity (OECD 205)**
LC50
- **Test na atraktivitu (BBA-metodika)**
pokusná zvířata (druh, původ, věk)
popis voliér a podmínky testu vč. údajů o počasí
poznatky z pozorování - jak byla přijímána testovaná
substance
změny v chování, příznaky otravy
tělesná hmotnost testovacích jedinců
mortalita a makroskopický patologický nález



Testování toxicity na savcích

Celá řada normovaných testů na laboratorních savcích

Využití: medicína, farmacie, chemický výzkum, humánní toxikologie....

- ČSN ISO
- EC directive
- EPA
- OECD

In vivo, in vitro testy, specifické účinky – neurotoxicita, teratogenita, genotoxicita, karcinogenita

Akutní, subakutní, chronická toxicita



Typy expozice

Orální - podání ústy (orálně, per os, p.o.)

Dermální - aplikace na kůži

Inhalační - podání vdechováním

- dle toho se stanovuje orální, dermální, inhalační toxicita
- u výsledků testů toxicity nutné vždy uvádět expoziční cestu

AKUTNÍ

SUBCHRONICKÉ

CHRONICKÉ

Expoziční dávka se zpravidla uvádí v přepočtu na kg hmotnosti organismu, případně na kg potravy

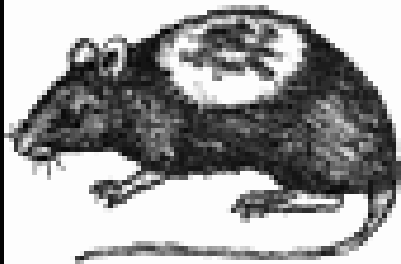


Vyhodnocované parametry

Široké spektrum – nejčastější :

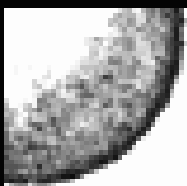
- mortalita, biochemické parametry krve, tělesná hmotnost
- reprodukce, počet a přežití mladých
- hmotnost orgánů
- histopatologické hodnocení
- spermatogram, reprodukční schopnost a aktivita
- sterilita
- mutace, mikrojádra, nádory





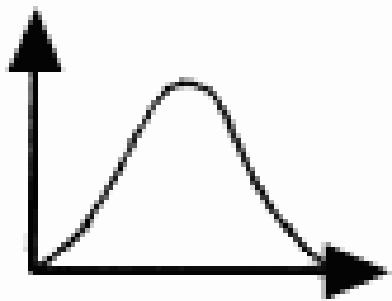
Test hypersenzibilace

pro zjištění schopnosti dané látky vyvolávat vyrážky a další alergické reakce



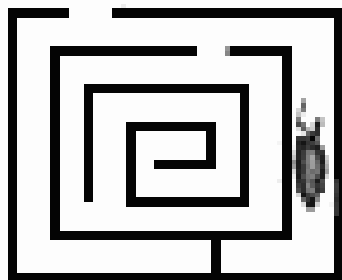
Test fototoxicity

pro zjištění zda vystavení dané látky slunečnímu záření vede ke zvýšení její toxicity



Toxikokinetické studie

sledování absorpce, distribuce, biotransformace, depozice a exkrece dané látky



Behaviorální testy

sledování vlivu chemikálií na kognitivní funkce (učení) organismu během vývoje a v dospělosti

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 440/2008

- kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek
- ČÁST A: METODY PRO STANOVENÍ FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ
- **ČÁST B: METODY STANOVENÍ TOXICITY A JINÝCH ÚČINKŮ NA ZDRAVÍ**
- ČÁST C: METODY STANOVENÍ EKOTOXICITY



ČÁST B: METODY STANOVENÍ TOXICITY A JINÝCH ÚČINKŮ NA ZDRAVÍ

- B.1.a **AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITA** – METODA FIXNÍ DÁVKY
- B.1.b AKUTNÍ ORÁLNÍ TOXICITA – METODA STANOVENÍ TŘÍDY AKUTNÍ TOXICITY
- B.2 AKUTNÍ TOXICITA (INHALAČNÍ)
- B.3 AKUTNÍ TOXICITA (DERMÁLNÍ)
- B.4 AKUTNÍ TOXICITA: DRÁŽDIVÉ A LEPTAVÉ ÚČINKY NA KŮŽI
- B.5 AKUTNÍ TOXICITA: DRÁŽDIVÉ/LEPTAVÉ ÚČINKY NA OČI
- B.6 SENZIBILIZACE KŮŽE
- B.7 **ORÁLNÍ TOXICITA** (28DENNÍ OPAKOVANÁ APLIKACE)
- B.8 **INHALAČNÍ TOXICITA** (28DENNÍ OPAKOVANÁ APLIKACE)
- B.9 **DERMÁLNÍ TOXICITA** (28DENNÍ OPAKOVANÁ APLIKACE)
- B.10 **MUTAGENITA** – ZKOUŠKA NA CHROMOZOMOVÉ ABERACE U SAVCŮ IN VITRO
- B.11 MUTAGENITA – ZKOUŠKA NA CHROMOZOMOVÉ ABERACE V BUŇKÁCH KOSTNÍ DŘENĚ SAVCŮ IN VIVO
- B.12 MUTAGENITA – TEST SAVČÍCH ERYTROCYTÁRNÍCH MIKROJADER IN VIVO
- B.13/14 MUTAGENITA – ZKOUŠKA NA REVERZNÍ MUTACE S BAKTERIEMI
- B.15 ZKOUŠENÍ MUTAGENITY A SCREENING KARCINOGENITY – ZKOUŠKA NA GENOVÉ MUTACE U SACCHAROMYCES CEREVISIAE



ČÁST B: METODY STANOVENÍ TOXICITY.... (pokračování)

- B.16 ZKOUŠKA NA MITOTICKOU REKOMBINACI U SACCHAROMYCES CEREVISIAE
- B.17 MUTAGENITA – ZKOUŠKA NA GENOVÉ MUTACE V BUŇKÁCH SAVCŮ IN VITRO
- B.18 ZKOUŠKA NA POŠKOZENÍ A REPARACI DNA – NEPLÁNOVANOU SYNTÉZU DNA – V SAVČÍCH BUŇKÁCH IN VITRO
- B.19 ZKOUŠKA NA VÝMĚNU SESTERSKÝCH CHROMATID IN VITRO
- B.20 ZKOUŠKA NA RECESIVNÍ LETÁLNÍ MUTACE VÁZANÉ NA POHLAVÍ U DROSOPHILA MELANOGASTER
- B.21 ZKOUŠKY NA TRANSFORMACE SAVČÍCH BUNĚK IN VITRO
- B.22 DOMINANTNÍ LETÁLNÍ ZKOUŠKA NA HLODAVCÍCH
- B.23 ZKOUŠKA NA CHROMOSOMOVÉ ABERACE VE SPERMATOGONIÍCH SAVCŮ
- B.24 SPOT TEST NA MYŠÍCH
- B.25 ZKOUŠKA NA DĚDIČNOU TRANSLOKACI U MYŠÍ
- B.26 ZKOUŠKA **SUBCHRONICKÉ ORÁLNÍ TOXICITY** NA HLODAVCÍCH (90DENNÍ OPAKOVANÁ INHALAČNÍ EXPOZICE NA HLODAVCÍCH)
- B.27 ZKOUŠKA SUBCHRONICKÉ ORÁLNÍ TOXICITY STUDIE ORÁLNÍ TOXICITY NA NEHLODAVCÍCH (90DENNÍ OPAKOVANÁ APLIKACE)
- B.28 STUDIE **SUBCHRONICKÉ DERMÁLNÍ TOXICITY** (90DENNÍ OPAKOVANÁ KOŽNÍ APLIKACE NA HLODAVCÍCH)
- B.29 STUDIE **SUBCHRONICKÉ INHALAČNÍ TOXICITY** (90DENNÍ OPAKOVANÁ INHALAČNÍ EXPOZICE NA HLODAVCÍCH)



ČÁST B: METODY STANOVENÍ TOXICITY.... (pokračování)

- B.30 ZKOUŠKA **CHRONICKÉ TOXICITY**
- B.31 STUDIE PRENATÁLNÍ **VÝVOJOVÉ TOXICITY**
- B.32 ZKOUŠKA **KARCINOGENITY**
- B.33 KOMBINOVANÁ ZKOUŠKA CHRONICKÉ TOXICITY A KARCINOGENITY
- B.34 JEDNOGENERAČNÍ ZKOUŠKA TOXICITY PRO REPRODUKCI
- B.35 DVOUGENERAČNÍ STUDIE **REPRODUKČNÍ TOXICITY**
- B.36 STUDIE **TOXIKOKINETIKY**
- B.37 POZDNÍ NEUROTOXICITA ORG. SLOUČENIN FOSFORU PO AKUTNÍ EXPOZICI
- B.38 POZDNÍ NEUROTOXICITA ORGANICKÝCH SLOUČENIN FOSFORU – 28DENNÍ OPAKOVANÁ EXPOZICE
- B.39 ZKOUŠKA NA NEPLÁNOVANOU SYNTÉZU DNA (UDS) V JATERNÍCH BUŇKÁCH SAVCŮ IN VIVO 378
- B.40 LEPTAVÉ ÚČINKY NA KŮŽI IN VITRO: ZKOUŠKA TRANSKUTÁNNÍHO ELEKTRICKÉHO ODPORU (TER)
- B.40.a LEPTAVÉ ÚČINKY NA KŮŽI IN VITRO: NA MODELU LIDSKÉ KŮŽE
- B.41 ZKOUŠKA **FOTOTOXICITY** 3T3 NRU IN VITRO
- B.42 SENZIBILIZACE KŮŽE: S VYŠETŘENÍM LOKÁLNÍCH LYMFATICKÝCH UZLIN
- B.43 ZKOUŠKA **NEUROTOXICITY** NA HLODAVCÍCH
- B.44 ABSORPCE KŮŽÍ: METODA IN VIVO
- B.45 ABSORPCE KŮŽÍ: METODA IN VITRO



EC directives (směrnice) - Methods for the Determination of Toxicity

- 92/69/EEC B.1 Acute Toxicity (Oral)
- 92/69/EEC B.1bis Acute Toxicity (Oral) Fixed Dose Method
- 96/54/EC B.1tris Acute Toxicity (Oral) – Acute Toxic Class Method
- 92/69/EEC, 93/21/EEC B.2 Acute Toxicity (Inhalation)
- 92/69/EEC B.3 Acute Toxicity (Dermal)
- 92/69/EEC B.4 Acute Toxicity (Skin Irritation)
- 92/69/EEC B.5 Acute Toxicity (Eye Irritation)
- 96/54/EC B.6 Skin Sensitisation
- 96/54/EC B.7 Repeated Dose (28 Days) Toxicity (Oral)
- 92/69/EEC B.8 Repeated Dose (28 Days) Toxicity (Inhalation)
- 92/69/EEC B.9 Repeated Dose (28 Days) Toxicity (Dermal)
- 2000/32/EC B.10 Mutagenicity - *In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test
- 2000/32/EC B.11 Mutagenicity - *In vivo* Mammalian Bone-Marrow Chromosome Aberration Test
- 2000/32/EC B.12 Mutagenicity Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test
- 2000/32/EC B.13/14 Mutagenicity – Reverse Mutation Test using Bacteria
- 88/302/EEC B.15 Gene Mutation – *Saccharomyces cerevisiae*
- 88/302/EEC B.16 Mitotic Recombination - *Saccharomyces cerevisiae*
- 2000/32/EC B.17 Mutagenicity - *In vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test
- 88/302/EEC B.18 DNA Damage and Repair – Unscheduled DNA Synthesis – Mammalian Cells *in vitro*
- 88/302/EEC B.19 Sister Chromatid Exchange Assay *in vitro*
- 88/302/EEC B.20 Sex-Linked Recessive Lethal Test in *Drosophila melanogaster*
- 88/302/EEC B.21 *In vitro* Mammalian Cell Transformation Test
- 88/302/EEC B.22 Rodent Dominant Lethal Test
- 2000/32/EC B.23 Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test
- 88/302/EEC B.24 Mouse Spot Test
- 88/302/EEC B.25 Mouse Heritable Translocation
- 88/302/EEC B.26 Sub-Chronic Oral Toxicity Test: Repeated Dose 90-Day Toxicity Study in Rodents
- 88/302/EEC B.27 Sub-Chronic Oral Toxicity Test: Repeated Dose 90-Day Toxicity Study in Non-Rodents
- 88/302/EEC B.28 Sub-Chronic Dermal Toxicity Test: 90-Day Repeated Dermal Dose Study using Rodent Species
- 88/302/EEC B.29 Sub-Chronic Inhalation Toxicity Test: 90-Day Repeated Inhalation Dose Study using Rodent Species
- 88/302/EEC B.30 Chronic Toxicity Test
- 88/302/EEC B.31 Teratogenicity Test – Rodent And Non-Rodent
- 88/302/EEC B.32 Carcinogenicity Test
- 88/302/EEC B.33 Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Test
- 88/302/EEC B.34 One-Generation Reproduction Toxicity Test
- 88/302/EEC B.35 Two-Generation Reproduction Toxicity Test
- 88/302/EEC B.36 Toxicokinetics
- 2000/32/EC B.39 Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells *In vivo*
- 2000/33/EC B.40 Skin Corrosion EC Directive 2000/33/EC
- B.41 Phototoxicity - *In vitro* 3T3 NRU Phototoxicity Test

EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances (OPPTS) - guidelines organizovány do 10 serií:

850 - Ecological Effects Test Guidelines

870 - Health Effects Test Guidelines

870.1000 Acute toxicity testing--background

870.1100 Acute oral toxicity

870.1200 Acute dermal toxicity

870.1300 Acute inhalation toxicity

870.2400 Acute eye irritation

870.2500 Acute dermal irritation

870.2600 Skin sensitization

870.3050 Repeated dose 28-day oral toxicity study
in rodents

870.3100 90-Day oral toxicity in rodents

870.3150 90-Day oral toxicity in nonrodents

870.3200 21/28-Day dermal toxicity

870.3250 90-Day dermal toxicity

870.3465 90-Day inhalation toxicity

870.3550 Reproduction/developmental toxicity
screening test

870.3650 Combined repeated dose toxicity study
with the reproduction/developmental toxicity
screening test

870.3700 Prenatal developmental toxicity study

870.3800 Reproduction and fertility effects

870.4100 Chronic toxicity

870.4200 Carcinogenicity

870.4300 Combined chronic toxicity/carcinogenicity

870.5195 Mouse biochemical specific locus test

870.5200 Mouse visible specific locus test

870.5300 In vitro mammalian cell gene mutation test

870.5375 In vitro mammalian chromosome aberration test

870.5380 Mammalian spermatogonial chromosomal aberration
test

870.5385 Mammalian bone marrow chromosomal aberration test

870.5395 Mammalian erythrocyte micronucleus test

870.5450 Rodent dominant lethal assay

870.5460 Rodent heritable translocation assays

870.5550 Unscheduled DNA synthesis in mammalian cells in
culture

870.5575 Mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae*

870.5900 In vitro sister chromatid exchange assay

870.5915 In vivo sister chromatid exchange assay

870.6100 Acute and 28-day delayed neurotoxicity of
organophosphorus substances

870.6200 Neurotoxicity screening battery

870.6300 Developmental neurotoxicity study

870.6500 Schedule-controlled operant behavior

870.6850 Peripheral nerve function

870.6855 Neurophysiology Sensory evoked potentials 870.7200
Companion animal safety

870.7485 Metabolism and pharmacokinetics

870.7600 Dermal penetration

870.7800 Immunotoxicity

870.8355 Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity

OECD guidelines

- Section 4: Health Effects

- 402 Acute Dermal Toxicity
- 403 Acute Inhalation Toxicity
- 404 Acute Dermal Irritation/Corrosion
- 405 Acute Eye Irritation/Corrosion
- 406 Skin Sensitisation
- 407 Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents
- 408 Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents
- 409 Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents
- 410 Repeated Dose Dermal Toxicity: 21/28-day Study
- 411 Subchronic Dermal Toxicity: 90-day Study
- 412 Repeated Dose Inhalation Toxicity: 28-day or 14-day Study
- 413 Subchronic Inhalation Toxicity: 90-day Study
- 414 Prenatal Developmental Toxicity Study
- 415 One-Generation Reproduction Toxicity Study
- 416 Two-Generation Reproduction Toxicity Study
- 417 Toxicokinetics
- 418 Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances Following Acute Exposure
- 419 Delayed Neurotoxicity of Organophosphorus Substances: 28-day Repeated Dose Study
- 420 Acute Oral Toxicity - Fixed Dose Method
- 421 Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test
- 422 Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity
- 423 Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method
- 424 Neurotoxicity Study in Rodents
- 425 Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure
- 426 Developmental Neurotoxicity Study "
- 427 Skin Absorption: In Vivo Method
- 428 Skin Absorption: In Vitro Method
- 429 Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay
- 430 In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER)
- 431 In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test
- 432 In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test
- 435 In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion
- 440 Uterotrophic Bioassay in Rodents: a short-term screening test for oestrogenic properties
- 451 Carcinogenicity Studies (Original Guideline,
- 452 Chronic Toxicity Studies (Original Guideline, 453 Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies
- 471 Bacterial Reverse Mutation Test (Updated Guideline, adopted
- 473 In vitro Mammalian Chromosomal Aberration Test (Updated Guideline,
- 474 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test
- 475 Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test
- 476 In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test
- 478 Genetic Toxicology: Rodent Dominant Lethal Test
- 479 Genetic Toxicology: In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells
- 480 Genetic Toxicology: *Saccharomyces cerevisiae*, Gene Mutation Assay
- 482 Genetic Toxicology: DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells in vitro
- 483 Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test
- 484 Genetic Toxicology: Mouse Spot Test
- 485 Genetic Toxicology: Mouse Heritable Translocation Assay
- 486 Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells in vivo

Testy toxicity na volně žijících savcích (EPA 850.2400 Wild mammal acute toxicity)

Cíl: ověřit v přírodních podmínkách výsledky laboratorních testů na hlodavcích

V případě látek, které jsou přímo vnášeny do přirozeného prostředí druhu

Testovací organismy: volně žijící hlodavci - myš, hraboš, zajíc, králík, dále fretka, liška, lovná zvěř, (US - norek, skunk, bobr) – vybrat dle relevantnosti pro danou látku a prostředí aplikace

Design: 28 dnů expozice v klecích, přírodní podmínky, dávkování do vody a potravy

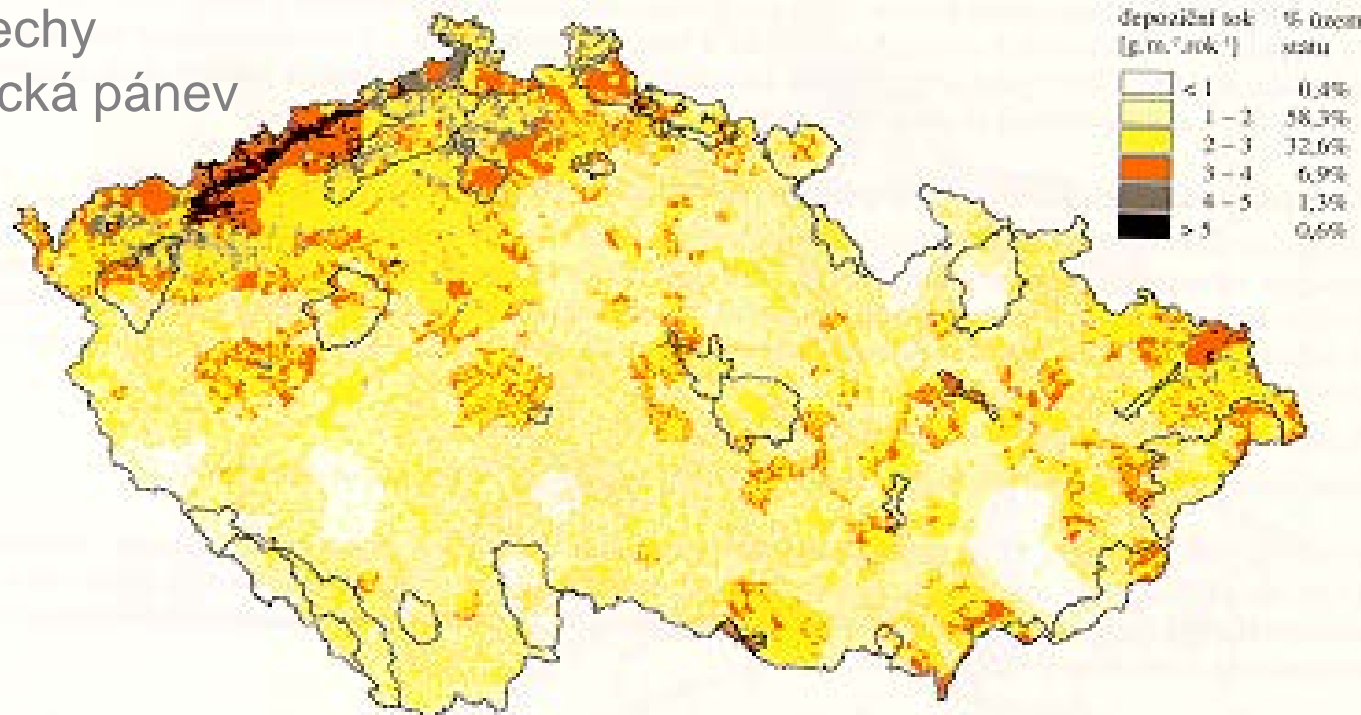
Vyhodnocení: mortalita, ovogeneze, spermatogram, reprodukční aktivita, vývoj embryí, biochemie krve a orgánů (slezina, játra).



Volně žijící savci jako model v biomonitoringu

rejsek malý (*Sorex minutus*)
rejsek obecný (*Sorex araneus*)
hraboš polní (*Microtus arvalis*)
norník rudý (*Clethrionomys glareolus*)
myšice lesní (*Apodemus flavicollis*)

Studovaná oblast -
severozápadní Čechy
Krušné hory, Mostecká pánev
30°42' N 13°36'



Metody

testy mutagenních vlivů vnějšího prostředí

aberrace chromosomů v somatických a pohlavních buňkách
výskyt mikrojader v somatických buňkách
(mikronucleus test)
abnormality spermií

rezidua těžkých kovů

základní údaje z populační ekologie

- abundance
- poměr pohlaví
- populační struktura
 - reprodukce
- denzita a produktivita



Další zdroje informací z monitoringu/bioindikací

- analýzy kostí a tuku dlouho žijících zvířat (více než 4 roky - jelen, prase divoké, spárkatá zvěř, vrány, kavky hnízdící na urč. teritoriu)
- koloniálně hnízdící ptáci - rackové, kormoráni a populace – analýza vajec
- vnitřnosti lovné zvěře (monitoring)
- odlov hrabošů z přírody struktura populací, vývoj mláďat – mortalita, teratogenita
- bioakumulace PAU, PCB, DDT, TK....
- biochemie+ genetika krve





INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována
Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem
České republiky



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí