

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Laboratorní zvířata a jejich využití
Bakalářská práce**

**Barbora Voxová
Chov exotických zvířat**

MVDr. Romana Krejčířová Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Laboratorní zvířata a jejich využití" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze 26. 4. 2024

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala MVDr. Romaně Krejčířové Ph.D. za odborné vedení a trpělivost při psaní této práce a dále bych také ráda poděkovala své rodině za podporu během mých studií.

Laboratorní zvířata a jejich využití

Souhrn

Laboratorní zvířata i v současnosti představují nezbytnou součást výzkumu. Pro laboratorní účely jsou využíváni obratlovci v širokém spektru živočišných řádů, nejčastěji se jedná o laboratorní myši a potkany.

V České republice jsou v platnosti dvě klíčové právní normy, které regulují využití laboratorních zvířat. První z nich, vyhláška č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat, implementuje směrnici Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU a stanovuje pravidla pro provoz výzkumných zařízení. Součástí této normy jsou i pravidla pro práci s laboratorními zvířaty. Druhou normou je zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, který obsahuje specifická ustanovení pro laboratorní zvířata. Specifikuje požadavky na odbornou způsobilost pracovníků.

Práce s laboratorními zvířaty v České republice musí respektovat pravidla vycházející z těchto právních norem. Tato pravidla se týkají evidování, chovu, transportu a usmrcování zvířat a mají za cíl zajistit co nejlepší welfare zvířat.

Výzkumné projekty s laboratorními zvířaty jsou povoleny pouze po schválení Ústřední komisí na ochranu zvířat, která hodnotí závažnost pokusu. Diskuse o etice využívání zvířat ve výzkumu zdůrazňuje nutnost zajištění welfare zvířat, které by mělo být důsledkem nejen právních norem, ale i dodržováním principů pěti svobod a tří R.

Laboratorní potkan byl poprvé použit k vědeckým účelům v roce 1856 ve Francii a dnes je druhým nejčastěji využívaným zvířetem v laboratorních podmínkách. Při výzkumu je klíčový výběr konkrétní linie nebo populace potkanů, jelikož každá má specifické vlastnosti vhodné pro různé typy studií.

Dáňo pruhované je, jako ostatní druhy ryb, méně častým laboratorním zvířetem, avšak stává se stále častějším modelem v oblastech toxikologie, patologie a onkologie. Pozitivní aspekty týkající se dáňí, konkrétně krátký generační interval a vysoký počet potomků, vedou ke zvyšování počtu studií, kde jsou tyto ryby využívány. Rovněž možnost vytvoření transgenních populací dáňí je dalším důvodem pro jejich uplatnění.

V dnešní době dochází k poklesu frekvence pokusů využívajících laboratorní zvířata, a to zejména savce. Stále častěji jsou přednostně aplikovány alternativní vědecké výzkumné metody, kdy jsou savci nahrazováni nižšími obratlovci nebo bezobratlými živočichy. Jsou tak ve větší míře splněny etické požadavky.

Klíčová slova: pokusy na zvířatech, pokusná zvířata, výzkum, legislativa, etika

Laboratory animals and their use

Summary

Laboratory animals are still an essential part of research today. Vertebrate animals from a wide range of orders are used for laboratory purposes, the most common being laboratory mice and rats.

In the Czech Republic, there are two main legal norms regulating the use of laboratory animals. The first, Decree No. 419/2012 Coll. on the Protection of Laboratory Animals, implements Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council and lays down rules for the operation of research facilities. This standard also includes rules for working with experimental animals. The second standard is Act No. 246/1992 Coll. on the Protection of Animals against Cruelty, which contains specific provisions for laboratory animals. It specifies the requirements for the professional competence of personnel.

Work with laboratory animals in the Czech Republic must comply with the rules based on these legal norms. These rules concern the registration, housing, transport and killing of animals and are intended to ensure the best possible welfare of the animals.

Research projects involving laboratory animals are only allowed after approval by the Central Commission for Animal Protection, which assesses the seriousness of the experiment. The debate on the ethics of the use of animals in research emphasises the need to ensure animal welfare, which should be a consequence not only of legal standards but also of adherence to the principles of the five freedoms and the three Rs.

The laboratory rat was first used for scientific purposes in France in 1856 and is now the second most commonly used animal in laboratories. The selection of a particular strain or population of rats is crucial in research, as each has specific characteristics that are suitable for different types of studies.

The striped zebrafish, like other fish species, is a less common laboratory animal but is becoming an increasingly used model in toxicology, pathology and oncology. The positive aspects of zebrafish, namely the short generation interval and the high number of offspring, have led to an increase in the number of studies using these fish. The possibility of creating transgenic Zebrafish populations is another reason for their use.

Nowadays, the use of laboratory animals, especially mammals, is decreasing. Increasingly, alternative scientific research methods are preferred, replacing mammals with lower vertebrates or invertebrates. This better meets ethical requirements.

Keywords: animal experimentation, experimental animals, research, legislation, ethics

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce.....	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Právní normy v České republice.....	3
3.1.1 Vyhláška č. 419/2012 Sb.	3
3.1.2 Zákon č. 246/1992 Sb.	4
3.1.3 Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU	5
3.1.4 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1010	5
3.1.5 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009	5
3.1.6 Státní orgány	5
3.2 Pravidla pro práci s laboratorními zvířaty.....	6
3.2.1 Evidence zvířat	6
3.2.2 Chov laboratorních zvířat	7
3.2.3 Laboratorní zařízení	7
3.2.4 Přemístování a přeprava zvířat.....	8
3.2.5 Usmrcování zvířat.....	8
3.2.6 Kvalifikace pracovníků.....	10
3.2.7 Specializovaní pracovníci	13
3.3 Podmínky výzkumu	13
3.3.1 Povolení k výzkumu	13
3.3.2 Hodnocení a schválení pokusu	14
3.3.3 Hodnocení závažnosti pokusu	14
3.3.4 Účely pokusů na zvířatech.....	15
3.3.5 Odborná komise.....	15
3.4 Etická otázka	16
3.4.1 Pět svobod.....	16
3.4.2 Tři R.....	17
3.5 Využívané druhy zvířat	17
3.5.1 Ryby.....	17
3.5.2 Obojživelníci.....	18
3.5.3 Plazi	19
3.5.4 Ptáci	19
3.5.5 Hlodavci a králíci.....	19
3.5.6 Hospodářská zvířata.....	20
3.5.7 Subhumánní primáti.....	20
3.5.8 Malé šelmy.....	21

3.6	Laboratorní potkan.....	21
3.6.1	Chovné podmínky.....	22
3.6.2	Manipulace.....	23
3.6.3	Identifikace potkanů	23
3.6.4	Populace a linie laboratorních potkanů.....	23
3.6.5	SPF potkani.....	25
3.6.6	Odběr krve	25
3.6.7	Odběr moči	26
3.6.8	Anestezie.....	26
3.6.9	Eutanázie.....	27
3.7	Dáňio pruhované.....	27
3.7.1	Chovné podmínky	27
3.7.2	Manipulace.....	28
3.7.3	Populace.....	28
3.7.4	Eutanázie.....	29
3.7.5	Odběr krve	29
3.8	Alternativní metody při výzkumu	29
4	Závěr	30
5	Literatura.....	31

1 Úvod

Laboratorní zvířata jsou důležitou součástí výzkumu a vzdělávání i v dnešní době. Za pokusné zvíře může být považován jakýkoliv obratlovec, který byl chován za účelem využití v laboratoři (United States National Academy of Sciences 2012). Nejvyužívanější druhy jsou myš laboratorní a potkan laboratorní, kteří tvoří 95 % používaných zvířat ve výzkumu (Hickman et al. 2017).

V České republice jsou v platnosti dvě právní normy zaměřující se na laboratorní zvířata. Jedná se o vyhlášku č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat, a zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Tyto normy stanovují pravidla pro zacházení s laboratorními zvířaty. Specifikují také provoz výzkumných zařízení (Česká národní rada 1992). Dále je součástí zákona č. 246/1992 část, která popisuje a upřesňuje postup při schvalování a hodnocení pokusů. K schválení projektu pokusu jsou daná specifika. Využívání subhumánních primátů má přísné podmínky. Jejich použití je povoleno pouze v případech, kdy je cílem výzkumu zkoumání chorob ohrožujících člověka. Možné je i využít, pokud lze jednoznačně prokázat, že ve výzkumu nelze využít jiný druh zvířete (Česká národní rada 1992).

Dodržování zásad stanovených v tuzemských normách kontrolují státní orgány, například se jedná o veterinární správu či výbor pro ochranu zvířat používaných pro vědecké účely (Česká národní rada 1992).

Výzkum na zvířatech byl a stále je předmětem etických sporů (Walker 2019), a proto by welfare pokusných zvířat měl být zajištěn dodržováním koncepcí tří R a pěti svobod (Gjerris et al. 2020). Koncepce tří R (Replacement, Reduction, Refinement) by měla vést ke snížení počtu pokusů, počtu využívaných zvířat a míry bolesti, které jsou zvířata vystavována (MacArthur Clark 2018). Tato koncepce je v České republice zakotvena v zákoně č. 246/1992 Sb.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo na základě studia aktuální vědecké literatury zpracovat literární rešerši na téma laboratorních zvířat se zaměřením na jejich využití s ohledem na platnou legislativu.

3 Literární rešerše

Laboratorní zvířata jsou v současné době stále nezbytnou součástí vědeckého výzkumu a vzdělávání. Přestože je jejich využívání neodmyslitelně spojeno s pokroky v oblasti léčby nemocí a poznání biologických procesů, je klíčové zajistit, aby tyto aktivity probíhaly eticky a v souladu s přísnými normami ochrany zvířat.

3.1 Právní normy v České republice

V České republice se uplatňují jak vnitrostátní normy, tak i Evropské vyhlášky a směrnice. V rámci České republiky existují dva hlavní právní předpisy týkající se využívání laboratorních zvířat ke konkrétním účelům.

3.1.1 Vyhláška č. 419/2012 Sb.

Vyhláška č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat je vnitrostátní předpis, který upravuje a zpracovává předpisy od Evropských společenství, konkrétně směrnici Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU. Zabezpečuje a dbá na to, aby laboratorní pokusy probíhaly, co nejvíce v souladu s welfare zvířete. Dává důraz na to, jak má dané zařízení fungovat a jak má probíhat provoz v těchto zařízeních (Ministerstvo zemědělství 2012). Podle vyhlášky č. 419/2012 Sb., by mělo být každé laboratorní zařízení vybaveno pomůckami k poskytnutí první pomoci zvířeti, k provedení pokusu, k usmrcení zvířete a k činnostem, které u zvířete vyvolávají přirozené chování. Vyžaduje akreditaci osob pracujících s laboratorními zvířaty a dbá i na způsob a postup pokusu. Ve vyhlášce č. 419/2012 Sb. se také zdůrazňuje, že pokusná zvířata by měla být označena způsobem, který jim způsobuje co nejmenší bolest, a preferuje se papírová evidence. Taková evidence by měla obsahovat počet, věk, pohlaví a taxonomický druh chovaných jedinců. Určuje i dobu, po kterou je nutné zvíře před pokusem adaptovat na nové prostředí a novou ubikaci. Specifikuje a udává rozměry ubikací pro daný typ zvířete (viz Tab. 1) (Ministerstvo zemědělství 2012).

Tabulka 1 – chovné podmínky pro laboratorní myši (*Mus musculus* Linnaeus 1758) během výzkumu (Ministerstvo zemědělství 2012).

	Tělesná hmotnost (g)	Minimální plocha uzavřeného prostoru (cm ²)	Podlahová plocha najedno zvíře (cm ²)	Minimální výška uzavřeného prostoru (cm)
K dispozici v zařízení a během pokusů	až do 20	330	60	12
	od 20 do 25	330	70	12
	od 25 do 30	330	80	12
	nad 30	330	100	12
Rozmnožování		330 Pro monogamní pár (outbrední/inbrední) nebo trojici (inbrední). Pro každou další samici a vrh se přidá 180 cm ² .		12
Chovná zvířata ¹⁾ Plocha uzavřeného prostoru 950 cm ²	méně než 20	950	40	12
Plocha uzavřeného prostoru 1500 cm ²	méně než 20	1500	30	12

3.1.2 Zákon č. 246/1992 Sb.

Zákon České národní rady č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání obsahuje specifickou část, která přímo reguluje ochranu pokusných zvířat. Tato legislativa klade důraz na odstranění bolesti, strachu a trvalých následků u laboratorních zvířat, posilujíc tak etické normy ve výzkumné praxi. Zákon č. 246/1992 Sb. upravuje nejen vizuální podobu laboratorních zařízení, ale též stanovuje konkrétní požadavky na osoby provádějící výzkum, zajišťující jim právní záštitu. Podle tohoto zákona je nezbytné mít projekt výzkumu schválen státním orgánem. Výzkumy na zvířatech podléhají schvalovacímu řízení, které stanoví podmínky pro jejich provádění. Tyto výzkumy musejí následovat schválené rozhodnutí a dodržovat stanovený taxonomický druh a počet zvířat (Česká národní rada 1992). Navíc je zakázáno provádět výzkum v jiném zařízení než tom, které bylo původně zahrnuto do projektu pokusu. Zákon č. 246/1992 Sb. také zvlášť upravuje oblast využívání subhumánních primátů. Jejich použití je povoleno pouze v případech, kdy je cílem výzkumu zkoumání chorob ohrožujících člověka. Alternativně může být jejich využití schváleno, pokud lze jednoznačně prokázat, že daný výzkum není možný na jiných zvířatech. Tímto způsobem se zákon snaží minimalizovat využívání subhumánních primátů. Zákon č. 246/1992 Sb. specifikuje i postupy v zacházení se zvířaty, včetně způsobu usmrcování a možností, jak postupovat s laboratorními zvířaty, pokud jejich zdravotní stav připouští návrat do přírody nebo zařazení do zájmového chovu, pokud nehrozí riziko šíření nemoci. Zákon č. 246/1992 Sb. udává i postupy v zacházení se zvířaty, včetně způsobu usmrcování a možností, jak postupovat s laboratorními zvířaty, pokud jejich zdravotní stav připouští návrat do přírody nebo zařazení do zájmového chovu, pokud nehrozí riziko šíření nemoci. Usmrcení zvířete pouze pro využití jeho orgánů nebo tkání pro vědecké účely smí provádět pouze veterinární lékař nebo osoba odborně způsobilá k navrhování pokusů nebo projektů pokusů nebo osoba odborně způsobilá k provádění pokusů na pokusných zvířatech, péči o pokusná zvířata a usmrcování pokusných zvířat, a to pouze v

prostorech, které jsou uvedeny v oprávnění k chovu pokusných zvířat, k dodávce pokusných zvířat, nebo k používání pokusných zvířat (Česká národní rada, 1992).

3.1.3 Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU

Tato směrnice pečlivě upravuje a stanovuje ochranu laboratorních zvířat, přičemž posloužila jako základ pro vytvoření české normy, vyhlášky č. 419/2012 Sb. Obsah obou dokumentů je si velmi podobný. Směrnice se však vyznačuje i tím, že představuje okolnosti týkající se implementace této legislativy do norem členských států. Stanovuje, že každý členský stát má povinnost aplikovat tuto směrnici do svých právních norem nejpozději do 10. listopadu 2012, tak aby tyto normy nabyly účinnosti od 1. ledna 2013 (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

3.1.4 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1010

Toto nařízení vychází z předešlé směrnice 2010/63/EU a zaměřuje se na zlepšení transparentnosti v rámci výzkumů na zvířatech. Přináší povinnost zveřejňovat statistiky týkající se využitých zvířat. Kromě toho musí tyto informace být předkládány komisi, která shromažďuje a veřejně publikuje všechny relevantní údaje (Evropský parlament a Rada evropské unie 2019).

3.1.5 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009

Nařízení o kosmetických přípravcích obsahuje v kapitole V klauzuli, která zakazuje uvedení na trh přípravků, které byly ve finální fázi výroby testovány na zvířatech. Výjimkou jsou situace, kdy jsou využívány alternativní metody. Stejně tak je zakázáno uvádět na trh kosmetické přípravky, jejichž složky byly testovány na zvířatech. Tato legislativa se rozšiřuje i na samotné testování kosmetických přípravků či jejich složek, přičemž zdůrazňuje nutnost etického přístupu a využívání nezávadných metod v kosmetickém průmyslu (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2009).

3.1.6 Státní orgány

Výbor pro ochranu zvířat používaných pro vědecké účely

Výbor poskytuje poradenství pro státní orgány při schvalování projektu pokusu. Také shromažďuje údaje o pokusech v jiných členských státech, aby zabránil opakování pokusů. Výbory členských zemí Evropské unie si vyměňují informace o hodnocení projektů, sdílí postupy či informují o fungování odborných komisí. Členy tohoto výboru jmenuje a odvolává ministr zemědělství. Osoby musí mít odpovídající vzdělání a praxi. Tento výbor spadá pod ústřední komisi (Česká národní rada 1992).

Státní veterinární správa

Do pravomocí státní veterinární správy spadá odhalení šířících se nákaz a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, přijímá opatření k tlumení nákaz, dohled nad očkováním proti nálezům, sleduje a zhodnocuje výskyt vektorů (Parlament České republiky 1999)

Krajská veterinární správa SVS

Vykonává dozor nad dodržováním povinností uložených chovatelům a ostatním fyzickým a právnickým osobám. Plní úkoly vyplývající z předpisů Evropské unie upravujících ochranu zvířat během přepravy a souvisejících činností a z předpisu Evropské unie upravujícího ochranu zvířat při usmrcování. Stanovuje veterinární podmínky pro provádění pokusů. Toto jsou pouze části, které se zaměřují na laboratorní zvířata (Česká národní rada, 1992).

Ústřední veterinární správa SVS

Rozhoduje o schválení nebo neschválení projektu pokusů s ohledem na zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Zpracovává souhrnnou zprávu o činnosti uživatelských zařízení. Při schvalování pokusu je nutno zařídit stanovisko odborné komise (Česká národní rada 1992).

3.2 Pravidla pro práci s laboratorními zvířaty

Pravidla pro práci s laboratorními zvířaty jsou odvozena ze zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání a vyhlášky č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat.

3.2.1 Evidence zvířat

Dle Zákona č. 246/1992 Sb. je stanoveno, že každý dodavatel, chovatel a uživatel pokusných zvířat je povinen udržovat detailní dokumentaci k jednotlivým jedincům. Tato dokumentace musí obsahovat následující informace :

Základní údaje:

Počet a taxonomický druh zvířete, původ zvířete, identifikační údaje dodavatele a příjemce a datum dodání zvířete.

Evidence úhynů a usmrcení:

Zařízení musí udržovat evidence o úhynu zvířat. V případě pokusného zařízení je třeba zaznamenat důvod úhynu. Pokud je zvíře usmrceno za účelem využití orgánů či tkání k pokusu, musí být tato událost zaznamenána.

Specifická dokumentace pro vybrané druhy:

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU stanoví odlišný typ dokumentace pro kočky, psy a subhumánní primáty. Pro tyto druhy musí být zaznamenány informace jako datum a místo narození, a zda bylo zvíře chováno pro účely pokusů. U subhumánních primátů je také potřeba uvést, zda byli rodiče chováni v lidské péči.

Dokumentace života laboratorních zvířat:

Pro kočky, psy a subhumánní primáty, kteří jsou chováni pro výzkum, se musí od narození udržovat podrobná dokumentace o jejich životech. Tato dokumentace zahrnuje celý život jedince, včetně reprodukce, veterinárních kontrol a sociálních vlastností. Dokumentace obsahuje počet a taxonomický druh zvířete, původ jedinců, datum usmrcení, informace o osobě, která provedla usmrcení, a konkrétní důvod usmrcení. Všechny dokumenty a evidence o zvířatech musí být uchovávány po dobu pěti let. Při kontrolách správním orgánem musí být na vyzvání předloženy (Česká národní rada 1992).

3.2.2 Chov laboratorních zvířat

Zákon č. 246/1992 Sb. stanovuje podrobná pravidla pro péči o laboratorní zvířata, aby bylo zajištěno jejich optimální blaho a pohoda. Postupy, které musí být striktně dodržovány při péči o tato zvířata, zahrnují zajištění ubikace odpovídající druhu zvířete a jeho zdravotnímu stavu, vytvoření prostorů, které odpovídají potřebám konkrétního druhu a umožňují přirozené chování zvířat, udržování veškerých omezení zvířete na nejnižším možném minimu. Péče o laboratorní zvířata také zahrnuje zajištění vyvážené stravy a čisté vody pro každé zvíře, přizpůsobení stravy potřebám specifického druhu a zohlednění zdravotního stavu jedince (Česká národní rada 1992). Denní kontroly ubikací a prostorů se zvířaty jsou nezbytné, a zjištěné nedostatky musí být okamžitě řešeny. Veškerá omezení zvířat musí být udržována na nejnižším možném minimu, s důrazem na minimalizaci stresu a omezení. Péči o laboratorní zvířata musí provádět pouze osoby s odbornou způsobilostí, které jsou obeznámeny s potřebami specifických druhů zvířat a schopny poskytovat odpovídající péči. Zákon vytváří rámec, který je nezbytný pro etický a zodpovědný přístup k péči o laboratorní zvířata, zajišťující, že výzkum a experimenty probíhají s maximálním ohledem na pohodu a blahobyt zvířat (Česká národní rada, 1992).

3.2.3 Laboratorní zařízení

Zařízením v tomto kontextu může být jakákoliv budova, včetně mobilního nebo částečně zakrytého místa, jak stanoví dokument Evropského parlamentu a Rady Evropské unie z roku 2010. Detailní předpisy jsou uvedené v zákoně č. 246/1992 Sb.

V zařízení musí existovat propust a veškeré přemísťování materiálů musí probíhat podle operačního postupu, který stanovují pověřené osoby. Osoby vstupující do zařízení musí mít předepsaný pracovní oděv, boty a další ochranné pomůcky. Kouření je přísně zakázáno v

prostorách, kde se nacházejí zvířata. Minimalizace pachů a toxických plynů v okolí zvířat je klíčovým prvkem. Je nezbytná dezinfekce, deratizace a dezinfekce prostor pro zvířata, stejně jako pro ostatní prostory. Bezpečné nakládání s biologickým odpadem je rovněž nezbytné. Krmiva, podestýlka, tekutiny a pomůcky musí být skladovány tak, aby nedošlo k jejich znehodnocení nebo kontaminaci cizorodými látkami (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Všechny tyto činnosti musí být pečlivě evidovány a záznamy uchovány po dobu tří let. Navíc je nutné vytvořit systém pro skladování a úpravu tekutin, krmiva, podestýlky a pomůcek. Technické postupy pro všechny tyto činnosti musí být zavedeny, dodržovány a pravidelně kontrolovány. Tímto způsobem je zajištěna bezpečnost a standardy péče ve všech aspektech pracovního prostředí pro laboratorní zvířata (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

3.2.4 Přemísťování a přeprava zvířat

Přepavní obaly se zvířaty musí být během přepravy upevněny tak, aby nedošlo k jejich převrácení. Z přepravních boxů nesmí vytékat výkaly či moč, nesmí se uvolňovat podestýlka. Zvířata musí být zabezpečena proti otřesům a nepříznivým klimatickým podmínkám. Před přepravou je nutné označit přepravní obaly symboly, které signalizují přítomnost a polohu zvířat během přepravy. Dále je důležité umožnit prohlídku zvířat a poskytnout potřebnou péči (Ministerstvo zemědělství 2004). Před přepravou dopravními prostředky je třeba zajistit, že se zvířaty nebude přepravováno zboží, které by mohlo negativně ovlivnit jejich pohodu nebo způsobit stres. Dále je důležité oddělit agresivní jedince a březí samice, přičemž březí samice, které mají rodit během přepravy nebo krátce po ní, jsou vyloučeny z přepravy. Zvířata musí být pravidelně krmena a napojena, s výjimkou určitých druhů, které mohou být krmeny speciálním krmivem s vysokým obsahem vody. Nakonec je důležité včas informovat příjemce o podrobnostech přepravy a očekávaném čase doručení zásilky (Ministerstvo zemědělství 2004). Odesílatel a příjemce by se měli shodnout na době doručení zvířat. Zvířata by po příjezdu měla být ihned vyložena a zkontrolována odpovědnou osobou. Po kontrole by měli být zvířata přesunuta do připravené ubikace, nakrmena, napojena a s možností odpočinku (Swallow et al. 2005).

3.2.5 Usmrcování zvířat

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU uvádí devět možných typů usmrcení laboratorního zvířete (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

Předávkování anestetikem

Možné je tento typ usmrcení použít v rámci všech druhů laboratorních zvířat. Mělo by se použít společně s podáním sedativ (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). K usmrcení dojde injekčním podáním většího množství anestetika, než se podává při obyčejné anestezii. Podání může být skrze svaly, břišní dutinu či žílu (Howard et al. 2010).

Upoutaný projektil

Využívá se k usmrcení velkých plazů, králíků anebo velkých savců (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Tento typ eutanázie se provádí jateční pistolí. Osoba, která tuto činnost provádí by měla být kvalifikovaná, aby usmrcení probíhalo rychle a bezbolestně (Howard et al. 2010).

Oxid uhličitý

Tento typ se využívá při eutanazii ptáků a hlodavců. U hlodavců se musí použít plyn do komory postupně a je zakázáno ho používat u novorozených jedinců (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Používá se inhalační metodou. Pokud je vdechováno 40 % oxidu uhličitého dochází k anestezii zvířete, a to do minuty od vystavení oxidu uhličitému. Poté přestává fungovat respirační systém a dochází tak k zástavě srdce (National Academies of Sciences 1991). Dle Howard et al. (2016) při inhalování oxidu uhličitého dochází k okyselení svalů, poškození nervového systému, k znecitlivění zvířete a poté až k smrti.

Dislokace krční páteře

Využívá se u ptáků, kteří mají nižší hmotnost než 1 kg a pokud mají více než 250 g je nutno předem podat sedativa. U hlodavců a králíků se používá u zvířat pod 1 kg. Podání sedativ je nutné od 150 g (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Tento typ usmrcení způsobuje poškození míchy a mozku. Po provedení nastává okamžitě ztráta vědomí zvířete a smrti (Howard et al. 2016)

Tupý úder do hlavy

Používá se u obojživelníků, ryb, plazů, ptáků, hlodavců, králíků a malých šelem. U ptáků a králíků musí být hmotnost zvířete menší než 5 kg, u hlodavců pod 1 kg. Usmrcejí se takto pouze mláďata malých šelem (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

Dekapitace

Provádí se u ptáků s hmotností pod 250 g a u hlodavců, pokud není možné použít jinou metodu usmrcování (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Provádí se většinou pomocí gilotiny. Výhoda tohoto usmrcování je, pokud je potřeba zkoumat krev či mozkové buňky, jelikož nedojde k jejich poškození či kontaminaci cizorodou látkou (Howard et al. 2016)

Omráčení elektrickým proudem

Využití je možné u ryb, obojživelníků, ptáků, králíků, malých šelem a velkých savců. K tomuto typu eutanazie je potřeba speciální vybavení (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

Inertní plyny

Inertní plyny, které se používají jsou argon a dusík. Používají se na ptáky, hlodavce a prasata (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Argon způsobuje smrt, pokud je koncentrace kyslíku nižší než 2 % (Howard et al. 2016)

Zastřelení volným projektilem

Využit se musí odpovídající zbraň a mohou se provádět pouze v terénu. Tato metoda usmrcení může být využita u velkých savců a plazů. U malých šelem je možno toto usmrcení využít pouze v případě, že není možnost jiného typu (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

3.2.6 Kvalifikace pracovníků

Zde se znovu jedná o ustanovení uvedená v zákonu č. 246/1992 Sb. Jakákoliv osoba, která pracuje s pokusnými zvířaty je povinna mít odbornou způsobilost. Odborná způsobilost se odvíjí od práce, kterou osoba vykonává. Jedná se o dvě kategorie vzdělání (Česká národní rada 1992).

Navrhování pokusů a projektů pokusů

Tuto činnost smí provádět jen odborně vzdělaná osoba. Jedná se o lékaře, veterinárního lékaře a osoby s vysokoškolským vzděláním v oboru biologie, které se prokazatelně v nějaké části studia zabývali problematikou pokusů na zvířatech. Osoba se také mohla touto problematikou zabírat v postgraduálním studiu. Tyto osoby musí mít osvědčení o odborné způsobilosti (Česká národní rada 1992).

Kurz odborné přípravy pro získání osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů

Tento kurz obsahuje 35 výukových hodin teoretické výuky. Obsah kurzu je legislativa pro chov laboratorních zvířat, etické otázky vztahu člověka a laboratorního zvířete, biologie, anatomie, fyziologie, genetika. Náplní kurzu je taktéž etologie, metody zacházení s pokusnými zvířaty, péče o zdraví zvířat, možnosti znecitlivění anebo výživa zvířat. Součástí je i navrhování pokusů a projektů pokusů, vedení, evidence, statistika spojené s chovem a použitím pokusných zvířat. Účastník kurzu musí před samotným kurzem doložit doklad o dosaženém vzdělání.

Prodloužení doby platnosti osvědčení probíhá také kurzem, který je zaměřen na otázky a změny, které ovlivňují oblasti v základní části kurzu (Ministerstvo zemědělství 2013). Doba platnosti kurzu je 7 let a osvědčení o odborné způsobilosti vydává ministerstvo zemědělství (Obr. 1) (Česká národní rada 1992).

Provádění pokusů na zvířatech, péče o pokusná zvířata a usmrcování pokusných zvířat

Tuto kategorii odborného vzdělání mohou provádět osoby, které absolvovaly kurz, který přísluší k dané kategorii. Po splnění kurzu mohou již tuto činnost vykonávat pod odborným dohledem. Odborný dohled provádí osoba, která má již odpornou způsobilost. O odborném dohledu musí pověřený člověk vést záznamy. Po určité době pod odborným dohledem a splnění zkoušek je možné získat osvědčení o odborné způsobilosti. S tímto osvědčením již může osoba provádět činnost bez dohledu. Každý pracovník poté musí být podroben pravidelnému přezkumu. Pokud se jedná o studenty středních a vysokých škol, kteří jsou v zařízení za účelem výuky či zlepšení jejich odborných znalostí, nemusí mít kvalifikaci, ale musí jim být poskytován stálý odborný dohled (Česká národní rada 1992).

Směrnice Evropské unie a Rady 2010/63/EU udává požadavky na pracovníky. Zde se uvádí, že jsou odpovědní za dohled nad zvířaty, tedy kvalitu jejich životního prostředí a dostatek péče. Musí mít přístup k informacím o daných živočišných druzích, které se momentálně v zařízení nacházejí (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

Kurz odborné přípravy pro získání osvědčení o odborné způsobilosti k provádění pokusů na pokusných zvířatech, péči o pokusná zvířata a usmrcování pokusných zvířat

Délka tohoto kurzu je 35 hodin teoretické výuky. Zaobírá se legislativou, etickou otázkou, biologií či etologií zvířat. Stejně tak i péčí o zdraví pokusných zvířat, o strachu, bolesti a utrpení zvířat, výživa zvířat (Ministerstvo zemědělství 2013). Stejně tak jako předchozí zmíněná odborná způsobilost i tato je vydávána na 7 let (Česká národní rada 1992). Kurz k prodloužení odborné způsobilosti obsahuje 10 hodin teoretické výuky a zaobírá se změnami v kategoriích základního kurzu. Pro absolvování tohoto kurzu není potřeba žádného předchozího odborného vzdělání (Ministerstvo zemědělství 2013).

Kurzy odborné přípravy pořádají Institut celoživotního vzdělávání Veterinární univerzity v Brně, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů České zemědělské univerzity v Praze, Ústav molekulární genetiky Akademie věd ČR a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze.

Příloha č. 7 k vyhlášce č. 22/2013 Sb.

Vzor osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů

ČESKÁ REPUBLIKA**Ministerstvo zemědělství**

vydává

**Osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů
podle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání,
ve znění pozdějších předpisů**

Evidenční číslo osvědčení

Titul, jméno, popřípadě jména, a příjmení.....
.....

Datum a místo narození.....

Název a adresa školicího pracoviště.....
.....

Datum úspěšného složení zkoušky.....

Toto osvědčení je platné do.....

Podpis oprávněné úřední osoby Ministerstva zemědělství
a otisk úředního razítka Ministerstva zemědělství

Obr. 1 vzor osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů (Ministerstvo zemědělství 2013)

3.2.7 Specializovaní pracovníci

Každý chovatel, dodavatel či uživatel laboratorních zvířat je povinen zajistit odborný dohled. Evropská směrnice 2010/63/EU udává tři faktory, které by odborní pracovníci měli zajišťovat. Jedná se o zodpovědnost a kontrolu životních podmínek zvířat a péči o ně, o zajištění přístupu pracovníků k informacím pro jednotlivé živočišné druhy chované v zařízení, o zodpovědnost nad vzděláním a kvalifikací pracovníků (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010).

3.3 Podmínky výzkumu

3.3.1 Povolení k výzkumu

Toto upravuje zákon č. 246/1992 Sb. Udává, co vše žádost musí obsahovat a jak bude postupováno při schvalování projektu státním orgánem. Česká právní norma zákon č. 296/1992 Sb. zpracovává směrnici Evropského parlamentu a Rady 2010/63/ EU.

Žádost musí obsahovat přesné informace o místě, kde výzkum bude probíhat, a to včetně přesné adresy a názvu instituce. Pokud je potřeba výzkum provádět ve více budovách, je zapotřebí uvést tyto informace u každé z nich. Jestliže je zapotřebí, aby výzkum či jeho část probíhala mimo budovy, je zapotřebí přesně popsat lokalitu, na které k pokusu dojde. Také je potřebné uvést název pokusu a účel výzkumu a jeho význam a dále zdůvodnit, proč se tento výzkum nezbytně provádět na zvířatech. Následně jsou tam uvedeny informace týkající se laboratorních zvířat. Je třeba předem určit počet, původ, taxonomický druh a stádium vývoje zvířat, které budou k tomuto výzkumu využity (Česká národní rada 1992). Dále je třeba zaznamenat, zda bude v průběhu potřeba využít nějaké sedativa na zvířata, tj. anestezii, analgezii a další metody. Je nutné také popsat metody zmírnění či omezení veškerých forem utrpení pro zvířata v pokusu, a to od narození až po jejich úhyn či usmrcení. Plán pro minimalizaci počtu zvířat stejně jako jejich utrpení v jakékoliv formě a dopad na životní prostředí musí být též specifikován (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Podmínky, ve kterých budou zvířata chována, tedy jejich ubikace a péče, jsou součástí dokumentu. Musí být uvedeny metody usmrcování zvířat, pokud by to v pokusu bylo nezbytné. Usmrcení zvířat musí být v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb. Pokud usmrcovací metoda není v tomto zákoně uvedena jako povolená, je zapotřebí si zažádat o povolení ve využití této metody. Také je nutné uvést veterinární podmínky tohoto pokusu, které musí být předem stanoveny krajskou veterinární správou. Tento dokument je v souladu se zákonem č. 166/1999 Sb., zákon o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů. Netechnické shrnutí je anonymní součástí žádosti (Česká národní rada 1992). Jsou zde uvedeny informace o cílech a přínosu pokusu. V netechnickém shrnutí je zapotřebí znovu uvést shrnutí počtu a druhů zvířat. Tento dokument obsahuje podrobný seznam osob, které budou pokus provádět, a to včetně čísel jejich osvědčení o kvalifikaci k provádění této činnosti (Česká národní rada 1992).

3.3.2 Hodnocení a schválení pokusu

Členské státy Evropské unie musí zajistit, aby každý výzkum na zvířatech prošel schvalovacím řízením. Hodnocení projektu se musí být prováděno podrobně v závislosti na druhu projektu a musí vyhovovat stanoveným kritériím (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Zákon č. 246/1992 Sb. stanovuje postup pro hodnocení a schválení projektu. Státní orgán pověřený schvalováním projektu musí provést důkladné hodnocení pokusu, který musí být dostatečně odůvodněn. Projekt pokusu musí přesvědčivě obhájit využívání zvířat a aplikaci principů tří R (Česká národní rada 1992).

Hodnotí se cíl projektu a jeho pravděpodobný přínos či vzdělávací hodnotu. Zkoumá se, zda je předpokládaný výsledek pokusu obhajitelný a dostatečný v porovnání s újmou, která na zvířatech vzniká. Státní orgán příslušný pro schvalování pokusu může také stanovit zpětné posouzení pokusu. Toto probíhá po ukončení pokusu a zaměřuje se na to, zda bylo dosaženo cílů projektu, újmu způsobenou zvířatům a také postupů a skutečností, které by mohly vést ke zlepšení welfare zvířat použitých k pokusu. Státní orgán má povinnost provádět zpětné posouzení, pokud byli v pokusu využiti subhumánní primáti nebo pokud byl pokus vyhodnocen jako závažný (Česká národní rada 1992).

Rozhodnutí o schválení pokusu se vydává, pokud projekt pokusu obdržel příznivé hodnocení. V rozhodnutí jsou uvedeny údaje o osobách, které projekt schválily. Uvádí podrobné informace o tom, kde se bude výzkum provádět. Údaje, které byly ustanoveny při hodnocení projektu a informaci o tom, zda bude probíhat zpětné posouzení pokusu a pokud ano tak datum, čas a místo posouzení. Na závěr je pak uvedena doba platnosti rozhodnutí, která je maximálně pět let (Česká národní rada 1992).

3.3.3 Hodnocení závažnosti pokusu

Hodnocení závažnosti je nedílnou součástí procesu schvalování pokusu. Zaštiťuje ho také zákon č. 246/1992 Sb. Závažnost se hodnotí podle několika faktorů.

Tyto informace jsou pouze pravděpodobné, jelikož nikdo nedokáže určit, jak se zvíře v dané situaci cítí a jak na situaci přesně reaguje. Hodnotí se podle předpokládané míry bolesti, strachu, utrpení či trvalého poškození zvířete. Závažnost se nadále rozděluje na čtyři kategorie.

Pokus, při kterém zvíře nenabude vědomí

Pod tuto kategorii spadají pokusy, při kterých je živočich v plné anestezii a již nenabude vědomí (Česká národní rada 1992).

Mírný pokus

Tuto kategorii závažnosti získávají pokusy, které nijak výrazně neovlivní životní podmínky či celkový stav zvířete. Bolest či strach je při těchto pokusech pouze krátkodobý faktor.

Středně závažný pokus

Tato kategorie zahrnuje pokusy, kdy je laboratorní zvíře vystaveno krátkodobé střední či dlouhodobé mírné bolesti, strachu či utrpení a taktéž pokusy, které středně ovlivní životní podmínky anebo zdravotní stav zvířete.

Závažný pokus

Takovéto označení získají pokusy, které zahrnují silnější či delší bolest, strach nebo utrpení a také pokud pokus způsobí horší životní podmínky či zdravotní stav zvířete (Česká národní rada 1992).

3.3.4 Účely pokusů na zvířatech

Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání určuje účely pokusů na zvířatech. Pokusy zahrnující laboratorní zvířata lze provádět pouze pro tyto účely. Zakázáno je používat zvířata při výzkumu zbraní, bojových látek nebo munice. Kategoriemi účelů pokusů jsou základní výzkum, translační nebo aplikovaný výzkum, výzkum látek či výrobků, ochrana životního prostředí, výzkum s důrazem na zachování druhu, vzdělávání, trestní či soudní řízení.

Translační nebo aplikovaný výzkum

Zde jsou uvedeny cíle, které musí tento výzkum mít. Musí se jednat o výzkum ohledně onemocnění či jiného zdravotního omezení člověka, zvířat nebo rostlin. Popřípadě řešit jejich léčbu nebo diagnostiku. Dalším možným cílem je úprava a výzkum fyziologických předpokladů pro lidstvo, zvířata anebo rostliny. Poslední možností je vylepšení životních podmínek či produkce hospodářských zvířat.

Výzkum látek či výrobků

Zahrnuje léčiva, potraviny, krmivo či jiné látky. Cíle jsou stejné jako v předešlé kategorii.

3.3.5 Odborná komise

Každý chovatel, dodavatel a uživatel pokusných zvířat je povinen pro své zařízení zřídit odbornou komisi pro zajišťování dobrých životních podmínek pokusných zvířat. Pokud se jedná o uživatele pokusných zvířat je zapotřebí komise o třech členech. U dodavatele a chovatele jsou nutní pouze dva členi. Součástí komise musí být osoby zodpovědné za péči o pokusná zvířata. U uživatele pokusných zvířat se v komisi musí nacházet osoba s kurzem pro navrhování pokusů (Česká národní rada 1992). Určené odborné komise mají následující úkoly: poskytovat poradenství a kontrolovat osoby pracující s pokusnými zvířaty ohledně dobrých

životních podmínek a péče o ně, zavádět a kontrolovat provozní postupy v zařízeních, sledovat průběh a výsledky projektů pokusů, poskytovat poradenství ohledně umístění zvířat do zájmového chovu a kontrolovat evidenci pokusných zvířat. Odborné komise v zařízeních provozovaných uživateli pokusných zvířat projednávají a vyjadřují se k projekčním pokusům, kontrolují záznamy o pokusech a zpracovávají a odevzdávají souhrnné zprávy o činnosti (Česká národní rada 1992).

3.4 Etická otázka

Výzkum na zvířatech je a v historii byl předmětem hlubokých morálních sporů. Někteří lidé jsou silně proti jakémukoliv využívání zvířat v laboratoři, zatímco někteří to považují za důležitou součást výzkumu (Walker 2019). Welfare zvířat by měl být zajištěn dodržováním tří R a pěti svobod (Gjerris et al. 2020).

3.4.1 Pět svobod

Pět svobod bylo vytvořeno ve Velké Británii ve Farm Animal Welfare Council v roce 1994. Tato konceptuální pětice svobod shrnuje zásady, které se týkají welfare zvířat, a to jak v hospodářských, tak i laboratorních podmínkách. I když tyto svobody nejsou právně vymahatelné, představují doporučení, která by měla být brána v úvahu při chovu a výzkumu zvířat. Tato sada svobod slouží k dosažení větší pohody a klidu pro zvířata v rámci laboratorního prostředí a zároveň zdůrazňuje etický přístup k jejich zacházení (McCausland 2014).

První svoboda: Svoboda od žízně a hladu

Znamená, že zvíře by mělo mít neomezený přístup k čisté vodě a dostávat krmnou dávku, která odpovídá jeho potřebám (Tobin et al. 2022).

Druhá svoboda: Svoboda od nepohodlí

Zajišťuje dostatečný prostor, pohodlné místo na odpočinek a přístřeší pro zvíře (McCausland 2014).

Třetí svoboda: Svoboda od bolesti, zranění a nemoci

Vyžaduje poskytování veterinární péče při jakémkoliv zdravotním problému a prevenci zhoršení zdravotního stavu nebo úrazů (McCausland 2014).

Čtvrtá svoboda: Svoboda projevit přirozené chování

Zahrnuje poskytnutí dostatečného prostoru, možnost hraní a sociální interakce pro zvířata s ohledem na jejich přirozené potřeby (McCausland 2014).

Pátá svoboda: Svoboda od stresu a strachu

Klade důraz na minimalizaci stresových faktorů a eliminaci podnětů, které by mohly vyvolávat strach u zvířat (Mellor 2016).

3.4.2 Tři R

Koncepce tři R vznikla v roce 1959 s cílem zlepšit podmínky pro laboratorní zvířata, zejména v době, kdy existují alternativní metody a jiné možnosti výzkumu (Balls 2009). Tato koncepce klade důraz na tři základní principy:

Replacement (Nahrazení)

Tato zásada nejen zdůrazňuje možnost nahrazení výzkumu na zvířatech jiným typem výzkumu, ale také může zahrnovat nahrazení obratlovců nižšími organismy, jako jsou členovci (MacArthur Clark 2018).

Reduction (Snížení)

Clark (2018) popisuje tuto zásadu jako snížení počtu experimentů na zvířatech, což je spojeno s prvním R. Zároveň se však jedná o snížení celkového počtu jedinců používaných ve výzkumu na minimum.

Refinement (Zjemnění)

Tato zásada zdůrazňuje potřebu minimalizovat bolest a utrpení zvířat ve výzkumu. Cílem je vylepšit postupy tak, aby byla zajištěna co nejlepší pohoda a blaho zvířat (Suckow et al. 2012).

Tyto tři R mají za cíl dosáhnout maximálního welfare pro zvířata používaná ve výzkumu, stejně jako pět svobod. V České republice jsou tyto principy zakotveny v zákoně č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Tímto způsobem je zajištěna etická a humánní péče o laboratorní zvířata.

3.5 Využívané druhy zvířat

3.5.1 Ryby

Nejvíce využívaným druhem je dánío pruhované (*Danio rerio* Hamilton, 1822) (Casebolt et al. 1998; Howe et al. 2013). Ryby však patří mezi méně častý druh laboratorních

zvířat. Převážně se jedná o oblast toxikologie, ekologie anebo také v pokusech zabírajících se fyziologií (Howe et al. 2013).

Chovatelské podmínky

Je nezbytné zajistit stabilní přívod vody dostatečné kvality, která musí projít řádnou filtrací a úpravou. Ryby, které jsou nově přidávány nebo přesouvány do jiného prostředí, musí mít dostatečný čas na aklimatizaci. Pokud je pro daný druh ryb potřeba provzdušňování vody, musí být tato potřeba adekvátně zajištěna. Totéž platí i pro kontrolu salinity vody. Stejně jako u jiných druhů zvířat je nezbytná i veterinární péče (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Primárními ubikacemi pro ryby používané pro výzkumné účely jsou akvária, rybníky nebo jiné nádrže, které poskytují bezpečné udržení vody a umožňují adekvátní podmínky pro daný druh ryb. Tyto nádrže musí umožňovat rybám projevit normální fyziologické a behaviorální chování. Pokud je druh společenský, musí být umožněn sociální kontakt. Ubikace musí být dostatečně bezpečné, aby ryby nemohly uniknout, a neměly by obsahovat ostré hrany nebo jiné prvky, o které by se mohly ryby poranit. Důležité je také umožnit pozorování ryb, aniž by se cítily vystresované (United States National Academy of Sciences 2012). Je třeba zajistit dostatečné osvětlení pro ryby v ubikaci. Přírodní osvětlení je využíváno pro rybníky, zatímco vnitřní prostředí musí být vybaveno vhodným osvětlením, které simuluje přirozenou fotoperiodu. Doporučuje se 10 hodin světla a 14 hodin tmy (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Substrát v akváriích může poskytnout obohacení pro ryby, zejména pro druhy, které přirozeně hledají potravu v substrátu. To umožňuje projev přirozeného chování (United States National Academy of Sciences 2012).

Počet ryb v jedné ubikaci závisí na jejich potřebách a nádrž musí být dostatečně velká, aby umožnila pohyb ryb v preferovaném počtu. Velikost ubikace musí být přizpůsobena i jejich zdravotnímu stavu a věku (Česká národní rada 1992).

3.5.2 Obojživelníci

Používanými obojživelníky jsou žáby rodu drápatka (*Xenopus spp.* Wagler, 1827), ropucha (*Bufo spp.* Laurenti, 1768), skokan (*Rana spp.* Linnaeus, 1758), rosnička (*Hyla spp.* Laurenti, 1768) a pralesnička (*Dendrobates spp.* Wagler, 1830). Z řádu ocasatí (Caudata) se jedná o rod axolotl (*Ambystoma spp.* Tschudi, 1838) (Hickman et al. 2017). DeNardo (1995) uvádí, že nejpoužívanějším druhem obojživelníka je drápatka vodní (*Xenopus laevis* Daudin, 1802). Obojživelníci se využívají k výzkumům zahrnujícím studium embryonálního vývoje, metamorfózy, regeneračních schopností a fyziologie (Hickman et al. 2017). Konkrétně se jedná o zkoumání vlivu toxinů, mutagenů a teratogenů. Při fyziologických pokusech jsou obojživelníci používáni ke studiu orgánů a orgánových soustav (Burggren & Warburton 2007).

Chovné podmínky

Péče o obojživelníky je velmi rozmanitá, jelikož se jedná o druhy, které jsou suchozemské i vodní. V rámci jejich vývoje se střídá fáze vodní ve stádiu pulců a fáze suchozemská i vodní ve stádiu dospělého. K rozmnožování obojživelníků je nezbytný přístup k

vodě. Většina obojživelníků je hmyzožravá, a proto se k jejich krmení využívá jednoduše chovaný hmyz, jako jsou cvrčci či larvy potemníka (DeNardo 1995). Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU rozděluje žáby do čtyř kategorií: vodní, převážně vodní, převážně suchozemské a stromové. Pro každou s těchto kategorií je možno nalézt parametry pro velikost ubikací ve vyhlášce č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Pro ocasaté obojživelníky jsou v této vyhlášce také obsaženy příslušné parametry (Ministerstvo zemědělství 2012). Doporučuje se používat ubikace z materiálů, ze kterého nejsou do vody uvolňovány chemické látky. Preferovanými materiály jsou tedy sklo, plast či nerezová ocel. Kvalita vody by měla být pravidelně a přísně kontrolována, protože obojživelníci jsou velmi citliví na změny okolního prostředí (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Obohacení ubikace je důležité proto, aby zvíře mohlo projevit své přirozené chování, například při předkládání potravy na více různých míst (Hickman et al. 2017).

3.5.3 Plazi

Plazi jsou využíváni převážně při výzkumu zaměřeném na oblast kardiovaskulárního systému, imunity a hormonů. U jedovatých hadů a ještěřů se může jednat o výzkum toxicity jedu (Hickman et al. 2017). Většina druhů, které jsou využívány v laboratořích, jsou všežravé a polovodní (Greene 1995). Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU udává parametry pro ubikace pro vodní želvy a suchozemské hady. Pro laboratorní účely je používaným ještěřem anolis rudokrký (*Anolis carolinensis* Voigt, 1832) (Lovern et al. 2004).

3.5.4 Ptáci

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU uvádí jako využívané druhy: kura domácího (*Gallus gallus t. domestica* Linnaeus, 1758), krůtu domácí (*Meleagris gallopavo f. domestica* Linnaeus, 1758), křepelky (*Coturnix spp.* Bonnatere, 1791), kachnu domácí (*Anas platyrhynchos f. domestica* Linnaeus, 1758), holubovité (*Columbidae*) a zebříčku pestrou (*Taeniopygia castanotis* Vieillot, 1817). Směrnice 2010/63/EU uvádí i parametry pro ubikace těchto druhů. Ptáci jsou využíváni k výzkumu paměti, parazitologie, reprodukce a infekčních chorob. Nejčastěji využívaný druh je kur domácí se zaměřením zejména na imunologii, toxikologii anebo embryologii (Hickman et al. 2017).

3.5.5 Hlodavci a králíci

Hlodavci jsou nejpoužívanější skupinou laboratorních zvířat. Nejčastěji se jedná o potkana laboratorního (*Rattus norvegicus var. alba*) a myš laboratorní (*Mus musculus var. alba*). Dle Hickman et al. (2017) tvoří myši a potkani až 95 % ze všech zvířat využívaných v laboratořích. Dalšími využívanými druhy mohou být pískomilové (*Gerbillinae*), křečci (*Cricetus spp.* Linnaeus, 1758) a morče domácí (*Cavia aperea f. porcellus* Linnaeus, 1758) (Ministerstvo zemědělství 2012).

Chovné podmínky

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU shrnuje parametry pro velikost ubikací pro hlodavce a králíky. Ubikace pro králíky mají splňovat specifické požadavky vázané na věk chovaného jedince. Teplota ubikace by měla být udržována v optimálním rozmezí v závislosti na druhu zvířete, například u myši mezi 20-25 °C (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). V rámci enrichmentu by měl mít jedinec možnost sociálního kontaktu s dalšími zástupci svého druhu (Ratuski & Weary 2022).

3.5.6 Hospodářská zvířata

Mezi hospodářská zvířata využívaná ve výzkumu lze zahrnout tura domácího (*Bos taurus* Bojanus, 1827), ovci domácí (*Ovis gmelini f. aries* Linnaeus, 1758), kozu domácí (*Capra aegagrus hircus* Linné, 1758), prase domácí (*Sus scrofa f. domestica* Linnaeus, 1758) a koně domácího (*Equus caballus* Linnaeus, 1758) (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). První pokusy na hospodářských zvířatech probíhaly se zaměřením na produkci a kvalitu produktů z těchto zvířat (Fox et al. 2015).

Chovné podmínky

Jako u ostatních kategorií zvířat i zde velikost ubikace v České republice určuje směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU a česká norma vycházející z této směrnice, kterou je vyhláška č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Pokud je potřeba, aby byl výzkum prováděn v podmínkách, ve kterých se chovají zvířata pro komerční účely, musí tento chov splňovat podmínky stanovené v zákonu č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a v zákonu č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání (Ministerstvo zemědělství 2012).

3.5.7 Subhumánní primáti

Mezi subhumánní primáty patří dva podřády Strepsirrhini a Haplorrhini. Ve výzkumu se více využívají primáti z podřádu Haplorrhini (Hrapkiewicz et al. 2013). V laboratořích jsou používáni makakové (*Macaca spp.* Lacépède, 1799), paviáni (*Papio spp.* Erxleben, 1777), kočkodani (*Chlorocebus spp.* Gray, 1870), kotulové (*Saimiri spp.* Voigt, 1831), tamaríni (*Saquinus spp.* Hoffmannsegg, 1807) a šimpanzi učeníví (*Pan troglodytes* Blumenbach, 1775) (Fox et al. 2015). Subhumánní primáti jsou používáni pouze v 0,3 % výzkumů s použitím laboratorních zvířat (Bloomsmith et al. 2006). V minulosti však byli primáti využíváni častěji, a to například při výzkumu neštovic (Hrapkiewicz et al. 2013).

Chovné podmínky

Zde se také jedná o ustanovení, které udává směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU, která uvádí parametry pro ubikace pro tamaríny, kotuly, makaky, kočkodany a paviány. Důležitý je v chovu primátů i enrichment. Za nejlepší druh enrichmentu se považuje

sociální kontakt s jedinci stejného druhu, a to vzhledem k tomu, že většina druhů primátů je velmi sociální (Hrapkiewicz et al. 2013).

3.5.8 Malé šelmy

Do této skupiny lze zahrnout kočku domácí (*Felis catus* Linnaeus, 1758), psa domácího (*Canis familiaris* Linné, 1758) a fretku domácí (*Mustela furo* Linnaeus, 1758) (Česká národní rada 1992).

Chovné podmínky

Parametry pro ubikace lze nalézt ve vyhlášce č. 419/2012 Sb., kde jsou uvedeny přesné požadavky na velikost ubikací. Kočky musí být umístěny minimálně ve dvojici. Lze umístit jedince kočky domácí samotného pouze po dobu kratší než 24 hodin. Výjimkou je jedinec, který vykazuje agresivní chování vůči ostatním kočkám, takového jedince lze chovat individuálně po celou dobu výzkumu. Psi musí být umístěni ve skupině. Izolovaně může být jedinec držen pouze po dobu menší než 4 hodiny. Pro chovanou skupinu psů by měla být zajištěna možnost pohybu ve venkovním výběhu. U fretek ve vyhlášce uvedena žádná pravidla pro nutný počet jedinců v ubikaci nejsou (Ministerstvo zemědělství 2012).

3.6 Laboratorní potkan

Laboratorní potkani (*Rattus norvegicus var. alba*) jsou jedním z nejvíce využívaných laboratorních zvířat (Suckow et al. 2005).

Říše	živočichové (Animalia)
Kmen	strunatci (Chordata)
Podkmen	obratlovci (Vertebrata)
Třída	savci (Mammalia)
Řád	hlodavci (Rodentia)
Čeleď	myšovití (Muridae)
Rod	<i>Rattus</i>

Laboratorní potkan je považován za první zvíře, které bylo domestikováno právě za účelem využití v laboratoři (Modlinska & Pisula 2020). První výzkum s využitím potkana proběhl v roce 1856 ve Francii (Suckow et al. 2019). První pokus, který se zabíral rozmnožováním potkanů, proběhl mezi lety 1877-1885 v Německu (Modlinska & Pisula 2020). V roce 1909 byla vyšlechtěna první populace potkanů přímo určených pro laboratorní využití, a to populace Wistar (Henrique Franco 2013).

Potkani jsou nyní druhým nejvíce využívaným živočišným druhem v laboratořích. Společně s laboratorní myší tvoří více než 95 % veškerých zvířat využitých při výzkumu.

Potkan je vhodným laboratorním zvířetem vzhledem k jeho krátkým generačním intervalům, velkému počtu mláďat, velké genetické rozmanitosti, dalším pozitivním aspektem je nenáročná péče. Využívají se pro výzkum v oblastech toxikologie, embryologie či stárnutí (Hrapkiewicz et al. 2013).

3.6.1 Chovné podmínky

Ubikace pro dospělého laboratorního potkana by měla mít minimální podlahovou plochu 350 cm² a minimální výšku 18 cm v souvislosti s jeho hmotností, která se pohybuje okolo 300-400 g (Ministerstvo zemědělství 2012). Klec je většinou z odolného materiálu, jako je například polykarbonát či plast. Dno ubikace by mělo být zaplněno podestýlkou (Obr. 2) (Hrapkiewicz et al. 2013). Pokud výzkum vyžaduje sběr exkrementů potkana, je možno využít metabolických klecí (Suckow et al. 2005).



Obr. 2 Ubikace pro potkan s identifikačním štítky
(převzato z <https://www.science.org> (accessed April 2024))

Ideální teplota prostředí pro chov potkanů je od 19 do 23 °C. Vlhkost by se měla udržovat na 30-70 % (Benjamin 2019). Je nutno, aby byla fotoperioda stabilní, a to 12-14 hodin světla ku 10-12 hodinám tmy (Fox et al. 2015).

Ke krmení potkanů se využívá komerčně dostupné granulované krmivo. Krmná dávka pro potkany by měla činit 5-6 g na 100 g živé váhy. Krmení ad libitum se nedoporučuje, protože jedinci krmení tímto způsobem jsou náchylní k obezitě. Potrava by měla být podávána do misek, pokud je pokládána na dno či na podestýlku v kleci hrozí kontaminace močí či trusem. Nezbytné je zajistit stálý přístup k čisté vodě (Hrapkiewicz et al. 2013).

3.6.2 Manipulace

Při přesunu potkana z jedné klece do druhé ho lze uchopit za kořen ocasu. Pro fixaci zvířete existují různé metody. Jedna z technik spočívá ve fixaci krku zvířete. Ze spodní části těla potkana jsou palcem fixovány přední končetiny a krk. Ukazováčkem lze fixovat krk z hřbetní strany a ostatními prsty hrudní oblast (Obr. 3) (Machholz et al. 2012). Omezení pohybu potkana je také možno provádět pomocí trubek či boxů. Tato metoda slouží k jednoduchému přístupu k ocasu jedince a provedení odběru krve (Mudassar Manzoor 2013).



Obr. 3 Fixace potkana (Machholz et al. 2012)

3.6.3 Identifikace potkanů

Štítky na klecích jsou jednou z nejméně invazivních metod identifikace potkanů. Jedná se o štítky s informacemi o linii, věku a datu zařazení jedince do pokusu. Dalšími metodami jsou ušní štítky, tetování nebo děravění uší. Lze také využít mikročipy. Ty se zavádí do krční oblasti mezi lopatkami. (Mudassar Manzoor 2013).

3.6.4 Populace a linie laboratorních potkanů

Laboratorní potkani byli šlechtěni pro různé účely výzkumu. Jedná se o inbreední linie i o outbreední populace (Suckow et al. 2019).

3.6.4.1 Inbreední linie

Inbreední populace musí být inbreedně křížena po minimálně 20 generací. Jedná se o křížení mezi sourozenci či rodiči s jejich potomky. Tento typ křížení zajišťuje co nejvíce uniformní genetický základ, který je u těchto linií zásadní vlastností (Suckow et al. 2019).

Brown Norway

Inbreední linie vyšlechtěná v roce 1958 ve Filadelfii. Využití je při výzkumu imunologického charakteru a také při transplantacích (Suckow et al. 2005).

Lewis

Inbreední linie vyšlechtěná z Wistar populace v padesátých letech minulého století. Tito potkani mají zvýšenou náchylnost k zánětům. Jsou velmi učenliví a mají nízkou reprodukční schopnost (Suckow et al. 2019).

3.6.4.2 Outbreední populace

Outbreední populace jsou tvořeny pářením buď nahodilým anebo s vybranými jedinci, kteří jsou prokazatelně nepříbuzní. Toto vše zamezuje inbreedingu. Tato populace je genově neuniformní, tedy každý jedinec má jiný genetický základ (Suckow et al. 2005).

Wistar

Jedná se o outbreední populaci, která vznikla v USA v roce 1906. Wistar je populace, kterou lze využít při velkém spektru pokusů, například u studií stárnutí, infekčních chorob či jako model při chirurgických operacích (Modlinska & Pisula 2020).

Wistar Kyoto

Outbreední populace potkanů vyšlechtěná v Japonsku v roce 1963 z populace Wistar (Millard et al. 2020). Z této populace byli následně vyšlechtěni tzv. SHR potkani s vrozeným vysokým krevním tlakem (Suckow et al. 2005). Wistar Kyoto se využívá jako kontrolní organismus při pokusech na SHR potkanech. (Modlinska & Pisula 2020).

Long-Evans

Populace vyšlechtěná v USA mezi lety 1915-1922. Tito potkani jsou využíváni pro behaviorální studie. Long-Evans potkani jsou velmi klidné povahy a jejich chov je jednoduchý (Modlinska & Pisula 2020).

3.6.5 SPF potkani

Specific pathogen-free (SPF) jsou zvířata prostá specifických patogenů, jedná se o viry, bakterie či jiné mikroorganismy (Murray et al. 2022). Populace musí být po dva roky negativně testována na daný patogen, aby ji bylo možné označit jako SPF (Alday-Sanz 2018).

Při chovu SPF potkanů je zapotřebí dbát většího důrazu na zamezení přenosu chorob a zoohygienu, tak aby nedošlo k nakažení patogenem, kterého je SPF potkan prostý (Kunstyr & Nicklas 2000).

3.6.6 Odběr krve

V praxi je k odběru krve využíváno několik metod. Výběr metody se odvíjí od objemu krve, který je nutný odebrat, od frekvence odběrů či podle toho, zda je možné při odběru využít anestezii (Suckow et al. 2005). Od zdravého dospělého jedince lze bezpečně odebrat 10 % z celkového krevního objemu, a to jednou za 2-3 týdny (Hrapkiewicz et al. 2013).

Relativně jednoduchou metodou je odběr krve z podkolenní žíly. Potkan však musí být fixován, případně mu musí být podána anestetika (Mudassar Manzoor 2013)

Odběr krve z ocasní žíly (Obr. 4) je snadno a rychle proveditelnou metodou, jelikož není nutné využít anestezie. Je však nezbytné zdůraznit, že tato procedura může být stresující a potenciálně způsobit zkreslení výsledků (Kumar et al. 2017). Počet odběrů by měl být minimalizován, je doporučeno umožnit dostatečný čas na regeneraci tkáně ocasu před dalším odběrem (Zou et al. 2017).



Obr. 4 Odběr krve z ocasní žíly (Kumar et al. 2017)

Odběr z retro-orbitální dutiny, je metoda, kterou lze provádět pouze u zvířete v anestezii. Objem krve, který je možné odebrat z 300-350 g potkana při této metodě, je v rozmezí mezi 1,7 a 2,1 ml (Kumar et al. 2017).

Odběr ze srdce (Obr. 5) se provádí pouze u jedinců v anestezii. Krev se odebírá z komory velmi pomalu, aby nedošlo ke kolapsu srdce. Tímto typem odběru je možné odebrat až 10 ml krve. Po tomto odběru by měl být potkan utracen (Parasuraman et al. 2010).



Obr. 5 Odběr krve ze srdce potkana (Parasuraman et al. 2010)

3.6.7 Odběr moči

Způsobů odběru je více. Jedním z nich je manuální uvolnění moči, kdy se vyvíjí tlak na kaudální stranu dutiny břišní. Používány jsou i metabolické klece, které svou stavbou umožňují separaci výměšků zvířat, a to bez příměsí jiných látek či chlupů (Suckow et al. 2019). Alternativní metodou je využití hydrofobního písku, který nekontaminuje moč. Moč se udržuje v kalužích na písku a odebírá se pomocí pipety (Hoffman et al. 2019).

3.6.8 Anestezie

Inhalační anestezie je využívána při nutnosti anestezie po dobu až několika hodin. Anestetiky jsou nejčastěji oxid uhličitý, isofluran a sevofluran (Hrapkiewicz et al. 2013).

Injekční anestezie působí po dobu přibližně 45 minut (Hrapkiewicz et al. 2013). Injekční anestetika lze podávat intermuskulárně, nitrožilně, peritoneálně či podkožně (Suckow et al. 2019). Anestetiky jsou sloučeniny s fentanylem, kataminem či tiletaminem (Hrapkiewicz et al. 2013).

Orální anestezie není moc často využívanou metodou pro laboratorní potkany. Pokud je k této metodě přistoupeno, využívá se pro její aplikaci krmicí jehla či měkká hadička. Lze také anestetika přidat do vody či krmiva (Suckow et al. 2005).

3.6.9 Eutanázie

Laboratorního potkana lze usmrtit předávkováním anestetik, oxidem uhličitým, zlomením vazů, tupým úderem do hlavy, dekapitací a inertními plyny. Při zlomení vazů se před vykonáním musí podat sedativa, pokud je hmotnost jedince nad 150 g. Oxid uhličitý nelze využít u novorozených mláďat. Pouze v případě, kdy není možné využít jinou metodu, lze provést dekapitaci (Ministerstvo zemědělství 2012).

3.7 Dánio pruhované

Dánio pruhované (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822) je sladkovodní ryba původem z Jižní Asie. Dánio je nyní často využívaným druhem ryb (Aleström et al. 2020).

Říše	živočichové (Animalia)
Kmen	strunatci (Chordata)
Podkmen	obratlovci (Vertebrata)
Nadtřída	ryby (Osteichthyes)
Třída	paprskoploutví (Actinopterygii)
Nadřád	kostnatí (Teleostei)
Řád	máloostní (Cypriniformes)
Čeleď	kaprovití (Cyprinidae)
Rod	dánio (<i>Danio</i>)

Dánio lze využít při pokusech zaměřených na toxikologii, patologii či při zkoumání rakovinných onemocnění (d'Angelo & de Girolamo 2021). Využívání dánia, jako laboratorního zvířete, má výhody, jako jsou sekvence genomu a snadná manipulace s ním, také vysoká plodnost a velmi krátká generační doba (Teame et al. 2019). Jejich chov je méně finančně náročný v porovnání s laboratorními savci (Veinotte et al. 2014).

3.7.1 Chovné podmínky

Dánia jsou většinou chována ve statických těrných akváriích. V těchto akváriích je vytvořena mělká část, která umožňuje rybám se třít (Hickman et al. 2017). Velikost akvária závisí na počtu zvířat, jejich zdravotnímu stavu a věku (Česká národní rada 1992). Dánia jsou v přírodě sociálním druhem, a proto se i v laboratořích chovají ve skupinách. Doporučený počet je v rozmezí 4-10 jedinců na litr (Stevens et al. 2021). Akvárium musí umožňovat sledování chování ryb, aniž by došlo ke stresování jedinců (United States National Academy of Sciences 2012). Musí být zajištěn světelný režim, a to co nejvíce podobný místu přirozeného výskytu dáníí (Evropský parlament a Rada Evropské unie 2010). Doporučuje se 14 hodin světla a 10 hodin tmy. Teplota vody by měla být v rozmezí 24-35 °C (Bhandari et al. 2022).

Dánia lze krmit komerčně dostupným sušeným krmivem anebo také živým krmivem, kterým jsou například žábřonožky solné (*Artemia salina* Linnaeus, 1758) (Avdesh et al. 2012).

3.7.2 Manipulace

Dáňio při manipulaci musí být v anestezii, výjimkou je pouze přesun jedince z jedné nádrže do druhé (Ramsay et al. 2006), takto je minimalizováno poškození hlenové vrstvy na povrchu těla dáňia či jiným zraněním (Harper & Lawrence 2010). Nejméně stresující je pro ryby metoda přelití z nádrže do nádrže jiné. Není vhodné dlouhé nahánění dáňia pomocí síťky na ryby. To v jedincích vyvolá velký stres (Shishis et al. 2023).

Během anestezie se pro fixaci ryby využívá mokrý kus molitanu, do kterého je předem vyříznuta prohlubeň tvaru V pro lepší oporu těla ryby. Ryba by měla být do molitanu uložena na bok (Harper & Lawrence 2010). Tento druh fixace je vyobrazen na obrázku 6.



Obr. 6 Dáňio pruhované zafixované na molitanu (Harper & Lawrence 2010)

Anestezie

Metody anestezie jsou pomocí chladu, kyseliny hřebíčkové či kyseliny methansulfonové (Matthews & Varga 2012). Nejčastější metodou anestezie dáňií je přesunutí jedince do nádrže s roztokem anestetické látky. Pro dospělou rybu se uvádí dávka 4 g kyseliny methansulfonové rozpuštěné v litru vody (Harper & Lawrence 2010).

3.7.3 Populace

Populace z přírody, někdy také nazývané jako standartní populace, jsou skupiny ryb, které byly odchyceny v přírodě v určité oblasti (Harper & Lawrence 2010). Lze se setkat také s mutačními populacemi, které nesou jednu nebo více mutací genomu. Jedinci transgenetické populace nesou ve svém genomu část DNA jiného živočišného druhu (Harper & Lawrence 2010). Využívanými populacemi jsou AB, Tübingen long fin (TL), a Wild Indian Karyotype (WIK), dáňia ze zverimexů (PET), Tübingen (TU) či SJA (Meyer et al. 2013)

3.7.4 Eutanázie

Dle vyhlášky č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat jsou možné tři možnosti eutanázie ryb. Předávkování anestetikem je jednou z možných variant (Ministerstvo zemědělství 2012). Využívána je nejčastěji kyselina methansulfonová a to v 5krát až 10krát vyšší koncentraci než při anestezii (Neiffer & Stamper 2009). Druhou variantou je tupý úder do hlavy. Poslední možností je pak omráčení elektrickým proudem (Ministerstvo zemědělství 2012).

3.7.5 Odběr krve

Krev se u dání odebírá za řitním otvorem v místě dorzální aorty. Ryba je při odběru v anestezii. Množství odebrané krve je lineárně závislé na váze jedince. Nejmenší odebrané množství je 1,3 μ l a největší pak 25 μ l (Zang et al. 2015).

Při odběru velkého množství krve se využívá fatální metoda. Pomocí skalpelu se nařízne tělo v oblasti břicha mezi ocasní a řitní ploutví (Pedroso et al. 2012). Dojde k porušení břišní a hřbetní aorty (Mikulíková et al. 2022). Touto metodou lze odebrat 5 až 20 μ l (Pedroso et al. 2012). Lze využít i odběr krve ze srdce (Harper & Lawrence 2010).

3.8 Alternativní metody při výzkumu

Alternativní metody nahrazují laboratorní zvířata ve výzkumu (Singh & Singh 2019). Lze využít počítačový model. Počítačový program vytváří simulaci, která vypočítává předpokládaný vliv zkoumaného podnětu na zvolený model (Doke & Dhawale 2015).

In vitro metoda zahrnuje živočišný materiál, který je kultivován v in vitro podmínkách. Využívají se buňky či tkáňové kultury. Lze takto využít jaterní, ledvinové, mozkové či jiné tkáňové buňky (Doke et al. 2013). Nižší cena je jednou z velkých výhod in vitro metody. Na jednom vzorku se může pokus i několikrát opakovat (Gruber & Hartung 2004). Nevýhodou je nemožnost zkoumání interakce mezi tkáněmi a orgány (Kandárová & Letaáiová 2011). Další možností je využití modelu zvířat, například při výuce chirurgických postupů nebo manipulace či odběru krve potkana. Pro výzkumné účely lze v některých případech živá zvířata nahradit i orgány či tkáněmi, které se získávají z poražených zvířat (Singh & Singh 2019).

Alternativní organismy

Alternativní organismy nahrazují ve výzkumu savce. Lze využít nižší obratlovce, bezobratlé či mikroorganismy (Doke & Dhawale 2015).

Mezi nižší obratlovce nahrazující savce ve výzkumu lze zařadit ryby, plazy či ptáky.

Využití bezobratlých přináší výhody, jakou je například krátká generační doba či jednoduchý chov a rozmnožování těchto živočichů (Wilson-Sanders 2011). Octomilky (*Drosophila melanogaster* Meigen, 1830) jsou vhodným modelovým organismem pro výzkum mikrobiot (Baenas & Wagner 2019). Využívá se také háďátko obecné (*Caenorhabditis elegans* Maupas, 1900), a to ve výzkumech zaměřených na biologii a biomedicínu (Wilson-Sanders 2011).

4 Závěr

V České republice je problematika použití laboratorních zvířat jako pokusného materiálu, podle mého úsudku, velmi dobře právně zajištěna jak vnitrostátními normami, tak směnicemi a vyhláškami Evropské unie. Důležitým vnitrostátním předpisem je vyhláška č. 419/2012 Sb., která zavádí směrnici Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU do českého právního systému. Tato norma stanoví podmínky pro provoz laboratoří a klade důraz také na welfare zvířat. Stejně tak důležitým předpisem je zákon č. 246/1992 Sb., o ochraně zvířat proti týrání, který zahrnuje část věnující se laboratorním zvířatům. Na evropské úrovni stanovují směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU, nařízení Evropského parlamentu a Rady 2019/1010 a nařízení č. 1223/2009 jednotná pravidla pro ochranu a využívání laboratorních zvířat v členských státech EU. Tato legislativa klade důraz na principy nahrazení, snížení a zjemnění používání laboratorních zvířat ve výzkumu a vzdělávání. Avšak podle mého názoru existuje vždy prostor pro zlepšení chovných podmínek. Například pro některé sociální druhy, jako jsou králíci domácí nebo laboratorní potkani, není v zákoně uvedena povinnost chovat druh ve skupinách. Podle odborné literatury chov ve skupinách zvyšuje pohodu zvířat a umožňuje jim projevit přirozené chování. Další možností zlepšení je tzv. enrichment zvířat. Enrichment je proces zvyšování kvality prostředí a péče o zvířata. Klece jsou obvykle velmi prosté, což může vést k projevování nežádoucího stereotypního chování. Bylo by proto vhodné, aby byla nutnost obohacování klecí, tak aby byly splněny podmínky enrichmentu, zajištěna přesněji i legislativně.

Využívání subhumánních primátů se již stává spíše okrajovou záležitostí. Toto téma je zpracováno i v české legislativě, která pro jejich používání stanovila přísné požadavky. Koncepce tří R je součástí zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání. Každý projekt pokusu musí obsahovat část, která pojednává o aplikaci této koncepce.

Laboratorní potkan je k pokusným účelům jedním z nejvíce používaných druhů zvířat, a to zejména ve studiích zaměřených na toxikologii, embryologii a neurologii. V současné době je stále zřetelnější snaha o uplatnění alternativních organismů, jako je dánio pruhované. Tento fakt mne vedl ke zpracování části bakalářské práce věnované právě tomuto druhu. Dánio je vhodné pro výzkum v oblastech jako embryologie nebo toxikologie, kde již částečně nahrazuje využívání savců.

5 Literatura

- Alday-Sanz V. 2018. Specific pathogen free (SPF), specific pathogen resistant (SPR) and specific pathogen tolerant (SPT) as part of the biosecurity strategy for whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei* boone 1931). *Asian Fisheries Science* **31**:112-120.
- Aleström P, D'Angelo L, Midtlyng PJ, Schorderet DF, Schulte-Merker S, Sohm F, Warner S. 2020. Zebrafish: Housing and husbandry recommendations. *Laboratory Animals* **54**(3):213-224.
- Avdesh A, et al. 2012. Regular Care and Maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) Laboratory: An Introduction. JoVE: (e4196). MyJoVE Corp. doi: 10.3791/4196.
- Baenas, N., Wagner, A.E. *Drosophila melanogaster* as an alternative model organism in nutrigenomics. *Genes Nutr* **14**:1,
- Balls M. 2009. The Origins and Early Days of the Three Rs Concept. *ATLA – Alternative to laboratory animals* **37**:255–265.
- Benjamin B. 2019. Overview of laboratory animal lifestyle, care, and management: a case study of albino rats. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* **23**:1431-1450.
- Bhandari PR, Bharani KK, Khurana A. 2022. *Zebrafish Model for Biomedical Research*. Springer, Singapore.
- Burggren WW, Warburton S. 2007. Amphibians as animal models for laboratory research in physiology. *ILAR J.* **48**(3):260-9.
- Casebolt DB, Speare DJ, Horney BS. 1998. Care and Use of Fish as Laboratory Animals: Current State of Knowledge. *Laboratory Animal Science* **48**(2):124-36.
- Česká národní rada. 1992. Zákon č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání. Česká republika.
- d'Angelo L, de Girolamo P. 2021. *Laboratory Fish in Biomedical Research: Biology, Husbandry and Research Applications for Zebrafish, Medaka, Killifish, Cavefish, Stickleback, Goldfish and Danionella Translucida*. Elsevier Science & Technology, San Diego.
- DeNardo D. 1995. Amphibians as Laboratory Animals. *ILAR Journal* **37**:173-181.
- Doke SK, Dhawale SC. 2015. Alternatives to animal testing: A review. *Saudi Pharm J.* **23**(3):223-9.
- Evropský parlament a Rada Evropské unie. 2009. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Belgie.

- Evropský parlament a Rada Evropské unie. 2010. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely. Belgie.
- Evropský parlament a Rada evropské unie. 2019. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1010 ze dne 5. června 2019 o sladění povinností podávání zpráv v oblasti právních předpisů souvisejících s politikou životního prostředí a o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 166/2006 a (EU) č. 995/2010, směrnic Evropského parlamentu a Rady 2002/49/ES, 2004/35/ES, 2007/2/ES, 2009/147/ES a 2010/63/EU, nařízení Rady (ES) č. 338/97 a (ES) č. 2173/2005 a směrnice Rady 86/278/EHS. Belgie.
- Fox JG, Anderson LC, Otto GM, Pritchett-Corning KR, Whary MT Laboratory animal medicine., American College of Laboratory Animal Medicine. 2015. United states
- Gjerris M, Kornum A, Röcklinsberg H, Sørensen DB. 2020. Biotech Animals in Research: Ethical and Regulatory Aspects. Taylor & Francis Group, Milton.
- Greene HW. 1995. Nonavian Reptiles as Laboratory Animals. *ILAR Journal* **37**(4):182-186.
- Gruber FP, Hartung T. 2004. Alternatives to animal experimentation in basic research. *Altex* **21**:3-31.
- Harper C, Lawrence C. 2010. The Laboratory Zebrafish. Taylor & Francis Group, Milton.
- Henrique Franco N. 2013. Animal experiments in biomedical research: A historical perspective *Animals (Basel)* **19**;3(1):238-73.
- Hickman DL, Johnson J, Vemulapalli TH, Crisler JR, Shepherd R. 2017. Commonly Used Animal Models. *Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students* **2017**:117–75.
- Hoffman JF, Vechetti IJ, Alimov AP, Kalinich JF, McCarthy JJ, Peterson CA. 2019. Hydrophobic sand is a viable method of urine collection from the rat for extracellular vesicle biomarker analysis. *Molecular Genetics and Metabolism Reports* **21**:100505.
- Howard B, Nevalainen T, Perretta G. 2010. The COST Manual of Laboratory Animal Care and Use: Refinement, Reduction, and Research. Taylor & Francis Group, Baton Rouge.
- Howe K et al. 2013. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* **496**:498–503.
- Hrapkiewicz K, Colby LA, Denison P. 2013. Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction. John Wiley & Sons, Incorporated, Somerset.
- Kandárová H, Letaáiová S. 2011. Alternative methods in toxicology: Pre-validated and validated methods. *Interdisciplinary Toxicology* **4**:107-113.

- Kumar M, Dandapat S, Prasad Sinha M, Kumar A, Raipat BS. 2017. Different blood collection methods from rats: A review. *Balneo Research Journal* **8**:46–50.
- Kunстыr I, Nicklas W. 2000. Chapter 8 - Control of SPF Conditions: FELASA Standards in Krinke GJ, editor. *The Laboratory Rat*. Academic Press, London 133-142
- Lovern MB, Holmes MM, Wade J. 2004. The green anole (*Anolis carolinensis*): A reptilian model for laboratory studies of reproductive morphology and behavior *ILAR Journal*, **45**:54–64.
- MacArthur Clark J. 2018. The 3Rs in research: A contemporary approach to replacement, reduction and refinement. *British Journal of Nutrition* **120**: S1-S7.
- Machholz E, Mulder G, Ruiz C, Corning BF, Pritchett-Corning KR. 2012. Manual restraint and common compound administration routes in mice and rats. *Journal of Visualized Experiments* **26**:2771.
- Matthews M, Varga ZM. 2012. Anesthesia and euthanasia in zebrafish. *ILAR Journal* **53**:192-204.
- McCausland C. 2014. The Five Freedoms of Animal Welfare are Rights. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* **27**:649-662.
- Mellor DJ. 2016. Moving beyond the “Five freedoms” by updating the “five provisions” and introducing aligned “animalwelfare aims.” *Animals (Basel)* **23**;6(10):59.
- Meyer BM, Froehlich JM, Galt NJ, Biga PR. 2013. Inbred strains of zebrafish exhibit variation in growth performance and myostatin expression following fasting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **164**:1–9.
- Mikulíková I, Palíková M, Papežíková I, Blahová J, Toullová I, Minářová H. 2022. Does blood sampling from caudal vessels in fish produce parameter values different from those obtained by heart puncture? *Acta Veterinaria Brno* **91**:69-75.
- Millard SJ, Weston-Green K, Newell KA. 2020. The Wistar-Kyoto rat model of endogenous depression: A tool for exploring treatment resistance with an urgent need to focus on sex differences. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **13**; 101:109908.
- Ministerstvo zemědělství. 2004. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 207/2004 Sb., o ochraně, chovu a využití pokusných zvířat. Česká republika.
- Ministerstvo zemědělství. 2012. Vyhláška č. 419/2012 Sb. o ochraně pokusných zvířat. Česká republika.
- Ministerstvo zemědělství. 2013. Vyhláška č. 22/2013 Sb., o vzdělávání na úseku ochrany zvířat proti týrání. Česká republika.
- Modlinska K, Pisula W. 2020. The norway rat, from an obnoxious pest to a laboratory pet. *eLife* **9** (e50651) doi: 10.7554/eLife.50651.

- Mudassar Manzoor MM. 2013. Proficient Handling and Restraint of the Laboratory Animal Rat (*Rattus Norvegicus*) Facilitate Essential Biochemical and Molecular Level Studies in Biomedical Sciences. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences* **6**:21-33.
- Murray KN, Clark TS, Kebus MJ, Kent ML. 2022. Specific Pathogen Free – A review of strategies in agriculture, aquaculture, and laboratory mammals and how they inform new recommendations for laboratory zebrafish. *Res Vet Sci* **142**:78-93.
- National Academies of Sciences E and M. 1991. *Science, Medicine, and Animals*. Page Science, Medicine, and Animals. National Academies Press. National Academies Press, Washington.
- Neiffer DL, Stamper MA. 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: Considerations, methods, and types of drugs. *ILAR Journal* **50**:343-360.
- Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. 2010. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* **1**:87–93.
- Parlament České republiky. 1999. Zákon Parlamentu České republiky č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně souvisejících zákonů. Česká republika.
- Pedroso GL, Hammes TO, Escobar TDC, Fracasso LB, Forgiarini LF, da Silveira TR. 2012. Blood collection for biochemical analysis in adult zebrafish. *Journal of Visualized Experiments* (e3865) doi: 10.3791/3865.
- Ramsay JM, Feist GW, Varga ZM, Westerfield M, Kent ML, Schreck CB. 2006. Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio*. *Aquaculture* **258**:565-574.
- Ratuski AS, Weary DM. 2022. Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview. *Animals* **12**(4):414.
- Shishis S, Tsang B, Ren GJ, Gerlai R. 2023. Effects of different handling methods on the behavior of adult zebrafish. *Physiology and Behavior* **262**:114106.
- Singh A, Singh P. 2019. Alternative Methods Replacing Animal Testing in Research: An Overview. *International Journal of Biological Innovations* **01**:66-72.
- Stevens CH, Reed BT, Hawkins P. 2021. Enrichment for laboratory zebrafish—a review of the evidence and the challenges. *Animals (Basel)* **5**;11(3):698
- Suckow MA, Hankenson FC, Wilson RP, Foley PL. 2019. *The Laboratory Rat*. Elsevier Science & Technology, San Diego.
- Suckow MA, Stevens KA, Wilson RP. 2012. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*. Elsevier Science & Technology, San Diego.

- Suckow MA, Weisbroth SH, Franklin CL. 2005. *The Laboratory Rat*. Elsevier Science & Technology, San Diego.
- Swallow J et al. 2005. Guidance on the transport of laboratory animals. *Lab Anim* **39**(1):1-39.
- Teame T et al. 2019. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Animal Frontiers* **9**:68-77.
- Tobin CT, Bailey DW, Stephenson MB, Trotter MG, Knight CW, Faist AM. 2022. Opportunities to monitor animal welfare using the five freedoms with precision livestock management on rangelands. *Frontiers in animal science* **3**:1-15.
- United States National Academy of Sciences. 2012. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. National Academies Press, Washington.
- Veinotte CJ, Dellaire G, Berman JN. 2014. Hooking the big one: The potential of zebrafish xenotransplantation to reform cancer drug screening in the genomic era. *Dis Model Mech* **7**(7):745-54.
- Walker RL. 2019. Virtue Ethics and Laboratory Animal Research. *ILAR Journal* **60**.
- Wilson-Sanders SE. 2011. Invertebrate models for biomedical research, testing, and education. *ILAR J.* 2011;**52**(2):126-52.
- Zang L, Shimada Y, Nishimura Y, Tanaka T, Nishimura N. 2015. Repeated blood collection for blood tests in adult zebrafish. *Journal of Visualized Experiments* **30**:102.
- Zou W, Yang Y, Gu Y, Zhu P, Zhang M, Cheng Z, Liu X, Yu Y, Peng X. 2017. Repeated blood collection from tail vein of non-anesthetized rats with a vacuum blood collection system. *Journal of Visualized Experiments* **10**;(130):55852.

