

| NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Název projektu pokusů</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                  |
| Manipulace se složením střevní mikroflóry kuřat jako cesta k potlačení <i>E. coli</i> infekcí                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                  |
| Doba trvání projektu pokusů                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | od nabytí právní moci rozhodnutí o povolení projektu pokusů do 21. 8. 2019                                       |
| Klíčová slova - maximálně 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | střevní mikroflóra, kuře, imunita, rezistence k infekcím                                                         |
| <b>Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                  |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | základní výzkum                                                                                                  |
| <input checked="" type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | translační nebo aplikovaný výzkum                                                                                |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmív a jiných látek nebo výrobků |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat                        |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | zachování druhů                                                                                                  |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | vyšší vzdělávání nebo odborná příprava                                                                           |
| <input type="checkbox"/>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | trestní řízení a jiné soudní řízení                                                                              |
| <b>Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                  |
| Cílem projektu je studium odpovědi kuřat na infekci patogenním kmeny <i>E. coli</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                  |
| <b>Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                  |
| Předpokládaným přínosem je prohloubení poznatků o imunitní odpovědi střeva kuřat na kolonizaci střevní mikroflórou včetně zvýšení rezistence na infekci <i>E. coli</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                  |
| <b>Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                  |
| Pro experimentální infekce v celém průběhu projektu bude použito 500 kuřat samčího pohlaví.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                  |
| <b>Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                  |
| V tomto experimentu lze předpokládat určitou míru újmy na zdraví u testovaných kuřat – proto je navrhovaná míra závažnosti závažná. Inokulační dávky proto budou zvoleny tak, aby nevyvolaly zbytečné utrpení a bolest zvířat. Samotná perorální i aerosolová aplikace infekčního agens je bezbolestná. Kuřata budou denně monitorována na změny v chování instalovanými web kamerami a v případě výrazného průběhu infekce budou humánně utracena předávkováním anestetiky a dekapitací ještě před plánovaným ukončením experimentu. Po skončení pokusu budou všechna zvířata po celkové anestezii usmrcena dekapitací.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                  |
| <b>Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                  |
| <b>Nahrazení používání zvířat:</b> Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                  |
| Výsledky získané biologickým pokusem na kuřatech nelze nahradit žádnými alternativními metodami a pro dosažení cíle jsou nezbytné. V rámci vývoje specifické imunitní odpovědi interagují různé typy buněk a tak tyto pokusy nelze plně nahradit testy např. na tkáňových kulturách. Navazující experimenty se střevní mikroflórou představují práci s velmi specifickým ekologickým prostředím, které v podstatě nelze modelovat in vitro. Kombinace kolonizace kuřat střevní mikroflórou, odpovědi imunitního systému na inokulaci a následná infekce <i>E. coli</i> je natolik komplexní záležitost, že ji nelze modelovat in vitro.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                  |
| <b>Omezení používání zvířat:</b> Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                  |
| Za účelem minimalizace počtů pokusných zvířat bude v každém pokusu odebrána celá škála vzorků, z nichž část bude zpracována okamžitě, ale většina bude konzervována pro následné zpracování a to do TRIReagentu pro následnou simultánní izolaci mRNA a proteinů a do formalínu pro světelnou mikroskopii. Automaticky bude odebrána krev pro serologická nebo biochemická vyšetření. Všechny vzorky budou odebrány a řádně označeny i u pokusů, ve kterých nebude jejich zpracování primárním cílem, avšak budou kdykoli dostupné pro retrospektivní došetření bez nutnosti použít další experimentálních zvířat.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                  |
| <b>Šetrné zacházení se zvířaty:</b> Vysvětlete volbu druhu zvířat a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                  |
| Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                  |
| Kuřata v komerční produkci se líhnou ve velmi čistém prostředí lůhů bez kontaktu se slepicí. Pokud se v prvních dnech života vyskytne v okolí kuřat patogenní bakterie, nedostatečně kolonizovaný trávicí trakt bez rozvinutého imunitního systému je ideálním prostředím pro její uchycení a dlouhodobou perzistenci. Infekce patogenními <i>E. coli</i> patří mezi jednu z nejběžnějších příčin úhynů v chovech drůbeže. Přitom při včasném osídlení kuřat mikroflórou dospělých slepic lze výrazně snížit jejich vnímavost ke kolonizaci <i>E. coli</i> . Proto je model kuřete, patogenní <i>E. coli</i> a později i aktivní kolonizace vhodně zvolenou mikroflórou aktuální, s potenciálem pro zlepšení welfare zvířat, snížení nutnosti terapeutického použití antibiotik a zvýšení bezpečnosti potravin živočišného původu. Se zvířaty bude pracovat kvalifikovaný personál, budou dodržovány zásady humánního zacházení v souladu s platnými předpisy v oblasti ochrany pokusných zvířat. V průběhu celého projektu bude minimalizován diskomfort a stres zvířat. |                                                                                                                  |