

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Produkce myších monoklonálních protilátek proti SARS-CoV-2					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících				12	
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾				In vivo, monoklonální, protilátky	
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☐ základní výzkum					
☒ translační a aplikovaný výzkum					
☐ kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)					
☐ legislativní účely jiné zkoušení účinnosti a tolerance					
☐ a běžná výroba zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie					
☒ běžná výroba					
☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat					
☐ zachování druhů					
☐ vyšší vzdělávání					
☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí					
☐ trestní řízení a jiné soudní řízení					
☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech					
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Cílem pokusů je produkce myších monoklonálních protilátek proti SARS-CoV-2 kultivací <i>in vivo</i> . Jde o technologii celosvětově běžně používanou. Hybridomy vytvořené spojením B lymfocytů (z myši imunizované konkrétním antigenem viru SARS-CoV-2) a permanentně rostoucí nádorovou linií buněk, produkují požadované monoklonální protilátky. Hybridomy v produkční fázi růstu jsou zaočkovány do intraperitonea myši, kde dochází ke kultivaci, tvoří se ascitická tekutina s obsahem požadované monoklonální protilátky o relativně vysoké koncentraci. Přínosem je produkce monoklonálních protilátek proti specifickému místu viru SARS-CoV-2, které budou použity pro interní potřeby společnosti (výzkum, diagnostika, testování šarží apod.), tak potenciálně i pro externí využití zákazníkovi v diagnostických soupravách.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Cílem je potenciální využití protilátek proti přesně dané části viru SARS-CoV-2 ve snaze vytvořit soupravu pro stanovení hladiny protektivních protilátek v krvi člověka.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Injekční aplikace buněk					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
Zvířata jsou pečlivě sledována a ascitická tekutina je odebírána punkcí. V případě zhoršení zdravotního stavu, následkem tvorby ascitické tekutiny je pokus okamžitě ukončen usmrcením pokusného zvířete a odběr ascitické tekutiny je proveden post mortem. Klasifikace závažnosti pokusu: střední - dle odst. 5 písm. c) Přílohy č. 9 k vyhlášce č. 419/2012 Sb.; je prováděn zákrok prováděný v celkovém znecitlivění, spojený po zákroku se zhoršením celkového stavu pokusného zvířete					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	40			40	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0

Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>	
N/A	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Obecně se ke kultivaci <i>in vivo</i> přistupuje u hybridomů, které jsou méně stabilní, nebo je není možné kultivovat <i>in vitro</i> kvůli jejich vlastnostem v množství pro pokrytí výrobních požadavků. Současné znalosti vybraných klonů proti SARS-Cov-2 nám neumožňují nahradit v tomto případě <i>in vivo</i> kultivaci, kultivací <i>in vitro</i>. Potřeba aktuálního a rychlého řešení vyžaduje kultivaci <i>in vivo</i>, která významně zkrátí čas produkce protilátek oproti <i>in vitro</i> produkci. Poznatky z <i>in vivo</i> kultivace budou využity ke snaze vytvořit vhodné podmínky pro budoucí kultivaci <i>in vitro</i>. Tvrzení bylo ověřeno dne 15.12.2020 v databázi schválených alternativních metod (DB-ALM) schválených a přijatých Evropskou společností pro alternativní metody (ECVAM).	
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>	
Ke kultivacím <i>in vivo</i> budou používány pouze počty laboratorních zvířat nutné k zajištění kvalitní myši monoklonální protilátky pro pokrytí požadavků výzkumu, resp. výroby diagnostických souprav.	
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>	
S pokusnými zvířaty bude zacházeno v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb. „Zákon na ochranu zvířat proti týrání“ v platném znění, v souladu s vyhláškou č. 419/2012 Sb. o ochraně pokusných zvířat v platném znění a v souladu s interními postupy společnosti Immunotech s.r.o. Pokusná zvířata budou pravidelně sledována. V případě zjištění utrpení pokusných zvířat bude rozhodnuto o jejich humánním utracení.	
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
<u>zvíře</u> myš laboratorní (Mus musculus varietas alba) <u>kmeny</u>: BALB/c, inbrední myši, <u>pohlaví</u> samice i samci Nude, mutantní myši, <u>pohlaví</u> samice i samci	
<u>Stáří</u> : zvířata starší šesti týdnů věku	

¹⁾ Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

²⁾ Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „**nespecifikovaného savce**“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech