

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569	
Název projektu pokusů	
Studie bezpečnosti na cílovém druhu (pes) po ušní aplikaci.	
Doba trvání projektu pokusů - v měsících	5 měsíců
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾	Bezpečnost, glukokortikoid, lokální aplikace, pes
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
☒	a běžná výroba
☐	jiné zkoušení účinnosti a tolerance
☐	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 pokusu je provést studii bezpečnosti na cílovém druhu podle požadavků VICH GL 43 (Target animal safety for veterinary pharmaceutical products, EMEA/CVMP/VICH/393388/2006) po ušní aplikaci. Výsledky studie budou součástí registrační dokumentace veterinárního léčiva.	
Jedná se o ušní veterinární přípravky ve spreji pro lokální použití obsahující jako aktivní složku hydrokortison-aceponát (krátkodobě působící glukokortikoid). Ve studii bude posouzena bezpečnost testované látky u zvířat aplikovaných zkoušeným přípravkem ve srovnání s kontrolní skupinou. Zamýšleným využitím veterinárního přípravku po registraci je potlačení excesivní zánětlivé reakce v místě lokální aplikace (ušní boltec a zvukovod). Vzhledem k dostatečné známosti účinků a bezpečnostního profilu aktivní složky (viz odkaz), je z důvodu registrace nutná pouze limitovaná studie bezpečnosti na cílovém druhu, viz bod 9.	
Použité zdroje:	
https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/hydrocortisone-aceponate-european-public-maximum-residue-limit-assessment-report-epmar-cvmp_en.pdf	
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)	
Registrace veterinárního přípravku ve spreji pro lokální použití u psů. Potlačení excesivní zánětlivé reakce (ušní boltec a zvukovod) s využitím šetrnější lokální aplikace.	
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání	
Podmínky prostředí a ustájení zvířat budou v souladu s vyhláškou MZe č. 419/2012 Sb., v platném znění.	
Zvířata budou rozdělena do 3 skupin po 8 psech (4 samci + 4 samice). V rámci kontroly zdravotního stavu bude u 28 zvířat (14 samců a 14 samic) provedeno na začátku aklimatizace hematologické, biochemické a imunologické vyšetření, ACTH stimulační test tzn. 1 odběr krve v celkovém objemu 6-8 ml a dva odběry (1-2 ml) v rámci ACTH stimulačního testu, bude provedeno posouzení celkového zdravotního stavu se zaměřením na funkci sluchového a vestibulárního aparátu. Sběr moče pro urinalýzu bude proveden v metabolických klecích po dobu max. 16 hodin. Na základě tohoto vyšetření bude do studie vybráno 24 zvířat (12 samců a 12 samic). Zbylá zvířata budou ponechána v experimentální stáji a po příslušné době rekonvalescence mohou být využita v dalším experimentu střední nebo mírné závažnosti.	
Po minimálně 7denní aklimatizaci bude zvířatům v první dávkové skupině do obou uší ve formě spreje denně aplikována testovaná látka v nejvyšší doporučené terapeutické dávce o objemu 0.5 ml/ucho (1 ml celkem) po dobu 42 dnů (3násobek doporučené doby aplikace). Zvířatům druhé dávkové skupiny bude stejným způsobem aplikována testovaná látka ve výši 3násobku nejvyšší doporučené terapeutické dávky o objemu 1,5 ml/ucho (3 ml celkem) po dobu 14 dnů. Kontrolní skupině zvířat bude stejným způsobem aplikováno vehikulum případně fyziologický roztok o objemu 1,5 ml/ucho po dobu 42 dnů.	
Po poslední aplikaci bude u všech zvířat následovat období rekonvalescence v délce 63 dní.	
Zvířata budou denně klinicky pozorována, včetně sledování příjmu potravy. Před aplikací a následně v týdenních intervalech bude určeným veterinárním lékařem provedeno detailní klinické vyšetření se zaměřením na funkci sluchového a vestibulárního aparátu. Tělesná hmotnost bude zjišťována v týdenních intervalech. V průběhu studie bude před aplikací, v den 7, 15 a následně v 14denních intervalech odebírána krev pro stanovení hematologických, biochemických a imunologických parametrů, a to v maximálním počtu 11 odběrů (v souhrnném množství 6-8 ml	

krve/odběr) v průběhu 112 dní a zároveň bude proveden ACTH stimulační test (1 vyšetření = 2 odběry/1-2 ml). Odběry krve budou provedeny z *v. cephalica antebrachii* nebo *v. saphena lateralis* na lačno. Třikrát v průběhu celé studie bude v metabolických klecích po dobu max. 16 hodin sbírána moč pro urinalýzu.

ACTH aktivační test:

Test slouží ke zjištění endokrinologické funkce nadledvin. V rámci testu bude proveden odběr krve (1-2 ml), následně bude provedena intravenózní aplikace přípravku Cortrosyn® v dávce 4 µg/kg (0,02 ml/kg). Po uplynutí 60 minut od aplikace bude proveden 2. odběr krve (1-2 ml).

Na konci experimentu (den 112) se zvířata neutrácejí, budou ponechána v experimentální stáji a po příslušné době rekonvalescence budou využita v dalším experimentu střední nebo mírné závažnosti.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) **a doba trvání těchto účinků**

Vzhledem k designu studie se mohou vyskytnout mírné nežádoucí lokální projevy aplikace kortikoidů (zhoršené hojení, zvýšená vnímavost k infekcím v místě aplikace, kožní atrofie). Předpokládá se maximálně střední zhoršení kvality životních podmínek zvířat.

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
Pes domácí (Canis familiaris)	28		20	8	
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					

Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena

Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití	28
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte

Zvířata po ukončení pokusu zůstanou v experimentálních stájích, po dostatečné wash-out periodě, která zabezpečí kompletní rekonvalescenci a po prohlídce veterinárním lékařem mohou být znovu využita. Předpokládaná závažnost dalších pokusů bude mírná až střední.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat - uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu

Ke zjištění bezpečnosti na cílových zvířatech se používá minimální nezbytné množství laboratorních zvířat. Alternativní metoda, která by nahradila použití pokusných zvířat, neexistuje, viz použité zdroje. Design studie se řídí platným doporučením pro provádění klinického testování látek určených k léčbě zvířat.

Použité zdroje:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/vich-gl43-target-animal-safety-pharmaceuticals-step-4_en.pdf

<https://www.vichsec.org/en/guidelines/pharmaceuticals/pharma-safety/pharma-target-animal-safety.html>

Omezení používání zvířat - 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).

Studie je prováděna na dostatečném počtu zvířat, tak aby získané výsledky poskytl validní informace o bezpečnosti veterinárního léčiva.

Šetrné zacházení se zvířaty - uveďte 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
Veškeré úkony (aplikace, odběry krve, ACTH aktivační test apod.) jsou prováděny obdobně, jak je tomu běžné v humánní a veterinární praxi. Naplánované množství odběrů ani objem jednotlivých vzorků odebrané krve nepředstavuje pro zvířata nepřiměřenou zátěž či neúměrné utrpení.

Použité druhy zvířat - vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií

Laboratorní psi jsou vhodným modelovým organismem pro tento typ studie jako cílový druh zvířete.

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