

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Účinnost nanoformulací anthelmintik vůči hlísticím na potkaním modelu

Doba trvání projektu pokusů v měsících

18

Klíčová slova

anthelmintikum

potkan

nanoemulze

Nippostrongylus brasiliensis

antiparazitární účinek

Účely projektu pokusů

Translační a aplikovaný výzkum: Infekční onemocnění u lidí [PT22]

Translační a aplikovaný výzkum: Nákazy a poruchy u zvířat [PT33]

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem této studie je připravit nanoemulze tří klíčových antiparazitik (albendazol, ivermektin, moxidektin) a ověřit jejich účinnost vůči larvám L3, L4 druhu *Nippostrongylus brasiliensis* u potkanů. S ohledem na vývojový cyklus *N. brasiliensis*, bude léčba provedena přesně v době migrujících larev L3 v plicích, tedy dříve než dojde k usazení a maturaci helmintů v tenkém střevě. Účinnost nanoemulzí ABZ, IVM, MXD bude porovnána s na trhu dostupnými přípravky. Účinnost léčiv bude hodnocena na základě porovnání počtu červů ve střevech po skončení experimentu a dále na porovnání míry poškození plic zjištěné pomocí microCT.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Ověření nových léčivých forem antiparazitik může v budoucnu zlepšit terapii nebezpečných parazitóz člověka a zvířat. U nové upravené formy léčiva dojde ke zvýšení antiparazitárního efektu a zároveň ke snížení potřebné dávky.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

V pokusu bude použito celkem 80 potkanů laboratorních, kmene Wistar o počáteční hmotnosti 150-300g. Zvířatům bude vyvolána experimentální infekce měchovcem *Nippostrongylus brasiliensis* a to injekčním podáním larev pod kůži. Třetí den po infekci budou zvířata léčena anthelmintiky cestou perorální anebo cestou subkutánní injekce. Pátý den budou zvířata vyšetřena na mikrotomografu v celkové anestézii. Za 14 dní od vlastní infekce bude experiment ukončen humánním utrácením zvířat.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata, a doba trvání těchto účinků

Infekce potkanů parazitem *N. brasiliensis* probíhají většinou bezpříznakově, při silnějších invazích může migrace larev *N. brasiliensis* plicemi způsobovat ztížené dýchání a kašel. Případné nežádoucí účinky po podání antiparazitik v navrhovaných dávkách nejsou očekávány.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
	Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
potkan laboratorní (<i>Rattus norvegicus</i>) [A2]	0	0	80	0

0	0	0	0	0
0	0	0	0	0
0	0	0	0	0

Druhy a přibližné počty zvířat, která nebudou na konci pokusu usmrcena, a předpokládané nakládání s nimi

Druh zvířat	Odhadovaný počet zvířat		
	Opětovné použití	Navrácení do chovu, do přírodního stanoviště	Do zájmového chovu
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty

Zvířata budou utracena pro vyšetření a kvantifikaci parazitární zátěže při pitvě.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Test na potkaním modelu je nutný pro pochopení rozvoje onemocnění a ověření její následné léčby na úrovni celého organismu a nelze tento model imitovat žádnými alternativními metodami. U nově testovaných léčiv se očekávají změněné farmakokinetické vlastnosti, které by nebylo možné zjistit in vitro. Larvy parazitů, na které cílí aplikovaná léčba, nelze kultivovat in vitro.

Omezení používání zvířat

V rámci experimentu byly navrženy nejnižší možné počty skupin pokusných zvířat, tak aby nebyla ohrožena statistická síla výsledků.

Šetrné zacházení se zvířaty

Při plánování pokusu byla zohledněna hlediska humánního zacházení s pokusnými zvířaty, invazivní zákroky byly omezeny na minimální možný počet, veškerá manipulace s experimentálními zvířaty bude provedena v souladu s platnými směnicemi a postupy práce. Zacházení se zvířaty bude probíhat v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, a s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Zvířata budou ustájena v akreditovaných experimentálních stájích s použitím technologie odpovídající živočišnému druhu. Veškeré plánované zákroky v pokuse nepůsobí bolest. Zvířata budou v celkové inhalační anestézii pouze při p.o. aplikaci ABZ a nanoABZ a dále při vyšetření na microCT z důvodu omezení hybnosti zvířat a minimalizaci stresu. V případě výskytu neočekávaných závažných klinických příznaků v průběhu infekce N. brasiliensis, jako je dlouhodobé nechutenství, neochota k pohybu a intenzivní dušnost, budou zvířata bezodkladně humánně utracena.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Model potkan Wistar a hlístice *Nippostrongylus brasiliensis* byl vybrán jako standardní model parazitární infekce aplikovatelný na laboratorní hlodavce ve světě. Druh *N. brasiliensis* má potřebné biologické vlastnosti pro tyto účely: dostatečně dlouhá migrace larev od vstupu do hostitele až po dosažení cílové lokace (tenké střevo). U potkanů probíhá bez příznaků nebo s mírnými příznaky. Tento parazit zároveň není infekční pro člověka ani jiná zvířata s výjimkou potkanů a myší. Dle dodavatele larev *N. brasiliensis* je potkan nejvhodnějším hostitelem pro tento druh parazita. Při použití myší se musí kombinovat inbrední imunosuprimované kmeny s běžnými kmeny myší a parazitární infekce je i přes složitou kultivaci velmi omezená.