

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Infekce a koinfekce *Leishmania turanica* a *Leishmania major* v kryších (*Rattus rattus*) a pestruškách (*Lagurus lagurus*).

Doba trvání projektu pokusů v měsících	24
Klíčová slova	<i>Leishmania turanica</i>
<i>Leishmania major</i>	<i>Rattus rattus</i>
<i>Lagurus lagurus</i>	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Leishmaniózy jsou lidská a zvířecí onemocnění způsobená jednobuněčnými parazity rodu *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), přenášenými hmyzem – flebotomy (Diptera: Psychodidae). *Leishmania turanica* je poměrně nově rozpoznáný nepatogenní druh leishmanie, jehož přirozeními hostiteli jsou středoasijské pískomilové *Rhombomys opimus*. Tento druh pískomila je zároveň známým rezervoárovým hostitelem pro člověka patogenního druhu *Leishmania major*. Poslední výzkumy ukazují, že infekce *L. turanica* jsou ve skutečnosti daleko častější než *L. major*, která se vyskytuje prakticky jen v koinfekcích s *L. turanica*. Experimentální infekce pak prokázaly, že *L. major* přežije v samostatné infekci pískomilů jen výjimečně 6 měsíců, což je v přírodě minimální kritická perioda, kdy nejsou přítomni přenašeči. Koinfekce s *L. turanica* ale signifikantně prodlouží přežívání *L. major* na 24-30 měsíců (Strelkova et al. 2001 *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 95). Cílem našich pokusů bude přispět k objasnění mechanismu tohoto fenoménu. Jelikož *R. opimus* není pro naše pokusy dostupný, prvním krokem musí být potvrzení hostitelské kompetence modelových druhů hlodavců – pestrušek písečných (*Lagurus lagurus*) a krys obecných (*Rattus rattus*). Pro tento účel budou provedeny experimentální infekce, kdy budou zvířata v pravidelných časových intervalech testována na infektivitu pro

Potenciální přínosy projektu pokusů

Pokus má přinést jedinečné a dosud nepublikované výsledky, které přispějí jednak k poznání epidemiologie *L. major* a *L. turanica*, jednak k objasnění molekulárního mechanismu vzájemného působení dvou druhů leishmanií ve stejném hostiteli.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Experimentální infekce: hlodavci budou uvedeni do celkové anestezie a leishmanie budou inokulovány intradermálně do ušního boltce. Poté bude v pravidelných týdenních intervalech sledována hmotnost zvířat a externí známky onemocnění – případná tvorba kožních lézí. Pokus bude ukončen při viditelném zhoršení zdravotního stavu zvířete (úbytek váhy, rozsáhlé kožní léze, apatie, nechutenství) nebo v plánovaném časovém intervalu od inokulace leishmanií. Pokus bude ukončen stržením vazů v celkové anestezii, poté budou odebrány vzorky tkání pro PCR detekci leishmanií a kadaver uložen v kafilerii.

Xenodiagnostické pokusy: zvířata budou vystavena sání flebotomů opět při celkové anestezii. Anestezie bude trvat 1 hodinu, zvířatům přitom budou zvlhčovány oči a bude dbáno na jejich tepelný komfort.

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

U hlodavců infikovaných pouze *L. turanica* lze očekávat spíše mírný asymptomatický průběh infekce, u zvířat infikovaných *L. major* či koinfikovaných oběma druhy leishmanií pak i středně závažný průběh, pokud se vyvine kožní léze.

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
ostatní hlodavci (other Rodentia) [A7]	0	24	42	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

Pokus musí být ukončen usmrcením infikovaných zvířat, protože pro detekci DNA parazitů je nutný odběr sleziny, jater a povrchových tkání zvířete. Hlodavci budou usmrceny cervikální dislokací v celkové anestezii. Tato metoda zajišťují co možná nejmenší míru utrpení pokusného zvířete. Usmrcení budou provádět pouze certifikované osoby. Likvidace kadaverů z kafilerie bude provedena asanační službou, se kterou má pracoviště smlouvu.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Sledování vývoje leishmanií v těle hostitele a xenodiagnostické pokusy nejsou nahraditelné jinou alternativní technikou. Interakce mezi parazitem a hostitelem i přenašečem jsou ovlivněny mnoha vzájemně provázanými a často druhově specifickými faktory na úrovni celých organismů. Tyto komplexní děje nelze simulovat pokusy in vitro nebo počítačovou simulací při vyloučení laboratorních zvířat.

Omezení používání zvířat

Počet použitých zvířat bude minimalizován na nejmenší možný stav tak, aby výsledky byly ještě vypovídající a publikovatelné.

Šetrné zacházení se zvířaty

Před injekčním podáním infekční dávky parazitů do ušního boltce a při xenodiagnostikách (sání naivních flebotomů na zvířatech) budou zvířata uspána anestézií, během anestezie budou zvířatům zvlhčovány oči a bude udržován jejich tepelný komfort. Při ukončení pokusu bude zvířatům v celkové anestezii stržen vaz. Žádné zvíře nebude použito opakovaně pro další pokus. Se zvířaty budou manipulovat pouze certifikované osoby.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Pestrušky (*Lagurus lagurus*) a krysy (*Rattus rattus*) byly vybrány jako modelové druhy, protože jsou známy výjimečnou vnímavostí vůči různým druhům leishmanií, vyskytují se i v areálu *L. turanica* a zároveň jsou komerčně dostupné a jejich použití pro pokusné účely bylo na pracovišti žadatele již zavedeno. Plánujeme použít dospělé samice obou druhů.