

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Hodnocení imunologického profilu imunomodulačních nanopreparátů po podání zdravým myším C57Bl/6 a jejich transgenům K18-hACE2 a AAV-hACE2

Doba trvání projektu pokusů v měsících

9

Klíčová slova

myš

transgen

muramylové lipoglykopeptidy

trehalozové diestery

protivirová imunita

Účely projektu pokusů

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

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Zkoumání aktivace antigen prezentujících buněk - APC (monocytů, makrofágů, dendritických buněk) nezbytných pro navození efektivní protivirové odpovědi, především výkonných a paměťových cytotoxických buněk, nově vyvinutými imunoaktivními nanopreparáty (NP).

Potenciální přínosy projektu pokusů

Vývoj nových imunoaktivních NP pro podpoření aktivity buněk přirozené a následně specifické protivirové imunity s cílem jejich využití v době nastupující epidemie Covid-19 nebo k zamezení závažných komplikací po virové infekci.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Jednorázové nebo opakované (v 3-denních intervalech po dobu 14 dnů) intranasální podání testovaných NP a kontrolních látek; odběr krve ze špičky ocasu před a po aplikaci látek, 1x týdně po 50 ul; terminální odběr krve z retrobulbárního plexu v izofluranové anestézii.

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

Při intranasálním podání budou zvířata po nezbytně dlouhou dobu znehybněna a omezena při provádění běžných aktivit.

Nepříznivé zdravotní účinky na zvířata nepředpokládáme, testované NP budou podány v netoxických dávkách a bolestivé a stresující zákroky budou prováděny v celkové anestézii

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
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	290	0	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

Na konci postupu budou zvířata usmrcena předávkováním anestetika, bude provedena bronchoalveolární laváž a pitva s odběrem imunitních orgánů pro další imunologická a biochemická vyšetření. Myši tedy nemohou být použity opětovně.

Uplatňování 3R

Nahrazení používání zvířat

Pro zkoumání imunitní odpovědi na podání imunoterapeutických nanopreparátů, kde je nutné sledovat reaktivitu organismu jako celku, není v mezinárodním seznamu alternativních metod (zdroj: Tracking Systém for Alternative Test Methods Review, Validation and Approval in the Context of EU Regulations on Chemicals <http://tsar.jrc.ec.europa.eu/>) uvedena žádná alternativa bez použití pokusných zvířat.

Omezení používání zvířat

V zájmu omezení in vivo experimentů budou pokusy na zvířatech prováděny až na základě výsledků in vitro testů na buněčných liniích. Bude použit minimální počet zvířat ve skupině potřebný pro spolehlivé statistické hodnocení: 3 myši kmene C57Bl/6 ve skupině ve screeningových pokusech a 5 hACE2 transgenních myši ve skupině při ověření účinnosti vybraných NP. Celkem bude na projekt použito maximálně 290 myši.

Šetrné zacházení se zvířaty

Bezpečné dávkování imunoterapeutik bude stanoveno podle výsledků předchozích in vitro testů toxicity na buňkách imunitního systému a na buněčných liniích. V průběhu aklimatizace budou zvířata navykána na manipulaci prováděnou při pokusu. Se zvířaty se bude zacházet podle příslušných právních předpisů odpovídajících požadavkům pro daný druh a kategorii pokusných zvířat (vhodná ošetrovatelská péče, výživa, napájení, mikroklima, dostatečný prostor, obohacení prostředí, veterinární péče). Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty bude provádět zkušený a zaškolený personál. Zvířata budou denně kontrolována a v případě zjištění příznaků onemocnění nebo nadměrného stresu bude konzultován veterinární lékař.

Použité druhy zvířat - vysvětlení

Vzhledem ke zvolenému modelu sledování antivirové imunity SARA-CoV-2 budeme v překládaném projektu používat myši kmene C57Bl/6, AAV-hACE2 a K18-hACE2 z SPF chovu ve věku 5 týdnů při příjmu.