

# NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ 20/2020

upravené podle PR 2020/569

## Název projektu pokusů

**Studium katarální fáze černého kašle na myším modelu pro získání znalostí o mechanismech kolonizace horních cest dýchacích a o faktorech virulence nutných k přenosu bakterie *Bordetella pertussis*.**

Doba trvání projektu pokusů - v měsících 39 měsíců

Klíčová slova - maximálně pět <sup>1)</sup> *Bordetella pertussis*, kolonizace, nazální infekce, transmise, vakcíny

## 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

Hlavním cílem plánovaných pokusů je získání originálních výsledků, které pomohou hlouběji porozumět mechanismům virulence patogenní bakterie dýchacího traktu *Bordetella pertussis* a povedou k vývoji účinnějších očkovacích látek proti černému kašli. Bude studováno, zdali je možné vyvinout myší model pro intranazální kolonizaci a imitaci katarálního stadia nemoci černého kašle. Myší model intranazální kolonizace bude poté využit pro studium mechanismů kolonizace horních cest dýchacích a k získání poznatků, které faktory virulence jsou důležité pro přenos bakterie *B. pertussis*. Díky těmto výsledkům budou identifikovány nové antigeny, které by mohly zlepšit stávající vakcíny proti černému kašli a pomoci tak zabránit přenosu bakterie mezi lidmi.

**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)**

Získání nových poznatků klíčových pro vývoj nových účinnějších vakcín pro prevenci přenosu dýchacího kašle.

**Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání**

Myši budou injekčně uspávány při infekci (intranazální aplikace ve spánku) a při odebrání séra. Injekčně jim bude 2x v rozmezí 14 dnů podávána vakcína. Injekční aplikace trvá cca 5s.

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

Nežádoucí účinky po infekci se mohou projevit respirační infekcí, při které může dojít k úbytku na váze a stresu. Respirační infekce do 2-3 týdnů vymizí. Většina myší ale bude usmrcena dříve. Anestezie trvá 15 - 30 minut, podle její hloubky. Na infekci se používá pouze lehká anestezie (znehybnění myši), při odebrání séra hluboká.

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

| Druh zvířat <sup>2)</sup><br>- vyberte ze seznamu | Odhadovaný počet | Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti |       |         |         |
|---------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------|-------|---------|---------|
|                                                   |                  | Nenabude vědomí                          | Mírná | Střední | Závažná |
| Myš laboratorní ( <i>Mus musculus</i> )           | 600              |                                          |       |         | 600     |



|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|--|---|
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| Zvolte položku.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| <b>Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |  |  |  |  |   |
| 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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |  |  |  |   |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| <b>Uplatňování 3R</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |  |  |  |  |   |
| <b>Nahrazení</b> 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>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |  |  |  |  |   |
| Alternativní metody nepostihují složitost zkoumané problematiky, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy. Testování kolonizace plic a nosních dutin stejně tak indukce protilátkové či buněčné imunitní odpovědi v tkáňových modelech není možné. K vysvětlení mechanismu je zapotřebí studium na úrovni celého organismu a nelze jej nahradit jinými typy experimentů, nezahrnujícími živá experimentální zvířata, jako např. buněčnými kulturami či <i>ex-vivo</i> tkáňovými explantáty.            |  |  |  |  |   |
| <b>Omezení</b> 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>   |  |  |  |  |   |
| Vlastní zkušenosti s podobným typem experimentů a množství již získaných dat nám umožnily naplánovat minimální počet zvířat, která potřebujeme k dosažení signifikantních výsledků a k jejich publikaci. Vzorky, získané v experimentech, jsou v rámci laboratoře pravidelně sdíleny, protože více experimentátorů pracuje na podobné problematice.                                                                                                                                                      |  |  |  |  |   |
| <b>Šetrné zacházení</b> 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>                                                                                                                                                          |  |  |  |  |   |
| Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Zvířata budou pravidelně sledována zkušeným experimentátorem a v případě zhoršení zdravotního stavu budou eutanazována.                                                                                                                                                                                                                                                                         |  |  |  |  |   |
| <b>Použité druhy zvířat</b> - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |  |  |  |  |   |
| Budou použity laboratorní myši inbredního kmene C57BL/6, C57BL/6 MyD88KO, C57BL/6 Trif KO a C57BL/6 MyD88KOxTrif KO, C57BL/6J CFTRΔF508, C57BL/6J MyD88KOx CFTRΔF508 a C57Bl/6N <sub>mut</sub> RNF186, které jsou vhodným modelem pro studium intranazální infekce bakterií <i>B. pertussis</i> . V letech 2020-2023 odhadujeme použití maximálně 600 ks zvířat minimálního stáří 5 týdnů. Počet myší je na úrovni minimálního počtu, který zaručuje statisticky vyhodnotitelné výsledky mezi skupinami. |  |  |  |  |   |

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

<sup>2)</sup> 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