

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Příprava boreliemi nakažených klíšťat pomocí sání na infikovaných myších	
Doba trvání projektu pokusů	do 09/2024
Klíčová slova - maximálně 5	myš laboratorní, <i>Ixodes ricinus</i> , <i>Borrelia</i> spp.
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
☒	základní výzkum
☐	translační nebo aplikovaný výzkum
☐	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
☐	zachování druhů
☐	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Cílem navrhovaných pokusů je získání populace klíštěte <i>Ixodes ricinus</i> , která bude s vysokou pravděpodobností (více než 90 %) nakažena definovaným druhem spirochet z komplexu <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato. Taková klíšťata pak budou použita v experimentech zkoumajících přenos spirochet lymeské boreliózy z klíštěte na hostitele a roli vybraných klíštěcích molekul v tomto procesu.	
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů (jak by mohlo být dosaženo pokroku ve vašem vědním oboru nebo jaký přínos by z něj člověk či zvířata mohli mít)	
Očekáváme především, že výsledky pokusů přinesou cenné informace o vlivu klíštěcích proteázových inhibitorů na koagulaci krve, srážení destiček a imunitní systém hostitele a rozšíří portfolio klíštěcích imunomodulačních molekul, u nichž byl prokázán terapeutický potenciál.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Laboratorní myš (<i>Mus musculus</i>), kmen C3H/HeN – 270 jedinců	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Myši nakažené boreliemi zpravidla nevykazují žádné klinické příznaky. Přítomnost komůrky s klíšťaty na hřbetu myši může způsobit diskomfort, mírnou bolest a svědění. Maximální míra závažnosti pokusu je střední. Po skončení pokusů budou zvířata uvedena do celkové anestezie a usmrcena zlomením vazů.	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Způsob nakažení klíšťat podstatně ovlivňuje přenos patogenů na hostitele v následujícím vývojovém stádiu. Jelikož námi infikovaná klíšťata budou dále používána v přenosových experimentech, je důležité, aby infekce proběhla pokud možno tak, jak se tomu děje v přírodě. Arteficiální nakažení klíšťat vpichem nebo sáním infekční suspenze z kapiláry je značně nespolehlivé, často způsobuje nežádoucí pokles příjmu potravy a nevede k přirozenému rozvoji infekce. Krmení klíšťat <i>in vitro</i> na umělých membránách zásobených zvířecí krví je sice relativně nejbližší fyziologické realitě, není však vhodný pro druh <i>I. ricinus</i> . Tato klíšťata totiž mají při krmení na membráně výrazně menší šanci na plné nasátí a potřebují k tomu signifikantně delší dobu. Není dosud známo, zda lze tímto způsobem nakazit larvy a nymfy <i>I. ricinus</i> spirochetami <i>B. afzelii</i> .	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Pokusy budou přednostně prováděny v období březen-září (hlavní sezóna klíšťat) tak, abychom dosáhli maximální možné úspěšnosti sání a metamorfózy a minimalizoval se tak počet myši potřebných pro přípravu předem stanoveného počtu nakažených klíšťat. Na myši bude nasazeno maximální možné množství klíšťat (100 larev nebo 10-12 nymf <i>I. ricinus</i>), čímž se rovněž sníží počet potřebných zvířat na nutné minimum.	
Šetrné zacházení se zvířaty: Vysvětlete volbu druhu zvířat, a proč se v případě tohoto zvířecího modelu jedná o nejšetrnější použití z hlediska vědeckých cílů.	
Vysvětlete obecná opatření, která budou přijata za účelem snížení újmy způsobené zvířatům na minimum.	
Myši kmen C3H/HeN je modelovým kmenem při studiu spirochet lymeské boreliózy. Výhodou je rovněž jeho klidná povaha, takže je minimalizována možnost stržení komůrky s klíšťaty a znehodnocení experimentu. Všude, kde zvířeti hrozí výrazný diskomfort či bolest, a kde to bude z hlediska pokusu možné, budou použity adekvátní způsoby anestezie. Zvířata budou držena v bariérovém IVC chovu s nastaveným střídáním tmy a světla, které simuluje den a noc, čímž se snižuje míra stresu. Zvířata budou v klecích maximálně po pěti jedincích, v případě vzájemného napadání budou zvířata oddělena do samostatných klecí. Zvířata budou denně kontrolována, pravidelně bude měněna podestýlka, doplňována voda a krmivo.	