

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ 89/2019

Název projektu pokusů

Součinnost toxinů ve virulenci Bordetella pertussis.

Doba trvání projektu pokusů 2019-2023

Klíčová slova - maximálně 5 *Bordetella pertussis, dermonekrotický toxin, dávivý kašel, polyklonální protilátky*

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

- | | |
|-------------------------------------|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> | základní výzkum |
| <input checked="" type="checkbox"/> | 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)

Prvním cílem je ověřit deaktivaci dermonekrotického toxinu v bakterii Bordetella pertussis pomocí standardního dermonekrotického testu na 4 denních myších. Bude sledována tvorba lézí na hřbetní části po aplikaci bakteriálního lyzátu různých mutantních kmenů v genu pro dnt. Dále bude stejným způsobem ověřena aktivita námi připraveným rekombinantním purifikovaným dermonekrotickým toxinem (v E. coli) a jeho mutacemi, které by měly být naopak deaktivované. To vše by mělo vést k přípravě vakcinačního kmene se sníženou reaktogenitou.

Bude také studována role DNT v patogenezi černého kašle. Pomocí histologických metod budou zkoumány účinky rDNT po intranasální aplikaci. Cílem je zjistit, zda např. DNT nenarušuje nosní sliznici, případně, zda nedochází k deformaci nosní dutiny vlivem DNT.

Cílem je také připravit polyklonální protilátky proti rDNT a jeho částem. Nejsou komerčně dostupné a pro náš další výzkum jsou nezbytné.

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)

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

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Laboratorní myši inbredního kmene BALB/C, které jsou vhodné pro studium účinku a aktivity DNT a rDNT. Bude použito přibližně 100 myší (holátka) stáří minimálně 4 dnů během období 2019-2023. Neurotoxické účinky rDNT budou sledovány na 6-ti týdenních BALB/C myši a předpokládá se použití 100 myší. Pro přípravu polyklonálních protilátek bude použito přibližně 50 myší inbredního kmene BALB/C ve stáří 6-ti týdnů.

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Nežádoucí účinky – respirační infekce. Navrhovaná míra závažnosti - Závažná. Eutanázie (cervikální dislokace), kafilerní box a odvoz asanačním ústavem.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Alternativní metody nepostihují složitost zkoumané problematiky, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Psaní žádosti o projekt pokusů předcházelo důkladné studium již publikovaných vědeckých výsledků, aby se předešlo opakováním experimentů a nadměrné spotřebě zvířat. Zvířata budou používána v minimálních počtech, které umožní statistické vyhodnocení meziskupinových rozdílů. Pokud to bude možné, tak budou sdíleny vzorky získané v experimentech.

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.

Všecká manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Bude použita anestezie pro snížení diskomfortu použitých zvířat.