

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Testování patogenity a virulence nově izolovaných bakteriálních a virových kmenů v rámci projektu IVU-Z1-00143 s názvem "Skrýte zoonózy - odhalování nových patogenů z volné přírody", financovaného Agenturou pro zdravotnický výzkum Ministerstva zdravotnictví ČR

Doba trvání projektu pokusů v měsících	44
Klíčová slova	zoonózy
patogenita	virulence
nové patogeny	0

Účely projektu pokusů

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

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Virová a bakteriální onemocnění zoonotického původu představují významnou zdravotní hrozbu pro lidi i zvířata. Sběr dat z vektorů (zejména komárů a klíšťat) a rezervoárových hostitelů (zejména hlodavců a netopýrů) je klíčový pro pochopení míry rizika výskytu nových zoonóz. Cílem interdisciplinárního projektu je iniciovat detekci nových zoonóz zejména v kontextu environmentálních globálních změn. Z pohledu aplikovaného výzkumu získaná data slouží pro management detekce nových zoonóz včetně návrhu strategie účinné kontroly vektorů a formulace preventivních programů, a současně jsou podkladem pro prediktivní mapování a včasnou reakci v případě možných epidemií nových zoonotických onemocnění ve střední Evropě. Právě testování možné patogenity a virulence nových mikroorganismů v podmínkách in-vivo na laboratorních myších umožňuje vyhodnocení míry nebezpečí izolovaného viru/bakterie pro obratlovce potažmo člověka.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Zásadním přínosem pokusů na laboratorním (živém) modelu bude z krátkodobého pohledu zejména vyhodnocení míry rizika nově izolovaných mikroorganismů pro zdraví obratlovců. Jde o spojení základního a aplikovaného výzkumu směřujícího k preventivním a kontrolním opatřením při výskytu nových zoonóz. Zkoumaná problematika je v souladu s Národními prioritami orientovaného výzkumu, experimentálního vývoje a inovací a dlouhodobého hlediska má význam pro management nových zoonotických nákaz.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

V případě izolace nových virových agens bude využito maximálně 200 sajcích myší kmene BALB/c kvality SPF. Očkování suspenze sajcím myším (2-4 dny starým) bude prováděno intrakraniálně (i.c.) v objemu 10 mikrolitrů v režimu jejich mírného podchlazení, tak aby čerstvě narozené myši byly co nejméně vystaveny stresu a bolesti. Sajcí myši budou po infekci denně kontrolovány a budou vyhodnocovány symptomy infekce. V případě rozvoje klinických příznaků (zejména neuroinfekce) bude experiment okamžitě ukončen a myši humánně usmrceny. Takto budou myši sledovány maximálně 28 dnů, poté usmrceny. Pro specifické testy patogenity/virulence nových agens budou dospělé BALB/c myši (celkem 45 myší ročně/180 myší za dobu trvání projektu) infikovány novými izoláty potenciálních patogenů pomocí injekční aplikace (i.p., s.c.). Bude používáno 15 myší na testování virulence jednoho izolátu. V průběhu pokusu bude pravidelně ve 24 hodinových intervalech individuálně i skupinově hodnocen a zaznamenáván zdravotní stav myší po dobu 28 dnů. V případě rozvoje příznaků onemocnění u zvířat v pokusu budou myši utraceny. Vždy tři myši z infikované skupiny budou utraceny v uvedených dnech po infekci: 3, 7, 14, 21, 28. Po usmrcení bude myším odebrán mozek, játra, ledviny, slezina a krev pro následnou detekci a kvantifikaci potenciálního patogenu. Všechny myši

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

Experimentální infekce novými patogeny mohou vést k rozvoji letálního onemocnění. Závažnost se bude odvíjet dle stupně patogenity testovaných virových a bakteriálních kmenů a nelze tedy dopředu odhadnout či dokonce definovat míru závažnosti, která se může pohybovat v kategoriích od mírných po závažné. Sajcí myši se budou očkovat i.c. v režimu mírného podchlazení, tak aby čerstvě narozené myši byly co nejméně vystaveny stresu a bolesti. Pro specifické testy patogenity/virulence nových agens budou dospělé BALB/c myši infikovány novými izoláty potenciálních patogenů pomocí injekční aplikace (i.p., s.c.). Pro izolaci nových virů budou využity SPF sajcí myši. Pro testování patogenity a virulence získaných kmenů budou využity dospělé laboratorní myši kmene BALB/c. Původ zvířat Anlab, s.r.o. CZ 11760342). Předpokládáme využití maximálně 5 rodinek SPF sajcích myší pro izolační experimenty a 45 BALB/c dospělých myší ročně (15 myší na každý testovaný patogen) ročně. Celkem za celou dobu řešení projektu (4 roky) tedy celkem 20 rodinek sajcích myší a 180 BALB/c dospělých laboratorních myší.

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	0	0	200

myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	0	0	180
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				
Všechny myši použité v experimentu budou po jeho ukončení utraceny zlomením vazů. Kadavery myší budou po pokusu autoklávovány, poté se budou ukládat do kafilerního boxu a budou odvezeny specializovanou odpadovou firmou (JaK Lab, s.r.o. Hodonín).				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
V rámci projektu bude prováděno v maximální možné míře testování patogenity a virulence nových izolátů na buněčných kulturách. Finální a pokud možno počtem omezené testování patogenity a virulence nových kmenů na zvířatech nelze nahradit žádnými alternativními metodami.				
Omezení používání zvířat				
V maximální možné míře budou používány buněčné linie. V experimentech na živém modelu (studium patogenity, virulence, případně sérologické či antigenní testy) budou použity nejnižší nezbytné počty pokusných zvířat (200 sajcích myší a 180 dospělých myší kmene BALB/C kvality SPF za celou dobu trvání projektu) s ohledem na nutnost správného statistického vyhodnocení získaných výsledků.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Veškerá manipulace se zvířaty bude prováděna s ohledem na šetrné zacházení. Sajcí myši budou očkovány i.c. v režimu mírného podchlazení. V případě zaznamenaného utrpení zvířete (symptomy závažné infekce), bude pokus na zvířeti okamžitě ukončen a zvíře humánním způsobem usmrceno. Se zvířaty bude zacházeno v souladu se současnou legislativou a budou uplatněny veškeré mechanismy pro jejich welfare.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Laboratorní myši (převážně sající) jsou vhodným modelovým organismem a citlivým indikátorem pro studium potenciálního zoonotického potenciálu nových mikroorganismů pro obratlovce. Laboratorní myši představují z etického a humánního hlediska vhodnější model než jiné organizmy obratlovců včetně non-humánních primátů. Myši BALB/c jsou vhodnými modely pro studium infekčních onemocnění včetně sledování možné patogenity a virulence pro obratlovce.