

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Definovaná minimální mikrobiota v ochraně proti potravinovému patogenu *Salmonella enterica*

Doba trvání projektu pokusů v měsících

36

Klíčová slova

nemoci z potravin

mikrobiota

dysbióza

střevní patogeny

gnotobiotické sele

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Imunitní systém [PB7]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

1. Izolace a charakterizace komenzálních mikroorganismů prasete pro přípravu definované mikrobioty.
2. Účinky vybraných mikroorganismů in vitro a na modelu gnotobiotického sele.
3. Definovaná mikrobiota v ochraně imunokompromitovaného hostitele proti infekci střevními patogenům.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Netyfoidní salmonely jsou významnými infekčními agens průjmů z kontaminovaných potravin. Infekce salmonelami většinou způsobuje samolimitující gastroenterokolitidu (salmonelózu). Avšak u imunokompromitovaných pacientů může způsobit život ohrožující invazivní onemocnění. Mikrobiota trávicího systému člověka a prasete má obdobné charakteristiky, na rozdíl od mikrobioty myši. Gnotobiotické sele umožňuje studovat ochranu hostitele definovanou mikrobiotou, která imituje působení běžné nedefinované mikrobioty složené z mnoha kmenů. Definovaná mikrobiota pomáhá porozumět vztahům mezi mikroorganismy a interakcím s hostitelem. Získané znalosti mohou přispět k vývoji bezpečnějších a účinnějších terapeutických postupů na podporu zdraví a odolnosti proti střevním infekcím člověka a zvířat.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Zvířata budou používána k simulaci imunokompromitovaných pacientů. Bezmikrobní selata budou osídlena definovanou mikrobiotou vybranou a zkombinovanou na základě požadavků zvýšení jejich odolnosti proti střevním patogenům *Salmonella enterica* a *Escherichia coli*.

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

Vzhledem k tomu, že se jedná o střevní infekce, selata, která nebudou chráněna mikrobiotou mohou trpět zvýšenou teplotou, nechutenstvím a průjmem.

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
prasata (<i>Sus scrofa domesticus</i>) [A14]	0	0	100	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				
Prasnice, které budou použity pro hysterektomie za účelem získání bezmikrobních selat budou po zákroku vykřveny a předány do kafilerie. Selata na konci pokusu budou vykřvena pro získání vzorků tkání pro analýzu přínosu aplikované definované mikrobioty na zdravotní stav selat a vybrané imunologické a fyziologické parametry. Po vykřvení a odběru vzorků budou selata předána do kafilerie.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Součástí projektu je extenzivní práce s buněčnými kulturami savčích a bakteriálních buněk a tam kde je to možné jsou nahrazovány pokusy na zvířatech experimenty in vitro.				
Omezení používání zvířat				
Skupiny jsou minimalizovány a jen tak velké, aby umožnily statistické vyhodnocení (např. test normality rozložení hodnot validními aktuálně uznávanými statistickými testy) a z toho plynoucí výběr odpovídajících statistických testů pro zhodnocení rozdílů mezi skupinami. Zároveň jsou prohlédnuty databáze Pubmed a Scopus, aby nedocházelo k duplicitnímu provádění experimentů.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Skupiny jsou minimalizovány a jen tak velké, aby umožnily statistické vyhodnocení (např. test normality rozložení hodnot validními aktuálně uznávanými statistickými testy) a z toho plynoucí výběr odpovídajících statistických testů pro zhodnocení rozdílů mezi skupinami. Zároveň jsou prohlédnuty databáze Pubmed a Scopus, aby nedocházelo k duplicitnímu provádění experimentů.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

V pokusech budou použita gnotobiotická tj. mikrobiologicky definovaná selata chovaná v gnotobiotických izolátorech. Prase má epiteliochoriální placentu. To znamená, že nedochází k přestupu protilátek od matky k plodu k pasivní imunizaci před porodem, ale mateřské protilátky získá selata až po napití se kolostrum. Gnotobiotická selata budou bezkolostrální, kontrolní konvenční selata po napití se kolostrum. Prase je pro svou fyziologickou, anatomickou a genetickou podobnost vhodným modelem pro studium gastrointestinálních a infekčních onemocnění. Podobné složení mikrobiomu člověka a prasete ho dále předurčuje jako model translačního výzkumu pro studium vlivu mikrobioty na zdraví. Selata budou chována do stáří maximálně 28 dní, tedy do období, které je v praxi známé jako období časného odstavu (21.-28. den) a je dáno změnou fyziologie trávení a tedy i potřebami úpravy složení krmných dávek, které by byly v izolátorech obtížně realizovatelné. Pokusy tedy zahrnují období propustné střevní bariéry, období rozvoje interakcí hostitel-mikrobiota, a období odstavu. Tedy období, kdy u selat dochází k významným změnám.