

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Studium profylaktického vlivu žlutkových imunoglobulinů IgY na rozvoj mikrobiální infekce dýchacího traktu

Doba trvání projektu pokusů v měsících	60
Klíčová slova	inhalace
protilátky	profylaxe
bakterie	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Dýchací soustava [PB4]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem je řešení vědecké neznámé s možným aplikačním výstupem.

Cílem pokusů bude poznání, zda nadechování nebulizovaných roztoků žlutkových imunoglobulinů IgY, připravených proti virulenčním faktorům bakterií, omezí mikrobiální infekce (např. *Pseudomonas aeruginosa*) dýchacího traktu. Předpokládá se profylaktická aplikace těchto IgY u lidí, zejména pacientů s cystickou fibrosou. Podmínky in vivo umožní komplexně vyhodnotit vliv podání IgY na rozvoj bakteriální infekce zejména z hlediska počtu volných a adherovaných bakterií, jejich internalizace, tkáňových reakcí (produkce cytokinů), morfologických změn v plicním epitelu, vlivu na plicní makrofágy a produkce vlastních protilátek.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Přínosem pokusů bude poznání, zda nadechování nebulizovaných roztoků žlutkových imunoglobulinů IgY připravených proti virulenčním faktorům bakterií omezí odpovídající mikrobiální infekce (např. *Pseudomonas aeruginosa*) dýchacího traktu. Předpokládá se profylaktická aplikace těchto IgY u lidí, zejména pacientů s cystickou fibrosou.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Experimentální zvířata budou uvedena do lehké narkózy injekční aplikací kokteilu anestetik pod kůži v oblasti třísla zadní nohy (ketamin + xylazin; 100 mg/kg u ketaminu; 10 mg/kg u xylazinu), v celkové době trvání cca půl hodiny. Během této doby bude provedena intratracheální instilace optimalizované dávky bakteriální suspence zavedením úzké kanyly o průměru 1,1 mm do trachey zvířete. Kompletní výkon intratracheální instilace bude proveden v řádu cca 5ti minut. Pro lepší znečistlivění sliznice horních dýchacích cest bude použit Mesocain gel (aplikace na špičce kanyly). Vdechování nebulizovaných protilátek IgY bude prováděno neinvazivně, ve formě aerosolu (nebulizátor Pari) po dobu cca 10 minut v prostoru inhalační komůrky.

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

Po navození bakteriální infekce plic lze u zvířat očekávat odpovídající účinky. Navrhovaná míra závažnosti je střední. Doba trvání těchto nežádoucích účinků bude co nejvíce minimalizována, zvířata budou denně klinicky pozorována a pokud bude rozpoznán výskyt negativních účinků, bude postižený jedinec neprodleně v anestézii usmrčen předávkováním anestetikem v kombinaci se stržením vazu a veškeré experimentální materiály zajištěny pro následné analýzy.

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 (<i>Mus musculus</i>) [A1]	0	0	600	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				
Pokusy budou humánně ukončeny šetrně provedeným usmrcením zvířat osobou odborně způsobilou. Zvířata budou usmrcena stržením vazů v narkóze a po vyjmutí orgánů budou kadávery odvezeny k likvidaci odbornou firmou. Tento postup je nezbytný pro zajištění odběru všech biologických vzorků a materiálů.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Vzhledem k tomu, že bude v plicích sledována interakce proteinů (žloutkových imunoglobulinů IgY) s oportunními bakteriálními kmeny v závislosti na režimu a způsobu expozice, je třeba využít podmínek in vivo, tj. aplikaci laboratorním zvířatům. Protože je nutné komplexně vyhodnotit důsledky expozice zejména z hlediska počtu volných a adherovaných bakterií, jejich internalizace, tkáňových reakcí (produkce cytokinů), morfologických změn v plicním epitelu, vlivu na plicní makrofágy a produkce vlastních protilátek, nemá tento pokus jinou alternativu.				
Omezení používání zvířat				
Nezbytně nutný počet zvířat je 600 myší za 5 let. Protože bude třeba studie provádět paralelně se 4-5 experimentálními skupinami zvířat je s ohledem na statistickou průkaznost výsledků navrhovaný počet minimální.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
V případě myšího modelu se jedná o nejšetrnější použití experimentálních zvířat, protože spotřeba finančně náročných materiálů pro dosažení vytčených vědeckých cílů bude tak optimalizována. Při manipulaci a premedikaci budou aplikována taková opatření, která sníží újmy způsobené zvířatům na minimum. Při vystavení proteinovému aerosolu IgY budou zvířata bez omezení volného pohybu a pro intubace a inokulace bude použita narkóza pomocí ketaminu v kombinaci s xylazinem. Během celého pokusu budou mít zvířata volný přístup k pitné vodě a krmivu.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Během pětiletého období trvání projektu pokusů bude použito celkem maximálně 600 dospělých myší (ve váhovém rozmezí 34 -37 g) kmene ICR CD-1, BALB/c Albino nebo kmene B6 Albino. Tento druh i díky barvě srsti umožní snadnou neinvazivní analýzu pomocí zobrazovacího systému IVIS Lumia XR bio (kooperující pracoviště IKEM).