

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Využití zobrazovacích metod k včasné diagnostice infekčních onemocnění u laboratorních myší a potkanů

Doba trvání projektu pokusů v měsících	60
Klíčová slova	zobrazování
diagnostika	infekce
siderofory	in vivo

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Dýchací soustava [PB4]

Základní výzkum: Svalová a kosterní soustava [PB6]

Translační a aplikovaný výzkum: Diagnostika onemocnění [PT35]

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

Cíle projektu pokusů

Cílem tohoto projektu je příprava a studium nových radioaktivně značených biomarkerů ze skupiny sideroforů využitelných pro neinvazivní diagnostiku infekčních onemocnění. Siderofory jsou nízkomolekulární produkty metabolismu prakticky všech mikroorganismů, které slouží k transportu železa do mikrobiálních buněk. Železo je nejenom životně důležitým prvkem pro většinu mikroorganismů, ale jedná se také o jeden z významných faktorů virulence patogenních organismů. Některé radionuklidy, chemickými vlastnostmi podobné železu, jsou schopné tvořit komplexy se siderofory. Radioaktivně označené siderofory se po aplikaci do mikrobiálních kultur kumulují v mikrobiálních buňkách a lze je detekovat pomocí metod nukleární medicíny.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Identifikace pacientů s potenciálním rizikem výskytu infekčního onemocnění a zejména včasná a přesná diagnostika zůstávají zásadními faktory pro úspěšnou léčbu nemocných. Zobrazovací metody hrají již desítky let významnou roli v diagnostice řady patologických procesů. Jednou ze standardních diagnostických technik využívaných pro detekci infekčních onemocnění, je počítačová tomografie (CT). Samotná CT ovšem nedokáže rozlišit infekci způsobenou různými patogeny, tudíž disponuje limitovanou specificitou a prediktivní hodnotou. Kombinace CT nebo magnetické rezonance (MR) s pozitronovou emisní tomografií (PET) představuje vysoce senzitivní diagnostickou techniku, která by při použití dostatečně specifického radiodiagnostika mohla poskytnout vhodnou metodiku pro včasnou a přesnou detekci infekčního onemocnění.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Testované položky a infekční agens budou pokusným zvířatům podávány standardními aplikačními cestami (i.m., p.o., i.n., i.v., r.o., intratracheálně) v náležitých objemech pro velikost a druh pokusného zvířete. V průběhu experimentu bude prováděno neinvazivní zobrazování pokusných zvířat pomocí zobrazovacích metod za použití celkové anestezie.

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

U plánovaných studií se nepředpokládá, že by vyvolávaly u pokusných zvířat výrazné dlouhodobé utrpení. V případě silně rozvinuté infekce mohou být u pokusných zvířat pozorovány problémy s dechem, nechutenství, úbytek hmotnosti, zvýšená tělesná teplota, apatie, zhoršení pohybu, apod. Dojde-li k pozorování těchto projevů, budou pokusná zvířata okamžitě humaně utracena.

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	500	0

potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	0	0	500	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	
myš laboratorní (Mus musculus) [A1]	0	0	0	
potkan laboratorní (Rattus norvegicus) [A2]	0	0	0	
0	0	0	0	
0	0	0	0	
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty				
Testovací systém bude používán ve studiích, které vyžadují aplikaci infekčních agens. Aplikace infekčních agens, jednak představuje riziko pro případné opětovné použití a/nebo umístění zvířat zpátky do chovného zařízení, ale také může při progresi infekce výrazným způsobem zhoršit zdravotní stav laboratorních zvířat a způsobit bolest a utrpení. Proto budou laboratorní zvířata po provedení postupu usmrcena. Usmrcení zvířat na konci pokusu bude provedeno v celkové inhalační (isofluran + O₂) nebo injekční (směs ketamin + xylazin) anestezii, to znamená při ztrátě vědomí (podle §18g (4a) 246/1992 Sb.) a následně se vykoná vykrvení (podle §18g (5d) 246/1992 Sb.) z plexus axillaris nebo v. cava caudalis a/nebo dislokace krční páteře.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Nahrazení zvířat v rámci tohoto projektu není možné z důvodu sledování průběhu fungálních a bakteriálních infekcí in vivo a následné analýze biologického materiálu (infekční tkáň, krev, moč) určeného ke studiu (identifikace a kvantifikace) nízkomolekulárních biomarkerů studovaných infekcí. Alternativní metody pro ověření účinnosti studovaných látek, které mají stejnou spolehlivost a vypovídací hodnotu jako in vivo experimenty, nám nejsou známy a nenašli jsme je ani v možných zdrojích (OECD, EURL ECVAM, European Pharmacopoeia) uvedených v pokynech pro vyplňování žádosti o schválení projektu pokusů.				
Omezení používání zvířat				
Jednotlivé pokusy budou probíhat striktně v souladu s dodržováním pravidla 3R a experimentální zvířata budou vydávána jen proti platnému projektu pokusu. Zvířata budou v kvalitě SPF. Všechny testované látky budou před in vivo použitím testované na in vitro buněčných systémech. Pro aplikaci zvířatům budou vybrány pouze ty, s prokázaným in vitro efektem. Pro omezení množství používaných zvířat se budeme při navrhování pokusu opírat o předchozí in vivo experimenty s podobnými látkami, resp. zářením a o informace získané v odborné literatuře: 1. ICH M3(R2) – Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorizations for Pharmaceuticals Budeme používat minimální množství zvířat na skupinu, které je nezbytné pro následnou statistickou analýzu (t.j. obvykle 3-8 zvířat na skupinu).				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Laboratorní zvířata budou denně monitorována kompetentními odborníky (vedoucí projektu, pověřená osoba, veterinární lékař nebo technik) a nebudou cíleně vystavena utrpení. V případě znaků morbidit se zintenzivní četnost kontrol zdravotního stavu zvířat a v případě moribundních znaků budou zvířata z pokusu vyřazena a humánně utracena. Všechny úkony, léčba a eutanázie (dle OECD) jsou vykonávány licencovaným veterinárním lékařem a osobami odborně způsobilými pro práci s laboratorními zvířaty majícími příslušné osvědčení, dle zákona č. 246/1992 Sb. v platném znění. Experimenty budou probíhat v souladu s dodržováním pravidla 3R. S laboratorními zvířaty se nakládá dle pravidel uvedených v zákonu č. 246/1992 Sb. v platném znění a vyhlášce č. 419/2012, kde je jasné vymezen způsob nakládání s laboratorními zvířaty.				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

Myš, potkan a člověk sdílí významnou homologii biologických mechanismů, proto studium myších a potkaních modelů patří mezi základní přístupy v preklinickém výzkumu využívané ke studiu patofyziologie závažných lidských onemocnění. Experimenty budou prováděny na laboratorních myších a potkanech. Stáří zvířat může být modifikováno, podle potřeby experimentu.