

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ**Název projektu pokusů**

Ověření imunogenních vlastností některých rekombinantních antigenů při sublinguální a bukalní imunizaci selat s využitím mukoadhezivních vakcinačních systémů.

Projekt bude řešen na komerční bázi v rámci spolupráce s výzkumnými aktivitami společnosti C2P s.r.o. (NEXARS).

Doba trvání projektu pokusů

od doby nabytí právní moci rozhodnutí o povolení projektu pokusů – 31.12.2023

Klíčová slova - maximálně 5

sublinguální vakcinace, nanomateriál, rekombinantní antigen

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

☐ základní výzkum

☒ 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)

Cílem pokusu je stanovit faktory, které určují schopnost proteinových antigenů penetrovat přes podjazykovou a bukalní sliznici a indukovat systémovou a slizniční imunitu u prasat. Míra penetrace antigenu do submukózní tkáně závisí na jeho fyzikálně chemických vlastnostech a na délce expozice. Z dosavadního výzkumu je zřejmé, že optimální formulace a správná aplikační forma vakcíny je klíčovým faktorem pro dosažení požadované imunogenní účinnosti vakcíny, tzn. vytvoření dostatečného množství protilátek v organizmu při humorální odpovědi či vytvoření specifických paměťových buněk schopných atakovat rozpoznávaný cizorodý antigen při buněčné imunitní odpovědi.

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)

Vývoj a ověření nového neinvazivního vakcinačního postupu.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Prase domácí, selata, 100 jedinců (24 jedinců s rozlišením pohlaví - 12 prasniček, 12 kanečků; 76 jedinců bez rozlišení pohlaví), 2 měsíce stáří, přibližná hmotnost 30 kg živé váhy.

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

Zvířatům zařazeným do 1. fáze pokusu bude aplikován mukoadhezivní film s naneseným antigenem. Aplikace experimentální vakcíny je neinvazivním zákrokem, před aplikací mukoadhezivního filmu budou selata uvedena do celkové anestezie. Po ukončení pokusu budou zvířata bez nabytí vědomí utracena injekčním preparátem určeným výrobcem pro tento druh zvířat. Utracení je nutné kvůli odběru tkání pro histologické vyšetření.

Zvířata zařazená do 2. fáze pokusu budou vakcinována vybraným vakcinačním konstruktem, poté bude sledovaná jejich specifická imunitní odpověď na daný antigen (do 6. měsíce věku zvířat) a po ukončení pokusu budou zařazena do chovu pro komerční využití.

Míra závažnosti- 1. fáze – zvíře nenabude vědomí, vzhledem k nutnosti získání histologických vzorků sliznic a mízních uzlin je třeba zvíře před odběrem vzorků utratit

- 2.fáze – mímá, bude odebrán vzorek krve (5ml z vena jugularis), slzy, sliny, nosní sekret, výkaly, vaginální sekret a preputiální sekret. Před aplikací mukoadhezivního filmu budou selata uvedena do celkové anestezie, která bude aplikována intramuskulárně. Bude prováděna vakcinace intramuskulárně.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Pokus je pro splnění cílů navrhovaného projektu nezbytný, reálný prostup antigenů o různé velikosti sliznicí a rozvoj imunitní odpovědi na úrovni slizničního imunitního systému není možné simulovat alternativními metodami. Veškerá manipulace s pokusnými zvířaty bude v souladu s § 15-18 zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.

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

Počet zvířat zařazených do pokusu byl minimalizován na základě výsledků předchozích experimentů. Důkladné předchozí testování imunogenních vlastností jednotlivých typů rekombinantních proteinů na in vitro modelech omezilo množství jedinců, potřebných k řádnému vyhodnocení pokusu na minimum, vzhledem k charakteru antigenu (selata jsou imunologicky naivní pro tyto typy antigenů) je počet selat zařazených do pokusu dostatečný pro potvrzení imunogenních vlastností námi ověřovaných antigenů.

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.

Při plánování pokusu byla zohledněna hlediska humánního zacházení s pokusnými zvířaty, invazivní zákroky byly omezeny na minimální možný počet, veškerá manipulace s experimentálními zvířaty bude provedena v souladu s platnými směrnici a postupy práce. Selatům uvedeným do anestezie bude v průběhu anestezie věnována zvýšená péče

pověřeného veterinárního lékaře.

Rekombinantní antigeny (C2P)

Zvířata budou chována v souladu s platnou legislativou a bude o ně postaráno podle technologického postupu platného pro uzavřený systém chovu zvířat. Vzhledem k neinfekční povaze experimentu budou zvířata umístěna skupinově v kotcích pro selata a budou mít k dispozici hračky vyrobené z odolného plastu a určené pro prasata (antistresové míče, závěsná okusovadla různých tvarů fixovaná na hrzení kotců).