

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ dle EK (od 2021)

Název projektu pokusů

Vnímavost definovaných genetických linií myši domácí k experimentální infekci P. yoelii

Doba trvání projektu pokusů v měsících	24
Klíčová slova	Myš
malárie	Plasmodium
infekce	0

Účely projektu pokusů

Základní výzkum: Další základní výzkum [PB13]

0

0

0

Cíle projektu pokusů

Cílem studie je posoudit vnímavost definovaných genetických linií myši domácí k experimentální infekci původcem malárie P.yoelii.

Potenciální přínosy projektu pokusů

Malárie patří k nejrozšířenějším lidským infekčním onemocněním končícím smrtí pacienta. Projekt je součástí ambiciózní studie která si klade za cíl odhalit detaily interakce původců malárie a hostitelů v kontextu genetické variability hostitele ve sledovaných genech. Experiment sledující souvislosti genetického pozadí hostitele a intenzity infekce Plasmodii nelze provést jinak než na zvířecím modelu. Zvolený experimentální model myš domácí – myší plasmodium P. yoelii byl doposud užít k získání většiny hodnotných poznatků o interakci plasmodií a jejich hostitelů na buněčné i molekulární úrovni. Ambicí projektu je odhalit genetické pozadí rozdílů ve vnímavosti k infekci, výsledky budou využitelné v kontextu chápání genetických aspektů malárie člověka.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány

Převezená zvířata budou aklimatizována po dobu nejméně 14 dnů. Myši budou rozděleny do 3 experimentálních skupin A,B,C, použity budou samice starších než 3 měsíce, aby se zajistilo co největší množství krve z každého jedince a minimalizoval se tak jejich počet. První skupina myší (A) bude použita k pasáži P.yoelii pro následnou infekci experimentálních myší. Infekce bude provedena i.p injekcí suspenze krvinek P.yoelii. Úroveň parazitémie budou denně sledovány odebráním kapky krve z myšího ocasu. Přibližně 12. den po infekci bude myším odebrán maximální objem krve (300-700 ul) srdeční punkcí v terminální anestézii. Následně budou myši usmrceny cervikální dislokací. Druhá a třetí skupina myší (B a C) bude infikována definovaným množstvím krvinek s infekcí P.yoelii (iRBC) získané od skupiny myší A, a to injekční aplikací do ocasní žíly. Úroveň parazitémie budou monitorovány alespoň každý druhý den odebráním kapky krve z myšího ocasu. U myší skupiny B budou sledovány hladiny parazitémie až do vymizení parazitémie (očekává se přibližně 1 měsíc) nebo do 60 dnů, podle toho, co nastane dříve. Na konci experimentu budou myši skupiny B usmrceny cervikální dislokací. U myší skupiny C budou monitorovány hladiny parazitémie až do dne maximální parazitémie (předpokládá se přibližně 2 týdny), poté bude myším odebrán maximální objem krve srdeční punkcí v

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

Jedná se o infekci intracelulárním parazitem, který u myší může vyvolat mírné formy anémie. Zdravotní stav bude sledován a jakákoli nepravděpodobná indikace utrpení bude mít za následek bezbolestné usmrcování myší. Způsoby aplikací a odběrů jsou voleny tak, aby minimalizovaly zátěž. 24 měsíců

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	200	0	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				
Pokus bude zakončen usmrcením zvířat předávkováním anestetika (sedace 0,2ml xylazin/kg i.m. a následně bude aplikován přípravek k eutanasií T61 intrakardiálně). Po odebrání tkání, budou jejich kadávery neškodně odstraněny prostřednictvím asanačního podniku.				
Uplatňování 3R				
Nahrazení používání zvířat				
Předběžné analýzy již byly provedeny na dostupných neživočišných modelech, včetně vzorků krve z přirozené lidské infekce, vzorků krve z kontrolovaných lidských infekcí a studií očkování, modelů infekce ex vivo v buňkách dárců lidské krve a in vitro myších a lidských buněčných linií. Tato data jsou využita v maximální míře pro vymezení sledovaných hypotéz. Experiment prokazující přímý dopad genetického pozadí hostitele a intenzity infekce Plasmodii však nelze provést jinak než na zvířecím modelu.				
Omezení používání zvířat				
Bude využit minimální počet zvířat nutný pro získání potřebného množství materiálu a provedení plánovaných experimentů po dobu 2 let. V průběhu experimentů bude provedena analýza dat a statistické zpracování, aby bylo zajištěno, že experiment nepřekročí požadovaný počet zvířat. Finální odběr krve srdeční punkcí zajistí maximální množství materiálu odebraného každému zvířeti, čímž se sníží počet použitých zvířat.				
Šetrné zacházení se zvířaty				
Se zvířaty budou zacházet pouze osoby odborně způsobilé, zacházení se zvířaty bude v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů, a s vyhláškou č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat. Zvířata budou před začátkem experimentu aklimatizována na prostředí, složení skupin nebude v rámci experimentu měněno. V rámci enrichmentu budou myším poskytnuty úkryty a prolézačky z kartonových trubic o průměru 3-5 cm, poskytnut bude materiál na tvorbu hnízd (nezávadná dřevitá vata). Každý den jsou hlodavci sledováni s ohledem na posouzení aktivity (např. pohyb, příjem potravy a vody, stavba hnízda, vzájemní interakce v kleci) a vzhledu (např. viditelné vředy nebo rány, drsná srst, držení těla a dýchání, jasné a otevřené oči). Fyzicky jsou také alespoň dvakrát týdně (při výměně podestýlky) sledovány reakce na sílu úchopu, známky dehydratace, stav těla (včetně hmotnosti) a jakékoli abnormality na břiše nebo na genitáliích				
Použité druhy zvířat - vysvětlení				

V experimentu budou použity přesně definované genetické linie laboratorních myší. Všechny použité myši (linie C57BL / 6N Adar1 + / +; Mavs + / +, Adar1 - / +; Mavs + / +, Adar1 + / +; Mavs - / -, Adar1 - / +; Mavs - / -) se rodí v Mendelově poměru, a normálně se rozvíjejí a chovají. Tyto myši nevykazují žádnou zjevnou abnormalitu až do věku 12 měsíců. Studii nelze provést na jiném druhu zvířete vzhledem k hostitelské specifitě *P.yoelii*. Zvolený experimentální model myš domácí – myší plasmodium *P. yoelii* byl doposud užit k získání většiny hodnotných poznatků o interakci plasmodií a jejich hostitelů na buněčné i molekulární úrovni