

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569					
Název projektu pokusů					
Testování imunitní odpovědi a snášenlivosti inaktivované vakcíny proti SARS-CoV-2 (COVID-19), experiment 1					
Doba trvání projektu pokusů - v měsících			15 měsíců: 06/2020-9/2021		
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾			Vakcína, COVID-19, SARS-CoV-2, imunogenita, bezpečnost		
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností					
☐	základní výzkum				
☐	translační a aplikovaný výzkum				
☐	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)				
☒	legislativní účely				
☐	a běžná výroba				
☐	jiné zkoušení účinnosti a tolerance				
☐	zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie				
☐	běžná výroba				
☐	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat				
☐	zachování druhů				
☐	vyšší vzdělávání				
☐	odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí				
☐	trestní řízení a jiné soudní řízení				
☐	udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech				
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb					
Primárním cílem tohoto pokusu je ověřit imunogenitu a bezpečnost prototypu vakcíny proti SARS-CoV-2 vyvíjenou v ČR. Sekundárním cílem je ověření imunitní odpovědi v závislosti na síle dávky (3 různé koncentrace) a způsobu podání (intramuskulární a intradermální) a ověření perzistence indukovaných protilátek (tj. 70-98-120 dní po imunizaci). Terciárním cílem bude sledování specifické buněčné imunity, včetně cytokinů, jejichž exprese může být ovlivněna mimo jiné také způsobem podání. Pro analýzu typu buněčné odpovědi bude prováděna průtoková cytometrie buněčné suspenze izolované ze sleziny, zaměřená zejména na analýzu jednotlivých subtypů T lymfocytů. Předpokládáme otestování dvou vakcín s odlišným vakcinačním kmenem, a proto budou hodnoceny primární, sekundární i terciární cíle s oběma vakcínami.					
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)					
Hlavním přínosem tohoto pokusu je ověření stimulace imunitní odpovědi prototypem vakcíny proti SARS-CoV-2 na myších, včetně ověření přijatelné snášenlivosti.					
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání					
Všem testovaným a kontrolním zvířatům (vyjma slepé skupiny zvířat) budou aplikovány 2 dávky jednoho ze dvou prototypů vakcín nebo fyziologického roztoku (kontrolní skupina) v odstupu 21 dnů intradermálně nebo intramuskulárně. Před samotnou aplikací bude zvíře uvedeno do krátkodobé inhalační anestézie s použitím isofluranu.					
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků					
V plánovaném pokusu se nepředpokládají žádné nepříznivé účinky na zvíře.					
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu					
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu	Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
		Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (Mus musculus)	750		750		
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0

Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu	0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu	0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - uveďte	
Pokusná zvířata budou po ukončení pokusu usmrcena předepsaným způsobem. Důvodem je stanovení imunitní odpovědi z odebrané krve.	
Uplatňování 3R	
Nahrazení používání zvířat - <i>uveďte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>	
Imunitní reakce na testovanou vakcínu je možné sledovat pouze in vivo a navrhované experimenty tedy není možné nahradit alternativními metodami.	
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>	
V reakci na imunizaci neočekáváme výrazný pohlavní dimorfismus, mohou se však objevovat malé rozdíly v reakci samců a samic. Proto byly experimentální skupiny redukovány na 5 (samice) + 5 (samci) a případné rozdíly mezi pohlavími budou vyhodnoceny metaanalýzou ve skupině všech zvířat v experimentu.	
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uveďte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>	
V pokuse budou využity operační standardy dle akreditace pracoviště v souladu se zákonem č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů tak, aby byla zajištěna maximální pohoda a dobrý zdravotní stav pokusných zvířat. Imunizace bude prováděna dávkou ne vyšší než 50 mikrolitrů, která je šetrná. Při imunizaci bude experimentální zvíře uvedeno do krátkodobé inhalační anestézie.	
Použití druhů zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>	
Pro experiment budou použity BALB/c inbrední myši, u kterých bylo prokázáno, že reagují na infekci SARS-CoV-2 tvorbou protilátek. Také referenční data o SARS a MERS byla publikována na tomto kmenu myší. Myši budou ve věku 7 týdnů ± 1 týden, což je kompromisem mezi simulací na dospělém organismu a možnostmi dodavatele.	

- 1) Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu
- 2) Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „**nespecifikovaného savce**“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech