

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569

Název projektu pokusů

Pilotní zkouška lokální tolerance nové lékové formy vakcíny (lyofilizovaná tableta) proti *Bordetella pertussis* na králících.

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

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 jiné zkoušení účinnosti a tolerance
- ☐ a běžná výroba 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

Cílem studie je zjistit lokální toleranci bustrovací vakcíny proti *Bordetella pertussis* připravené ve formě lyofilizované tablety po subkutánním podání králíkům. Jedná se o preklinické testování humánního přípravku. Preklinické testy jsou vyžadovány legislativními požadavky na uvádění nových léčiv na trh. Testování dráždivosti je jedním ze základních testů, vyžadovaných v registračním procesu přípravků pro humánní použití.

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)

Testovaná látka je inovovaná léková forma vakcíny (lyofilizovaná tableta), určená převážně jako bustrovací dávka pro vyvolání vyšší imunoprotektivity vůči patogenu (*Bordetella pertussis*). Studie je součástí projektu zaměřeného na výzkum a vývoj nové lékové formy a její výsledky budou použity jak v dalším výzkumu, tak i jako základní informace, která bude součástí registrační dokumentace. Testování bude provedeno dle normy ČSN EN ISO 10993-10 modifikovaným postupem.

Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání

24 hod (minimálně však 4 h) před pokusem bude vystříhána srst na zádech po obou stranách páteře u 3 zvířat. Vystříhaná plocha bude rozdělena na 2 části. Na pěti místech jedné testovací poloviny každého králíka budou intradermálně aplikovány vpichy v množství 0,2 ml testovaného materiálu. Na pěti místech druhé testovací poloviny budou aplikovány vpichy v množství 0,2 ml fyziologického roztoku.

Zvířata budou po celou dobu pokusu denně klinicky pozorována. Aplikační místo bude hodnoceno před vlastní aplikací a následně 1 ($\pm 0,1$), 24 (± 2), 48 (± 2), 72 (± 2) a 96 (± 2) hod. po aplikaci. Každá reakce kůže (např. erytém a edém) se ze všech místech aplikace ve stanoveném časovém intervalu (ihned, 24 h, 48 h, 72 h po aplikaci) popíše a hodnotí dle klasifikačního systému uvedeného v tabulce č. 3 na str. 20; ČSN 10993-10.

Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků

Jednotlivé fáze pokusu - 7 dní aklimatizace, 4 dny experiment.

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
Králík domácí (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	6 +1rezerva			6 +1rezerva	

Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					7
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					x
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					7
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uved'te</i>					
Zvířata z testu, ve kterém byl zkoušený vzorek vyhodnocen jako negativní, budou po dostatečné wash- out periodě a po dosažení optimálního stavu kůže (normální osrstění) tzn. minimálně za 3 měsíce, opětovně použita do dalšího experimentu obdobného charakteru. V případě nevyužití zvířat v dalším pokusu obdobného charakteru budou po určité době podle svého stáří a zdravotní kondice vyřazena z testování. Zvířata vyřazena z testování budou humánně utracena předávkováním anestetikem osobou odborně způsobilou k těmto úkonům nebo dána do zájmového chovu. Zvířata z testu, ve kterém byl zkoušený vzorek vyhodnocen jako dráždivý, budou humánně usmrcena předávkováním anestetikem.					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uved'te, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Alternativní metoda pro tento typ pokusu není. K dosažení výsledků studie je nezbytné použití laboratorních zvířat. Alternativní metoda, která by nahradila použití pokusných zvířat, neexistuje. Design studie bude prováděn obdobně jako je uváděn předpisem EMA (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) a EN ISO 10993-10 (Biologické hodnocení zdravotnických prostředků - část 10: Zkoušky dráždivosti a senzibilizace kůže). Použité zdroje: EMA: CPMP/SWP/2145/00 EN ISO 10993-10 Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvant and adjuvanted vaccine. WHO 2013 Pravidelně bude sledován vývoj alternativních metod v oblasti testování dráždivosti.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlte, 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>					
Počet pokusných zvířat v testu byl zvolen dle normy ČSN EN ISO 10993-10. V testu budou použita nejméně 3 zvířata. Jestliže reakce při zkoušce není jednoznačná, je třeba zvážit provedení další zkoušky na 3 zvířatech. Po dobu trvání Projektu pokusů (1 rok) maximální počet použitých zvířat bude 7 ks (6+1 rezerva). Studie bude prováděna na dostatečném počtu zvířat, tak aby získané výsledky poskytl statisticky validní informace.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uved'te 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>					
Šetrné a humánní zacházení se zvířaty je nezbytné pro zdárný průběh pokusu.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Králík je vhodné zvíře pro preklinické zkoušení testovaných látek, zejména pro studie lokální tolerance. Alternativní metoda pro tento typ pokusu není. Pro tento typ testování je běžně používán albinotický králík, dospělý. Tento druh je také používán v obdobném testu, který posuzuje schopnost zkoušeného materiálu vyvolat podráždění po intradermální injekci extraktů materiálu ze zdravotnických prostředků (Norma ISO 10993-10: část 6.4.)					

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