

NETECHNICKÉ SHRUTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Izolace parazitického prvoka <i>Toxoplasma gondii</i> ze tkání a tělních tekutin infikovaných osob a jeho kultivace na laboratorních myších	
Doba trvání projektu pokusů	Do 1.4.2025
Klíčová slova - maximálně 5	<i>Toxoplasma gondii</i> , izolace, kultivace, diagnostika
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)	
Hlavním cílem pokusu je diagnostika toxoplasmózy u rizikových skupin pacientů (především těhotných žen, novorozenců a imunosuprimovaných osob) za účelem prevence závažných následků (nejčastěji poškození plodu při kongenitální toxoplasmóze). Pokusy slouží k detekci toxoplasem v plodové vodě, mozkomíšním moku, oční tekutině, a v dalším biotickém či sekčním materiálu a k získání isolátů <i>Toxoplasma gondii</i>. Izoláty a kmeny <i>Toxoplasma gondii</i> jsou na laboratorních zvířatech kultivovány a udržovány za účelem jejich dalšího srovnání, charakterizace či dalšího možného budoucího využití k dalším pokusům či přípravě antigenů, pozitivních kontrolních vzorků a izolaci DNA pro další analýzy a k použití při vývoji či zkoušení diagnostických metod.	
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)	
Včasná detekce parazitického prvoka <i>Toxoplasma gondii</i> u těhotných žen, snížení rizika poškození plodu při kongenitální toxoplasmóze, možnost snížení rizika závažných následků toxoplasmózy u dalších rizikových skupin pacientů. Poznání lokalizace stadií <i>Toxoplasma gondii</i> v těle mezipřijímatel. Charakterizace izolovaných a kultivovaných kmenů a jejich využití při standardizaci a zdokonalování sérologických i molekulárně-genetických diagnostických metod.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Použity druh- Myš laboratorní Dle předběžného odhadu na základě dosavadních zkušeností bude potřeba cca.-30-60 zvířat ročně, tedy maximálně 300 myší za dobu platnosti projektu pokusu. Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu? Nežádoucí účinky u zvířat závisí na virulenci kmene <i>Toxoplasma gondii</i> a na infekční dávce. Zatímco infekce avirulentními kmeny probíhá u myší zpravidla bez zjevných příznaků (závažnost mírná) nebo jen s nevýrazným přechodným zhoršením zdravotního stavu (závažnost střední), je infekce virulentním kmenem (genotyp I) závažná a do cca. 7 dní po infekci může skončit smrtí. Většina izolovaných i používaných kmenů <i>Toxoplasma gondii</i> patří mezi avirulentní. V případě těžkých příznaků infekce budou zvířata usmrcena, aby se zamezilo utrpení zvířat. Po provedení pokusu budou zvířata utracena předávkováním anestetik	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat. Kultivace (hlavně virulentních kmenů) bude provedeno převážně na tkáňových kulturách, avšak v některých případech je nutné použít zvířata. Z důvodu toho, že toxoplasmy kultivované na tkáňových kulturách jsou odlišné od parazitů kultivovaných na laboratorních zvířatech. Rostou pouze ve stadiu tachyzoitů, navíc v nižší koncentraci a s výrazně vyšším podílem buněčných elementů, které prakticky nelze odstranit. Tkáňové cysty s bradyzoity se na tkáňové kultuře netvoří a kultivace cystických kmenů <i>Toxoplasma gondii</i> je mimo laboratorní zvířata značně problematická. Isolační pokus na tkáňových kulturách nemá dostatečnou záchytnost a tudíž se v praxi nepoužívá. Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat. Budou použity minimální počty zvířat, které postačí pro udržení izolátu <i>Toxoplasma gondii</i>. 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. Zákroky jsou provedeny v narkóze. Budou použity co nejnížší možné infekční dávky <i>Toxoplasma gondii</i>. Stav zvířat bude denně sledován. V případě těžkých příznaků infekce budou zvířata usmrcena, aby se zamezilo utrpení zvířat.	