

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569**Název projektu pokusů**

Infekce laboratorních myší krevní motolicí *Schistosoma mansoni* za účelem udržování životního cyklu parazita a studia hostitelsko-parazitárních interakcí

Doba trvání projektu pokusů - v měsících

52

Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾

Schistosoma mansoni; myš; experimentální infekce; hostitelsko-parazitární interakce; životní cyklus

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

Infekce laboratorních myší krevní motolicí *Schistosoma mansoni* za účelem udržování životního cyklu parazita a studiem hostitelsko-parazitárních interakcí.

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)

V rámci výzkumu budou získány dosud neznámé údaje o řadě sekretovaných proteinů parazita, krevní motolice *Schistosoma mansoni*, a jejich rolích v interakci se savčím hostitelem. Taktéž bude zajišťováno rutinní udržování životního cyklu parazita v laboratorních podmínkách.

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

Na zvířatech využitých v tomto pokusu nebudou prováděny žádné invazivní zákroky kromě injekce parazita, a to pouze jednou u každého jedince. Žádné chirurgické zákroky nejsou na pokusných zvířatech plánovány. Charakter pokusu lze proto klasifikovat jako mírný a to podle § 18c odstavce 2 písmeno b.

Na konci pokusu budou infikovaná experimentální zvířata eutanizována (injekční podání přípravků ketaminu (Ketanest/Narkamon 5% - 1.2 ml/kg) v kombinaci s xylazinem (Rompun/Rometar 2% - 0.6 ml/kg), nebo inhalací CO₂. Cervikální dislokace není možná z důvodu zachování intaktního oběhového systému.

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

Hlodavci jsou v přírodě běžným rezervoárovým hostitelem v tropických a subtropických zemích. Malé přirozené infekce typicky nezpůsobují v časných fázích utrpení zvířat. Infekce tohoto parazita je přirozená, přesto při vyšší dávce mohou v chronické fázi nastat zdravotní komplikace experimentálních zvířat vlivem zánětlivých akumulací vajec v tkáních hostitele. Toto by mělo být vyloučeno zvolenou metodou infekce, kdy budou cercárie přesně dávkovány injekčně do peritonea či podkoží. Inkubační doba parazita je 6 týdnů, kdy dospělci začnou produkovat vajíčka. Zvířata budou vždy usmrcena v 7. týdnu infekce v případě vyšších infekčních dávek za účelem zajištění životního cyklu. V případě nízkých infekcí v rámci experimentálních vyhodnocování mohou být myši ponechány v pokusu po delší dobu za neustálého monitoringu zdravotního stavu. Typické příznaky spojené s chronickou schistosomózou jako je ascitická tekutina v peritoneu, letargie a prořídlá srst budou důvodem k ukončení experimentu.

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 (<i>Mus musculus</i>)	710		710		
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 - <i>uveďte</i>					
Po ukončení experimentu budou zvířata eutanizována za účelem získání biologického materiálu.					
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>					
V současné době přes značné úsilí mnoha laboratoří neexistuje možnost udržení laboratorního cyklu <i>S. mansoni</i> jinak než s použitím laboratorních zvířat. Vzhledem k charakteru, cílům, očekávaným výsledkům a přínosům studie nelze navrhované postupy nahradit alternativní metodou bez jejich využití (databáze ICCVAM, EURL ECVAM Search Guide, TSAR).					
Studium účinků přirozeně sekretovaných proteinů parazitem bude maximálně orientováno na metody <i>in vitro</i> , nicméně pro studium přímého dopadu interakcí je nutná přítomnost parazita v přirozeném hostitelském prostředí.					
Kultivace <i>in vitro</i> navíc neumožňují vyhodnocení efektu RNAi na proteiny parazita uplatňujících se v interakci s hostitelem, proto je využití laboratorních myší nezbytné.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlíte, 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>					
K získání potřebného množství biologického materiálu i relevantních výsledků bude použit minimální počet zvířat. Počet zvířat je minimalizován s ohledem na reprodukovatelnost získaných výsledků a nutnost udržovat životní cyklus. Transkriptomické analýzy vyžadují vždy v našem případě kvadruplikáty aspoň dvě nezávislé analýzy se shodou. V rámci vyhodnocování účinku RNAi budou zvoleny skupiny experimentálních myší v souladu se statistickým vyhodnocením.					
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>					
Veškeré úkony se zvířaty bude provádět pouze zkušený a odborně způsobilý personál (§ 15d odst. 4 zákona č. 246/1992 Sb. na ochranu zvířat proti týrání). Zvířata budou chována v podmínkách k tomuto účelu určených, krmena <i>ad libitum</i> komplexní krmnou směsí pro myši a potkany (ST-1), s neomezeným přístupem k čisté vodě.					
Mimo intraperitoneální nebo podkožní injekce s parazity nebudou žádné jiné traumatizující zákroky během experimentu prováděny. Všechna zvířata budou denně kontrolována vedoucím pokusu či jeho zástupcem a osobou odpovědnou za péči o pokusná zvířata. Bude sledováno jejich chování, zdravotní stav a stav prostředí. Bude dodržován provozní řád chovného zařízení a veškeré zdravotní komplikace budou neprodleně konzultovány s příslušným veterinárním lékařem.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlíte výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Alternativou jsou pouze další laboratorní savci, v našem případě laboratorní myš <i>Mus musculus</i> . Budou použity myši kmeny CD -1 IGS (pro udržování laboratorního cyklu parazita) a C57BL/6JRj (pro experimentální účely). Výzkum schistosom se bez těchto laboratorních zvířat nemůže obejít. Mimo udržování cyklu parazita budou prováděny pokusy vyhodnocující utlumení studovaných genů parazita na přežívání a interakcích s hostitelem tam, kde jsou <i>in vitro</i> podmínky nedostačující (například tam kde je nutná přítomnost hostitelského imunitního systému).					

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