

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

BALB/c myši, křečci čínští (*Cricetulus griseus*) a pestršky písečné (*Lagurus lagurus*) jako laboratorní modely pro výzkum leishmaniózy způsobených leishmaniemi podrodu *Mundinia*.

Doba trvání projektu pokusů 3 roky (do března/2023)

Klíčová slova - maximálně 5 *Leishmania*, *Mundinia*, leishmanióza, modelový organismus

Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka

x	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. řešení vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

Leishmanióza je lidské a zvířecí onemocnění způsobené jednobuněčnými parazity rodu *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Zatímco u většiny druhů leishmanií patogenních pro člověka známe rezervoárové hostitele i přenašeče, téměř nic se neví o koloběhu leishmanií podrodu *Mundinia*. Fungující laboratorní model je nezbytný jak pro pochopení patologických projevů onemocnění, tak pro vývoj léčebných postupů u těchto onemocnění. V navrhovaném pokusu bychom chtěli testovat vývoj *L. (Mundinia)* jednak na tradičním modelovém organismu pro výzkum leishmaniózy BALB/c myších, jednak na méně obvyklých modelových zvířatech křečcích čínských (*Cricetulus griseus*) a pestrškách písečných (*Lagurus lagurus*). V sérii experimentálních infekcí bychom chtěli zjistit distribuci parazitů v těle těchto hlodavců a sledovat jejich infektivitu pro flebotomy rodů *Lutzomyia* a *Phlebotomus*. Tento pokus přinese jedinečné a dosud nepublikované výsledky, které přispějí k poznání epidemiologie závažných lidských onemocnění.

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)

Leishmaniózy ovlivňují životy miliónů lidí, a to hlavně v nejchudších oblastech světa. Zavedení laboratorního modelu, na kterém bude možné například testovat vakcíny nebo nová léčiva, chceme přispět k boji s tímto závažným lidským parazitem. Studie bude součástí disertační práce.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

První volbou modelového organismu jsou BALB/c myši. Pokud by ke zdárnému vývoji leishmanií podrodu *Mundinia* v myších BALB/c nedošlo, použili bychom pro další výzkum křečky čínské (*Cricetulus griseus*) a pestršky písečné (*Lagurus lagurus*). Předpokládáme použití 10 jedinců na testování každého z pěti druhů leishmanií, přičemž u druhu *L. martiniquensis* budou testovány 4 kmeny, které se liší místem a dobou izolace. Celkem bude tedy vytvořeno 9 skupin (8 pokusných a 1 kontrolní), tj. celkem 90 jedinců od každého druhu zvířete. (240 ks pokusných zvířat maximálně)

Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?

Závažnost projevů leishmaniózy závisí jak na druhu parazita, tak na imunitní odpovědi hostitele. V případě leishmanií podrodu *Mundinia* očekáváme v testovaných hlodavcích buď asymptomatický průběh infekcí, nebo středně závažné projevy infekce - tvorbu kožních lézí. Zvířata nebudou v pokusu ponechána tak dlouho, aby se u nich leishmanióza rozvinula do patogenních projevů zatěžujících zvířata nad nezbytnou míru. Pokus bude ukončen usmrcením zvířat a odběrem tkání na detekci parazitů, zvířata budou šetrně usmrcena v celkové anestezii cervikální dislokací (zlomením vazů).

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

Nahrzení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.

Vývoj parazita v hostiteli a přenašeči nelze nahradit jinou alternativní technikou bez použití zvířat. Interakce mezi parazitem a hostitelem jsou ovlivněny mnoha vzájemně provázanými a často druhově specifickými faktory na úrovni celých organismů. Tyto komplexní děje nelze simulovat pokusy *in vitro* nebo *in silico*.

Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.

Počet použitých zvířat bude minimalizován na množství, které bude ještě možno smysluplně vyhodnotit, tj. bude použito 90 samic jednoho druhu hlodavce pro testování 8 izolátů leishmanií.

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.

Zvířata budou kromě úkonů nezbytných k pokusu ponechána v klidu, bude o ně pečováno dle platných zoohygienických předpisů a jejich biologických potřeb. Se zvířaty bude manipulováno šetrně a nebudou vystavována přílišnému stresu, na lidskou ruku a manipulaci budou pravidelně navykávána. Během inokulace leishmanií a sání flebotomů budou zvířata uvedena do celkové anestezie, přičemž po dobu anestezie bude zajištěn jejich tepelný komfort (pod anestetizované myši bude umístěna teplá podložka) a vlhčení očí (gelem Recugel). Se zvířaty budou manipulovat pouze certifikované osoby (s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb) a usmrcení zvířat bude provedeno maximálně šetrně, předávkováním anestezií a následným stržením vazů.