

## NETECHNICKÉ SHRNU TÍ PROJEKTU POKUSŮ 68/2019

### Název projektu pokusů

Studium vývoje parazitů *Trypanosoma spp.* a *Leishmania spp.* v teplokrevném hostiteli

Doba trvání projektu pokusů 5 let

Klíčová slova - maximálně 5 Leishmania, Trypanosoma, virulence, parazitémie

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. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)

*Trypanosoma brucei* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) je parazit člověka a dobytka způsobující lidskou spavou nemoc, nebo zvířecí naganu. Příbuzný parazit *Leishmania spp.* je původcem závažné formy leishmaniózy u člověka. Doposud proti těmto bičíkovcům nebyla vyvinuta žádná účinná vakcína. Díky intenzivnímu studiu těchto parazitů hodláme objasnit fungování buňky na molekulární úrovni. Věříme, že identifikace esenciálních proteinů přispěje k vývoji léčiv proti těmto parazitům. Cíle projektu: 1. příprava polyklonálních protilátek

2. studium virulence divokých a mutantních kmenů
3. izolace peritoneálních makrofágů a parazitů z krve

**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)

Navrhované pokusy přinesou nové dosud nepublikované výsledky, které přispějí k objasnění jedinečné biologie těchto parazitů.

**Druhy a přibližné počty zvířat**, jejichž použití se předpokládá

Ročně předpokládáme použít přibližně 500 jedinců laboratorních myší, 20 jedinců laboratorních potkanů a 40 jedinců laboratorních králíků. Laboratorní myši, potkani a králíci budou použiti na přípravu polyklonálních protilátek. Myši budou použity na infekční studie s divokými a mutantními kmeny *Leishmania* a *Trypanosoma* a pro izolaci peritoneálních makrofágů.

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

Navrhovaná míra závažnosti je mírná a nežádoucí účinky minimální. Pro izolaci peritoneálních makrofágů bude zvíře nejprve usmrceno zlomením vazů. Poté budou makrofágy odebírány výplachem peritoneální dutiny fyziologickým roztokem. Pro infekční experimenty budou myši infikovány intradermálně (*Leishmania spp.*) či peritoneálně (*Trypanosoma spp.*). Následně bude sledována parazitémie pravidelným měřením velikosti a místa injekce parazitů, či odebíráním malého množství krve z ocasu. Dále bude rovněž sledována hmotnost laboratorních zvířat. Po uplynutí standardní doby infekce budou zvířata uvedena do umělého spánku a bude jim odebrána krev či další biologický materiál pro stanovení množství parazitů na jedince. Následně bude zvíře šetrně usmrceno zlomením vazů či předávkováním anestetiky. Pro přípravu polyklonálních protilátek budou laboratorní zvířata imunizována sterilním isotonickým roztokem obsahujícím rekombinantní protein. Séra na testování budou odebírána z uší králíků, či z ocasu potkanů. Po odběru krve pod celkovou anestézií a přípravě séra bude zvíře šetrně usmrceno předávkováním anestetiky. Usmrcená zvířata budou likvidována asanační službou.

**Uplatňování 3R** (replacement, reduction, refinement)

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

Sledování infekčnosti a virulence parazita a jeho mutantních forem není nahraditelné jinou alternativní metodou. Pro přípravu polyklonálních protilátek rovněž neexistuje alternativní cesta.

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

Počet použitých zvířat pro infekční pokusy bude minimalizován na množství, které jsou nutná pro smysluplné vyhodnotitelná data, tzn. 5 zvířat ve skupině, 3 biologická opakování. Pro získání protilátek bude použit minimální počet zvířat, jenž bude nutný pro získání biologického materiálu.

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.

Laboratorní myši, potkani a králíci jsou rutině používána zvířata pro zmíněné experimenty v akreditovaném zvěřinci BC AVČR. Během studie budou zvířata využívána k pokusům v souladu se zásadami humánního zacházení se zvířaty a v souladu s platnou legislativou. Zvířata nebudou vystavována nadbytečnému stresu, bude minimalizován jejich diskomfort a jejich stav bude pravidelně monitorován. Veškeré zákroky usmrcování budou prováděny v hluboké narkóze.