

NETECHNICKÉ SHRNTÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů	
Laboratorní chov flebotomů (Diptera: Psychodidae) pro účely základního výzkumu.	
Doba trvání projektu pokusů	5 let
Klíčová slova - maximálně 5	Phlebotomus, kolonie, laboratorní chov, savčí hostitel
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
<input checked="" type="checkbox"/>	základní výzkum
<input type="checkbox"/>	translační nebo aplikovaný výzkum
<input type="checkbox"/>	vývoj, výroba nebo zkoušení kvality, účinnosti a nezávadnosti léčiv, potravin, krmiv a jiných látek nebo výrobků
<input type="checkbox"/>	ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat
<input type="checkbox"/>	zachování druhů
<input type="checkbox"/>	vyšší vzdělávání nebo odborná příprava
<input type="checkbox"/>	trestní řízení a jiné soudní řízení
Cíle projektu pokusů (např. řešené vědecké neznámé nebo vědecké či klinické potřeby)	
Flebotomové jsou krevsající hmyz z řádu Diptera, čeledi Psychodidae. Jsou to přenašeči prvků rodu <i>Leishmania</i> (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) - původců leishmaniózy, lidského onemocnění postihujícího miliony lidí v tropických a subtropických oblastech celého světa. Onemocnění má v závislosti na druhu leishmanie různé podoby - od méně závažných kožních projevů po život ohrožující viscerální formu. Laboratoř biologie hmyzích vektorů na katedře parazitologie PŘF UK se věnuje základnímu výzkumu flebotomů a leishmanií v širokém spektru témat, od experimentálních infekcí flebotomů leishmaniemi, xenodiagnóz, ověřování alternativních vektorů leishmanií, přes molekulární taxonomii flebotomů, charakterizaci jejich trávicích enzymů, peritrofní matrix, střevních proteinů a proteinů slinných žláz, až po sledování imunitní odpovědi hostitelů na sliny flebotomů a výzkum imunitních mechanismů flebotomů. Základním předpokladem tohoto rozsáhlého výzkumu je stabilní chov flebotomů. V současné době vlastní laboratoř 14 kolonií jedenácti druhů flebotomů, což je nejrozsáhlejší chov tohoto hmyzu v Evropě. Samicím flebotomů je nutné umožnit sání na krvi savčího hostitele, potřebují nasátou krev jako zdroj bílkovin pro tvorbu vajíček, přitom nesají přes umělé membrány jako např. někteří komáři (viz Volf P., Volfová V. (2011): <i>Establishment and maintenance of sand fly colonies. J. Vector. Ecol. 36(1): 1-9</i>). Nároky jednotlivých druhů flebotomů na zdroj hostitelské krve nejsou stejné. Většina druhů je ochotna sát na laboratorní myši BALB/c, ale některé kolonie je nutno sát také na holých myších, králících nebo křečcích.	
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)	
Cílem je udržení celosvětově významného chovu flebotomů umožňující základní výzkum těchto přenašečů závažného lidského onemocnění – leishmaniózy. Tento výzkum přispívá ke kontrole tohoto onemocnění v celosvětovém měřítku.	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Flebotomové většiny druhů jsou ochotni sát na BALB/c laboratorních myších, některé druhy však vyžadují sání i na myši holé (SKH1 hairless, 3 kolonie), zlatých syrských křečcích (1 kolonie) nebo králících (NZW, 4 kolonie). Každý rok je třeba na každou kolonii použít cca 4- 8 myší (podle velikost kolonie) nebo tři křečky či dva králíky, celkem tedy 60- 120 BALB/c myši, 20 SKH1 hairless myši, tři křečky a osm králíků na jeden rok pro všechny kolonie.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
Sání flebotomů (45 až 60 minut jednou za dva týdny) představuje pro zvířata minimální zátěž, jde pouze o mírně závažný pokus. Drobní hlodavci budou po skončení pokusu usmrceni certifikovanou osobou maximálně šetrným způsobem (předávkováním anestezií a následným stržením vazů).	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat. Kolonie flebotomů nelze chovat za vyloučení experimentálních zvířat, alternativní metody neexistují, samice flebotomů nejsou bez bílkovin obsažených v krvi hostitele schopny tvorby vajíček a nesají přes umělé membrány.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Počet zvířat bude minimalizován na nejmenší možnou míru, ovšem ne za cenu toho, aby byli jedinci používáni příliš často a dlouho a šlo na nich velké množství samic flebotomů najednou. Každou kolonii je nutno sát jednou týdně. Optimální z hlediska šetrného zacházení se zvířaty je (1) používat pro sání kolonií vždy dvě myši najednou, aby se rozložila zátěž (tj. množství sajících samic flebotomů) na oba jedince a (2) střídát používané dvojice ob týden. Králík bude použit vždy jeden (jde o dostatečně velké zvíře, aby pro jeho organismus nepředstavovaly sající samice flebotomů zátěž) maximálně dvakrát za měsíc (budou se pravidelně střídát dva jedinci na kolonii).	
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. Veškeré manipulace s pokusnými zvířaty budou vždy prováděny pracovníkem s osvědčením dle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb. Během vystavení flebotomům budou drobní hlodavci uvedeni do celkové anestezie intraperitoneální injekcí, přičemž po dobu anestezie bude zajištěn jejich tepelný komfort a vlhčení očí (Recugel). Pro králíky jako zvířata větší velikosti by představovala větší zátěž celková anestezie než sání flebotomů na uších, budou tedy pouze imobilizováni a po celou dobu sání flebotomů (30-45 minut) bude kontrolován jejich komfort zodpovědnou osobou. Zvířata plánovaná na chov flebotomů nebudou používána opakovaně každý týden, jedinci se budou pravidelně střídát. Zvířata nebudou používána při známkách snížené zdravotní kondice nebo déle než jeden rok. Usmrcení drobných hlodavců bude provedeno maximálně šetrně, předávkováním anestezií a následným stržením vazů certifikovanou osobou.