

Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.

NETECHNICKÉ SHRNUÍ PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Meriones shawi jako model přirozeného hostitele pro výzkum rezistence a přenosu *Leishmania major*.Doba trvání projektu pokusů *do* listopad/2021)Klíčová slova - maximálně 5 *Leishmania, Phlebotomus, rezistence, asymptomatický hostitel, rezervoár*

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)

Pískomil *Shawi* (*Meriones shawi*) funguje v severní Africe jako přirozený rezervoárový hostitel jednobuněčných parazitů druhu *Leishmania major* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae). Leishmanie jsou přenášeny krevsajícím hmyzem - flebotomy (Diptera: Psychodidae) i na člověka, u něhož nákaza *L. major* působí kožní leishmaniózu. Severní Afrika dnes patří mezi oblasti s největší incidencí kožní leishmaniózy na světě, každoročně zde přibývají tisíce nových případů (Aoun & Bouratbine, *Parasite* 21, 14 (2014)). Efektivní vakcína není k dispozici a na používaná léčiva bohužel u leishmanií stále častěji vzniká rezistence (Jeddi et al. *Antimicrob. Agents Chemother.* 58, 4866–4874 (2014); Cojean et al. *Emerg. Infect. Dis.* 18, 704–706 (2012)). Kromě toho nejsou dostatečně známy ani detaily důležité pro pochopení epidemiologie leishmanióz, například role asymptomatických zvířat (tj. jedinců, v nichž parazit přežívá bez tvorby kožních lézí) v cirkulaci *L. major* nebyla dosud vysvětlena. Cílem našeho projektu je podrobně popsat a pochopit (1) rezistentní fenotyp *L. major* a (2) důležité parametry přenosu leishmanií na přenašeče. V rámci prvního tématu chceme porovnat důležité parametry rezistence leishmanií (vývoj *in vitro* a *in vivo*, infektivitu, reverzibilitu rezistence, genetické změny specifických biomarkerů rezistence) po pasážích přirozeným přenašečem (*Phlebotomus papatasi*) a přirozeným hostitelem (*Meriones shawi*). V rámci druhého tématu chceme srovnat infektivitu symptomatických a asymptomatických jedinců *M. shawi* pro flebotomy a na jemnější úrovni pak zjistit parametry zásadní pro infekci přenašeče (kinetika a kvantita leishmanií v jednotlivých částech kůže v průběhu pokusu).

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. Objasněním faktorů, které mají vliv na infektivitu hostitele pro flebotomy, chceme přispět k poznání mechanismu přenosu tohoto závažného lidského parazita. Velice cenné budou také poznatky o přenosových schopnostech rezistentních linií parazita, které můžeme unikátní studií na přirozeném hostiteli získat. Studie bude součástí disertační práce a plánovaného projektu GAČR.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Díky spolupráci s Institutem Pasteur d'Algérie máme k dispozici přirozeného hostitele *L. major*, kterým je pískomil *Shawi* (*Meriones shawi*). Pro pokusy budou používáni odchovaní jedinci stejného pohlaví od stáří cca 10 týdnů. Množství zvířat v pokusech omezíme na nezbytné minimum, předpokládáme použití maximálně 60 jedinců.

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 pokusu s druhem *L. major* lze očekávat středně závažné projevy - vyvinutí kožních lézí. Zvířata proto nebudou v pokusu ponechána tak dlouho, aby se u nich leishmanióza rozvinula do patogenních projevů zatěžujících zvířata nad nezbytnou míru (déle než 10 týdnů). 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)

Nahrazení 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 36 samic a 15-20 samců *Meriones shawi*.

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 navykána. 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 anestezii a následným stržením vazů.