

*Vyplňujte jen bílé kolonky!
 Formulář vyplňujte na počítači; kolonky se zvětší automaticky podle množství textu.*

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ	
Název projektu pokusů	
Analytická chemie směsných mikrobiálních infekcí	
Doba trvání projektu pokusů	do 12/2021
Klíčová slova - <i>maximálně 5</i>	Infekce, siderofory, zobrazovací metody, hmotnostní spektrometrie
Účel projektu pokusů - označte jej křížkem (x) do prázdného políčka	
	základní výzkum
<input checked="" type="checkbox"/>	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)	
Předmětem zájmu tohoto projektu je studium směsných infekcí ve zvířecích modelech. Směsné infekce představují zásadní analytický problém pro každou mikrobiologickou laboratoř. Za použití citlivé a vysoce hmotnostně rozlišené spektrometrie chceme monitorovat rozvoj a léčbu směsných infekcí způsobenými různými plísněmi a bakteriemi ve zvířecích modelech.	
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)	
Ke studiu směsných infekcí budou využívány specifické mikrobiální metabolity – siderofory. Jejich produkci nebo zastavení tvorby jako následek antifungální nebo antibakteriální terapie budeme sledovat in vivo pomocí zobrazovacích technik a metabolické hmotnostní spektrometrie. Paralelně budeme sledovat vznik a zánik mikrobiálních biofilmů v plicní nebo svalové tkáni, a to elektronovou a optickou mikroskopií a získané výsledky korelovat s hmotnostně spektrometrickým zobrazením. Experimentálně analytický projekt může mít přímý dopad do lékařské diagnostiky (cystická fibróza, chronická obstrukční plicní nemoc).	
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá	
Studie budou prováděny na inbredních laboratorních myších a potkanech, max. 8-12 týdnů starých. V průběhu řešení projektu (2019-2022) plánujeme použít cca 500 laboratorních myší a 500 laboratorních potkanů. Toto množství odpovídá našemu projektovému plánu a potřebě statistického zhodnocení výsledků.	
Jaké jsou očekávané nežádoucí účinky u zvířat? Jaká je navrhovaná míra závažnosti? Jak bude se zvířaty naloženo po skončení pokusu?	
U plánovaných studií se nepředpokládá, že by vyvolávaly u pokusných zvířat utrpení. Zvířata mohou pociťovat mírnou krátkodobou bolest při vpichu injekční jehly. Předpokládaná míra závažnosti předkládaného pokusu je mírná. Po ukončení pokusu budou experimentální zvířata humánně utracena. Utracená pokusná zvířata budou uskladněna v mrazicím boxu. Eutanazie bude vykonána vykrvením v celkové anestezii (plexu axillaris) a následným zlomením vazů. Ověření smrti laboratorního zvířete - trvale zastavení krevního oběhu (přiložením prstu na hrudní kost není cítit srdeční úder), zvíře nemá dýchací pohyby (hrudní koš se neroztahuje), zvíře má fixované oční bulvy (oči se nepohybují) a permanentní rozšíření očních pupil (nereagují na světelný podnět), vymizení rohovkového reflexu (po jemném dotyku prstem na rohovku uhynuté zvíře nereaguje mrknutím).	
Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)	
Nahrazení používání zvířat: Uveďte, proč je nutné použít zvířata a proč nemohou být využity alternativy bez použití zvířat.	
Prokázání účinnosti potenciálních léčiv je součástí dokumentace požadované regulační autoritou pro schválení klinického hodnocení a registraci léčiva. Nahrazení zvířat v rámci tohoto projektu není možné z důvodu sledování průběhu fungálních a bakteriálních infekcí in vivo a následné analýze biologického materiálu (infekční tkáň, krev, moč) určeného ke studiu (identifikace a kvantifikace) nízkomolekulárních biomarkerů studovaných infekcí. Alternativní metody pro ověření účinnosti studovaných látek, které mají stejnou spolehlivost a vypovídací hodnotu jako in vivo experimenty, nám nejsou známy a nenašli jsme je ani v možných zdrojích (OECD, EURL ECVAM, European Pharmacopoeia) uvedených v pokynech pro vyplňování žádosti o schválení projektu pokusů.	
Omezení používání zvířat: Vysvětlete, jak lze zajistit použití co nejmenšího počtu zvířat.	
Budeme používat minimální množství zvířat na skupinu, které je nezbytné pro následnou statistickou analýzu. Budeme používat inbrední kmeny zvířat.	
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.	
K prováděným experimentům budeme používat inbrední kmeny laboratorních zvířat (laboratorní myši - Balb/c, apod. a laboratorní potkany – Lewis, apod.). Laboratorní myši a potkani jsou standardně používanými experimentálními zvířaty pro tento typ experimentu. Laboratorní zvířata budou denně monitorována kompetentními odborníky (vedoucí projektu,	

pověřená osoba, veterinární lékař nebo technik) a nebudou cíleně vystavena utrpení. V případě znaků morbidity se zintenzívní četnost kontrol zdravotního stavu zvířat a v případě moribundních znaků budou zvířata z pokusu vyřazena a humánně utracena. Experiment bude přerušeno a zvířata utracena v případě - ztráty tělesné hmotnosti v rozsahu 25 % přetrvávající 7 dní, úplné anorexii: doba trvání anorexie u malých hlodavců delší než 24 hodin, částečné anorexii: v případě kdy příjem krmiva získává zvíře méně než 50 % kalorické hodnoty po dobu 3 dnů, slabosti/neschopnosti zvířat získávat krmivo nebo vodu trvající dobu delší než 24 hodin. Všechny úkony, léčba a eutanázie (dle OECD) jsou vykonávány licencovaným veterinárním lékařem a osobami odborně způsobilými pro práci s laboratorními zvířaty majícími příslušné osvědčení, dle zákona č. 246/1992. Experimenty budou probíhat v souladu s dodržováním pravidla 3R. S laboratorními zvířaty se nakládá dle pravidel uvedených v zákonu č. 246/1992 a vyhlášce č. 419/2012, kde je jasně vymezen způsob o nakládání s laboratorními zvířaty.

Zoohygienické podmínky: teplota prostředí 20-24°C, relativní vlhkost prostředí 40-70%, světelný režim: 12 hodin světlo a 12 hodin tma. Podmínky jsou monitorovány 24 hodin denně a zaznamenávány a 1 hodina monitorovací ústřednou MS5. Výměna vzduchu 10-12x/ hodinu. Krmení: kompletní krmná směs pro potkany a myši - ad libitum. Napájení: kohoutková voda - ad libitum. Čištění chovných nádob: dle potřeby, nejméně 1x týdně. Čištění a výměna pitka (celá láhev): 1x týdně. Kontrola zdravotního stavu: denně. Kontrola spotřeby krmiva, doplnění vody a krmiva: denně.

Všichni pracovníci jsou odborně způsobilí pro práci s laboratorními zvířaty a mají příslušné osvědčení, dle zákona č.246/1992. Uživatelské zařízení je vyhovující pro příslušný druh a množství pokusných zvířat. Pravidelně jsou vykonávány kontroly Krajskou veterinární správou.