

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ

Název projektu pokusů

Test imunitní odpovědi – 1/2017

Doba trvání projektu pokusů prosinec 2017 – červen 2018

Klíčová slova - *maximálně 5* verifikace metody, imunotoxicita, rozšířená jednogenerační studie, potkan

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

- | | |
|-------------------------------------|--|
| ☐ | 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)

Cílem studie je ověření citlivosti nové vyšetřovací metody pro měření protilátkové odezvy závislé na T-buňkách, tj. zkoušky primární IgM protilátkové odezvy na antigen závislé na T-buňkách (jako je např. KLH) v krevním séru potkanů, zjistit správné ředění odebraného krevního séra před samotným měřením a zjistit optimální dobu aplikace imunosupresivní látky (aby došlo k potlačení imunitní odpovědi). Test imunitní odpovědi sleduje potenciální vliv chemické expozice na vývoj imunitního systému a tento test bývá standardní součástí studie Rozšířené jednogenerační toxicity (OECD TG 443). Aplikovanou látkou bude antigen Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH), tj. látka doporučená pro test imunitní odpovědi dle metodiky EU č. B56 Rozšířená jednogenerační studie toxicity pro reprodukci, která je citována v NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 440/2008 v platném znění, kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH) a metodiky OECD TG 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study, (EOGRTS), 2011, uvedenou v metodikách OECD Guideline for testing of Chemicals, Section 4: Health Effects. Uvedené metodiky jsou analogické. Dle doporučení „OECD Guidance Document 151 in support of OECD Test Guideline 443 on an Extended One Generation Reproductive Toxicity Study“ bude jako kontrolní pozitivní látka použit Cyklofosamid (aby bylo možné změřit imunitní odpověď po působení imunosupresivní látky).

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)

Přínosem bude zařazení nové vyšetřovací metody na stanovení titru protilátky IgM specifické pro KLH v séru potkanů (ELISA metody), která nahradí stávající nedostatečně citlivý způsob vyšetření IgM (v externí laboratoři) a dokáže zachytit i nevýraznou imunitní odpověď.

Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá

Metodika určuje pro tento typ pokusu laboratorní potkana (kmen Wistar).

V jedné zkoušce bude použito 20 samců a 20 samic: 1. skupina bez aplikace: 5 samců a 5 samic, 2. skupina s aplikací pouze KLH: 5 samců a 5 samic, 3. skupina s aplikací cyklofosfamidu v nízké dávce: 5 samců a 5 samic a s aplikací KLH, 4. skupina s aplikací cyklofosfamidu ve vysoké dávce a s aplikací KLH: 5 samců a 5 samic. Zkouška bude provedena maximálně 3x. Celkový počet použitých potkanů bude maximálně 120.

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

Dávky budou postupně zvoleny tak, aby aplikace testované látky nezpůsobila výraznou bolest, strach nebo utrpení zvířat. Navrhovaná míra závažnosti: mírná. Po skončení pokusu bude provedena eutanazie zvířat a poté pitva.

Uplatňování 3R (replacement, reduction, refinement)

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

Provedení rozšířené jednogenerační studie OECD TG 443 je u chemických látek vyžadováno Evropskou agenturou pro chemické látky (ECHA) v rámci následného zkoušení v procesu registrace chemických látek. Tato studie posuzuje kromě reprodukční toxicity testované látky také její vliv na vývoj nervového systému (neurotoxicitu) a imunitního systému (imunotoxicitu). Pro posouzení případné imunotoxicity (v tzv. testu imunitní odpovědi) je nutné změřit titr protilátek IgM v krevním séru potkanů po aplikaci imunostimulační látky. Novou vyšetřovací metodu je nutné ověřit na potkanech, kteří se na pracovišti běžně ve studiích používají, tzn. na potkanech stejného kmene, obdobného věku a od stejného dodavatele. Provedení verifikace metody měření protilátek IgM je vyžadováno metodikou OECD pro rozšířenou jednogenerační studii. Metodu in vivo není možné nahradit alternativní metodou, studie EOGRTS vyžaduje změřit imunitní odpověď u zvířat.

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

Počet použitých zvířat je minimální pro verifikaci nové vyšetřovací metody.

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.

Se zvířaty bude pracovat kvalifikovaný a zkušený personál, budou dodržovány zásady humánního zacházení se zvířaty v souladu s platnými národními předpisy v oblasti ochrany pokusných zvířat a v souladu s interními předpisy pracoviště pro manipulaci s pokusnými zvířaty. Bude minimalizován stres a diskomfort zvířat během studie – zvířata budou chována v podmínkách odpovídajících požadavkům použitého živočišného druhu. Minimálně 1x denně bude kontrolován zdravotní

stav zvířat a všechny pozorované změny budou zaznamenány a konzultovány s osobou zodpovědnou za péči o zvířata.