

NETECHNICKÉ SHRnutí PROJEKTU POKUSŮ upravené podle PR 2020/569						
Název projektu pokusů						
Studium vlivu dermonekrotického toxinu na infekci a kolonizaci horních cest dýchacích po intranazální infekci bakterií <i>Bordetella bronchiseptica</i> .						
Doba trvání projektu pokusů - v měsících		30 měsíců				
Klíčová slova - maximálně pět ¹⁾		<i>Bordetella bronchiseptica</i> , dermonekrotický toxin, sekreční systém typu 6, kolonizace, nazální infekce, transmise				
Účel projektu pokusů - zaškrtněte políčko; možno i více možností						
☒ základní výzkum						
☒ translační a aplikovaný výzkum						
☐	legislativní účely a běžná výroba	kontrola kvality (včetně zkoušení bezpečnosti a účinnosti šarže)				
☐		jiné zkoušení účinnosti a tolerance				
☐		zkoušení toxicity a jiné zkoušky bezpečnosti včetně farmakologie				
☐		běžná výroba				
☐ ochrana přírodního prostředí v zájmu zdraví a dobrých životních podmínek lidí nebo zvířat						
☐ zachování druhů						
☐ vyšší vzdělávání						
☐ odborná příprava za účelem získání, udržení nebo zlepšení odborných znalostí						
☐ trestní řízení a jiné soudní řízení						
☐ udržování populací ustálených geneticky upravených zvířat, která nebyla použita v jiných pokusech						
Cíle projektu pokusů - např. řešení některých vědeckých neznámých nebo vědeckých či klinických potřeb						
Hlavním cílem plánovaných pokusů je získání originálních výsledků, které pomohou hlouběji porozumět mechanismům sekrece dermonekrotického toxinu z bakterie <i>B. bronchiseptica</i> . Bude studován vliv sekrečního systému typu 6 na transport DNT <i>in vivo</i> a jeho následný vliv na průběh bakteriální infekce a na přenos infekce z myši na myš.						
Pravděpodobné potenciální přínosy projektu pokusů - jak by mohlo být dosaženo vědeckého pokroku nebo jaký přínos by z něj člověk, zvířata či životní prostředí mohli mít; v příslušných případech rozlišujte mezi krátkodobými (v době trvání projektu) a dlouhodobými přínosy (mohou se projevit až po skončení projektu)						
Získání nových poznatků klíčových pro vývoj nových účinnějších vakcín pro prevenci přenosu dávivého kašle.						
Postupy, které budou na zvířatech zpravidla používány (např. injekční aplikace, chirurgické zákroky) - uveďte počet těchto postupů a dobu jejich trvání						
Myši budou injekčně uspávány při infekci (intranazální aplikace ve spánku) a při odebírání séra. Injekční aplikace trvá cca 5s.						
Předpokládané dopady / nepříznivé účinky na zvířata (např. bolest, ztráta hmotnosti, nečinnost / snížená hybnost, stres, neobvyklé chování) a doba trvání těchto účinků						
Nežádoucí účinky po infekci se mohou projevit respirační infekcí, při které může dojít k úbytku na váze a stresu. Respirační infekce do 2-3 týdnů vymizí. Většina myši ale bude usmrcena dříve. Anestezie trvá 15-30 minut, podle její hloubky. Na infekci se používá pouze lehká anestezie (znehybnění myši), při odebírání séra hluboká.						
Druhy a přibližné počty zvířat, jejichž použití se předpokládá, a předpokládaná závažnost pokusu						
Druh zvířat ²⁾ - vyberte ze seznamu		Odhadovaný počet	Odhadovaný počet zvířat podle závažnosti			
			Nenabude vědomí	Mírná	Střední	Závažná
Myš laboratorní (<i>Mus musculus</i>)		900			900	
Zvolte položku.						
Zvolte položku.						

Zvolte položku.					
Zvolte položku.					
Nakládání se zvířaty, která nebudou na konci pokusu usmrcena					
Odhadovaný počet zvířat k opětovnému použití					0
Odhadovaný počet zvířat, která budou navracena do přírodního stanoviště či systému chovu					0
Odhadovaný počet zvířat k umístění do zájmového chovu					0
Důvody pro výše uvedené nakládání se zvířaty - <i>uvedte</i>					
Uplatňování 3R					
Nahrazení používání zvířat - <i>uvedte, jaké alternativy bez použití zvířat jsou v této oblasti dostupné a proč nemohou být použity pro účely tohoto projektu</i>					
Alternativní metody nepostihují složitost zkoumané problematiky, a proto nemohou nahradit navrhované pokusy. Testování kolonizace plic a nosních dutin stejně tak indukce protilátkové či buněčné imunitní odpovědi v tkáňových modelech není možné. K vysvětlení mechanismu je zapotřebí studium na úrovni celého organismu a nelze jej nahradit jinými typy experimentů, nezahrnujícími živá experimentální zvířata, jako např. buněčnými kulturami či ex-vivo tkáňovými explantáty.					
Omezení používání zvířat - <i>vysvětlete, jaký počet zvířat byl pro tento projekt stanoven. Popište kroky, které byly podniknuty ke snížení počtu používaných zvířat, a zásady použité k vytvoření studie; případně popište postupy, které budou používány po celou dobu trvání projektu za účelem minimalizace počtu používaných zvířat a které odpovídají vědeckým cílům (mezi tyto postupy mohou patřit např. pilotní studie, počítačové modelování, sdílení tkání a opakované použití).</i>					
Vlastní zkušenosti s podobným typem experimentů a množství již získaných dat nám umožnily naplánovat minimální počet zvířat, která potřebujeme k dosažení signifikantních výsledků a k jejich publikaci. Vzorky, získané v experimentech, jsou v rámci laboratoře pravidelně sdíleny, protože více experimentátorů pracuje na podobné problematice.					
Šetrné zacházení se zvířaty - <i>uvedte příklady konkrétních opatření (např. zvýšené pozorování, pooperační péče, tlumení bolesti, výcvik zvířat) přijatých v souvislosti s postupy k minimalizaci dopadů na dobré životní podmínky zvířat; popište mechanismy k přijímání vznikajících zmírňujících postupů v době trvání projektu</i>					
Veškerá manipulace se zvířaty bude co nejohleduplnější a co nejméně narušující přirozené potřeby zvířat. Bude použita anestezie pro snížení diskomfortu použitých zvířat. Po infekci bude pravidelně sledován stav zvířat.					
Použité druhy zvířat - <i>vysvětlete výběr druhů a souvisejících životních stadií</i>					
Budou použity laboratorní myši inbredního kmene BALB/c, C57BL/6 a C57BL/6 MyD88KO, které jsou vhodným modelem pro studium intranazální infekce bakterií <i>B. bronchiseptica</i> . V letech 2021-2023 odhadujeme použití maximálně 800 ks zvířat minimálního stáří 5 týdnů. Počet myší je na úrovni minimálního počtu, který zaručuje statisticky vyhodnotitelné výsledky mezi skupinami. Dále odhadujeme použití maximálně 100 ks zvířat (holátka) stáří minimálně 3 dnů pro studium role DNT v atrofické rinitidě hlodavců.					

1) Včetně vědeckých pojmů, které se mohou skládat z více než pěti jednotlivých slov, a s výjimkou druhů zvířat a účelů uvedených jinde v dokumentu

2) Druhy zvířat v souladu s kategoriemi statistického vykazování v příloze III prováděcího rozhodnutí Komise 2020/569 s doplňkovou možností „**nespecifikovaného savce**“ pro zachování anonymity ve výjimečných případech