

Netechnické zhrnutie projektu

3954/19-221/3

Názov projektu: Laboratórny chov kliešťov (Acari, Ixodidae) s použitím králikov a príprava extraktov, DNA, RNA a preparátov zo slinných žliaz a iných orgánov kliešťov

Kľúčové slová: kliešte, králiky, bioaktívne látky

Účel projektu:

Základný výskum

Cieľ projektu: Cieľom predkladaného projektu je zabezpečiť kontinuálne laboratórne chovy rôznych druhov kliešťov z čeľade Ixodidae s použitím králikov ako hostiteľov. Z dôvodu výlučne ektoparazitického spôsobu života a biológie kliešťov je pre nich potrebná prítomnosť teplokrvných živočíchov a ich krvi ako zdroja potravy. Hoci sa vo svete už vyvíjajú alternatívne spôsoby kŕmenia kliešťov heparinizovanou krvou cez rôzne typy umelých membrán, tieto metódy doteraz nefungujú pre kontinuálny chov kliešťov. Kontinuálne chovy kliešťov a kŕmenie ich väčšieho počtu, starších vývinových štádií, resp. niektorých druhov kliešťov nie je možné bez použitia králikov.

Prínos projektu: Vďaka chovom na laboratórnych králikoch je možné získať dostatočné množstvo európskych aj cudzokrajných druhov kliešťov potrebných v experimentoch zameraných na sledovanie vzájomných interakcií medzi kliešťami, patogénmi ktoré prenášajú a hostiteľmi. Získané výsledky pomôžu pri hľadaní vhodných kandidátov – génov či proteínov do vakcín proti kliešťom a patogénom ktoré prenášajú, ale aj pri objasnení spôsobov, akými kliešte ovplyvňujú obranné mechanizmy stavovcov. Kliešte, najmä ich slinné žľazy, ponúkajú celý rad bioaktívnych látok, ktoré sa dajú využiť pri vývine alternatívnych liečiv na choroby spojené napríklad s poruchami hemostázy a/alebo imunitného systému. Vzhľadom na rôznorodosť aktívnych látok produkovaných kliešťami, ako aj vzájomných interakcií kliešť-patogén-hostiteľ, ktoré často závisia od vývinového štádia, pohlavia ale aj druhu kliešťa, kontinuálne chovy kliešťov ponúkajú ideálne riešenie na ich výskum. Pomocou laboratórnych chovov sa získa tiež materiál kliešťov bez patogénnych zárodkov.

Počet a druh použitých zvierat: králik domáci, 250 ks

Predpokladaný nepriaznivý vplyv/ujma na použité zvieratá v rámci vykonávania projektu: Pri kŕmení kliešťov sa srst pokusných zvierat na ich chrbte ostrihá pomocou strojčeka na strihanie srsti. Na chrbát zvierat sa budú lepiť neoprénové krúžky (neoprén nedráždi pokožku) pomocou lepidla, ktoré okrem vody neobsahuje žiadne iné rozpúšťadlá a nedráždi pokožku. Toto je mimoriadne dôležité aj pre sledovanie produkcie protizápalových látok v slinách kliešťov, keďže vedľajšie zápalové reakcie by pozorovania znehodnotili. Do neoprénových krúžkov sa budú vkladať rôzne vývojové štádiá kliešťov (larvy, nymfy, dospelé). Počet kliešťov cicajúcich na jednom zvierati a dĺžka cicania sa budú riadiť podľa druhu kliešťa a jeho vývinového štádia. Manipulácia s králikmi počas chovu kliešťov nevyžaduje anestéziu, celkovú ani lokálnu. Svrbenie kože a zápalová reakcia sa dostavujú až po odpadnutí nacicaných kliešťov, pretože kliešte do miesta vpichu v koži vpúšťajú protizápalové a imunomodulačné látky, ktoré im umožňujú nerušený príjem potravy a zotrvanie na hostiteľoch. Nepredpokladá sa nutnosť použitia prípravkov na tlmenie bolesti, a ak sa predsa spozoruje zmena správania, ktorá by mohla súvisieť s bolesťou, zvieratám sa podá prípravok na tlmenie bolesti v dávke predpísanej príslušným výrobcom a/alebo sa bude lokálne aplikovať Betadine, prípravok na vyčistenie a dezinfekciu pokožky a rán.

Predpokladaná úroveň krutosti: stredná krutosť

Súlad s požiadavkami „3R“

Nahradenie

Pre kontinuálny chov a kŕmenie väčšieho počtu kliešťov nie je možné nahradiť králiky menšími a vývojovo nižšími druhmi živočíchov. Pre plánované pokusy neexistujú alternatívne metódy. V projekte sa však sleduje a uplatňuje najnovšia legislatíva v súvislosti so smernicami o použití zvierat na vedecké účely, ktorú uzákonil Európsky parlament (smernica 2010/63/EU) a Nariadenie Vlády SR (Zbierka zákonov č. 377/2012) a Vyhláška 436 Ministerstva pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR.

Obmedzenie:

Počet kliešťov kŕmených na králikoch ako aj počet králikov sa obmedzí na nevyhnutné minimum. Opätovné použitie králikov však nie je možné, pretože zvieratá, na ktorých cicajú kliešte, vytvárajú protilátky proti slinným antigénom kliešťov, čo vyvoláva pri cicaní ďalších kliešťov hypersenzitívnu reakciu a následne nedostatočné cicanie až úhyn kliešťov. To môže viesť k vyhynutiu laboratórných chovov a ku skresleniu výsledkov v pokusoch, v ktorých sa sleduje dynamika produkcie biologicky účinných látok v slinných žľazách kliešťov, či expresia vybraných génov. Plánovaný počet králikov je maximálny, ale bude minimalizovaný tak, aby boli udržané laboratórne chovy kliešťov v rozsahu potrebnom pre zabezpečenie kliešťov pre iné pokusy a pre prípravu extraktov slinných žliaz a iných orgánov kliešťov.

Zjemnenie:

Pri manipulácii s králikmi sa budú dodržiavať princípy etického správania sa ku zvieratám. Počas celého pokusu sa budú dodržiavať postupy maximálne zjemňujúce pokus. Máme vypracované postupy, ktoré minimalizujú traumatizáciu zvierat počas manipulácie s nimi. Králiky sú počas manipulácie s nimi upokojuvané hlasom aj dotykmi, vyhýbame sa hluku či prudkým pohybom. Zvieratám bude zabezpečená štandardná starostlivosť, ktorú bude vykonávať len skúsený a personál školený na prácu s laboratórnymi zvieratami - pracovníci pokusného zariadenia. Denne sa bude vykonávať kontrola zdravotného stavu zvierat. Na odpútanie pozornosti králika od nalepených neoprénových krúžkov a kliešťov v nich ako aj na uvoľnenie prípadnej nervozity či agresie sa králikom budú podávať rôzne okusovadlá. Ani v jednom štádiu pokusu nebudú mať zvieratá obmedzený pohyb, ani obmedzený prísun potravy a vody. V prípade potreby bude vykonané humánne ukončenie postupu.

Spätné posúdenie projektu:

Projekt nebude podliehať spätnému posúdeniu