

OBRAZAC 3

Naslov projekta	Razvoj metode za procjenu neurološke škodljivosti virusnih cjepiva		
Trajanje projekta	ožujak 2019. - prosinac 2022.		
Ključne riječi (najviše do 5)	neurovirulencija, mumps, alternativna metoda		
	Svrha projekta (kao u članku 5. Pravilnika):		
	Temeljno istraživanje	da	ne
	Translacijska i primijenjena istraživanja	da	ne
	Korištenje određeno propisima i rutinska proizvoda	da	ne
	Zaštita prirodnog okoliša u interesu zdravlja ili dobrobiti čovjeka ili životinje	da	ne
	Održavanje vrste	da	ne
	Visoko obrazovanje ili osposobljavanje	da	ne
	Forenzička ispitivanja	da	ne
	Održavanje kolonije genetski izmijenjenih životinja koje se ne koriste u drugim postupcima	da	ne
Opisite ciljeve projekta (na primjer, znanstvene nepoznanice ili znanstvene ili kliničke potrebe).	Jedan od ključnih problema s kojima se suočava industrija virusnih cjepiva je pitanje njihove neškodljivosti. Atenuirana virusna cjepiva koja sadrže neurotropne viruse, a među njima su i sva postojeća cjepiva protiv mumpsa, mogu uzrokovati u cijepljenika bolesti središnjeg živčanog sustava odnosno imaju potencijalno neurovirulentan karakter. Stoga pri njihovom razvoju i registraciji regulatorne agencije zahtijevaju provođenje testa procjene neurovirulentnosti. Kod mumpsa se koristi ili test na majmunima ili test na novookočenim štakorima. Test na novookočenim štakorima bazira se na intracerebralnoj inokulaciji virusa te mjerenju veličine razvijenog hidrocefalusa nakon 30 dana. Osnovni mu je nedostatak velika varijabilnost rezultata te je potrebno žrtvovati puno životinja za relevantnu statističku obradu rezultata (minimalno 30 životinja za svaki uzorak; rezultat hrvatskog tehnološkog projekta HITRA-TEST, TP-05/0021-02, glavni istraživač prof. dr. sc. Renata Mažuranić). Dodatni problem je što u sadašnjem formatu testa, njegovi rezultati nemaju prihvatljivu statističku snagu pri utvrđivanju neuropatogenosti nekih od sojeva virusa mumpsa, posebice onih koji su granično atenuirani. Cilj ovog projekta je poboljšati preciznost metode za procjenu neurovirulentnosti sojeva virusa mumpsa na novookočenim štakorima istovremenim praćenjem širenja virusne infekcije u moždanom tkivu te ranog imunološkog odgovora koji prethodi razvoju hidrocefalusa. Svrha projekta je definirati parametre koji bolje koreliraju sa stupnjem virusne neurovirulentnosti nego je to veličina hidrocefalusa nakon 30 dana.		
Koje su potencijalne prednosti za koje je vjerojatno da proizlaze iz ovog projekta (kako znanost može biti unaprijeđena ili kako ljudi ili životinje mogu imati koristi od projekta).	Niti jedna od postojećih metoda za određivanje neurovirulencije sojeva virusa mumpsa ne daje precizne rezultate niti ne korelira s post-marketingkim podacima o neškodljivosti cjepiva. Od projekta će imati koristi: 1) ljudi – novom razvijenom će se metodom moći točnije procijeniti rizik od razvoja neuroloških nuspojava nakon cijepljenja protiv mumpsa 2) životinje – nakon uspostave nove metode, test će kraće trajati, neće dolaziti do razvoja hidrocefalusa u mozgu inficiranih životinja te će stoga očekivana razina telesa postupka biti niža. Očekujemo i da će broj životinja u testu biti manji.		

Ministarstvo poljoprivrede
Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane

Koje vrste i približni broj životinja se očekuje da će se koristiti.	Vrsta: štakor (soj LEW/SsNHsd) Broj: 1174
U kontekstu onoga što se radi na životinjama, što su očekivani negativni učinci na životinjama, vjerojatna / očekivana razina težine postupaka i sudbina životinja?	Razina težine postupaka: Postojeća metoda neurovirulencije na novooslobođenim štakorima (koja će se koristiti tijekom projekta za komparaciju rezultata) se klasificira kao teški pokus, jer u slučaju inokulacije neurovirulentnih sojeva virusa može uzrokovati teške patofiziološke promjene u testiranim životinjama. Očekivana razina težine novouspostavljene metode je blagi ili umjereni pokus (pokus će završiti najkasnije 14. dan, prije mogućeg razvoja teških patofizioloških promjena na životinjama). Sudbina životinja: Sve će životinje na kraju pokusa biti žrtvovane.
Primjena načela 3R	
1. Zamjena Navedite zašto se moraju koristiti životinje te zašto se ne mogu koristiti alternativne metode koje ne uključuju životinje.	Unatoč nedostacima, od svih do sada testiranih modela za određivanje neurovirulencije virusa mumpsa, najbolji se pokazao model novooslobođenih štakora. U ovom projektu nije moguća zamjena životinja modelima organa niti kompjutorskim simulacijama, jer je cilj projekta istovremeno praćenje razvoja virusne infekcije u mozgu te ranih imunoloških reakcija koji prethode razvoju hidrocefalusa.
2. Smanjenje Objasnite kako može biti osigurano korištenje minimalnog broja životinja.	U pokusima u kojima ćemo koristiti postojeću metodu na novooslobođenim štakorima, planiramo koristiti minimalni broj životinja koji daje prihvatljivu statističku snagu. Za pokuse koji za cilj imaju uspostavu nove metode, do sada nisu obavljena preliminarna istraživanja. Na temelju naših iskustva s drugim neurotrofnim virusima i literaturnih podataka, namjeravamo koristiti minimalan broj životinja za koji očekujemo da će jamčiti pouzdanost dobivenih rezultata, a bez potrebe za ponavljanjem pokusa. Ovaj projekt dio je šireg istraživanja koje za konačan cilj ima iznalaženje zamjenske <i>in vitro</i> metode za određivanje neurovirulentnog potencijala virusa mumpsa.
3. Poboľšanje Objasniti izbor vrsta i zašto su korišćeni životinjski modeli primjereniji od drugih, uzimajući u obzir znanstvene ciljeve. Objasniti opće mjere koje će se poduzeti kako bi se smanjile štete za životinje.	Već i sam odabir štakora kao životinjske vrste na kojoj se testira neurovirulencija virusa mumpsa rezultat je istraživanja na zamjenskim modelima (štakorski model neurovirulencije zamjenski je model za primatu). Životinjama će se osigurati optimalni uvjeti okoliša, a voda i hrana će im cijelo vrijeme biti posuđeni <i>ad libitum</i>. Pri provođenju postupaka posebna će se pažnja pridavati izbjegavanju patnje životinja. Kontinuiranim praćenjem (pomoću obrasta za kliničko ocjenjivanje) procjenjivat će se stanje životinja, a ukoliko se uoči negativan učinak pokusa na rast i razvoj mladunčeta, provesti će se humanitarna eutanazija.