

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**Katedra obecné zootechniky a etologie**



**Prase (*Sus scrofa domestica*) jako laboratorní zvíře a jeho  
využití v experimentech**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Markéta Šlajerová**

**Vedoucí práce: Ing. Renata Masopustová, Ph.D.**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Prase (*Sus scrofa domestica*) jako laboratorní zvíře a jeho využití v experimentech“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze, dne: ..... \_\_\_\_\_

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala Ing. Renatě Masopustové, Ph.D. za cenné rady a vedení mé diplomové práce. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Nadě Helmerové za úpravu českého jazyka, za rady týkající se statistické analýzy děkuji Ing. Petru Hoškovi. Za podporu při psaní děkuji rodině a přátelům, zejména panu Kotletovi. Za podporu během celého navazujícího magisterského studia děkuji kolegům z Ústavu histologie a embryologie Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Plzni.

# Prase (*Sus scrofa domestica*) jako laboratorní zvíře a jeho využití v experimentech

---

## Souhrn

Diplomová práce na téma využití laboratorních prasat v biomedicinském výzkumu, je zaměřena na přehledné popsání fylogeneze a domestikace druhu *Sus scrofa* a vznik jeho domestikované formy *Sus scrofa domestica*, laboratorního chovu, výživy, nároků na prostor a veterinárních podmínek. Fyziologická a anatomická podobnost prasete s lidským organismem nabízí široké spektrum využití v různých odvětvích lékařského bádání. Prasata, potažmo plemena miniprasat bývají součástí preklinického testování léků, v oblasti toxikologie. V dermatologii jsou často experimentálním modelem při hojení ran a popálenin, případně při studiu melanomu. Kardivaoskulární systém prasat bývá využit v souvislosti se vznikem aterosklerózy nebo vrozených srdečních vad. Všežravost prasat umožňuje testování doplňků stravy, také je u nich sledován vznik diabetu, žaludečních vředů nebo cirhózy jater. Právě játra a jejich schopnost regenerace je u laboratorních prasat středem zájmu mnoha výzkumných skupin po celém světě. Centrální nervová soustava prasat nabízí možnost studia mrtvice či poškození míchy. U transgenních zvířat je studována Huntingtonova choroba a možnosti její léčby u člověka. Titanové implantáty a různé typy biomateriálů bývají experimentálně vpraveny do kostry prasete, následně jsou zkoumány reakce a hojení kosti. Na poli experimentálních xenotransplantací by se v budoucnu mohly kmeny geneticky uravených prasat stát zdrojem orgánů pro člověka. Zatím nedořešeným problémem je „HAR-Hyperacute Rejection“, tedy akutní odmítnutí transplantované tkáně a také nebezpečí přenosu některých nemocí z prasat na člověka. Přínos experimentálních prasat má nesporný význam a je třeba tento potenciál rozumně a cíleně využít, bez plýtvání pokusnými zvířaty a jejich zbytečné bolesti. Důraz by měl být kladen na dodržování legislativních norem a koncepce „3R“.

Současný chov laboratorních prasat je na vysoké úrovni. Bohužel, jeho velkým nedostatkem v celosvětovém měřítku je neúplnost vykázaných dat, týkajících se reálných hodnot použitých prasat v experimentech.

V České republice bylo nejvíce laboratorních prasat použito v roce 1994, přesně 6 882 ks, v roce 1998 bylo využito 7 122 ks, vyšší počet laboratorních prasat byl vykázán také za rok 2009, tedy 4445 ks. Za poslední roky se počty použitých laboratorních prasat v České republice ustálily kolem průměrné hodnoty 2400 ks. Pomocí Mann-Whitney U testu byly porovnány hodnoty využitých laboratorních prasat České republiky a Evropské unie, v přepočtu na obyvatele. Z výsledné hodnoty  $p=0,486 > \alpha=0,05$  vyplývá, že nebyl prokázán rozdíl ve využití experimentálních prasat mezi Českou republikou a ostatními členskými zeměmi Evropské unie. Na základě provedeného statistického šetření lze konstatovat, že výkyvy a trendy ve využití laboratorních prasat v České republice nekopírují ty evropské. Stanovená hypotéza byla tímto potvrzena.

**Klíčová slova:** prase domácí, laboratorní model, *Sus scrofa domestica*, biomedicínské experimenty

## **Pig (*Sus scrofa domestica*) as a laboratory animal and its use in experiments**

---

### **Summary**

The thesis on the topic of the use of laboratory swine in biomedical research is focused on the detailed description of phylogeny and domestication of the species *Sus scrofa* and the origin of its domesticated form *Sus scrofa domestica*, a laboratory breeding, nutrition, requirements for space and the animal health conditions. Physiological and anatomical similarities pig with the human organism offers a wide range of the applications in various sectors of the medical research. Pigs, or rather the mini pig breeds are part of the preclinical testing of drugs in toxicology. In dermatology tend to be an experimental model in the healing wounds and burns, or the study of melanoma. Cardiovascular system of pigs is used in connection with the formation of atherosclerosis and congenital heart defects. The omnivorousness of pigs to test of dietary supplements; is also monitored in experimental diabetes, gastric ulcer or cirrhosis of the liver. Just the liver and their ability to regenerate them is in the laboratory pigs the focus of many research groups around the world. The central nervous system offers the opportunity to study stroke, or spinal cord injury. In transgenic animals is studied Huntington's disease and its treatment in humans. Titanium implants and various types of biomaterials are injected into the skeletal system of a pig, then reactions and bone healing are examined. In the area of experimental xenotransplantation could in the future be strains of genetically modified pigs become a source of organs for humans. While unresolved problem is the "HAR-Hyperacute Rejection" so rejection of the implant, and the risk of transmission of certain diseases from pigs to humans. Payoff experimental pigs is of undoubted importance and need this potential wisely and purposefully use, without wasting experimental animals and unnecessary pain. Emphasis should be placed on adherence to regulatory compliance and the concept of „3R“.

Actual laboratory pigs breeding is at a high standard. Unfortunately, his major weakness on global scale is incomplete reported data related to exact values used pigs in experiments.

In the Czech Republic was the most laboratory pigs used in 1994 exactly 6882 pieces, in 1998 has been used 7122 pieces, higher number of laboratory swine was also reported for the year 2009, namely 4445 pieces. In recent years, the numbers of used laboratory pigs in the Czech Republic have settled around an average value of 2,400 pieces. Using the Mann-Whitney U test were compared to the values used in the laboratory pigs Czech Republic and the European Union, on a per capita basis. From the resulting value of  $p = 0.486 > \alpha = 0.05$  it follows, that was not proved a difference in the use of experimental pigs between the Czech Republic and the other member states of the European Union. On the basis of the carried out statistical survey, it can be concluded that the fluctuations and trends in the use of laboratory pigs in the Czech Republic do not replicate those european. The established hypothesis was confirmed.

**Keywords:** pig, laboratory model, *Sus scrofa domestica*, biomedical experiments

# Obsah

## SEZNAM GRAFŮ A TABULEK

<b>1 ÚVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA</b> .....	<b>2</b>
<b>3 LITERÁRNÍ PŘEHLED</b> .....	<b>3</b>
3.1 TAXONOMICKÉ ZAŘAZENÍ PRASETE DOMÁCÍHO <i>SUS SCROFA DOMESTICA</i> .....	3
3.2 FYLOGENEZE <i>SUS SCROFA DOMESTICA</i> .....	4
3.3 PŮVODNÍ VÝSKYT A DOMESTIKACE DRUHU <i>SUS SCROFA</i> .....	5
3.4 CHOV LABORATORNÍCH PRASAT .....	6
3.4.1 Fyzikálně-chemické požadavky na prostředí laboratorního chovu .....	8
3.4.2 Zoohygiena chovatelských prostor .....	10
3.4.3 Krmení, napájení a výživa prasat v laboratorních podmínkách.....	12
3.4.4 Veterinární péče, onemocnění a parazité v laboratorním chovu prasat ....	18
3.4.5 Onemocnění a jejich původci v laboratorním chovu prasat .....	20
3.4.6 Obohacené prostředí a manipulace s prasaty v laboratorním chovu .....	25
3.5 VÝZNAM „3R“ A MOŽNOSTI NAHRAZENÍ ŽIVÝCH MODELŮ V EXPERIMENTECH .....	27
3.6 LEGISLATIVA A OCHRANA POKUSNÝCH ZVÍŘAT .....	28
3.7 PRASE JAKO EXPERIMENTÁLNÍ ZVÍŘE A PŘÍKLADY JEHO VYUŽITÍ.....	30
3.7.1 Plemena prasat využívaná v experimentech .....	33
3.7.2 Prasata v biomedicínském výzkumu.....	35
3.7.3 SPF prasata .....	42
<b>4 MATERIÁL A METODIKA</b> .....	<b>44</b>
4.1 Materiál .....	44
4.1.1 Analyzovaná data.....	44
4.1.2 Použité programy a databáze .....	44
4.2 Metodika .....	45
4.2.1 Statistické šetření .....	45
4.2.2 Závislost pozorování.....	46



<b>5 VÝSLEDKY</b> .....	<b>47</b>
5.1 Pearsonova korelace.....	47
5.2 Časové trendy.....	47
5.3 Porovnání spotřeby laboratorních prasat v ČR a ostatních zemích EU .....	49
<b>6 DISKUZE</b> .....	<b>52</b>
<b>7 ZÁVĚR</b> .....	<b>59</b>
<b>8 SEZNAM LITERATURY</b> .....	<b>60</b>
<b>9 SEZNAM PŘÍLOH</b> .....	<b>87</b>
<b>10PŘÍLOHY</b> .....	<b>I-XI</b>

## SEZNAM GRAFŮ

**Graf č. 1:** Spotřeba laboratorních prasat v ČR v letech 1994-2014

**Graf č. 2:** Výsledky porovnání spotřeby prasat v ČR a ostatních zemí EU

## SEZNAM TABULEK

**Tabulka č. 1:** Doporučené minimální rozměry chovatelských prostor pro laboratorní prase

**Tabulka č. 2:** Mezní hodnoty teplot v laboratorním chovu prasat

**Tabulka č. 3:** Kontrolní klinické vyšetření laboratorních prasat

**Tabulka č. 4:** Příklady utrpení a prožitků laboratorních zvířat souvisejících s pokusem

**Tabulka č. 5:** Předzpracování dat

**Tabulka č. 6:** Výsledky v rámci ČR

**Tabulka č. 7:** Výsledky ve zbytku EU

**Tabulka č. 8:** Výsledky porovnání spotřeby v ČR a ostatních zemí EU

**Tabulka č. 9:** Popisná statistika ČR

**Tabulka č. 10:** Popisná statistika zbytku EU

**Tabulka č. 11:** Počty laboratorních prasat a obyvatel ve členských zemích EU

**Tabulka č. 12:** Počty laboratorních prasat použitých v České republice, v letech 1995-2014

# 1 ÚVOD

Prase domácí *Sus scrofa domestica* spadá do řádu sudokopytníků a patří do čeledi prasatovití. Tento druh byl domestikován před asi 10 000 lety a už jeho divoký předek sloužil jako kořist prvním lovcům.

S postupem času člověk prasata nejen lovil, ale také je začal chovat a šlechtit. Počátek dnešních kulturních plemen spadá do konce 19. století a díky tomuto úsilí vzniklo široké spektrum plemen s možnostmi využití i mimo zemědělskou oblast, např. v zájmovém či laboratorním chovu. Za posledních 30 let skutečně došlo k výraznému prosazení prasete domácího v lékařském výzkumu. A to především kvůli značným anatomickým a fyziologickým podobnostem orgánových soustav s člověkem.

Přínos prasete domácího v preklinickém testování je evidentní, ovšem i při pokusech na tomto hospodářském zvířeti by měl být kladen důraz na cílené a účelné využití každého jednotlivého prasete.

## 2 CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA

Cílem této diplomové práce je přehledně popsat problematiku chovu prase domácího *Sus scrofa domestica* v laboratorních podmínkách, včetně SPF prasat. Konkrétně budou definovány podmínky chovu, potravní nároky a veterinární péče, tak jak by měly být realizovány v praxi.

Součástí tohoto tématu bude také legislativní ochrana laboratorních zvířat a možnosti nahrazení živých zvířat v pokusech, dle pravidla „3R“. Práce se bude dále zabývat světovým biomedicinským výzkumem prováděným na laboratorních prasatech, především v oblasti toxikologie, kardiologie, xenotransplantace, experimentální chirurgie a histologie.

Závěr této práce bude věnován zhodnocení počtu použitých prasat v České republice a Evropské unii a jejich přínosu ve výzkumu a vzdělávání.

V práci byla stanovena následující hypotéza: „Mezi Českou republikou a ostatními členskými státy Evropské unie není ve spotřebě experimentálních prasat statisticky významný rozdíl“.

### 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

#### 3.1 TAXONOMICKÉ ZAŘAZENÍ PRASETE DOMÁCÍHO *SUS SCROFA DOMESTICA*

Taxonomické zařazení *Sus scrofa domestica* bylo převzato podle Wilson a Reeder (2005), Mammal Species of the World.

Říše: živočichové	ANIMALIA
Kmen: strunatci	CHORDATA
Podkmen: obratlovci	VERTEBRATA
Třída: savci	MAMMALIA
Podtřída:	ŽIVORODÍ
Infratřída: placentálové	EUTHERIA
Řád: sudokopytníci	ARTIODACTYLA
Podřád: nepřezvýkaví	NONRUMINANTIA
Čeleď: prasatovití	SUIDAE
Podčeleď: pravá prasata	SUINAE
Druh: prase divoké	<i>Sus scrofa</i> Linnaeus, 1758
Forma: prase domácí	<i>Sus scrofa domestica</i> Linnaeus, 1758

### 3.2 FYLOGENEZE *SUS SCROFA DOMESTICA*

Fylogenetický vývoj sudokopytníků je studován na základě jejich chrupu. Končetiny primitivních sudokopytníků mají mnoho společného s prašelmami. Dodnes nejsou známy přechodné formy (Musil, 1987). Množství lebek a koster současných divokých prasat *Sus scrofa*, z celého světa bylo použito pro srovnávací měření zubů a kostí s archeologickými vzorky prasat. Naměřené údaje poskytly užitečné informace pro rekonstrukci období holocénu, poznatky poukazují na velkou variabilitu původních prasat a poskytují základní linie, které se používají pro interpretaci archeologických nálezů. Je prokázáno, že velikost, ale také tvar zubů a tvar dolní čelisti je důležitým prvkem při rozpoznávání variability divokých prasat z různých oblastí. (Albarella et al., 2009).

První sudokopytníci, podobně jako první lichokopytníci se objevili počátkem eocénu, před 55–37 mil. lety, a to v celé řadě vývojových linií. Eocenní sudokopytníci byli ve svém vývoji mnohem méně pokročilí než současně s nimi žijící lichokopytníci, přestože vytvořili již tehdy velké množství forem.

Mezi zástupci *Suiformes* byly nalezeny různé skupiny, mnohé již dávno vymřelé; paří sem např. primitivní zástupci nadčeledi Dichobunoidea ze starších třetihor. Jsou to nejstarší a nejprimitivnější původní sudokopytníci, a i přes jasné morfologické spojitosti nejsou považováni za bezprostřední předky sudokopytníků. Jejich domovem byla Severní Amerika a Eurasie. Vedle těchto předků existuje nadčeleď štětinači Suoidea, ze které v oligocénu, před 37–22,5 mil. lety, vznikli první prasatovití ve Starém světě a pekariovití v Severní Americe. I když jsou obě skupiny blízce příbuzné, vyvíjely se během fylogenetické historie odděleně. Rozdíly mezi nimi se týkají především chrupu a lebky, končetiny zůstaly nezměněné. Nejstarší nálezy ukazují morfologické vztahy k výše uvedené nadčeledi Dichobunoidea z eocénu. Přestože fylogenetický vývoj skupin začal v Evropě a Severní Americe téměř ve stejnou dobu, za místo skutečného původu je považována Asie (Musil, 1987). Toto potvrzují i výsledky molekulárně-genetických analýz, podle kterých má *Sus scrofa* původ v jihovýchodní Asii (Groenen et al., 2012). Nejstarším prasetem v Evropě je *Propalaeochoerus* (Stehlin 1899) ze středního oligocénu.

Bylo to poměrně malé zvíře se středně dlouhýma nohama, ještě s pěti prsty na předních končetinách a dlouhou nízkou lebkou. Špičáky byly velmi dobře vyvinuté. Evoluce prasat byla poznamenána postupným zvětšováním jejich velikosti, především prodlužováním lebky a větší komplikovaností stavby stoliček. Ke konci třetihor došlo k rozdělení do více vývojových skupin (Musil, 1987).

Všechny druhy laboratorních zvířat vznikly z původních divokých předků. Během chovu v zajetí se změnily, ale jejich původ je stále plně prokazatelný. Předpokladem tedy zůstává, že jejich přirozené chování je z velké části zděděno právě po těchto předcích (Lane-Petter, 1969).

### **3.3 PŮVODNÍ VÝSKYT A DOMESTIKACE DRUHU *SUS SCROFA***

Začátek procesu domestikace je datován do období před 10 000 lety, kdy byla prasata domestikována na více lokalitách Eurasie (Groenen et al., 2012). Podobně Mason (1984) tvrdí, že prasata byla nejdříve domestikována před 9 000 lety na Blízkém východě. Divoké prase bylo důležitou kořistí prvních lovců a sběračů v celé rozsáhlé oblasti Eurasie. Bylo domestikováno jako jedno z prvních zvířat (Rothschild a Ruvinsky, 1998). Při zkoumání genetického původu prasete domácího došlo k odhalení mnoha center domestikace napříč celou Eurasií (Larson et al., 2005). Je velice pravděpodobné, že došlo k nezávislé domestikaci prasat v Evropě a Asii. Tento fakt potvrzují sekvence DNA. Některé vykazují příbuznost domácích prasat s evropským prasetem, jiné příbuznost se sekvencemi asijských divokých prasat. K oddělení těchto dvou linií ze společného předka došlo údajně před 500 000 lety, tedy mnohem dříve, než je datován začátek domestikace (Giuffra et al., 2000).

Výsledky analýz DNA potvrzují rozdíly mezi současnými asijskými a evropskými prasaty (Watanabe et al., 1986; Okumura et al., 1996). Vývoj současných evropských plemen ovlivnila také plemena asijská, jak píše Giuffra et al. (2000). Ti popsali, že k přílivu genů došlo v průběhu 18. a na počátku 19. století.

Další studium prasečího genomu představuje důležitý zdroj informací pro zlepšení užitečnosti i zdravotního stavu zvířat chovaných na užitkových farmách, což pozitivně rozšiřuje potenciál prasete jako biomedicínského modelu (Groenen et al., 2012).

### 3.4 CHOV LABORATORNÍCH PRASAT

Je třeba zdůraznit, že optimální podmínky v laboratorním chovu nejsou a nemohou být imitací přirozeného prostředí původních divokých předků. Pro úspěšný laboratorní chov a ošetřování jsou vždy dány podmínky odpovídající biologickým potřebám zvířete (Lane-Petter, 1969). Požadavky na prostředí, genetické a mikrobiologické standardy, prevence nemocí v chovu a jejich léčení, zlepšování experimentálních technik, anestezie, analgezie a eutanázie, alternativy k pokusům na zvířatech a etika chovu by měly co nejvíce respektovat biologii zvířete (Baumans, 2007), měly by být v dnešní době samozřejmostí v každém výzkumném zařízení.

V laboratorním chovu se chovatelský prostor pro zvířata dělí na mikro- a makroprostředí. Mikroprostředím se rozumí životní prostor zvířat, tedy výběh, klec, kotec nebo stáj. To je dále charakterizováno řadou faktorů, kterými jsou osvětlení, hluk, vibrace, teplota, vlhkost, plyny, vzduch a v něm obsažené částice. Jako makroprostředí se označují fyzikální vlastnosti druhotně využívaných prostor, tedy dalších vnitřních výběhů, chovatelských místností a venkovních výběhů (NRC, 2011). Zhodnocení a stabilizace mikroprostředí uzavřených prostorů může být obtížná, protože teplota, vlhkost a koncentrace plynů a částic jsou často vyšší než v makroprostředí (Besch 1980; Hasenau et al 1993; Perkins a Lipman 1995 E. Smith et al., 2004).

Podmínky mikroprostředí mohou mít vliv na fyziologii chovaných zvířat, dále můžou měnit chování a také citlivost k různým onemocněním (Baer et al., 1997; Broderson et al, 1976; Memarzadeh et al., 2004; Schoeb et al., 1982; Vesell et al., 1976). V posledních deseti letech se klade důraz na životní prostředí přizpůsobené chovaným laboratorním druhům tak, aby splňovalo i jejich behaviorální potřeby (Baumans, 2007). Prase domácí je velmi sociální, mělo by být ustájeno ve stabilních dvojicích nebo fungujících skupinách. Pro udržení stabilního hierarchického uspořádání je vhodné do skupiny umístit maximálně 10–15 zvířat (NRC, 2011). V ustálených skupinách zvířat není dobré dělat přesuny jedinců. Pokud je přeskupení nutné, provádí se tak, že se neznámá prasátka spojí v nově vyčištěném kotci před krmením nebo dobou odpočinku.



Dospělí kanci a dospělé prasnice jsou ustájeni jednotlivě (Smith a Swindle, 2006) a to se děje, jen pokud to vyžaduje pokus nebo je toto zvíře neschopné začlenit se do páru či skupiny. V takové situaci je vhodné, aby zvíře mělo alespoň vizuální či pachový vjem od ostatních jedinců svého druhu (NRC, 2011).

Počet prasat	Váha v kg	Plocha v m <sup>2</sup>
1	<15	0,72
	do 25	1,08
	do 50	1,35
	do 100	2,16
	do 200	4,32
	>200	≥5,4
2 až 5	<25	0,54
	do 50	0,9
	do 100	1,8
	do 200	3,6
	>200	≥4,68
více než 5	<25	0,54
	do 50	0,81
	do 100	1,62
	do 200	3,24
	>200	≥4,32

**Tabulka č. 1:** Doporučené minimální rozměry chovatelských prostor pro laboratorní prase, dle National Research Council (2011)

Kotce musí být pevné konstrukce, krmítka a misky musí být pevně uchyceny k této konstrukci, viz obrázky v Příloze č. 1 a č. 2. Jinak by mohlo dojít ke zničení nebo zranění prasat (Smith a Swindle, 2006). Ubikace pro zvířata by měla splňovat podmínky pro dostatečný a bezpečný pohyb a splnění fyzických, fyziologických a etologických potřeb. Je prokázáno, že prostředí, které tyto podmínky nesplňuje, může způsobit abnormální vývoj mozku, fyziologické dysfunkce a poruchy chování (Garner, 2005; Van Praag et al., 2000; Würbel, 2001), následně může být negativně ovlivněn experiment. Povrch podlahy v kotcích bývá jednoduší a pevný nebo s rošty. Betonové podlahy by měly mít texturu a měly by poskytovat bezpečný pohyb bez rizika uklouznutí; součástí roštové podlahy by měl být prostor bez roštů určený k ležení, např. vybavený také podestýlkou (Smith a Swindle, 2006).

Roštové podlahy snižují pracnost údržby kotců, ale musí být koncipovány tak, aby otvory v nich měly správnou velikost (Swindle et al., 1994). Obecně platí, že při ustájení na roštové podlaze je důležitá péče o spárky na končetinách prasat, protože nedochází k přirozenému obrušování jako na podlaze s jednolitým povrchem. Při použití tohoto druhu podlahy je také obtížnější udržet správnou teplotu mikroprostředí (Smith a Swindle, 2006). Prasata si ve svých ubikacích vytvářejí hnojiště, většinou na protilehlém konci od místa, kde jsou krmena (Swindle, 1998).

### 3.4.1 Fyzikálně-chemické požadavky na prostředí laboratorního chovu

#### 3.4.1.1 Teplota

Doporučená teplota pro dospělá zvířata se pohybuje v rozmezí 10–25 °C, pro selata je vhodná teplota 15–32 °C, v závislosti na jejich konkrétní velikosti. Selatům lze také umístit do rohu ubikace výhřevnou lampu, která udrží teplotu kolem 30–32 °C. Teplotní optimum pro miniaturní prasata se pohybuje v rozmezí 24–26 °C (Swindle et al., 1994). Při optimalizaci teplotních podmínek musí být vždy vzato do úvahy stáří, velikost a kondice zvířat a rozdíly mezi teplotou prostředí a teplotou podlahy (Fischer, 1993).

	Průměrná rektální/ Intrapéritoneální teplota °C	Termoneutrální zóna °C	Nejnižší tolerovaná teplota prostředí °C	Nejvyšší tolerovaná teplota prostředí °C
Prase domácí ( <i>Sus scrofa domestica</i> )	39,2 (38,7 - 39,8)	16-23	-20	35

**Tabulka č. 2:** Mezní hodnoty teplot v laboratorním chovu prasat

(Zdroj: //www.ncbi.nlm.nih.gov)

### **3.4.1.2 Ventilace**

Funkcí ventilace je zajištění čistého čerstvého vzduchu a stálého prostředí u zvířat. Musí zajistit dostatečný přísun kyslíku, odstranit tepelnou zátěž způsobenou zvířaty, osvětlením a personálem, dále ředit plyny a odčerpávat patogenní a alergenní částice (NRC, 2011). V obytných místnostech je častá výměna vzduchu nezbytná, v praxi se vzduch mění 5krát až 10krát za hodinu (Lane-Petter, 1969). Swindle (1992) doporučuje výměnu vzduchu dokonce 15krát za hodinu při relativní vlhkosti vzduchu 40–70 %.

Pro optimální stanovení výměny vzduchu je vhodné využít počítačového modelování v oblasti tepelné zátěže, difuze vzduchu a pohybu částic v mikro- a makroprostředí (Hughes a Reynolds, 1995). Součástí kvalitní ventilace je i volba správného zoohygienického režimu ve zvěřinci (Lane-Petter, 1969).

### **3.4.1.3 Osvětlení**

Světlo může mít vliv na fyziologii a chování laboratorních zvířat (Azar et al., 2008; Brainard et al., 1986; De Vera Mudry et al., 2013; Erkert a Grober, 1986; Newbold et al., 1991; Tucker et al., 1984). Jako světelný stresor může být brán nevhodně zvolený režim fotoperiody, intenzita světla nebo kvalita světla (Stoskopf, 1983). Při volbě světelného režimu v chovatelských prostorách je třeba vzít v úvahu velké množství faktorů, např. zmíněná intenzita světla nebo délka trvání světelné periody, dále cirkadiánní rytmus daného druhu, pigmentace chovaných zvířat, tělesná teplota, hormonální stav, věk, pohlaví a celková aktivita zvířete (Dauchy et al., 2011; Duncan a O'Steen, 1985; Semple-Rowlaa Dawson, 1987; Wax, 1977). Vhodné osvětlení pro zvířata se podobá trvalému přišeeří, avšak to je nepřijatelné pro personál, který zde pracuje (Lane-Petter, 1969). Platí, že osvětlení by mělo být rovnoměrně rozptýleno po celém chovném prostoru, mělo by umožnit pravidelnou kontrolu zvířat, běžné zoohygienické postupy a bezpečnost personálu při práci (NRC, 2011). Intenzita osvětlení 40–80 luxů by měla být dostatečná, v tomto osvětlení jsou prasata schopna rozlišit i malé předměty, tento fakt není zcela potvrzen.

Zvířatům chovaným trvale v prostorách jen s umělým osvětlením musí být poskytnuta doba odpočinku od tohoto zdroje světla (Taylor, 2010).

#### **3.4.1.4 Hluk**

Hluk produkovaný zvířaty a činností péče o ně je spjatý s provozem zvěřince (Pfaff a Stecker, 1976). Produkce hluku by měla být kontrolována a současně s tím by měly být navrženy jednotlivé pracovní úkony provozu (Campo et al., 20105; Kight a Swaddle, 2011). Možné nežádoucí účinky hluku na zvíře jsou důvodem k posouzení intenzity, frekvence, rychlosti nástupu, trvání zvuku a rozsahu sluchu chovaných zvířat (NRC, 2011). Rušivé procesy (Sales et al., 1999) a také materiály, které produkují hluk, se tak mohou stát neřízenou proměnnou ve výzkumných experimentech (Turner et al., 2007; Willott, 2007). Prasata jsou relativně netečná vůči hluku, i když sama jsou velmi hlučná. Avšak náhlé a extrémně hlasité zvuky je mohou vystrašit.

Jejich odpovědí bývá hlasový projev nebo snaha uniknout (Smith a Swindle, 2006). Proto je třeba významně zvážit veškeré aktivity, které generují hluk. Ty by měly být prováděny v místnostech oddělených od těch, které slouží k ustájení zvířat (NRC, 2011). Rádia, alarmy a další zvukové generátory by neměly být používány v chovné místnosti a zároveň veškeré tyto přístroje by měly být vypnuty na konci pracovního dne, aby se minimalizoval zbytečný hluk způsobující nepříznivé fyziologické změny (Baldwin, 2007). Prasata patří mezi hlučnější experimentální zvířata, proto je vhodné je umístit ve zvěřinci dál od klidnějších druhů, kterými jsou králíci, hlodavci a kočky (Peterson, 1980).

#### **3.4.1.5 Vibrace**

V každém chovatelském zařízení a ustájení zvířat jsou přítomny minimální vibrace. Nadměrné vibrace jsou spojovány s negativními biochemickými změnami u laboratorních zvířat (Briese et al., 1984; Stephens a Adams, 1982). Stejně jako hluk se mohou stát nekontrolovatelnou proměnnou v experimentu.

#### **3.4.2 Zoohygiena chovatelských prostor**

Hygiena v laboratorním chovu je důležitá pro udržení zdraví prasat. Exkrementy a zbytky potravy jsou substrátem pro mikrobiální růst, lákají hmyz a hlodavce, kteří by se mohli stát vektory různých onemocnění (Bollen et al., 2000). Čištěním ubikací se odstraňuje nadměrné množství výkalů, špíny a nečistot.

Dezinfekce snižuje nebo eliminuje nepříjemné koncentrace mikroorganismů. Cílem sanitárního programu by mělo být udržení dostatečně čisté a suché podestýlky, čistých ubikací, příslušenství a odpovídající kvality ovzduší (Castelhana-Carlos a Baumans, 2009). Pokud jsou prasata ustájena na pevné podlaze s podestýlkou, provádí se denní odstranění výkalů se znečištěnou podestýlkou. Zametání by mělo být minimalizováno, aby se zabránilo víření prachu. Podlahy ubikací, chodeb a užitkových místností se zbavují hrubých nečist a důkladně se omývají (Bollen et al., 2000). Rozvržení úklidových prací by mělo zajišťovat to, že zvířata zůstanou čistá a suchá. Pooperační stavy v průběhu experimentu vyžadují čistý a suchý prostor pro pokusné zvíře.

Některé experimentální protokoly mohou vyžadovat zvláštní zoohygienické techniky, např. aseptickou manipulaci nebo častější výměnu podestýlky (NRC, 2011). Je nutné najít rovnováhu mezi čištěním ubikací a nežádoucím rušením zvířete (Lane-Petter, 1969).

U prasat ustájených na roštové podlaze se stává, že jsou výkaly udusány na rošttech, zatímco moč odtéká. V tomto případě jsou výkaly splachovány do odpadního kanálu směřovaného do jímky. Roštové podlahy musí být kontrolovány denně a výkaly nahromaděné v rozích by měly být odstraněny (Bollen et al., 2000). Při použití dezinfekčních prostředků jde vždy o kombinaci dvou faktorů, tedy teploty dezinfekčního roztoku a dobu působení. Účinnou dezinfekcí může být čištění při 82,2 °C, sanace klecí a zařízení ručně teplou vodou s detergenty nebo dezinfekčními prostředky může být efektivní, ale vyžaduje značnou pečlivost. Dezinfikovaný povrch musí být velmi důkladně opláchnut (NRC, 2011). V praxi se běžně používají vysokotlaké čističe. Tento způsob sanitace se provádí bez dezinfekčních přípravků. Prostor se dezinfikuje před použitím vysokotlakého přístroje. Vysokotlaké čištění se používá na podlahy, stěny, oplocení, žlaby, pitné zařízení a také na omyvatelné prvky enrichmentu (Bollen et al., 2000).

Neexistuje přesná metodika péče o chovatelské prostory, vždy záleží na odborném úsudku personálu. Velký význam má ověřování podmínek mikroprostředí, např. množství amoniaku v ovzduší, CO<sub>2</sub>, mikrobiologické zatížení, pozorování vzhledu a chování zvířat či stav podestýlky nebo povrchů v ubikacích. Významná je znalost biorytmu zvířat, především fyziologické procesy v zažívacím traktu.

Pravidlem je, že po nakrmení zvířat dochází k defekaci (NRC, 2011). Také přenos do čisté klece znamená rušivý zásah do biorytmu zvířete. Tento přesun donutí zvíře k novému označení prostoru močí a zároveň je s tímto spojena i zvýšená aktivita (Lane-Petter, 1969), která opět může vést k defekaci.

Pokud jsou v laboratorním chovu prasat využity automatické napájecí systémy, je dobré, aby zde byl vybudován mechanismus, který zajistí periodické proplachování větším množstvím vody nebo vhodnými chemickými látkami s následným důkladným oplachem (NRC, 2011).

### **3.4.3 Krmení, napájení a výživa prasat v laboratorních podmínkách**

Prasata jsou všežravá a používají svůj silný rypák pro rytí při hledání potravy. Volně žijící prasata jsou aktivní za soumraku, za svítání a v noci. Většinu svého aktivního času tráví sháněním potravy; krmí se prakticky neustále malým množstvím potravy.

V laboratorním chovu je třeba striktně stanovit krmnou dávku. Pokud jsou prasata krmena *ad libitum*, stávají se obézními. Vhodnou kombinací je nízkoenergetická dávka v dostatečném objemu (Bollen et al., 2000). Součástí krmné dávky je také neomezený přístup k čisté vodě (Smith a Swindle, 2006). Řešením je automatický systém napájení prostřednictvím kolíkové nebo miskové napáječky (Bollen et al., 2000). Automatický napájecí systém musí být často kontrolován a udržován jak po stránce technické, tak i zoohygienické. V ubikacích je nutné vytvořit krmný a napájecí prostor tak, aby nemělo permanentní výhodu dominantní zvíře (NRC, 2011). Skutečná spotřeba vody bývá často nadhodnocena, protože prasata si ráda hrají s napáječkou a vodou plýtvají. Přibližně 120 ml/kg vody je spotřebováno u prasat krmených suchými peletami, rychlost průtoku vody v automatickém napájecím systému by se měla pohybovat kolem 0,5 l/min. Pokud není automatický systém napájení k dispozici, naplní se koryto vodou poté, co zvíře krmivo sežere. Případně je možné využití komerční diety, která se přímo smíchá s vodou (Bollen et al., 2000).

### 3.4.3.1 Výživové nároky

National Research Council (NRC, 2011) ustanovil podrobné informace o složení diety pro laboratorní prasata včetně energie, bílkovin, aminokyselin, minerálních látek a vitamínů. Tato doporučení jsou stanovena jako minimální hodnoty při metodě krmení *ad libitum* a neměla by být chápána jako standard ve výživě laboratorních zvířat (Bollen et al., 2000).

Potřeba živin u prasat se obecně řadí do šesti tříd: voda, sacharidy, tuky, bílkoviny – konkrétně aminokyseliny, minerály, vitamíny a energie. Ačkoli energie není konkrétní živinou, je důležitou nutriční složkou; je odvozena z oxidace sacharidů a tuků. Mikrobiální doplňky, jako prebiotika a probiotika, enzymy a jiné, se do krmiv přidávají pro zlepšení stravitelnosti a nejsou považovány za živiny (NRC, 2011).

### 3.4.3.2 Energie

Energie je důležitou součástí ve výživě prasat. Je nezbytná pro všechny metabolické procesy a pro udržení zdraví zvířat. Jedná se o regulaci tělesné teploty, řízení tělesných tekutin, dýchání, trávení, průtok krve, svalový tonus, obnovu tkání a další. Energetické nároky prasat by měl pokrýt obsah základních živin v dietě (Patience, 2009); tato energie je součet hrubých energií sacharidů, tuků a bílkovin. Podíl hrubé energie, která může být zvířetem využita, závisí na její stravitelnosti (Carter et al., 2004).

Energie je nejdražší složkou v prasečích dietách, proto jsou krmné složky neustále analyzovány, optimalizovány a je sledován také metabolický dopad tuku na organismus zvířat (Shurson et al., 2015). Využití energie je měřeno jako stravitelná energie, což je hrubá energie minus energie výkalů; metabolizovatelná energie je stravitelná energie minus energie ztracená v moči a netto energie je metabolizovatelná energie minus tepelné ztráty. Tato hierarchie měření energie poskytuje rámec pro charakterizaci složek krmiv. Netto energie představuje důležitou část, která zajišťuje údržbu organismu a produkci (Carter et al., 2004). Krmné tuky a oleje poskytují významné množství energie, ale v jejich kvalitě, složení a ceně jsou velké rozdíly (Shurson et al., 2015). Tuk a olej obsahuje asi 2,25krát více energie než sacharidy, ale do diet jsou zahrnuty v malém množství, a jsou tak minimálním zdrojem celkové energie.

Sacharidy, tedy jednoduché cukry a škrob z obilných zrn, jsou běžným zdrojem energie prasečích diet (Carter et al., 2004). Pro prasata jsou nevhodnějšími zdroji snadno dostupné energie (Cromwell, 2012). Vhodnou energetickou složkou je kukuřice, která obsahuje vysoké množství škrobu a tuku a ve srovnání s jinými složkami také nižší hladinu vlákniny a proteinů (Patience, 2009). Významnou součástí většiny komerčně dostupných diet tvoří obilná zrna, která jsou zdrojem škrobu. Konečným produktem jeho trávení je glukóza, která se snadno vstřebává a je využita právě jako zdroj energie (Cromwell, 2012). Bílkoviny se jako zdroj energie podílí cca 15 a 20 % z celkové energie v dietě (Carter et al., 2004). Obecně polysacharidy a proteiny jsou komplikovanějšími původci energie, protože jejich určité množství je spotřebováno k jejich vlastnímu metabolismu (Patience, 2009).

### **3.4.3.3 Tuk**

Tuk v dietě prasat má čtyři základní funkce. Tuky jsou nepostradatelnou součástí buněčných membrán v organismu, médiem pro vitamíny rozpustné v tucích, zdrojem nepostradatelných mastných kyselin, především linolové a linoleové, a také zdrojem energie (Stein, 2009). Z chemického hlediska jsou to látky, které jsou rozpustné v organických rozpouštědlech (Ratnayake a Galli, 2009). Lipidy v běžně dostupných dietách tvoří neutrální tuky, tedy především triglyceridy. Koncentrace tuků v krmivech se liší; záleží na základní složce diety. Pokud je základem obilné zrno, pak je obsah tuku 1,5–4,5 %, v případě kukuřice až 10 % (Stahly, 1984). Tuk je energeticky nejbohatší složka krmiva (Coffey, 1983).

Obecně je tuk ve výživě prasat chápán jako vysoce stravitelný zdroj energie (Cromwell, 2012). Trávení lipidů se liší od trávení ostatních živin, protože jsou špatně rozpustné ve vodném prostředí gastrointestinálního traktu. Jejich trávení vyžaduje specifické kroky zahrnující emulgaci, enzymatickou hydrolýzu a tvorbu micel. Také vstřebávání, kdy se většina lipidů stává součástí tělního tuku prasete, jsou v menší míře oxidovány a vzniká energie ve formě ATP. Celková stravitelnost tuků v dietách se pohybuje od 25–77 % (Stein, 2009). Platí, že nenasycené mastné kyseliny jsou více stravitelné než nasycené, protože je u nich vyšší potenciál tvorby micel (Freeman et al., 1968, Stahly, 1984). V případě, že nenasycené mastné kyseliny vůči nasyceným mastným kyselinám jsou převýšeny v poměru 1,5 : 1, stravitelnost tuku je celkově vyšší (Stahly, 1984).



Tuk má i jiné prospěšné vlastnosti, jako například snížení prašnosti krmiva (Cromwell, 2012). Bylo dále prokázáno, že množství a typ tuku v dietě má vliv na imunitní systém monogastričních zvířat. Krmivo obsahující mastné kyseliny se specifickými účinky může mít za následek nadměrné reakce imunitního systému, což by mohlo mít vliv na experiment. Tuk v trávicím traktu prasete zpomaluje průchod tráveniny. Vede tedy k lepšímu vstřebávání bílkovin a sacharidů, a zároveň tak snižuje množství odpadního dusíku ve výkalech (Wondra et al., 1995).

#### **3.4.3.4 Sacharidy**

Ve většině komerčně dostupných diet, jsou sacharidy základem energetické složky. Jsou klasifikovány jako monosacharidy, disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Stravitelnost mono- a disacharidů v tenkém střevě prasat se blíží 100 %. Polysacharidy jsou dále děleny na škrob a neškrobové polysacharidy. Oligosacharidy a neškrobové polysacharidy jsou také chápány jako vláknina (Stein, 2009). Aby mohl být škrob využit pro tělo, musí projít metabolickou přeměnou. Tato přeměna je spojena s velkou ztrátou energie (Wondra et al., 1995). Monosacharidy, disacharidy a škrob jsou tráveny především v tenkém střevě pomocí pankreatických enzymů. Díky tomuto štěpení jsou monosacharidy ihned vstřebány. Zdrojem stravitelného škrobu v dietě jsou obilná zrna; jejich stravitelnost je asi 90 % (Bach Knudsen et al., 2006; Sun et al., 2006; Wiseman, 2006). U hrachu je stravitelnost v tenkém střevě nižší než u obilovin (Canibe a Bach Knudsen, 1997), dosahuje 75 %.

Stravitelnost bramborového škrobu je nejnižší, pohybuje se kolem 40 % (Sun et al., 2006). Škrob, který není štěpen v tenkém střevě, vstupuje do tlustého střeva a zde dochází k rychlému kvašení s následnou absorpcí těkavých mastných kyselin. Tento proces vede k 100% stravitelnosti škrobu (Stein, 2009). Stupně fermentace vlákniny v tlustém střevě se mění podle jednotlivých složek krmiva (Bindelle et al., 2009) a fermentace je ovlivněna koncentrací ligninu. Celková stravitelnost vlákniny se pohybuje v rozmezí 40–60 % (Stein et al., 2009; Urriola et al., 2010). Zkvasitelnost a celková stravitelnost vlákniny může být ovlivněna úpravou diety do granulí, ale tyto postupy je třeba ještě dále zkoumat (Stein, 2009).

### 3.4.3.5 Aminokyseliny

Prasata všech věkových kategorií ve všech životních etapách mají nutriční potřebu určitého množství aminokyselin (Reese et al., 1966). Existuje dvacet základních aminokyselin, ale ne všechny jsou obsaženy v dietě pro laboratorní prasata. Některé aminokyseliny mohou být syntetizovány z glukózy nebo jiných aminokyselin, např. těch, které jsou přijímány v nadbytku. Takto vytvořené aminokyseliny jsou označovány jako neesenciální, tedy postradatelné. Aminokyseliny, které nemohou být syntetizovány, se nazývají esenciální a jsou nepostradatelné. Obě složky jsou potřebné pro zdravý růst a případnou reprodukci (NRC, 1998). Většina krmných dávek obsahuje zdroje aminokyselin, které jsou využity pro syntézu vlastní tělesné bílkoviny (Stein, 2009).

Pro výživu prasat je zásadních deset aminokyselin: arginin, histidin, izoleucin, leucin, lysin, methionin, fenylalanin, threonin, tryptofan a valin (Reese et al., 1966). Jen některé aminokyseliny jsou absorbovány a mohou být v organismu využity.

Existují značné rozdíly mezi jednotlivými složkami krmiva a jejich schopností dodávat stravitelné aminokyseliny (Stein, 2009). Metabolismus proteinů může být narušen nadbytkem jedné aminokyseliny, která se stane pro organismus toxickou. Příkladem je methionin a tryptofan, naopak lysin a threonin jsou pro organismus prasete toxické velmi vzácně. Jednotlivé aminokyseliny mohou být také vzájemnými antagonisty; nadbytek jedné může negativně ovlivnit strukturálně podobnou aminokyselinu. Tyto dvě aminokyseliny pak musí soutěžit v tenkém střevě o stejné absorpční místo. Vysoký obsah jedné aminokyseliny v dietě tak může způsobit metabolickou nedostatečnost té druhé, a to i v případě, že v krmné dávce je té druhé dostatek. Příkladem těchto antagonistů jsou: lysin a arginin, leucin a izoleucin (Reese et al., 1966). Rovněž koncentrace rozpustné vlákniny v krmivu může snížit stravitelnost a využitelnost aminokyselin (Mosenthin et al., 1994; Lenis et al., 1996). Optimum v poměru esenciálních a neesenciálních aminokyselin, které splňuje nároky zvířat je označováno jako „ideální protein“ (NRC, 1998). Ten by měl naplňovat potřeby organismu prasat (Reese et al., 1966).

### 3.4.3.6 Minerály a vitamíny

Minerály mají ve výživě prasat mnoho důležitých úloh (Reese et al., 1966). Funkce anorganických prvků jsou různorodé, od strukturálních funkcí v některých tkáních až po funkce regulační (NRC, 1998). Významných je 14 minerálů. Některé z nich, např. síra, hořčík, draslík nebo chróm jsou dostatečně zastoupeny v přírodních složkách diety, jiné musí být doplněny (Cromwell, 2012). Protože většina laboratorních prasat je chována ve vnitřních ubikacích, nemá tak přístup k půdě. Toto omezení vyžaduje nutriční podporu minerálních prvků v dietě (NRC, 1998). Vápník, fosfor, měď, železo, mangan, zinek jód a selen jsou dodávány do většiny komerčně dostupných diet. Významné jsou vápník a fosfor; tyto prvky jsou důležité pro údržbu pohybového aparátu (Cromwell, 2012). Prasata domácí jsou náchylná k průjmovému onemocnění, s nímž je spojena dehydratace a ztráta minerálních látek. Do udržení rovnováhy elektrolytů jsou zapojeny především sodík, chlorid, draslík, hořčík a vápník (Reese et al., 1966); doporučená dávka sodíku u dospělého prasete je 0,08–0,10 % z celkového objemu diety (NRC, 1998). Hořčík, draslík a síra bývají v dostatečném množství obsaženy v přírodních zdrojích krmiva (Cromwell, 2012). Minimální požadavky na jednotlivé prvky jsou v různých fázích života prasete různé (NRC, 1998).

Důležitou roli ve výživě prasat hrají také vitamíny. Klasifikují se jako rozpustné v tucích – vitamíny A, D, E, K nebo vitamíny rozpustné ve vodě (Reese et al., 1966). Pro prasečí organismus je významných třináct vitaminů. Thiamin a vitamín B6 jsou dostatečně zastoupeny v přírodních zdrojích krmiva (Cromwell, 2012). Ostatní vitamíny nemusí být v dietě zastoupeny vůbec z toho důvodu, že mohou být syntetizovány z ostatních metabolických složek nebo pomocí mikroorganismů ve střevě (NRC, 1998). Obvykle bývají doplněny riboflavin, kyselina pantotenová, niacin (Cromwell, 2012) a cholin (Reese et al., 1966). Biotin, kyselina listová a cholin jsou vitamíny přidávané do diety především pro samice zařazené do reprodukce. V současné době jsou synteticky vyráběné vitamíny a anorganické či organické stopové prvky součástí premixů, které slouží jako doplnění těchto důležitých složek v dietách laboratorních prasat (Cromwell, 2012). V krmivu existují vitamíny především jako koenzymy, které jsou vázány v komplexech. Ty mohou být přímo ve vstřebatelné formě pro organismus nebo jsou trávicími procesy na tuto formu převedeny (NRC, 1998).

Obsah vitamínů v krmivech je snižován působením světla, tepla či vysoké vlhkosti. Proto je důležité krmiva skladovat na chladném, tmavém a suchém místě (Reese et al., 1966). Bylo prokázáno, že nadměrný příjem vitamínů A a D má na prasata toxické účinky. Na rozdíl u vitamínů skupiny B, E a K byly zjištěny jen velmi malé známky toxicity (NRC, 1998).

#### **3.4.4 Veterinární péče, onemocnění a parazité v laboratorním chovu prasat**

Úkolem veterinárního lékaře je dohlížet na pohodu a zdraví zvířat používaných ve výzkumu. Tato činnost se týká sledování a prosazování pohody zvířat po celou dobu jejich využití v experimentu (NRC, 2011). Veterinární péče prasat začíná jejich přesunem do chovatelského zařízení laboratoře (Bollen et al., 2000). Pro experimentální účely by měla být zvířata nakoupena z prověřených zdrojů (NRC, 2011). Prasata zakoupená ze specializovaného chovu mají kompletní zdravotní zprávu. Prasata zakoupená v zemědělském zařízení nemají tak podrobné zdravotní záznamy. Z tohoto důvodu by mělo být provedeno kompletní klinické vyšetření. Dokud nejsou známy výsledky kompletního klinického vyšetření, měla by být prasata ustájena v karanténě. Transport může mít na prasata negativní vliv; chování, držení těla a dýchání by mohlo být vychýleno od normálních hodnot (Bollen et al., 2000). Z těchto důvodů bývá nově přijatým zvířatům poskytnuta lhůta k fyziologické, behaviorální a nutriční aklimatizaci (Obernier a Baldwin, 2006). Pokud jsou prokázány nějaké pozitivní nálezy onemocnění, je nutné zvážit, zda jsou rizikové pro ostatní zvířata v laboratorním chovu, případně pro průběh experimentu (Bollen et al., 2000). Veterinární péče je v kompetenci ošetřujícího veterinárního lékaře, ale některé úkony může provádět zkušená osoba s vysokoškolským vzděláním biologického směru (NRC, 2011) a oprávněním dle §17, zákona 246/1992 Sb. na ochranu proti týrání zvířat (Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání).

Prasata nejsou obvykle zvyklá na manipulaci, proto je důležité veškerá vyšetření provádět šetrně. Klinické testy a záznamy prasete musí zahrnovat informace o plemeni, pohlaví, věku, hmotnosti a identifikačním čísle, součástí je i zdravotní list původního laboratorního chovu (Bollen et al., 2000). V každém laboratorním chovu by měl být zaveden mechanismus přímé a přehledné komunikace, aby byl zajištěn včasný přenos informací veterinárního lékaře k ošetřujícímu personálu.

U všech zvířat probíhá pravidelně minimálně jednou denně kontrola změny v chování, příznaky nemoci, případně zranění. Častější kontrolu mohou vyžadovat pooperační stavy nebo onemocnění. Veškerá péče odborného personálu by měla minimalizovat rizika pokažení experimentu, ve kterém jsou sledovaná zvířata zahrnuta. Náhlý úhyn, příznaky nemoci, úzkosti, případně jiné odchylky od normálu by měly být ihned konzultovány s veterinárním lékařem. Zvířata, která prokazatelně trpí nakažlivým onemocněním, musí být izolována od zdravých zvířat. Výběr léčby a setrvání v experimentu by měl veterinární lékař konzultovat s výzkumnými pracovníky (NRC, 2011). Nemocné zvíře se projevuje např. tím, že má změněné držení těla, připomíná polohu psa při sezení, časté bývají i dýchací obtíže nebo naježené štětiny. Hypotermické prase obvykle leží na břiše s končetinami skrčenými pod sebe. Normální tělesná teplota prasete je 38–39 °C (Bollen et al., 2000). Chromé zvíře poznáme díky jeho neochotě k pohybu. Laboratorní prase by mělo být v dobrém výživném stavu, nemá být příliš obézní nebo podvyživené. Prevence nemocí je nezbytnou součástí kompletní veterinární péče a zvyšuje výzkumnou hodnotu zvířat (NRC, 2011).

Sledovaná oblast	Žádoucí stav	Nežádoucí stav
váha	standardní pro dané plemeno, věk a pohlaví	hubený/ obézní
povrch těla	standardní pokrytí štětinami, běžná pigmentace dle	bledá kůže, místy s odřeninami, vředy, strupy,
rypák, tlama, oči	růžové sliznice, dentice přiměřeně k věku	slepé oko, výtok, vředy
oblast konečníku a zevních genitálií	bez znečištění, z vulvy může vytékat čirý vodnatý výtok	průjem, nadměrný a hnisavý výtok z vulvy
nohy, spárky, chůze	normální postoj a pohyb	poškození končetin, otoky kloubů, problémy při uléhání
dýchání*	čisté, bez kašle a kýchání	častý kašel, nebo kýchání; povrchové dýchání
kardiovaskulární systém	normální tepová frekvence	kolapsový stav během kontroly
výkaly	pevné, hnědavěžluté až nazelenalé, dle krmiva	vodnaté, nebo extrémně tuhé, červené až nažloutlé
*poslech u prasat je obtížný kvůli jejich neochotě spolupracovat a hlasité vokalizaci		

**Tabulka č. 3:** Kontrolní klinické vyšetření laboratorních prasat

(Zdroj: Bollen et al., 2000)

Vzorky krve pro klinické vyšetření jsou odebírány z *vena auricularis caudalis* či z *vena jugularis*, viz Příloha č. 3. U anestetizovaných prasat lze vzorky krve odebrat také z *vena metatarsalis plantaris* (Klein a Sojka, 2012) či z ocasní žíly, v případě, že je zachován ocas (Smith, 1988). Sterilní tyčinky použijeme pro odběr nosního sekretu, který se následně natře na Petriho misku s bakteriálním kultivačním médiem. Odebraný vzorek stolice se rozdělí na dvě části. Jedna část je ve sterilní nádobce odeslána k mikrobiologickému testování, v druhé části je zkoumána přítomnost parazitů. Pomocí seškrabů kůže je zjišťováno, zda prase trpí plísňovým onemocněním nebo kožními parazity. Vzorek se odebírá pomocí sterilního skalpelu z oblasti ramene a ve sterilní zkumavce je odesláno k mikroskopickému vyšetření (Hansen et al., 1997; Taylor, 1995).

Součástí komplexního veterinárního programu musí být nouzový veterinární plán, který zajistí péči mimo pravidelnou pracovní dobu personálu. Osoba pověřená veterinárním lékařem musí v tomto případě posoudit zdravotní stav a zajistit péči po úrazu, při nemoci nebo jiném naléhavém zdravotním problému. Veškerá opatření by měla směřovat k zajištění maximální pohody zvířat, např. úlevu od bolesti či utrpení. V extrémním případě by tato osoba měla být schopna provést eutanázii (NRC, 2011).

### **3.4.5 Onemocnění a jejich původci v laboratorním chovu prasat**

Předmětem této diplomové práce není studium onemocnění prasat, proto jsou zde uvedeny pouze zooantroponózy a parazité vyskytující se u prasat v laboratorním chovu. Většina infekcí u laboratorních zvířat probíhá asymptoticky, skryté onemocnění může mít zásadní vliv na imunitní systém zvířete. V kombinaci se stresem může dojít k plnému projevu nemoci a narušení experimentu (Górska, 2000).

#### **3.4.5.1 Bakteriální infekce, mykobakteriózy a dermatofytózy**

*Streptococcus suis* je významný bakteriální patogen prasat (Goyette-Desjardins et al., 2014), nákaza se vyskytuje obvykle u prasat mladších 16 týdnů. Mezi klinické příznaky patří horečka, kulhání, neurologické příznaky, cyanóza, dušnost, nechutenství, rýma, zánět spojivek a zápal plic, v extrémním případě může nákaza způsobit smrt (MacInnes a Desroisiers, 1999). Je také původcem různých infekčních onemocnění u člověka (Goyette-Desjardins et al., 2014).

*Pasteurella spp.* je gramnegativní bakterie, která je původcem mnoha onemocnění u širokého spektra hostitelů (Harper et al., 2006). Nakažení touto bakterií může způsobovat onemocnění horních cest dýchacích, namáhavé dýchání, horečku a rýmu. *Pasteurella multocida* u prasat způsobuje zápal plic, v závažných případech vede k atrofické rhinitidě, kdy dochází k poškození seromucinózních žláz a nosních skořepin (Wilson a Ho, 2013).

*Erysipelothrix rhusiopathiae* je bakterie způsobující erysipelu u prasat a jiných hospodářských zvířat. Onemocnění postihuje prasata všech věkových kategorií. Projevuje akutním nebo chronickým průběhem. V počáteční fázi se zvýší tělesná teplota na 41,11 °C. Zvířata odmítají přijímat potravu, z očí jim vytéká vodnatý sekret, dýchání je zrychlené. Na kůži mohou být pozorovány zarudlé plochy. Po projevení těchto příznaků může zvíře rychle uhynout, v jiných případech se příznaky ustálí a postupně se vyvine chronická forma onemocnění. Příznaky jsou nejsilnější, jestliže se patogen usídí v kloubech nebo kůži. Pokud dojde k lokalizaci v srdci, žlučníku nebo mandlích, příznaky onemocnění nejsou zřejmé. Zvířata, která přežijí akutní průběh nemoci, se asi po 4–5 dnech zotaví. U prasat ve špatné kondici je čas uzdravení delší, vyžadují i několik týdnů (Dunlap a Graham, 1937). K nákaze dochází při kontaktu s nakaženými zvířaty nebo jejich výkaly. Je možný i přenos na člověka. Patogen je schopný dlouho přežít v prostředí (Brooke a Riley, 1999).

*Brucella suis* je původcem infekcí pohlavního ústrojí, může způsobit neplodnost nebo potrat. Přenos bakterie je možný při kontaktu porušené kůže nebo spojivky s genitálními sekrety, močí nebo také inhalací (Hau a Schapiro, 2014).

*Leptospira pomona* a *Leptospira hardjo* jsou původci bakteriálního onemocnění prasat (Hau a Schapiro, 2014). Tyto bakterie přetrvávají a množí se v ledvinách prasat (Campagnolo et al., 2000). Zvíře se nakazí kontaktem nebo požitím kontaminovaných výkalů nebo inhalací (Hau a Schapiro, 2014). K nákaze u člověka může dojít také při kontaktu s močí postiženého zvířete nebo kontaminovanou vodou či předměty. Případy onemocnění jsou spojena s povoláním; vyskytují se u lidí pracujících v chovech prasat, na jatkách nebo u veterinárních lékařů (Campagnolo et al., 2000).

*Mycobacterium avium* je původcem tuberkulózy prasat, napadá různé orgánové soustavy, např. plíce, gastrointestinální trakt, a v kůži může tvořit abscesy (Hau a Schapiro, 2014). Při chronickém průběhu onemocnění nejsou patrné klinické příznaky kromě celkové slabosti, postupného chátrání organismu a hubnutí. Při postižení plic dochází k těžkému dýchání a kašli. Při nákaze lokalizované v zažívacím traktu jsou příznakem zažívací obtíže s hlenem a krví ve výkalech (Rajský a kol., 2012). Přenos je možný požitím výkalů nemocných zvířat, vdechnutím infekčního aerosolu nebo kontaktem s kontaminovanými předměty (Hau a Schapiro, 2014).

*Microsporium nanum* a *Trichophyton verrucosum* jsou nejčastější dermatofytózy prasat. Oba původci onemocnění jsou nakažliví i pro člověka. Klinickými příznaky jsou malé načervenalé léze v průměru 1–2 cm, ale mohou dosáhnout až 12 cm v průměru. Ložiska mohou být pokryta tenkou zrohovatělou vrstvou. Onemocnění se může vyskytovat kdekoli po těle, ale nejčastěji se nachází v oblasti uší. Vypadávání štětin a svědění se může objevit, ale bývá minimální (Doster, 1995).

*Salmonella spp.* způsobuje salmonelózu a je jednou z nejvýznamnějších zoonóz. Zvířata se mohou nakazit v kontaminovaném prostředí, krmivem, přes vektory nebo při kontaktu s nakaženými zvířaty. Ke klinickým příznakům patří průjem a dehydratace. Cílem mnoha studií jsou procedury, které by mohly snižovat výskyt Salmonelly u prasat, např. přidavek organických kyselin do vody nebo krmiva, využití probiotik a prebiotik (Letellier et al., 2000).

### 3.4.5.2 Parazité prasat

Prvok *Cryptosporidium parvum* způsobuje u oslabených zvířat závažné průjmy. Při klinickém vyšetření se zjišťuje přítomnost oocyst ve výkalech. Zvíře se nakazí kontaktem s výkaly postiženého prasete.

*Isospora suis* původcem kokcidiózy. Původně se vědci domnívali, že prasečí kokcidie nejsou klinicky významné. V roce 1934 byla uznána spojitost mezi průjmovým onemocněním selat a kokcidiemi (Stuart et al., 1980). Kokcidie jsou vnitrobuněční parazité, kteří způsobují klinické onemocnění. Většina kokcidií je vázána na jednoho hostitele, kde parazitují v buňkách střevní sliznice a způsobují průjmová onemocnění (Koudela, 1999).



Rozmnožují se také v tenkém střevě (Aliaga-Leyton et al., 2011). U prasete domácího je popsáno celkem osm druhů střevních kokcií rodu *Eimeria* a jeden druh rodu *Isospora*. Zástupci rodu *Eimeria*, konkrétně *Eimeria suis* způsobuje bezpříznakové infekce prasat, kokcidie *Isospora suis* je původcem klinického onemocnění, tzv. kokcidiózy (Koudela, 1999). Kokcidióza způsobená tímto prvokem je jedním z nejběžnějších infekčních onemocnění selat (Hamadejová a Vítovec, 2005). Zdrojem nákazy je prostředí kontaminované oocystami, vyšší výskyt byl pozorován v chovech bez steliva (Koudela, 1999).

*Giardia duodenalis*; syn. *G. intestinalis* a *G. lamblia* původci giardiózy u prasat. *Giardia duodenalis* způsobuje infekční onemocnění domácích zvířat. Mezi hostitele patří suchozemští i vodní savci, dokonce i ryby (Beck et al., 2011). Životní cyklus *Giardia spp.* je přímý, cysty uvolněné do výkalů jsou velmi odolné, ihned infekční (Feng a Xiao, 2011) nebo zrají několik dní (CFSPH, 2012). Cysty zůstávají infekční v chladném a vlhkém prostředí i měsíce (Feng a Xiao, 2011). Infekce je způsobena požitím těchto cyst. Přenos je možný přímým kontaktem mezi hostiteli, infikovanými předměty, vodou nebo infikovaným krmivem. Onemocnění zasahuje gastrointestinální trakt, klinickými příznaky jsou akutní nebo chronické průjmy (CFSPH, 2012). Je prokázáno, že tento druh parazitického prvoka zahrnuje sedm různých genetických skupin označovaných jako asambláže A až G (Beck et al., 2011). Způsob přenosu *Giardie spp.* ze zvířat na člověka zůstává nejasný a je stále předmětem porovnávacích genetických analýz duodenálních izolátů lidí a zvířat (CFSPH, 2012).

Balantidózu způsobuje jednobuněčný parazit vakovka střevní *Balantidium coli*. Prasata jsou významným rezervoárem a mohou být zdrojem infekce pro člověka (Al-Hasan et al., 2015). U prasat vakovka většinou nezpůsobuje závažné klinické problémy, ale u oslabených jedinců může vyvolat průjmové onemocnění, v horších případech až s příměsí krve v trusu (Chroust a Forejtek, 2010).

### 3.4.5.3 Onemocnění způsobená parazitickými červy

Původci helmintóz u prasat jsou zejména *Ascaris suum* a *Trichuris suis*. Dospělé škrkavky parazitují v tenkém střevě prasat, sameček dosahuje 12–20 cm, samička 20–30 cm. *Ascaris suum* je geohelmin, k životnímu cyklu nepotřebuje mezihostitele. Po požití infekčních vajíček se z nich v zažívacím traktu prasete začínají uvolňovat larvy, které migrují přes vnitřní orgány. Larvy, které proniknou zpět do střeva, se mění v dospělé škrkavky. Příznaky onemocnění jsou nespecifické, škrkavky mohou vyvolat hubnutí, zastavení růstu a křeče (Rajský a kol., 2012).

*Trichuris suis* je parazit s přímým vývojem a vysoce odolnými vajíčky, které mohou zůstat infekční 6 až 11 let. *Trichuris suis* se vyskytuje v tlustém a slepém střevě prasat. Stejně jako *Ascaris suum* významně snižuje imunitu prasat, což může vést k vážným bakteriálním infekcím (Nansen a Roepstorff, 1999).

### 3.4.5.4 Onemocnění způsobená ektoparazitami

*Sarcoptes scabiei var. suis* je nejrozšířenější ektoparazit prasat (Jensen et al., 2002). Je to jedna z nejmenších zákožek. Samička je dlouhá 0,4–0,5 mm a široká 0,3–0,4 mm, sameček je o třetinu menší. K nakažení dochází po kontaktu s nemocným zvířetem, případně po kontaktu s předmětem čerstvě infikovaným. Selata se infikují od matky. K rozšíření nákazy může dojít v chovech s vysokou hustotou zvířat a s nízkou úrovní hygieny (Chroust a Forejtek, 2011). Mezi klinické příznaky patří kožní léze, odření a poškrábání (Jensen et al., 2002), které se nejprve projevuje na hlavě, končetinách a ocase. Napadení tímto roztočem může vést k sekundární bakteriální kožní infekci (Rajský a kol., 2012). V důsledku silné svědivosti jsou nemocná zvířata neklidná, zhoršuje se jejich tělesná kondice a v důsledku zánětlivých procesů v kůži dochází k hubnutí, u selat může docházet i k úhynům.

Dospělá zvířata v dobré kondici klinické příznaky onemocnění překonají, ale stále jsou potenciálním zdrojem infekce (Chroust a Forejtek, 2011).

### 3.4.6 Obohacené prostředí a manipulace s prasaty v laboratorním chovu

Moderní chov laboratorních prasat vyžaduje prvky obohaceného prostředí, tak aby bylo podpořeno přirozené chování druhu a tím i psychická pohoda zvířat (Young, 2003). Nejzákladnějším prvkem může být podestýlka, která uspokojuje potřebu prasat hledání a rytí. Pro tento účel je vhodná sláma nebo hobliny. Nevýhodou zůstává vyšší pracnost a náročnost zoohygienických postupů (Smith a Swindle, 2006). Dobře koncipovaný obohacený prostor poskytuje zvířatům jistý stupeň kontroly nad jejich životním prostředím, což jim umožňuje, aby se lépe vypořádala se stresem (Newberry, 1995), viz obrázek v Příloze č. 4. Pracovníci odpovědní za péči o zvířata a chov by měli být proškoleni v oboru etologie a biologie druhu. Měli by sledovat účinky prvků enrichmentu a identifikovat vývoj chování. Vědečtí pracovníci se často obávají, že obohacené životní prostředí v laboratorním chovu mohou ohrozit metodiku experimentu. Zvířatům jsou poskytnuty podněty pro behaviorální repertoár zvířat, které by mohly být přeneseny do reakcí na experimentální poustupy ( Bayne 2005; Eskola et al, 1999; Tsai et al., 2003; Würbel a Garner, 2007). Proto by tyto prvky měly být aplikovány ve prospěch zvířat a také v souladu s cílem experimentu (NRC, 2011). Dalšími příklady obohacování mohou být větší plastové hračky pro psy, rohože, míče, volné nebo zavěšené nylonové kartáče či koště připevněné ke stěně ubikace, o které se může prase drbat.

Jednotlivé prvky enrichmentu by se měly často měnit a poskytovat jen po určitou dobu, aby zvířatům nezevšedněly. Ani v této oblasti nesmí být opomenuta hygiena (Smith a Swindle, 2006). Je vědecky prokázáno, že prasata ustájená bez podnětů přirozeného chování byla méně aktivní, méně si hrála a bylo pozorováno méně explorativního chování ve srovnání s prasaty, kterým byl nabídnut enrichment (Huntsberry et al., 2008). Další studie uvádějí, že prasata v nepodnětném prostředí byla agresivnější, než ta z prostředí stimulujiícího (Sneddon a Beattie, 1995). Příkladem projevu nudy či agrese může být vzájemné okusování ocásků, uší a pupku. Vytvořením stimulujiícího chovatelského zařízení lze minimalizovat agresi, předcházet nudě a rozvoji stereotypního chování. Naopak lze podpořit přirozené chování, jako je hledání potravy nebo sociální interakce (Huntsberry et al., 2008). Méně agrese se může pozitivně projevit i při manipulaci se zvířaty nebo jako adaptace prasat na stresové podněty spojené s experimentem (Newberry, 1995; Sneddon et al., 2000).

Personál musí se zvířaty pracovat tak, aby byly minimalizovány stresové situace, při jemném zacházení si zvíře k člověku vytvoří pozitivní vazbu. Stres je minimální u zvířat, která si zvykla na lidi a výzkumné postupy; s těmito zvířaty lze snadněji manipulovat než s těmi, která neprošla aklimatizačním procesem. Obecně se s mladými prasaty manipuluje snadněji než se starými (Grandin, 1986). Pomocí nenásilné manipulace a šetrného zacházení si lze práci částečně usnadnit (Smith a Swindle, 2006). Tento proces vyžaduje mnohem méně úsilí než odstranění negativní zkušenosti (Kaiser et al., 2006). Ohleduplné zacházení se zvířaty se může stát opěrným bodem při experimentálním postupu. S handlingem je vždy lepší začít u mladých prasat. Zvířata, která nejsou zvyklá, nelze hned chytat a zvedat, mohlo by to pro ně být stresující. Je vhodné začít klidným pobytem v kotci s prasaty, nechat je přijít k člověku a tiše na ně mluvit. Jako pozitivní motivační prvek je možné nabídnout malý pamlsek (Grandin, 1986; Smith a Swindle, 2006). Tento trénink by se měl opakovat každý den po dobu 15 minut. Prase si zvykne na člověka během pěti až deseti dnů. Dominantní prase by mělo být manipulováno jako první. Pachy ulpí na oděvu pracovníka a díky této „vůni“ budou ostatní prasata submisivní a lépe manipulovatelná (Grandin, 1986).

U velkých prasat není možné, aby byla přesunuta na místo určení. Je nezbytné, aby tam sama uměla dojít. Prase si cestu pamatuje, pokud ji zná a vždy se pohybuje podél stěn směrem k otvorům. Pro manipulaci se v tomto případě používá pouze pevná deska. Měla by být vysoká jako prase a dlouhá jako dvě třetiny délky těla prasete; s její pomocí bude zvíře směrováno do správného místa. Tato manipulace může být velmi silným stresorem.

Reakce se u jednotlivých zvířat liší v závislosti na temperamentu zvířete a předchozí zkušenosti (Grandin, 1997). U dospělých prasat bývá také potřeba, aby spolupracovala při použití mechanického zádržného systému, viz obrázek v Příloze č. 5. Tento výcvik se vždy provádí opatrně, aby nedošlo k bolesti a zvíře nezískalo špatnou zkušenost. Pokud je toto zařízení použito poprvé a prase bojuje, musí být pracovník důsledný a nesmí ho pustit, dokud se prase nezklidní. Za požadované chování a spolupráci je dobré zvíře odměnit krmením (Grandin, 1986).

### **3.5 VÝZNAM „3R“ A MOŽNOSTI NAHRAZENÍ ŽIVÝCH MODELŮ V EXPERIMENTECH**

V roce 1959 Russell a Burch navrhli způsoby, jak provádět některé pokusy na zvířatech více humánně, později byly tyto metody shrnuty jako pravidla „3R“ (Balls a Straughan, 1996). „3R“ jsou nejvíce uznávanou etickou normou týkající se pokusů na zvířatech. Především jde o vývoj alternativních metod k používání experimentálních zvířat, tedy jejich úplné nahrazení „Replacement“, navržení vhodných experimentálních protokolů s cílem snížit počet zvířat „Reduction“ a celkové zjemnění podmínek v průběhu pokusu u laboratorních zvířat „Refinement“ (Manciocco et al., 2009). Snížení počtu živých modelů spočívá ve využití méně zvířat k získání stejného množství informací. Princip zjemnění podmínek se týká snížení bolesti a utrpení. Předpokládá se, že pokud je procedura bolestivá pro člověka, je bolestivá i pro zvíře. Mezi metody je zahrnuto použití analgetik a anestetik a také obohacení životního prostředí experimentálních zvířat. Při využití metody nahrazení se experimentální zvířata vůbec nevyužívají (Bekoff, 2009).

Během testovacích pokusů je využito celé zvíře, orgány nebo jen jeho tkáň. Pro tento účel jsou ve většině pokusů zvířata usmrcena. Pokud pokusné zvíře experiment přežije, je na jeho konci také utraceno, aby se zabránilo dalšímu utrpení. V některých případech zvířata umírají v důsledku pokusu. Strach, bolest a smrt jsou jeho neodmyslitelnou součástí. V současné době jsou tato fakta diskutována na mezinárodní úrovni. Nesmí docházet k týrání zvířat a je nutné minimalizovat jejich utrpení. K využití strategie „3R“ v praxi také vede vysoká cena chovu laboratorních zvířat, časová náročnost a nároky kladené na kvalifikovanost pracovníků (Doke a Dhawale, 2015).

Tímto je zvýšen tlak na rozvoj alternativních metod, jež by nahradily dosavadní využívání zvířat ve výzkumu a vzdělávání (Bekoff, 2009). Mezi ty patří počítačové modely, které mohou pomoci pochopit různé základní principy biologie. Specializované počítačové programy navrhují léky, simulují a předpovídají možné účinky. Příkladem je software známý jako CADD-Computer Aided Drug Desing, který se používá k určení vazebného místa pro molekuly léčiva. Pouze pro prvotní testování léčiva jsou nutná experimentální zvířata. Využitím těchto technologií je snížen jejich celkový počet (Doke a Dhawale, 2015).

Další alternativou nahrazení živých modelů mohou být buněčné a tkáňové kultury. Tyto experimenty jsou méně časově i finančně nákladné. Běžně se používají v první fázi testování molekul léků a chemických látek, kontroluje se jejich účinnost a toxicita (Shay a Wright, 2000; Steinhoff et al., 2000). Jinou možností nahrazení je použití alternativních organismů. V této oblasti došlo k nahrazení savců za nižší obratlovce. Z hlediska etiky se jejich využití jeví jako méně problematické. Příkladem nahrazujícího živočicha je sladkovodní ryba dánío pruhované (*Danio rerio*), kterou používá molekulární genetika a toxikologie (Hill et al., 2005). Při studiu různých onemocnění, např. Parkinsonovy choroby, diabetu, endokrinní a paměťová dysfunkce, svalové dystrofie, hojení ran, stárnutí buněk či toxikologického testování (Lagadic a Caquet, 1998) mohou být modelovým organismem bakterie *Escherichia coli*, prvoci a houby např. *Saccharomyces cerevisiae* (Dhoke a Dhawle, 2015) nebo bezobratlí např. *Drosophila melanogaster* (Gilbert, 2008).

Negativem jejich použití jsou nevyvinuté orgánové soustavy a imunitní systém. Naopak výhodou jsou malé rozměry a nižší náklady na držení těchto organismů (Wilson-Sanders, 2011).

### **3.6 LEGISLATIVA A OCHRANA POKUSNÝCH ZVÍŘAT**

Základní legislativní normou ochrany pokusných zvířat je zákon České národní rady č. 246/ 1992 Sb., na ochranu proti týrání. § 1 pojednává o ochraně živých tvorů schopných pociťovat bolest a utrpení, ochraně před týráním, poškozováním jejich zdraví a jejich usmrcením bez důvodu, pokud byly způsobeny, byť i z nedbalosti, člověkem.

Konkrétněji se ochrany pokusných zvířat týká § 15, jehož ustanovení se vztahují na případy, kdy jsou pokusná zvířata využívána nebo mají být použita k pokusům. Jsou specificky chována tak, aby mohly být jejich orgány nebo tkáně použity pro vědecké účely. Tato část se týká také odstranění bolesti, utrpení, strachu nebo trvalého poškození pokusných zvířat pomocí úspěšného použití anestetik a analgetik. Ustanovení tohoto zákona určují pravidla, která se týkají nahrazení a omezení používání laboratorních zvířat k pokusům, šetrného zacházení při jejich chovu, umístění, péče o ně a používání k pokusům či usmrcování. Dále se týká úkonů chovatelů pokusných zvířat, dodavatelů a uživatelů, následně hodnocení a schvalování projektů pokusů, při nichž jsou používána laboratorní zvířata.

V §19 tohoto zákona jsou popsány orgány ochrany zvířat, kterými jsou Ministerstvo zemědělství, Státní veterinární správa, státní orgány příslušné ke schvalování projektů pokusů, Ministerstvo vnitra a Ministerstvo obrany v rámci své působnosti a obecní úřady s rozšířenou působností (Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání).

Další závaznou právní normou je Vyhláška č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat upravuje příslušné předpisy Evropské unie, konkrétně Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2010/63/EU ze dne 22. září 2010 o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely. Týká se žádostí o udělení oprávnění k používání pokusných zvířat a jejich vzorů, vzory statistických tabulek a pokyny pro vyplnění, požadavky na chovné prostory, vybavení a jeho kontrolu. Zabývá se také péčí o pokusná zvířata, úpravou prostředí, konstrukcemi uzavřených prostor, krmením, napájením, vybavením pro odpočinek, dále spánkem a manipulací s pokusnými zvířaty. Předmětem této vyhlášky jsou metody usmrcování jednotlivých druhů pokusných zvířat a počet pokusných zvířat v transportním kontejneru při přepravě (Vyhláška č. 419/2012 Sb., o ochraně pokusných zvířat).

Zmíněná Směrnice Evropského parlamentu a Rady ze dne 22. září 2010 o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely s číslem 2010/63/EU, je založena na principu „3R“; stanovuje minimální normy pro chov a péči o laboratorní zvířata. Upravuje jejich používání prostřednictvím systematických hodnocení projektů. Vyžaduje posouzení bolesti, utrpení, strachu a způsobení trvalého poškození zvířete. Díky zpětnému posouzení projektu pokusů zvyšuje celkovou transparentnost používání živých modelů. Podporuje a zavede alternativní metody, např. zřízením referenční laboratoře Unie pro validaci alternativních metod. Po členských státech vyžaduje podporu alternativních metod na vnitrostátní úrovni.

Závazným evropským dokumentem pro ČR je také Evropská dohoda o ochraně obratlovců používaných pro pokusné a jiné vědecké účely, ze dne 18. 3. 1986. V této dohodě se členské státy svým podpisem zavázaly ke spolupráci v ochraně živých zvířat používaných pro pokusné účely. Má vést ke snížení používání zvířat k pokusným a jiným vědeckým účelům, s cílem úplného nahrazení. Dále členské státy přijaly společná ustanovení k ochraně zvířat v procedurách, které mohou způsobit bolest, utrpení, úzkost, nebo dlouhodobé poškození. Především tyto omezit na nezbytné minimum.

Doplňujícími pravidly je Doporučení Evropské komise, ze dne 18. června 2007 týkající se pokynů pro umístění zvířat používaných pro pokusné a jiné vědecké účely a péči o ně, s číslem 2007/526/ES. Dále také Prováděcí rozhodnutí komise, ze dne 20. prosince 2013, kterým se zavádí společný formát pro předkládání informací podle směrnice Evropského parlamentu a Rady, o ochraně zvířat používaných pro vědecké účely, s číslem 2014/11/EU (European Commission, 2015).

Odborným poradním orgánem Ministerstva zemědělství je ÚKOZ – Ústřední komise pro ochranu zvířat. Podává informace o projektech pokusů, oprávnění a dovozu pokusných zvířat a také souhrnně informuje o činnosti uživatelských zařízení a vykazuje počty a druhy použitých zvířat v experimentech (ÚKOZ, 2016).

Norma, která také souvisí s použitím laboratorních zvířat je předpis č. 166/1999 Sb. Zákon o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů, tzv. veterinární zákon. Tento stanovuje požadavky veterinární péče na chov a zdraví zvířat a v tomto směru upravuje práva a povinnosti fyzických a právnických osob a určuje pravomoce orgánů vykonávající státní správu v oblasti veterinární péče (Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči).

### **3.7 PRASE JAKO EXPERIMENTÁLNÍ ZVÍŘE A PŘÍKLADY JEHO VYUŽITÍ**

Experimentální zvířata jsou pomyslně oddělena od ostatních zvířat, s jejich použitím je počítáno v oblasti výzkumu, výuky nebo testování. Tato zvířata mohou být anatomicky, geneticky a fyziologicky modifikována nebo mohou být změněny jejich metabolické dráhy. Liší se tak od ostatních členů téhož druhu. V České republice je termín „pokusné zvíře“ definován § 3 písm. j) zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů.



Pokusným zvířetem se rozumí živý obratlovec, s výjimkou člověka, včetně samostatně se živících larválních forem a plodů savců od poslední třetiny jejich běžného vývoje, který je nebo má být použit k pokusům; za pokusné zvíře se považuje také zvíře, které je v ranějším stadiu vývoje, než je stadium samostatně se živících larválních forem a plodů savců od poslední třetiny jejich běžného vývoje, pokud má být zvířeti umožněno žít nad rámec tohoto stadia vývoje a v důsledku prováděných pokusů je pravděpodobné, že po dosažení tohoto stadia vývoje je postihne bolest, utrpení, strach nebo trvalé poškození. Za pokusné zvíře se považují také živí hlavonožci (Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání).

Od počátku domestikace byla prasata používána v zemědělství a měla především status hospodářského zvířete. V poslední době je prase významně využíváno v oblasti biomedicínského výzkumu. Člověk a prase sdílejí mnoho fyziologických a anatomických podobností. Za posledních 30 let se použití prasat jako pokusných zvířat zvýšilo 8krát (Gutierrez et al., 2015). Nejvíce používanými druhy laboratorních zvířat je stále myš laboratorní *Mus musculus var. alba* a laboratorní potkan *Rattus norvegicus var. alba* (Baumans, 2007). Avšak kvůli značným rozdílům mezi nimi a člověkem se jeví jako nevhodný pokusný model (Soek et al., 2013). Dříve byl v experimentech také více využíván pes domácí *Canis lupus familiaris* a tzv. nehumánní primáti, např. kočkodan obecný *Chlorocebus aethiops*, makak rhesus *Macaca mulatta*, makak jávský *M. fascicularis* a paviáni *Papio* (Hau a Schapiro, 2006), ale rostoucí zájem o pokusná zvířata a etické hledisko pokusů na těchto druzích snížilo jejich počty (Swindle et al., 2012). Například během posledních 20 let prase zcela zastoupilo laboratorního psa v oblasti chirurgie (Swindle et al, 2012; Schook et al, 2015).

Prasata mají s člověkem více podobných parametrů (Swindle et al., 2012) ve velikosti, anatomii, fyziologii, metabolismu a délce života (Spurlock a Gabler 2008; Kuzmuk a Schook 2010; Swindle et al., 2012), proto lépe vyhovují medicínským experimentům. Tato podobnost se týká anatomie a fyziologie kardiovaskulárního, trávicího, vylučovacího a kožního systému (Stanton a Mersmann, 1986; Swindle, 1992; Tumbleson, 1986, Swindle et al., 2012). Nicméně i mezi člověkem a prasetem existují konkrétní anatomické rozdíly a ty musí být brány v úvahu při plánování pokusu (Swindle et al., 2012).

Nevýhodou běžných plemen prasat je jejich rychlý růst. Při narození váží selata kolem 1 kg, ve věku 4 měsíců mohou dosahovat hmotnosti 100 kg. Z tohoto důvodu jsou vhodná jen pro krátkodobé experimenty trvající maximálně 3–6 týdnů a po jejich ukončení bývají usmrcena (Swindle et al., 1994). Pro dlouhodobé experimenty jsou využívána miniaturní plemena Göttingen, Hanford, Scinclair nebo Yucatánské miniprase (Panepito, 1986). Miniprasata váží při narození 0,5–1 kg, ve věku 4 měsíců váží prase plemene Hanford 17–20 kg a plemena Göttingen 7–9 kg. Sexuálně tato plemena dospívají ve věku 4–6 měsíců. Obecně platí, že orgány miniaturního plemene Hanford jsou nejbližší člověku ve věku 6–8 měsíců (Swindle, 2009). Díky malé velikosti jsou finančně méně nákladným živým modelem a zároveň jsou u nich nízké obavy z etického přijetí jako pokusných zvířat (Bollen a Ellegaard, 1997; Swindle et al., 2012).

Plemeno Göttingen bylo vyvinuto speciálně pro výzkumné účely. Ostatní plemena jsou používána pouze specifickými výzkumnými skupinami, čímž je omezeno jejich rozšíření a dostupnost. Další výhodou prasečích modelů je nízký přirozený výskyt patologických stavů. Tento fakt byl způsoben procesem selekce, kdy člověk eliminoval geny zvyšující náchylnost k různým onemocněním. Dále je to způsobeno porážkou zvířat v nízkém věku, kolem 6 měsíců, což brání vzniku např. různých onkologických onemocnění (Gutierrez et al., 2015). Retrospektivní studie Newmana a Rohrbacha (2012) prokázala nádory s metastázemi u prasat ve věku 11 let. Jednalo se o nádory jater, střev, dělohy a vaječníků. Prasečí modely poskytují mnoho různých možností použití v experimentech, v oblasti tkáňového inženýrství, aplikace kmenových buněk, xenotransplantace aj. (Gutierrez et al., 2015), ale všechny souvislosti a biologické mechanismy je třeba nadále studovat (Ezashi et al., 2012).

Experiment, který používá živá zvířata, musí být bezchybně navržen a musí být reprodukovatelný (Surynek, 2000). Důležité je, aby bylo použito co nejméně zvířat, byly využity alternativy k pokusům na zvířatech a zvířata nebyla využívána k podobným pokusům, tedy duplicitně (Underwood, 2007). Velikost skupiny experimentálních zvířat by měla být stanovena vždy před zahájením studie. Poddimezované studie jsou nežádoucím jevem a mohou vést k falešným závěrům. Neetický je rovněž pokus s velkým počtem zvířat, který nebyl třeba (Bart van der Worp et al., 2010).

Surynek (2000) tvrdí, že provádění pokusů na zvířatech a modelování různých poruch či chorob v rámci výuky by měly být zcela vyloučeny ze studijních sylabů a experimenty by měly být nahrazeny virtuální realitou. Jako další alternativu nabízí experimenty prováděné na buněčných nebo tkáňových kulturách člověka.

Pokusy na zvířatech velice přispěly k pochopení mechanismů nemocí, ale jejich hodnota v prognózování účinnosti léčebných postupů v klinické medicíně zůstává sporná. S dostatečnou jistotou nelze předpovědět, co tatáž experimentální studie provede při aplikaci na člověka (Bart van der Worp et al., 2010). Surynek (2000) tvrdí, že 90–95 % účinných a bezpečných pokusů na zvířatech se při klinickém testování na lidech projevilo jako neúčinné, v některých případech dokonce jako nebezpečné. Je zřejmé, že každá procedura, která způsobuje bolest, úzkost či trvalé poškození zvířeti nadanému vědomím, představuje morální problém, který nemá jednoznačné řešení (Webster, 2009).

Rovněž je prokázáno, že mnoho experimentů nedosáhne původní myšlenky a v některých případech nejsou závěry ani podpořeny získanými daty (Festing 1994; Festing a Lovell, 1996, Mc-Cance 1995). Obecně lze říci, že živá zvířata by měla být použita pouze v případě precizně stanovených vědeckých cílů, které jsou platné, a neexistuje žádná jiná alternativa. Platnost v tomto případě znamená, že experiment má vysokou pravděpodobnost setkání stanovených cílů se získanými fakty experimentu. V dlouhodobém horizontu se předpokládá přínos pro lidské zdraví (Festing a Altman, 2002).

### **3.7.1 Plemena prasat využívaná v experimentech**

Pro své biologické vlastnosti jsou prasata stále více využívána jako model v biomedicínském výzkumu. Vývoj v oblasti imunologie a xenotransplantace obnovil zájem o tento druh. Především o anatomii a fyziologii, kde jsou jisté podobnosti s člověkem. Experimentálně využívanými plemeny jsou Landrace, Yorkshire, Duroc, Hampshire, Piétrain (Bollen et al., 2000). V České republice jsou nejvíce využívanými plemeny České bílé ušlechtilé a Landrasa. Biomedicínské centrum v Plzni zcela unikátně používá v experimentech plemeno Přeštického černostrakatého prasete, viz obrázek č. 6 v Příloze č. 6, které se vyznačuje vysokou odolností vůči stresu.

Pro toto plemeno je typické černostrakaté zbarvení bez krajínového vymezení, hlava je v profilu mírně prohnutá, uši jsou klopené. Je středního tělesného rámce, kanci dosahují v dospělosti 260–280 kg, prasnice 215–235 kg, kohoutková výška u kanců se pohybuje v rozmezí 85–90 cm, u prasnic 75–80 cm (Špaček a kol., 1987).

V oblasti toxikologie jsou více využívána miniaturní plemena prasat z důvodu snadné manipulace, jednoduchosti chovu a úspore na množství testované látky. Díky miniaturním prasatům došlo ke snížení počtu pokusných psů a primátů. Mnoho ze současných miniaturních plemen prasat má původ v Minnesotě; zde byla šlechtěna od roku 1949 v Institutu Hormell v Austinu v Texasu. Odvozená plemena z této populace jsou Göttingen a Sinclair. Mexické divoké prase bylo do laboratoře vtaženo v roce 1960, později se o něm mluví jako o Yucatánském minipraseti. Od roku 1972 bylo selekcí vytvořeno plemeno Yucatanánského mikroprasete. Existují dvě váhové kategorie dospělých zástupců miniprasat: 35–55 kg a 70–90 kg. Do první kategorie patří plemena Göttingen a Yucatan mikroprase, plemena Hanford a Yucatan miniprase patří do druhé kategorie (Bollen et al., 2000). U plemene Yucatánského miniprasete je využíváno klidného temperamentu. Průměrná hmotnost dospělých bývá 83 kg, u dospělých prasnic je to 70 kg. Délka těla u obou pohlaví je 57 cm a výška 76 cm (Panepito et al., 1978).

Plemeno Sinclair bylo vyvinuto Institutem Hormel na universitě v Minnesotě v roce 1949. Vzniklo křížením čtyř volně žijících plemen. Kvůli bílým štetinám na tmavě pigmentované kůži se předpokládá, že později bylo do šlechtění zařazeno i plemeno Yorkshire. Sinclair je první miniaturní plemeno prasete vytvořené speciálně pro výzkumné účely. Dalším hojně využívaným miniaturním plemenem je Hanford; ve stáří 7 měsíců může kanec dosahovat hmotnosti 24–43 kg a prasnička 22–38 kg (Sinclair Miniature Swine, 2016).

Göttingenské plemeno miniprasete bylo vyvinuto v letech 1961–1962 v Ústavu chovu, šlechtění a genetiky univerzity v Göttingenu v Německu. Vzniklo křížením minnesotského miniprasete s vietnamským prasetem Potbelly a německým plemenem Landrace. Kanci pohlavně dospívají ve věku 4–5 měsíců a váží 6–8 kg, prasnice jsou pohlavně dospělé ve věku 4–5 měsíců a dosahují hmotnosti 7–9 kg, v dospělosti váží kolem 35–40 kg. Göttingenské miniprasátko patří mezi nejmenší plemena, viz obrázek č. 7 v Příloze č. 6, je menší než yucatánské mikroprase (Bollen a Ellegaard, 2009).

## 3.7.2 Prasata v biomedicínském výzkumu

### 3.7.2.1 Toxikologie

Prasata jsou častým experimentálním modelem v oblasti farmakologie a toxikologie (Kurihara-Bergström et al., 1986). Jsou používána při testování nových léčebných terapií, zařízení a účinnosti a bezpečnosti nových léčiv jako krok před testováním na lidech (Gutierrez et al., 2015; Swindle et al., 2012). Pro toxikologii jsou nejvíce využívána miniaturní plemena prasat, především při studiu akutní a chronické systémové toxicity (Klinghardt et al., 2006) a také dermální toxicity (Hanhijärvi et al., 1985). Pro toto testování je nejvíce využíváno plemeno Göttingen. Protože jsou prasata žravá, je velmi snadné podávat testované látky společně s krmnou dávkou. Jinou možností aplikace je sonda do žaludku, injekčně pod kůži či svalu nebo pomocí žilní kanyly (Bollen a Ellegard, 1997).

### 3.7.2.2 Dermatologie

Kůže prasat je relativně bezsrstá a podobně jako člověk má pevnou podkožní vrstvu. Prasata mají několik ekrinních potních žláz, které jsou umístěny v oblasti čenichu a karpální oblasti končetin. Nechybí ani apokrinní potní a mazové žlázy, avšak termoregulační funkce potních žláz, je v porovnání s člověkem minimalizována (Swindle, 2009).

Prase jako laboratorní zvíře má v experimentální oblasti široké využití; např. prasečí kůže je strukturálně podobná lidské, proto je velmi vhodná pro studium hojení ran a popálenin (Sullivan et al., 2001).

Prase je využíváno rovněž při farmakokinetických a cytotoxických testech, tedy při testování léčiv lokálně na kůži, a v tomto směru je považováno za vhodnější zvířecí model než pes domácí *Canis lupus familiaris* (Gutierrez et al., 2015). Součástí dermatologických studií je také zkoumání melanomu, hojení, léčba ran a popálenin, mikrobiologie a laserová terapie; např. Herron (2009) popisuje při tomto testování využití plemene Duroc. V jiném experimentu bylo pro zkoumání melanomu vybráno plemeno miniaturního prasete Sinclair. Tato studie prokázala více podobností s člověkem v oblasti patologie zhoubných kožních melanomů a distribuci metastáz do různých orgánů (Oxenhandler et al., 1979).

### **3.7.2.3 Kardiovaskulární systém**

Prasata jsou běžně používaným modelem v kardiovaskulárním výzkumu. Anatomické a fyziologické vlastnosti této soustavy jsou velmi podobné lidské (Weaver et al., 1986). Vznik aterosklerózy je stejný jako u člověka (Hughes, 1986; Lee et al., 1976). Díky tomu mohou být prasata využita ke studiu vrozené srdeční vady (Gillette et al., 1991; Mitchell et al., 1994; Swindle et al., 1992), infarktu myokardu (Bloor et al., 1984), hemodynamického šoku (Maningas et al., 1986), hypertenze (Emil et al., 1996), srdečního selhání (Hendrick et al., 1990) nebo srdeční arytmie (Park et al., 2015). Miniprasata jsou využívána pro studium nových způsobů diagnostiky a léčby, např. defekt komorového septa byl experimentálně sledován u plemene Yucatan (Swindle et al., 1990). Pražský IKEM využívá prasata v oblasti kardiochirurgie pro tvorbu náhradních chlopní. Tato náhrada má kostru z titanu nebo umělé hmoty, je opletena teflonem a dovnitř je všita prasečí chlopeň. Jedná se o účinný léčebný zákrok u člověka, který trpí chlopenní srdeční vadou (Kautzner, 2015).

### **3.7.2.4 Gastrointestinální trakt**

Prasečí gastrointestinální trakt není podobný lidskému, ale prasata jsou stejně jako člověk všežravá. Díky tomu je možné testování různých doplňků stravy (Swindle, 2009; Swindle et al., 2012). Experimenty se týkají parenterální výživy, metabolismu lipidů, diabetu, alkoholismu, žaludečních vředů (Reese et al., 1966; Zimmerman a Khajareen, 1973; Massie et al., 1995; Tsukamoto et al., 1995; Gerbens et al., 1999; Wondra et al., 1995), absorpce živin nebo patogeneze zažívacího ústrojí (Sangild et al., 2014).

U miniaturních plemen prasat jsou testovány vysoce energetické diety způsobující obezitu nebo vznik metabolického syndromu se zvýšeným ukládáním útrobního tuku, intolerance glukózy, snížení citlivosti k inzulinu a vyšší hladiny cholesterolu v krvi (Xi et al., 2004; Neeb et al., 2010.; Koopmans a Schuurman, 2015). Prase je v tomto případě výjimečným experimentálním modelem, protože s člověkem ho pojí stejná velikost trávicího traktu, podobné metabolické pochody a dostatečná zásoba tukové tkáně. Tyto experimenty kladou důraz na sledování a definici úloh tukové tkáně, regulaci energetické bilance a sledují vznik zánětů spojených s obezitou (Spurlock a Gabler, 2008).

Velký význam v experimentálním testování u prasat mají játra. Játra prasat mají pět laloků a s lidskými je pojí podobnosti i rozdíly v metabolismu a jaterních enzýmech (Swindle, 2009). Jsou speciálním orgánem, který je oproti jiným orgánům schopen regenerace. Toho využívá i současná medicína, např. u cirhózy jater člověka. Pro zkoumání regenerace jater na zvířecích modelech, byly přijaty dvě strategie, a to chirurgická resekce a poranění toxiny. Regenerace jater u člověka je procesem probíhajícím především po toxickém, virovém nebo imunologickém poškození jaterních buněk. Proto má toxiny indukované experimentální šetření u zvířat mnohem větší přínos z hlediska klinické oblasti medicíny. Ale i v této oblasti budou nutná další šetření, zejména srovnávací studie mezi experimentálně toxicky a chirurgicky poškozenými játry (Palmes a Spiegel, 2004).

Pokusná prasata jsou v oblasti gastrointestinálního traktu využívána pro endoskopickou chirurgii, laparoskopické operace, transplantace jater, pankreatitidě, cholecystektomii, biliární obstrukci, transplantaci střeva a endotoxického šoku (Swindle, 2009). Rovněž experimentální transplantace jater u dětí byla také ověřena pomocí prasečího modelu (Leal et al., 2015).

### **3.7.2.5 Centrální nervová soustava**

Neurologické experimenty na prasatech zahrnují studium traumatu, mrtvice, mozkomíšního moku, lebeční rekonstrukce, epidurální katetrizace a poškození míchy. Hlavním problémem v neurochirurgii experimentálních prasat je tloušťka lebečních kostí a struktura obratlů. Tyto pokusy vyžadují speciální chirurgické přístupy (Swindle, 2009). Miniaturní plemena prasat byla využita jako model při experimentální mikrodisekci spánkové kosti. Díky podobnosti kostních struktur vnějšího a vnitřního ucha bylo prokázáno, že i v budoucnu by mohla být přínosným experimentálním objektem při zkoumání různých onemocnění v této anatomické oblasti (HaiJin et al., 2013).

Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd ČR v Liběchově vytvořil před lety model transgenního miniprasete trpícího Huntingtonovou chorobou. Těmto zvířecím modelům byla pomocí vektoru vložena část genu pro lidský mutovaný protein huntingtin, tzv. Htt. Živý experimentální model je schopen svou reprodukcí přenášet tento gen na další generace.

Následně jsou studovány projevy chování, mozek a tkáně stárnoucích zvířat a také genetika u takto pozměněných zvířat. I v případě, že nedojde ke zcela totožnému rozvinutí choroby jako u lidských pacientů, je tento model cenným nástrojem pro studium patofyziologie, buněčných pochodů a hledání vhodné léčby (Pallová a kol., 2014).

### **3.7.2.6 Kosterní soustava**

Pohybový aparát prasat je využíván při testování různých biologických a syntetických materiálů a jejich vlivu na hojení kostí (Pearce et al., 2007). Významná je také podobnost ve fyziologii chrupavky mezi člověkem a prasetem (Swindle, 2009).

Experimentálně byl prasatům vytvořen defekt v distální části levého femuru. Do toho byl vložen tzv. graft, tedy pórovitý materiál z 0,5 % kolagenu a 30 % chitosanu (Jancár et al., 2007), který byl navíc obohacen o mesenchymální kmenové buňky. Po 4 měsících byla experimentální prasata usmrcena a pomocí histologie byl zjišťován vliv tohoto materiálu na hojení kostí (Plánka et al., 2009). V budoucnu by tyto materiály mohly být velkým přínosem při léčbě např. zlomenin u člověka.

V rámci kosterní soustavy prasat jsou na dlouhých kostech testovány také titanové šroubové implantáty, viz obrázek v Příloze č. 7. Ty mají různě upravený povrch, případně je jejich povrch potažen specifickou látkou, např. kyselinou hyaluronovou. Následně je zkoumána hustota kosti v oblasti kontaktu s implantátem a jednotlivé rozdíly mezi testovanými implantáty (De Vicente et al., 2000).

### **3.7.2.7 Xenotransplantace**

Xenotransplantace spočívá v transplantaci tkání jiného původce, než je člověk, lidskému příjemci. Vysoký zájem o xenotransplantaci se objevil v roce 1960 souběžně s velkými pokroky v imunologii. Příjemcům trpícím selháváním ledvin byly transplantovány ledviny šimpanze *Pan troglodytes* (Reemtsma et al., 1964). V roce 1984 bylo lidskému novorozenci transplantováno srdce paviána *Papio*; pacient přežil pouze dvacet dnů po operaci (Bailey et al., 1985). Játra z paviána *Papio* byla transplantována pacientovi s jaterním selháním (Starzl et al., 1993). Langerhansovy ostrůvky buněk byly injekčně vpraveny pacientům trpícím cukrovkou (Rood a Cooper, 2006).



Kůže prasat byla transplantována pacientům s popáleninami (Chatterjee, 1978). Pacientům s Parkinsonovou a Huntingtonovou chorobou byly transplantovány nervové buňky (Fink et al., 2000). Transplantováno bylo prasečí srdce (Kozlowsky et al., 1999), játra (Nowak et al., 2002), ledviny (Pescovitz et al., 1984), slinivka a střevo (Tumbleson, 1986). Mnohé z těchto transplantačních studií byly testovány v souvislosti s imunologickými aspekty transplantátů včetně rozvoje transgenních zvířat. Ta by se mohla stát imunologicky kompetentními dárci orgánů pro člověka (Sachs et al., 1976). Prase se tak postupně stalo středem zájmu xenotransplantací především kvůli minimalizaci využití šimpanzů a paviánů a také díky velké podobnosti lidského a prasečího organismu (Samdani et al., 2014). Pro možnosti transplantace byla vytvořena geneticky upravená prasata. U nich byla snížena exprese různých imunogenních látek. Významný problém xenotransplantace představuje vysoké riziko přenosu patogenů, zejména virů, např. Creutzfeld-Jakobovy choroby, tuberkulózy, toxoplazmózy nebo eboly. Pro tyto nemoci byl vytvořen souhrnný termín „xenóza“ nebo také „xenozoonóza“ popisující situaci přenosu infekce transplantací tkání nebo orgánů (Bach et al., 1998).

Větší fylogenetická vzdálenost mezi prasaty a člověkem řadí prasata mezi bezpečnější dárce, než jsou primáti. Ale i v této oblasti je třeba dalšího zkoumání. V průběhu posledních 10 let bylo vyvinuto mnoho diagnostických testů pro detekci většiny potenciálně nebezpečných virů spojených s transplantací zvířecích orgánů do člověka (Samdani et al., 2014). Většina pacientů vnímá možnost transplantace při vážném onemocnění nebo ohrožení života jako eticky přijatelné (Martínez-Alarcón et al., 2005). Nespornou výhodou prasat jsou také reprodukční vlastnosti, především početnost vrhu, rychlé dospívání či nenáročnost chovu.

Nicméně použití prasat jako dárců orgánů pro člověka je zatěžkáno velkými imunologickými překážkami. Jednou z hlavních je tzv. HAR-Hyperacute Rejection, tedy hyperakutní odmítnutí transplantovaného orgánu imunitním systémem (Samdani et al., 2014).

### **3.7.2.8 Chirurgie**

Prasata jsou hojně využívána mediky při chirurgické výuce, konkrétně při nácviku endoskopie, laserové chirurgie (Sato et al., 2013; Swindle, 1992; Tissot et al., 1987) nebo mikrochirurgie (Calne et al., 1972; Aurich et al., 2014). Jedná se o případy, kdy nelze pro vzdělání budoucích lékařů použít laboratorního simulátoru (Swindle et al., 2012).

Například v Center for Development of Advanced Medical Technology při lékařské univerzitě v Japonsku využívají experimentální prasa k preciznímu školení chirurgů a preklinickému testování. Toto centrum je vybaveno magnetickou rezonancí, počítačovou tomografií a jednotkou intenzivní péče (Kobayashi et al., 2012).

Naproti tomu Collier (2008) ve své práci popisuje odmítnutí tréninku chirurgických úkonů na živých prasečích modelech. Tvrdí, že pokud existuje alternativa v podobě simulátoru lidského pacienta, je výuka na živých prasatech zbytečné zabíjení.

### **3.7.2.9 Histologie**

Významnou součástí vyhodnocení některých experimentů je histologie. Tedy část medicíny, která poskytuje informace o mikroskopické skladbě organismu (Vacek, 1995). Pomocí histologických preparátů byly u prasat zkoumány aorty, které jsou často používány v morfologických studiích, experimentech transplantační a cévní chirurgie a v oblasti patologie. Hodnocení histologických preparátů bylo provedeno pomocí kvantitativní histologie a stereologie. Konkrétně bylo ve 4 um tkáňových imunohistochemicky barvených řezech, hodnoceno množství elastinu, kolagenu, hladko-svalového aktinu, vimentinu a desminu (Tonar et al., 2015). Rovněž ve studiích akutního selhání jater má histologie zásadní význam. Díky srovnatelné velikosti jater, jejich morfologii a anatomii jsou prasata nejvhodnějším model pro experiment resekce jater, který vede k jejich akutnímu selhání. Takové experimenty mohou být velkým přínosem při studiu regenerace jater (Ladurner et al., 2005). U člověka je akutní selhání jater spojeno s 70-80% úmrtností (Lee et al., 2008).

Dochází k němu např. následkem virové hepatitidy, nebo požití vysoce toxických látek. Současná léčba není uspokojivá, v mnoha případech bývá jediným řešením transplantace jater. Játra se vyznačují vysokou schopností regenerace, proto je nezbytný další výzkum, který by odhalil mechanismu spontánního zotavení tohoto orgánu (Ladurner et al., 2005). V experimentu Steinbacha a Smidta (1970) byly pomocí tkáňových řezů u prasniček studovány cyklické jevy ženského pohlavního ústrojí. Histochemická analýza se zabývala reprodukční soustavou zařazenou do šesti fází dle cyklu vaječníků.

U prasat byla také testována alergie na arašidy u neonatálních prasat. Tento zvířecí model, by měl obsáhnout základní rysy fyzikální, imunologické a histologické alergie, viz obrázek v Příloze č. 8.

Velmi často bývají využívána mikro- a miniprasata v experimentálních studiích osteonekrózy hlavice stehenní kosti (Pearce et al., 2007), zlomeniny kostí, defektů chrupavek a testování nových implantátů (Buser et al., 1991; Sun et al., 1999). Anatomie, morfologie a léčba kosti je u prasat i člověka velmi podobná (Thorwarth et al., 2005). Jasně podobnosti byly nalezeny u průřezu stehenní kosti člověka a prasete (Raab et al., 1991). Prasata mají hustší trabekulární síť, ale lamelární kostní struktura je stejná jako u člověka (Mosekilde et al., 1993). I v těchto studiích poskytují odpovědi na otázky týkající se struktury a změn ve tkáních histologické preparáty a jejich hodnocení.

#### **3.7.2.10 Genetika**

Rozvoj geneticky modifikovaných zvířat umožnil vznik nových prasečích modelů s několika onemocněními typickými pro člověka (Rogers et al., 2008; Prather et al., 2013.; Hai et al., 2014). Příkladem je cystická fibróza; geneticky upravená prasata mají cíleně aktivováno toto onemocnění (Rogers et al., 2008).

Genetická podstata a rozvoj rakoviny prsu byly experimentálně studovány u plemen Yucatánského a Göttingenského miniprasete (Luo et al., 2011), stejně jako vznik lymfomu a osteogenetického nádodoru. Výčet těchto příkladů využití geneticky modifikovaných prasat ukazuje možnosti studia lidských onemocnění, která nemohou být kvalitně zkoumána na malých druzích laboratorních zvířat (Gutierrez et al., 2015).

Bylo navrženo, aby nově vzniklý kmen geneticky upravených prasat byl nazván „onkoprase“, díky kterému vzniká široká základna pro výzkum a vývoj léčebných postupů v oblasti nádorových onemocnění (Schook et al., 2015).

### 3.7.3 SPF prasata

Gnotobiologická zvířata se získávají aseptickými chirurgickými postupy, jsou chována ve sterilních izolátorech a krmena sterilní potravou. Mohou být zcela bezmikrobní, tedy axenická, tzv. germ-free, nebo osídlena definovanými organismy (Kozáková a kol., 2012).

Také v SPF laboratořích jsou seletata vybavena z prasnice císařským řezem nebo hysterektomií za gnotobiologických podmínek. Využívá se také techniky embryo transferu nebo umělého oplodnění, ale původ biologického materiálu musí být prověřen (Safron a Gonder, 1997). Prasečí plod je vyživován šestivrstevnou placentou, která zabraňuje přestupu mateřských protilátek. Selata, která se nenapíjí od prasnice kolostra, nemají vlastní protilátky a jsou ideálním modelem pro studium specifické imunitní odpovědi (Kozáková a kol., 2012).

Všechny prasnice zařazené do tohoto chovu jsou vyšetřovány na přítomnost nemocí, např. Aujeszkyho chorobu, jejímž původcem je *Herpes virus suis* a brucelózu, způsobenou *Brucella suis*, progresivní atrofickou rinitidu, kde původcem je *Pasteurella multocida*, případně *Bordetella bronchiseptica* (Dubanský a Drábek, 2002). Infekci horních cest dýchacích a pneumonii, způsobenou *Actinobacillus pleuropneumonie*, gastroenteritidu, salmonelózu, kterou způsobuje *Salmonella spp.*, průjmová onemocnění a také svrab *Sarcoptes scabiei var. suis*.

Další sérologické testování zahrnuje prasečí reprodukční a respirační syndrom, původci onemocnění pocházejí z čeledi Arteriviridae, součástí je i vyšetření výkalů. SPF prasata mohou být залéčena antibiotiky; seznam všech použitých léků by měl poskytnout dodavatel zvířat nebo veterinární lékař. V těchto chovech nesmí být použity vakcíny nebo insekticidy. SPF prasata nejsou nutně bez vnitřních parazitů, běžné je lehké napadení škrkavkami *Ascaris suum* nebo kokcidiemi *Isospora suis*. Některá prasata nesou gen zodpovědný za maligní hypertermii nebo syndrom prasečího stresu, tzv. halotan gen. Homozygoti mohou po použití anestezie trpět onemocněním charakteristickým vysokou horečkou a záškuby svalstva. Tento fakt by mohl mít negativní dopad na experiment.

V USA v roce 1950 vznikla organizace National SPF Agency, která sestavila kritéria pro chov a vznik SPF prasat, uděluje těmto chovům akreditace a kontroluje dodržování veškerých postupů (Safron aGonder, 1997). V České republice je tento chov zastoupen laboratoří v Dolech na Novém Hrádku, která vznikla v roce 1953 a je součástí imunologie a gnotobiologie Mikrobiologického ústavu Akademie věd (Kozáková a kol., 2012). Prasata gnotobiologická, axenická nebo prasata SPF jsou potenciálním zdrojem orgánů pro xenotransplantaci (Ye et al., 1994).

	<b>Mírné</b>	<b>Středně vážné</b>	<b>Vážné</b>
<b>Hlad</b>	nevyvážená dieta		hladovění
<b>Metabolický stres</b>	akutní horko/chlad		plavání do úplného vyčerpání
<b>Nepohodlí</b>	drátěná podlaha ubikace	chirurgické implantáty	
<b>Bolest</b>	nabodnutí žíly	nabodnutí žíly, zotavování po operaci	popáleniny, zlomeniny
<b>Nevolnost</b>	infekce, tumory	toxikologie, chemoterapie	infekce s rychlým průběhem, tumory
<b>Intenzivní strach</b>	náhlá izolace	izolace, fixace, manipulace	
<b>Chronická úzkost</b>	trvalá izolace		očekávaná bolest, vyčerpání
<b>Behaviorální deprivace</b>	holé prostředí	dlouhodobé omezení pohybu	

**Tabulka č. 4:** Příklady utrpení a prožitků laboratorních zvířat souvisejících s pokusem

(Zdroj: Webster, 2009)

## **4 MATERIÁL A METODIKA**

Jak bylo popsáno výše, je velmi důležité experimenty na živých modelech důkladně promyslet, správně analyzovat data, aby bylo možné použít, co nejmenší počet zvířat potřebných pro dosažení vědeckého cíle. Bez ztráty podstatných faktů a nutnosti opakování celého experimentu na dalších zvířatech (Festing a Altman, 2002). Kolik se skutečně používá laboratorních zvířat? Na tuto otázku nelze v rámci celosvětového měřítka jednoznačně odpovědět. Bohužel u mnoha zemí nejsou k dispozici statistické údaje o počtech používaných zvířat (LushPrize, 2014).

### **4.1 Materiál**

#### **4.1.1 Analyzovaná data**

Data byla získána z databáze European Commission, která je centrálním shromaždištěm oficiálních čísel spotřeby laboratorních zvířat, u jednotlivých členských zemí Evropské unie. Každý členský stát by zde měl vykázat, ve tříleté periodě spotřebu jednotlivých druhů laboratorních zvířat, prostřednictvím jednotného formuláře. U některých členských států data chybí, případně jsou čísla vykázána v jiném roce, než u ostatních členských zemí. Následě jsou tyto informace European Commission zformovány do jediného reportu za dané období. Kompletní data, která lze po podrobném prostudování dostupných materiálů získat, jsou uvedena v tabulce v Příloze č. 9.

#### **4.1.2 Použité programy a databáze**

Pro výpočet Pearsonovy korelace byl použit MS Excel, pro ostatní statistické výpočty byl použit program Statsoft Statistica 12 CZ.

Počty využitých laboratorních prasat byly získány z databáze European Commission, v sekci Statistical Reports, portál ec.europa.eu (dne: 24. listopadu 2015). Hodnoty týkající se využití laboratorních prasat v České republice, viz Příloha č. 10, byly získány na stránkách Ministerstva zemědělství, na portálu eagri.cz. Počty obyvatel jednotlivých členských zemí Evropské unie byli získány z webových stránek Ministerstva pro místní rozvoj, mmr.cz.

## 4.2 Metodika

Pomocí neparametrického dvouvýběrového polohového testu bude porovnána spotřeba experimentálních prasat v České republice a ostatních členských zemích Evropské unie, dle dostupných dat. Následně bude pomocí Pearsonovy korelace zjišťováno, zda výkyvy a trendy ve spotřebě prasat kopírují trendy evropské. Dále pomocí lineární regrese bude určeno, zda v České republice či ostatních zemích Evropské unie je klesající, nebo rostoucí lineární závislost mezi spotřebou prasat a rokem měření.

### 4.2.1 Statistické šetření

Pro statistickou analýzu byly získány hodnoty roční úhrnné spotřeby experimentálních prasat vybraných evropských zemí z let 1999, 2002, 2005, 2010 a 2013. V každém z těchto roků jsou k dispozici informace z různých množin zemí, v závislosti na dostupnosti údajů. Pro správné a objektivní porovnání spotřeby pokusných prasat mezi státy, je nutný přepočítání spotřeby pokusných prasat na počet obyvatel členských zemí Evropské unie. Přesněji, spotřeba experimentálních prasat bude pro příslušný rok přepočtena na počet prasat na milion obyvatel, viz tabulka č. 5. Pro evropské státy je třeba nejprve sečíst vykázané hodnoty použitých prasat ve všech státech, tyto se následně vydělí součtem počtu obyvatel těchto států. Kdyby byly údaje nejprve přepočteny na počet obyvatel a následně byl průměrován jednotlivými zeměmi, byl by tak získán u země s malým počtem obyvatel neúměrně vysoký vliv. Do úhrnu evropských zemí nebyla započtena Česká republika, jedná se tedy o data striktně ostatních zemí EU, nikoli o „celoevropský průměr“.

Rok	ČR/zbytek EU	prasat/mil. ob.	Rok	ČR/zbytek EU	prasat/mil. ob.
1994	ČR	611,1381087	2007	ČR	235,1974479
1995	ČR	162,9896005	2008	ČR	219,2912913
1996	ČR	210,2245116	2009	ČR	424,627436
1997	ČR	117,3097483	2010	ČR	284,199465
1998	ČR	692,1955486	2011	ČR	214,7497134
1999	ČR	220,0408203	2012	ČR	243,7905999
2000	ČR	261,2375949	2013	ČR	212,934658
2001	ČR	206,6896538	2014	ČR	169,7554452
2002	ČR	134,9559248	1999	Zbytek EU	175,58028
2003	ČR	230,4808762	2002	Zbytek EU	160,3678255
2004	ČR	219,4988468	2005	Zbytek EU	144,5802965
2005	ČR	148,1264064	2010	Zbytek EU	226,9597269
2006	ČR	155,5031485	2013	Zbytek EU	250,458109

**Tabulka č. 5:** Předzpracování dat

#### 4.2.2 Závislost pozorování

Pro volbu metod dalšího zpracování je nutné rozhodnout, zda jsou pozorování v České republice a zbytku EU z jednotlivých let závislá, nebo nikoli. Tedy jestli je možné porovnání jen v rámci daného roku, nebo zda nezáleží na roku, ze kterého pozorování pochází. Závislost by se projevila tím, že by časové výkyvy v rámci České republiky kopírovaly výkyvy v rámci EU a naopak. Je tedy nutné prověřit, zda v letech 1999, 2002, 2005, 2010 a 2013 koreluje spotřeba experimentálních prasat mezi Českou republikou a zbytkem Evropské unie.



## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Pearsonova korelace

Z výše uvedených dat byly pomocí MS Excel vypočteny hodnoty Pearsonovy korelace:  $\rho=0,723$  a  $p=0,167$ . Z velikosti korelačního koeficientu lze usuzovat, do jaké míry se vztah mezi studovanými veličinami blíží nezávislosti, nebo funkční závislosti (Gerylová a Holčík, 1985).

Na hladině významnosti  $\alpha=0,05$  nebylo prokázáno, že by byla spotřeba experimentálních prasat v České republice závislá na spotřebě v ostatních zemích Evropské unie, tedy že by výkyvy a trendy v České republice kopírovaly ty evropské. V následujících analýzách lze předpokládat, že pozorování z jednotlivých let jsou nezávislá, a je možné je porovnávat bez ohledu na letopočet. Nutnou podmínkou je, aby měření pokrývala přibližně stejná období, což je v tomto případě splněno.

### 5.2 Časové trendy

Trend vyjadřuje obecnou tendenci vývoje zkoumaného jevu za dlouhé období. Je výsledkem dlouhodobých a stálých procesů. Může být rostoucí, klesající nebo může existovat řada bez trendu. Jedním ze základních účelů modelování časových řad v čase, je využití těchto modelů, v případě jejich statistické významnosti k předvídání. Například kvantitativní odhady budoucích hodnot (Hančlová a Tvrđý, 2003).

Bude tedy zjišťováno, zda existují prokazatelné trendy v rámci času, a to jak v České republice, tak v ostatních zemích EU. Vzhledem k nevelkému množství měření je nepravděpodobné, že by byla odhalena jiná než lineární závislost. Pomocí lineární regrese bude zjištěno, zda v České republice nebo zbytku EU existuje rostoucí, či klesající lineární závislost mezi rokem měření a spotřebou experimentálních prasat.

Regresní statistika	
Násobné R	0,250539
Hodnota spolehlivosti R	0,06277
Nastavená hodnota spolehlivosti R	0,013442
Chyba stř. hodnoty	145,7498
Pozorování	21

#### ANOVA

	Rozdíl	SS	MS	F	Významnost F
Regrese	1	27031,66	27031,66	1,272498	0,273342
Rezidua	19	403616,9	21242,99		
Celkem	20	430648,6			

Tabulka č. 6: Výsledky v rámci ČR

Položka „Významnost F“ představuje p-hodnotu pro nulovou hypotézu předpokládající nezávislost roku měření a spotřeby prasat. Vzhledem k tomu, že je tato hodnota, tedy  $p=0,273342$  vyšší než zvolená hladina významnosti  $\alpha=0,05$ , nebyla tedy prokázána existence rostoucí či klesající lineární závislosti mezi rokem měření spotřebou experimentálních prasat v ČR.

Regresní statistika	
Násobné R	0,810798549
Hodnota spolehlivosti R	0,657394288
Nastavená hodnota spolehlivosti R	0,543192383
Chyba stř. hodnoty	30,52219267
Pozorování	5

#### ANOVA

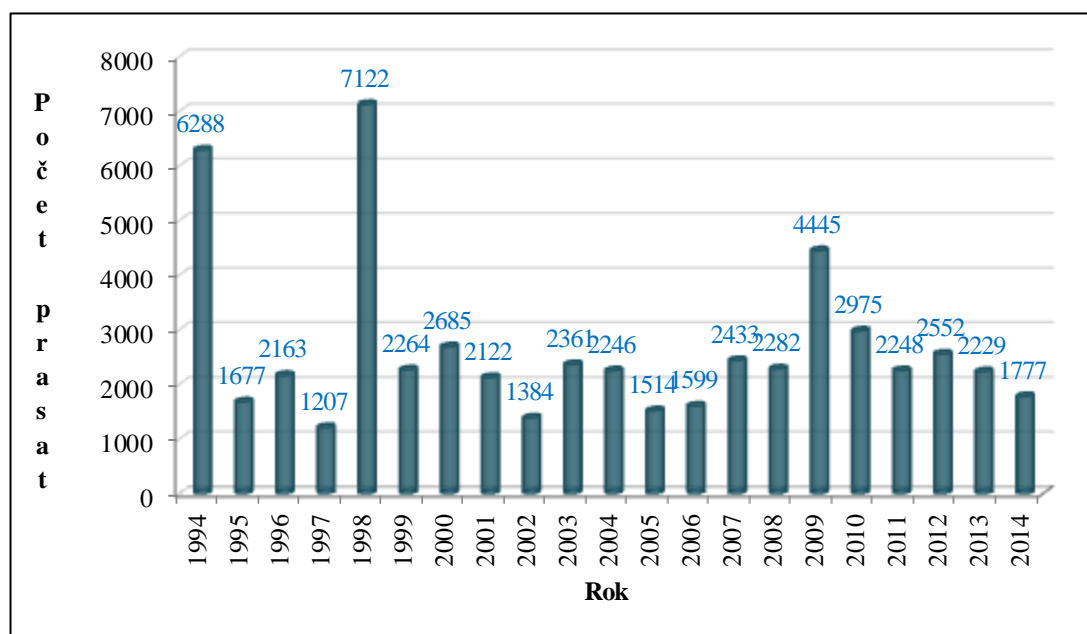
	Rozdíl	SS	MS	F	Významnost F
Regrese	1	5362,707	5362,707	5,756421	0,095938795
Rezidua	3	2794,813	931,6042		
Celkem	4	8157,519			

Tabulka č. 7: Výsledky ve zbytku EU

Položka „Významnost F“ představuje p-hodnotu pro nulovou hypotézu předpokládající nezávislost roku měření a spotřeby prasat. **I zde platí, že  $p=0,096 > \alpha=0,05$ , proto nebyla prokázána existence rostoucí či klesající lineární závislosti mezi rokem měření a spotřebou experimentálních prasat v ostatních zemích EU.**

### 5.3 Porovnání spotřeby laboratorních prasat v ČR a ostatních zemích EU

Největší využití laboratorních prasat v České republice bylo zaznamenáno **v letech 1994, 1998 a 2009**, v poslední době se počty laboratorních zvířat ustálily kolem průměru 2400 ks za rok. Spektrum použití laboratorních zvířat v České republice znázorňuje graf č. 3, uvedený v Příloze č. 12.



**Graf č. 1:** Spotřeba laboratorních prasat v ČR v letech 1994-2014

(Zdroj: eagri.cz)

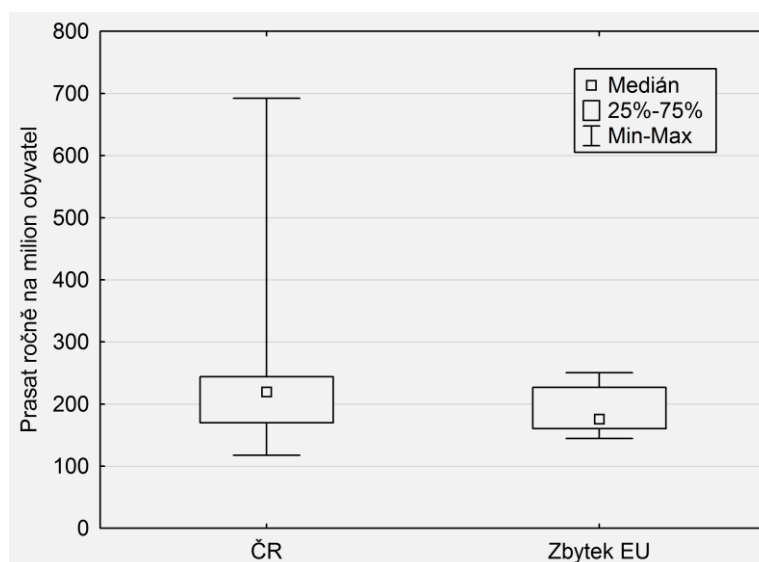
Následuje měření jednotlivých let jako nezávislých opakovaných pozorování. Vzhledem k tomu, že rozdělení hodnot spotřeby v České republice se významně liší od normálního rozdělení, použijeme k porovnání neparametrický dvouvýběrový polohový test, konkrétně Mann-Whitney U test.

Tento test je často nazýván také jako Wilcoxonův test, který není testem o střední hodnotě, ale testem mediánu. Jeho předpokladem je symetrie rozdělení náhodné veličiny, z něhož pochází náhodný výběr (Gerylová a Holčík, 1985).

Mann-Whitneyův U Test (w/ oprava na spojitost) (lab_swine_stat)										
Dle proměn. ČR/zbytek EU										
Označené testy jsou významné na hladině $p < ,05000$										
Proměnná	Sčt poř. ČR	Sčt poř. Zbytek EU	U	Z	p-hodn.	Z upravené	p-hodn.	N platn. ČR	N platn. Zbytek EU	2*1str. přesné p
prasad/mil. Ob.	295,0000	56,00000	41,00000	0,715660	0,474202	0,715660	0,474202	21	5	0,486136

**Tabulka č. 8:** Výsledky porovnání spotřeby v ČR a ostatních zemí EU

Podle výsledné hodnoty  $p=0,486 > \alpha=0,05$  lze soudit, že nebyla prokázána ve zkoumaném období, významná odlišnost spotřeby prasat v přepočtu na obyvatele mezi ČR a ostatními zeměmi Evropské unie.



**Graf č. 2:** Výsledky porovnání spotřeby prasat v ČR a ostatních zemí EU

Graf č. 2 zobrazuje nízkou diferenciaci mezi počty použitých prasat v České republice a ostatních členských zemích Evropské unie.

Proměnná	ČR/zbytek EU=ČR Popisné statistiky (lab_swine_stat.sta)							
	N platných	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Dolní kvartil	Horní kvartil	Sm.odch.
<b>prasat/mil. Ob.</b>	21	255,9494	219,2913	117,3097	692,1955	169,7554	243,7906	146,7393

**Tabulka č. 9:** Popisná statistika ČR

Proměnná	ČR/zbytek EU=Zbytek EU Popisné statistiky (lab_swine_stat.sta)							
	N platných	Průměr	Medián	Minimum	Maximum	Dolní kvartil	Horní kvartil	Sm.odch.
<b>prasat/mil. Ob.</b>	5	191,5892	175,5803	144,5803	250,4581	160,3678	226,9597	45,15949

**Tabulka č. 10:** Popisná statistika zbytku EU

Statistická analýza ze získaných dat neprokázala rozdíl ve spotřebě laboratorních prasat České republiky a ostatních členských zemí Evropské unie. Bohužel kvůli chybějícím údajům některých států Evropské unie v některých letech, nebylo možné provést důkladnější statistické šetření. Například porovnání jednotlivých zemí mezi sebou a určení trendu v celoevropském měřítku. Aktuální celkové hodnoty spotřeby laboratorních prasat v evropských zemích, konkrétně za roky 2014, 2015 a 2016 budou k dispozici v reportu European Commission až v roce 2017.

## 6 DISKUZE

Prase domácí *Sus scrofa domestica* je domestikovanou formou prasete divokého *Sus scrofa* (Wilson a Reeder, 2005). Začátek fylogeneze spadá do oligocénu, tedy do doby před 37–22,5 mil. lety, kdy vznikli první prasatovití ve Starém světě a pekariovití v Severní Americe. Divoké prase bylo důležitou kořistí prvních lovců a sběračů, domestikováno bylo asi před 10 000 lety (Groenen et al., 2012). Prasata byla a jsou dodnes primárně využívána jako hospodářské zvíře, ale díky vzniku miniaturních plemen prasat a také díky značným podobnostem anatomie a fyziologie s člověkem, došlo v posledních třiceti letech k nárůstu jeho využití jako laboratorního zvířete.

Chov laboratorních prasat je díky svým specifickým požadavkům a obsáhlostí řazen mezi ty více náročné. Jak se shoduje mnoho autorů (Bollen et al., 2000; Panepito, 1968; Sales et al., 1999; Saltarelli a Coppola, 1979) jsou zde kladeny vysoké nároky na podmínky makro- a mikroprostředí, především teplotu, cirkulaci vzduchu, světelný režim, hluk a vibrace. Ubikace pro jednotlivá prasata musí splňovat minimální podmínky na prostor s ohledem na plemeno a věk. Konstrukce kotců musí být pevné, tak aby prasata zařazená do experimentu nemohla zranit sama sebe, případně jiné zvíře nebo člověka. V laboratorním chovu nelze mluvit o welfare, tedy o pohodě zvířat; jen s velkými obtížemi by mohly být splněny skutečné behaviorální potřeby prasat. Je známo, že prasata jsou velmi adaptabilní druh, a díky tomu jsou schopna bez větších nepříjemností přijmout např. malý prostor, tmu, ubikaci s rošty nebo substrátu apod. Ovšem ani v tomto chovu by neměly být opomíjeny možnosti enrichmentu, které budou v souladu s experimentem, tyto ve své studii popisuje Bayne (2005). Ty mohou zvířatům pobyt určitým způsobem zpříjemnit, snížit stres a zabránit nudě. A to i v případě, že budou zvířata na konci experimentu utracena. Jak píše Webster (2009) ve své knize Kulhání k ráji, máme morální povinnost respektovat vnitřní hodnotu jakéhokoliv zvířete v naší péči, nezávislou na jeho vnější hodnotě pro nás. Rovněž personál musí být proškolený, spolehlivý a velmi profesionální. Kromě dodržování důkladné zoohygieny, by měl každý ošetřovatel vědět, jaké zvíře je zařazeno do jakého pokusu. I v tomto chovu musí být vedena přesná evidence, přesněji deník. Kde bude každý den zaznamenáno, co se s konkrétním zvířetem před experimentem, během něj a po něm provádělo, jaká má být následná péče, případně jaké léky budou zvířeti podávány a jakou formou, kdy má mít hladovku apod.

Zanedbání zoohygieny nebo chybějící evidence může vést ke změně výsledků pokusu nebo k jeho úplnému zmaření.

Krmení je v laboratorním chovu řešeno pomocí komerčně vyráběných kompletních krmných směsí. Ty jsou ve formě pelet nebo ve formě šrotu; v každém případě je nutné zajistit neomezený přístup k pitné vodě. Krmení pro prasata může mít také formu sypké směsi, která se před podáním smíchá s vlažnou vodou. Opět platí, že ošetřovatel bude znát krmné dávky a interval krmení pro jednotlivá prasata. Krmivo a jeho aplikace budou zcela odlišné, jestliže bude prase zařazeno v experimentu týkajícím se výživy a metabolismu. Prase by mělo mít neomezený přístup k pitné vodě, pokud podmínky experimentu nevyžadují opak. Součástí každého zařízení pro laboratorní zvířata musí být také zázemí pro personál, obslužné chodby, prostory pro uskladnění krmiv, prostory pro nářadí a úklidová zařízení, veterinární ordinace a kanceláře.

V moderních výzkumných centrech už je také běžnou součástí několik operačních sálů, které svým vybavením kopírují přístrojové a technické vybavení operačních sálů v nemocnici. Operační sály a chovatelské prostory jsou odděleny a zaměstnanci musí dodržovat pravidla hygienické smyčky, do „čisté zóny“ smí vstupovat jen převlečení do jednorázového oděvu a v příslušném obutí. Naskladnění a obsluha zvířat se provádí ze strany „špinavé zóny“. Extrémním případem je chov zvířat za tzv. bariérou; v tomto případě jsou zvířata dovezena ze specializovaných zařízení, kde jsou k tomuto chovu vytvořena. Chována jsou za bariérou, jejímž smyslem je zamezit kontaminaci této části mikroorganismy. Jedná se o SPF prasata, jejichž mikroflóra neobsahuje specifické patogeny. Gnotobiologická zvířata mají přesně definovanou střevní mikroflóru, zatímco axenická tzv. germ-free laboratorní zvířata, jsou prostá veškeré mikroflóry v zažívacím traktu a povrchu těla. Germ-free selata jsou získána císařským řezem, následně jsou umístěna do sterilního izolátoru, jsou krmena náhražkou mléka, která musí projít autoklávem. A jak píše Meyer et al., (1964), konstrukce izolátorů a aplikace gnotobiologických podmínek u tak velkého druhu, jako je prase, není oproti původnímu předpokladu až tak náročná. V České republice je např. taková laboratoř v Ústavu mikrobiologie Akademie věd ČR. Jejím záměrem je vytvoření jednotky pro odchov a chov selat bez mleziva. Díky placentě prasnic nedochází k přenosu mateřských protilátek na selata, proto zde vytvořená prasata, jsou ideálním objektem imunologických studií.

Konvenční chov laboratorních prasat je pro zde pracující personál velmi obtížný, vyžaduje fyzickou a psychickou odolnost a klade vysoké nároky na pečlivost a vzdělanost. Zde platí tvrzení Webstera (2009) respektování autonomie zvířat je obtížnější koncepce. Je nutné brát v úvahu fakt, že tato práce zahrnuje živé objekty.

V roce 1959 Russell a Burch vyslovili teorii „3R“, která se jako třetím R, tedy „Refinement“, zabývá právě možnostmi zjemnění a celkového zmenšení utrpení pokusných zvířat. Koncept „3R“ dále zahrnuje „Replacement“, tedy úplné nahrazení živých zvířecích modelů a „Reduction“, tedy pokud nelze zvířata nahradit nějakou alternativou, musí být stanoven ideální počet modelových zvířat v experimentu.

Jedním z prvních experimentátorů využívající pokusná prasata byl Galén. Žil v Římské říši ve 2. století, byl největším experimentálním fyziologem a anatomem své doby. Jeho představy o biologii a medicíně dominovaly Evropě více než 1500 let. Jedním jeho nejznámější pokusem byla ztráta vokalizace u prasete po sekci hrtanových nervů (Gross, 1998). Pokusy na zvířatech byly následně znovuobjeveny až v renesanci lékařem chirurgem Vesaliusem (1514–1564), díky jehož experimentům došlo k objasnění toho, že některé anatomické struktury jsou u člověka a zvířat rozdílné. K tomuto poznání také napomohla nelegálně získaná lidská mrtvola. Vesalius též zkoumal anatomické podobnosti a odlišnosti mezi člověkem a živočichy; díky tomu byly nastaveny základy moderní srovnávací anatomie. Filozof Immanuel Kant (1724–1804) vyslovil: „Všechna zvířata existují pouze jako nástroj, a ne pro své vlastní dobro, neuvědomují si sebe sama, člověk nemá žádné povinnosti ke zvířatům,“ Je zřejmé, že s takto extrémním názorem by v dnešním vědeckém světě neuspěl. Značný odpor proti vivisekci byl zaznamenán na počátku 18. století. Výraznou osobností v tomto směru byl Jeremy Bentham (1748–1832), který jako první navrhoval posun od antropocentrického myšlení a nabádal k povinnosti vůči zvířatům a laskavosti k nim. Nezabýval se tím, zda zvířata mohou uvažovat nebo mluvit, ale jestli mohou trpět. Další významný experimentátor Claude Bernard (1813–1878) obhajoval tvrzení, že jen náležitě kontrolované a precizně provedené pokusy na zvířatech mohou poskytnout spolehlivé vědomosti z oblasti fyziologie a patologie (Franco, 2013). Schématický vývoj využívání laboratorních zvířat vystihuje obrázek uvedený v Příloze č. 11. Od druhé poloviny 19. století, po vzniku prvních anestetik, došlo k výraznému nárůstu používání živých modelů. Historicky se používání laboratorních zvířat vyvíjelo souběžně s vývojem západní humánní medicíny (van Zutphen, 1986).



V roce 1999 byla podepsána deklarace 3rd World World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences. Zde je popsáno, že lidské bádání je základním předpokladem kvalitní vědy, které se nejlépe dosáhne pomocí využití laboratorních zvířat a aplikace „3R“ (Franco, 2013).

Přínos experimentálních prasat je zřejmý. Díky jejich anatomické a fyziologické podobnosti jsou využívána v různých odvětvích medicíny. V oblasti toxikologie jsou pomocníkem při testování nových léčebných terapií a zjišťování jejich bezpečnosti použití u člověka. Výhodou prasat je v tomto případě jejich velká žravost, jsou schopna léky přijímat společně s krmnou dávkou. Prasata bývají součástí také dermální toxikologie, na jejich kůži je zkoumáno hojení ran a popálenin. V oblasti kardiovaskulárního výzkumu je sledován např. vznik aterosklerózy, který je stejný jako u člověka, studium srdečních vad, infarktu myokardu, srdeční arytmie nebo srdečního selhání. Stejně jako člověk jsou prasata všežravá, ale gastrointestinální trakt není u prasete stejný jako u člověka. Přesto je prase velmi častým objektem experimentálního výzkumu trávicí soustavy a jejich poruch. Příkladem je testování různých doplňků stravy, výzkum vzniku obezity a regulace energetické bilance, studium cukrovky. Výrazné je jejich užití při výzkumu funkce jater a možnosti jejich regenerace.

V oblasti centrální nervové soustavy zahrnují experimenty šetření traumatu, mrtvice a poškození míchy. Významné jsou rovněž studie zabývající se regenerací pohybového aparátu. Do kostí prasat bývá aplikováno různé množství biologického nebo syntetického materiálu, které jsou testovány pro svůj vliv na hojení kostí. Testování různých rozpadajících se či pevných implantátů by mohlo být v budoucnu přínosné při rekonstrukci a hojení komplikovaných zlomenin u člověka. Chirurgie a možnosti xenotransplantace jsou asi nejvíce sledovanou oblastí u experimentálních prasat. Prasata právě díky své podobnosti orgánových struktur jsou velmi často objektem výuky chirurgických technik na živém „pacientovi“. Prasata jsou kvůli zmíněné anatomické shodě s člověkem také nejlepšími potenciálními dárci orgánů, ale zejména v této oblasti je třeba stále hledat odpovědi na související otázky z oblasti imunologie. Též je nezbytná vysoká míra opatrnosti. Ačkoliv by prasata mohla být vhodnými dárci některých orgánů pro člověka, je zde nemalé riziko přenosu některých závažných onemocnění jako je Creutzfeldt-Jacobova choroba, tuberkulóza, toxoplazmóza a ebola.

Rovněž genetika výrazně napomohla rozšířit možnosti využití laboratorních prasata. U geneticky modifikovaných prasat byla studována cystická fibróza, rakovina prsu nebo osteogenetické nádory. Spektrum testování na laboratorních prasatech je skutečně obrovské a díky prokazatelné podobnosti s člověkem se jeví jako účelné a racionální. Ale ani při použití tohoto hospodářského zvířete nesmí být opomíjena skutečnost, že se jedná o živý subjekt a s tímto faktem musí být přistupováno k plánování experimentu a jeho očekávanému přínosu.

V České republice spadá ochrana a evidence laboratorních zvířat pod Ministerstvo zemědělství. Portál [eagri.cz](http://eagri.cz) tohoto ministerstva poskytuje kompletní informace o počtech použitých pokusných zvířat, o účelu jejich použití, legislativě, jsou zde dostupné také formuláře k projektu pokusu a jeho netechnickému shrnutí. Důležitou součástí jsou právě vykázané statistické údaje o vývoji používaných laboratorních druhů. V České republice bylo spotřebováno nejvíce laboratorních prasat v letech 1994, 1998 a 2009. Za poslední roky se hodnoty využívaných laboratorních prasat ustálily kolem průměru 2400 kusů. Franco (2013) ve své studii píše, že cílem European Commission je kompletní nahrazení všech laboratorních zvířat do roku 2050.

Otázkou zůstává, zda je vůbec nutné pro naše poznání provádět pokusy na zvířatech. Jak píše Mark Bekoff (2009) ve své knize Na zvířatech záleží, názory na tuto problematiku se různí. Někteří učitelé a badatelé tvrdí, že pitvy a pokusy na zvířatech jsou nezbytné, neboť představují jediný způsob, jak se student může naučit fyziologii a anatomii. Prohlašují, že alternativy nevyužívající zvířata nejsou po vzdělávací stránce tak užitečné. Jiní pedagogové a výzkumníci se však domnívají, že alternativy k pokusným zvířatům jsou stejně vhodné či dokonce lepší než pokusy na zvířatech. Na tuto otázku nelze jednoznačně odpovědět. V každém případě je nutná velká dávka obezřetnosti, zdravého rozumu a citu pro danou problematiku. Pokusy na zvířatech mají nesporný význam v biomedicinské a veterinární oblasti. Ačkoliv jsou alternativní metody nahrazující pokusná zvířata na vysoké úrovni, jejich velkou nevýhodou je jejich cena. V případě počítačového modelování také fakt, že jsou neživé. U mnoha živých organismů dosud neznáme některé fyziologické či biochemické pochody, následně je pak velmi obtížné poznat např. účinky jisté léčivé látky nebo naopak její toxicitu. Nevýhody alternativ zahrnující tkáňové kultury spočívají v nedostatku celistvosti, tedy absence jejich fungování v komplexu systémových soustav, jako je tomu u zvířecího nebo lidského organismu.

Během kultivace buněk *in vitro* je součástí kultivačního média také FBS – fetální bovinní sérum, které obsahuje hormony a růstové faktory potřebné pro růst buněk. Bovinní sérum se získává z krve plodu březích krav (Jochems et al., 2002). Z hlediska etiky se tedy *in vitro* metody jeví jako méně etické než přímý pokus na živém zvířecím modelu.

Naproti tomu výzkumné instituce, farmaceutické a biotechnologické společnosti či oblast akademického bádání čelí tlaku na zvýšení produktivity (Underwood, 2007) a kariéra badatelů akademických institucí závisí na počtu a dopadu jejich publikací. Z toho vyplývá skutečnost, že jejich práce budou více publikovány, pokud bude v experimentu dosaženo pozitivních výsledků (Bart van der Worp et al., 2010). Všechny instituce by měly důkladně zvážit politiku a postupy ohledně pokusů na živých zvířecích modelech, tedy jejich sledování, řízení a schvalování (Underwood, 2007). V tomto ohledu se lze souhlasit s tvrzením Webstera (2009), tedy že opatrnost při vědeckém výzkumu nabývá na významu, zejména když se týká tématu tak emocionálně a morálně zatíženého, jako je utrpení zvířat. Pokusy na zvířatech jsou celosvětově výrazným tématem. Překvapivě málo zemí shromažďuje a zveřejňuje skutečné statistiky používaných laboratorních zvířat. Nedávné odhady celosvětové roční spotřeby laboratorních zvířat jsou nepřesné a nepodložené, a to od 28–100 milionů. Přesnější odhad je 115,3 milionů zvířat, který zahrnuje i zvířata usmrcená pouze jako zdroj tkání, zvířata, která jsou chována pro udržení GMO kmenů, a zvířata, která jsou zařazena do laboratorního chovu, ale utracena jako nepotřebná. I tento odhad je pravděpodobně podhodnocený (Taylor et al., 2008).

Komplikací v tomto směru je také rozdílná legislativa v různých částech světa. Například USA a Japonsko jsou největšími spotřebiteli pokusných zvířat; za rok 2005 je pro USA uvedena spotřeba více než 17 mil. a v Japonsku kolem 11 mil laboratorních zvířat. Třetím největším uživatelem laboratorních zvířat je Velká Británie, kde se roční počet laboratorních zvířat odhaduje na 2 miliony. Bohužel jejich statistické údaje jsou velmi nespolehlivé, v případě USA nejsou do celkových statistik zahrnuti hlodavci, ptáci, plazi, obojživelníci a ryby (LushPrize, 2014). Totožné nedostatky jsem našla při svém statistickém šetření v rámci Evropské unie a České republiky, kdy v mnoha případech nelze dohledat čísla skutečně použitých laboratorních prasat u jednotlivých členských zemí. Některé členské státy nevykazují statistiku používaných laboratorních druhů vůbec.

V tak závažném odvětví musí být toto chápáno jako velmi zásadní mezinárodní problém, a pokud chceme fungovat jednotně v rámci Evropské unie, je nutné stanovit si určité priority v oblasti ochrany pokusných zvířat. Následná realizace „3R“ je velmi obtížná bez pravidelných a přesných statistik (Taylor et al., 2008). Řešením by mohla být jednotná forma vykazování čísel použitých laboratorních zvířat, kterou u ochrany a péče o laboratorní zvířata považují za zásadní. Ta by měla být v budoucnu realizována nejen jako doporučení, ale jako mezinárodně platná direktivní norma. Rovněž publikování veškerých výsledků z experimentálních studií na zvířatech, tedy i těch bez okamžitého a zřejmého přínosu, by mohlo snížit počty používaných zvířat. Jak píše Bart van der Worp (2010), možným východiskem v oblasti etického využití laboratorních zvířat by byl adekvátní monitoring a centrální kontrola experimentů. To může vést k tomu, že se reálně nebude opakovat pokus na živých zvířatech, který byl např. před třemi lety proveden jinde na světě v podobném výzkumném zařízení.

Pomoci by v tomto směru mohla také metoda metaanalýzy, která shromažďuje velké množství různých empirických výsledků z určité badatelské oblasti a sjednocuje různé náhledy na věc. Jednotlivé výsledky se mezi sebou velmi často liší, což může být matoucí, a co je horší, vědecké výsledky jsou často publikovány selektivně. Publikované vědecké výsledky pak nemusejí odrážet skutečná vědecká zjištění (Havránek, 2015). Oblast kolem laboratorních zvířat by jednoznačně měla být transparentní a přístupná, cílem není vědeckou společnost pranýřovat za pokusy na zvířatech. Pokud je vše provedeno dle lokálních legislativních norem a s realizací koncepce „3R“, může být právě toto pádným argumentem v diskuzi se zastánci úplného nahrazení pokusných zvířat, které je v současné době nereálné a v medicínském výzkumu by bylo jasným krokem zpět. V tomto ohledu se lze ztotožnit s myšlenkou Marka Bekoffa (2009), předního světového biologa, tedy že přes nedůslednost a rozpory při řešení obtížných otázek ochrany zvířat člověk ušel značný kus cesty. Ale neměl by upadat do samolibosti, protože stále existuje příliš mnoho trpících zvířat v důsledku lidského zacházení. Problematika laboratorních zvířat je velmi složitá a v této oblasti jsou určitá míra důslednosti a přísné směrnice třeba.

Celou problematiku zpracovanou v této diplomové práci výstižně doplňuje citát George Orwella (1944) z knihy *Farma zvířat*: „Zvenčí pohlížela zvířata z prasete na člověka a z člověka na prase a opět z prasat na člověka. Ale nebylo možné rozlišit, která tvář patří člověku a která praseti.“

## 7 ZÁVĚR

Současný laboratorní chov prasat je na vysoké úrovni, bohužel jeho velkým nedostatkem v celosvětovém měřítku je neúplnost vykázaných dat, týkajících se reálných hodnot použitých prasat v experimentech. Do budoucna je žádoucí větší důslednost a propojenost informací ze světových databází, která by v této oblasti umožnila podrobnější a přesnější analýzy.

Pomocí statistického šetření bylo zjišťováno, zda existují trendy v rámci času v České republice a ostatních členských zemích Evropské unie. Výsledné hodnoty neprokázaly, že by existovala rostoucí či klesající lineární závislost mezi sledovaným rokem a jeho hodnotou určující využití experimentálních prasat v České republice. Rovněž u hodnot ostatních členských států Evropské unie nebyla prokázána rostoucí či klesající lineární závislost mezi danou hodnotou a příslušným rokem.

Pomocí Mann-Whitney U testu byly porovnány hodnoty využitých laboratorních prasat České republiky a ostatních členských zemí Evropské unie, v přepočtu na obyvatele. Z výsledných hodnot vyplývá, že nebyl prokázán rozdíl ve využití experimentálních prasat mezi Českou republikou a Evropskou unií. Na základě tohoto porovnání, lze konstatovat, že výkyvy a trendy ve využití laboratorních prasat v České republice nekopírují ty evropské. Lze přijmout stanovenou hypotézu.

## 8 SEZNAM LITERATURY

**Albarella, U., Dobney, K., Rowley-Conwy, P. 2009.** Size and shape of the Eurasian wild boar (*Sus scrofa*), with a view to the reconstruction of its Holocene history. *Environmental Archeology*. 14(2). 103-106.

**Aliaga-Leyton, A., Friendship, R., Dewey, C. E., Todd, C., Peregrine, A. S. 2011.** Isospora suis infection and its association with postweaning performance on three southwestern Ontario swine farms. *Journal of Swine Health Production*. 19(2). 94-99.

**Al-Hasan, A., Rahman, M. A., Saha, B. K., Al-Hasan, A., Rakib, F. K., Mondal, H. 2015.** Occurrence of *Balantidium coli* in pig. *Mymensingh, Bangladesh*. 2(1). 86-89.

**Aurich, L. A., da Silva, L. F. M. Jr., do Rego Monteiro, F. M., Ottoni, A. N., Jung, G. S., Ramina, R. 2014.** Microsurgical training model with nonliving swine head. Alternative for neurosurgical education. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 29(1). 879-881.

**Azar, T. A., Sharp, J. L., Larson, D. M. 2008.** Effect of housing rats in dim light or long nights on heart rate. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 47. 25-34.

**Baer, L. A., Corbin, B. J., Vasques, M. F., Grindeland, R. E. 1997.** Effects of the use of filtered microisolator tops on cage microenvironment and growth rate of mice. *Laboratory Animal Science*. 47. 327-329.

**Bach, F. H., Fishman, J. A., Daniels, N., Proimos, J., Anderson, B., Carpenter, C. B., Forrow, L., Robson, S. C., Fineberg, H. V. 1998.** Uncertainty in xenotransplantation: Individual benefit versus collective risk. *Nature Medicine*. 4. 141-144.

**Bach Knudsen, K. E., Lærke, H. N., Steinfeldt, S., Hedemann, M. S., Jørgensen, H. 2006.** In vivo methods to study the digestion of starch in pigs and poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 130(1-2-). 114.135.

**Bailey, L. L., Nehlsen-Cannarella, S. L., Concepcion, W., Jolley, W. B. 1985.** Baboon-to-human cardiac xenotransplantation in a neonate. *Jama*. 254(23). 3321-3329.

- Baldwin, A. L. 2007.** Effects of noise on rodent physiology. *International Journal of Comparative Psychology*. 20. 134-144.
- Balls, M., Straughan, D. W. 1996.** The three Rs of Russell & Burch and the testing of biological products. *Developmental Biology*. 86. 8- 11.
- Bart van der Worp, H., Howells, D. W., Sena, E. S., Porritt, M. J., Rewell, S., O'Collins, V., Macleod, M. R. 2010.** Can Animal Models of Disease Reliably Inform Human Studies?. *Plos*. 7(3). 239-276.
- Baumans, V. 2007.** The welfare of laboratory mice. Springer Netherlands. (2). 119-152.
- Bayne, K. A. 2005.** Potential for unintended consequences of environmental enrichment for laboratory animals and research results. *Ilar Journal*. 46. 129-139.
- Beattie, V. E., Walker, N., Sneddon, I. A. 1995.** Effects of Environmental Enrichment on Behaviour and Productivity of Growing Pigs. *Animal Welfare*. 4(3). 207-220.
- Beck, R., Sprong, H., Bata, I., Lucinger, S., Pozio, E., & Cacciò, S. M. 2011.** Prevalence and molecular typing of *Giardia spp.* in captive mammals at the zoo of Zagreb, Croatia. *Veterinary parasitology*. 175(1). 40-46.
- Bekoff, M. 2009.** Na zvířatech záleží. Triton. Praha. ISBN: 978-80-7387-322-6. 224p.
- Bellhorn, R. W. 1980.** Lighting in the animal environment. *Laboratory Animal Science*. 30(2). 440-450.
- Besch, E. L. 1980.** Environmental quality within animal facilities. *Laboratory Animal Science*. 30. 385-406.
- Bindelle, J., Buldgen, A., Delacollette, M., Wavreille, J., Agneessens, R., Destain, J. P., Leterme, P. 2009.** Influence of source and concentrations of dietary fiber on in vivo nitrogen excretion pathways in pigs as reflected by in vitro fermentation and nitrogen incorporation by fecal bacteria. *Journal of Animal Science*. 87(3). 1199-1200.

- Bloor, C. M., White, F. C., Sanders, T. M. 1984.** Effects of exercise on collateral development in myocardial ischemia in pigs. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*. 56(3). 656-665.
- Bollen, P., Ellegaard, L. 1997.** The Göttingen minipig in *Pharmacology and Toxicology*. *Pharmacology and toxicology*. 80(2). 3-4.
- Bollen, P. J. A, Hansen, A. K., Rasmussen, H. J. 2000.** *The Laboratory Swine*. CRC Press LLC. New York. ISBN: 0-8493-1035-0. 135 p.
- Bollen, P., Ellegaard, L. 2009.** The Gottingen Minipig in *Pharmacology and Toxicology*. *Pharmacology and Toxicology*. 80(2). 1-2.
- Brainard, G. C., Vaughan, M. K., Reiter, R. J. 1986.** Effect of light irradiance and wavelength on the Syrian hamster reproductive system. *Endocrinology* 119. 648-654.
- Briese, V., Fanghanel, J., Gasow, H. 1984.** Effect of pure sound and vibration on the embryonic development of the mouse. *Zentralbl Gynakol*. 106(6). 379-388.
- Broderson, J. R., Lindsey, J. R., Crawford, J. E. 1976.** The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. *American Journal of Pathology*. 85. 115-127.
- Brooke, C. J., †Riley, T. V. 1999.** *Erysipelothrix rhusiopathiae*: bacteriology, epidemiology and clinical manifestations of an occupational pathogen. 48(1999). 789-799.
- Buser, D., Schenk, R. K., Steinemann, S., Fiorellini, J. P., Fox, C. H., Stich, H. 1991.** Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *Journal of Biomedical Materials Research*. 25(7). 889-902.
- Calne, R. Y., Sells, R. A., Marshall, V. C., Millard, P. R., Herbertson, B. M., Hadjiyannakis, E. J., Davis, D. R. 1972.** Multiple organ grafts in the pig techniques and results of pancreatic, hepatic, cardiac, and renal allografts. *British Journal of Surgery*. 59(12). 969-977.



- Campagnolo E. R., Warwick. M. C., Marx, H. L. Jr., Cowart, R. P., Donnell, H.D. Jr., Bajani, M. D., Bragg, S. L., Esteban, J. E., Alt, D. P., Tappero, J. W., Bolin, C. A., Ashford, D. A. 2000.** Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 216(5). 676-682.
- Campo, J. L., Gil, M. G., Davila, S. G. 2005.** Effects of specific noise and music stimuli on stress and fear levels of laying hens of several breeds. *Applied Animal Behaviour Science*. 91(1). 75-84.
- Canibe, N., Bach Knudsen, K. E. 1997.** Digestibility of dried and toasted peas in pigs. 1. Ileal and total tract digestibilities of carbohydrates. *Animal Feed Science and Technology*. 64(2-4). 293-310.
- Carter, S. D., Sauber, T., Zijlstra, R. 2004.** Energy Sources for Swine Diets. *Nutrition Guide: National Swine*. 22-29.
- Castelhano-Carlos, M. J., Baumans, V. 2009.** The impact of light, noise, cage cleaning and in-house transport on welfare and stress of laboratory rats. *Laboratory animals*. 43(4). 311-327.
- Coffey, M. T. 1983.** Fat in swine diet. *IFAS Extension, University of Florida*. 1-2.
- Colier, R. 2008.** Switching swine for simulators: At what cost?. *Canadian Medical Association Journal*. 179(8). 1-2.
- Cromwell, G. L. 2012.** Rendered Products in Swine Nutrition. *Animal Sciences, University of Kentucky*. 2-17.
- Dauchy, R. T., Dupepe, L. M., Ooms, T. G., Dauchy, E. M., Hill, C. R., Mao, L., Belancio, V. P., Slakey, L. M., Hill, S. M., Blask, D. E. 2011.** Eliminating Animal Facility Light-at-Night Contamination and Its Effect on Circadian Regulation of Rodent Physiology, Tumor Growth, and Metabolism: A Challenge in the Relocation of a Cancer Research Laboratory. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 50(3). 326-336.

- De Vera Mudry, M. C., Kronenberg, S., Komatsu, S., Aguirre, G. D. 2013.** Blinded by the Light Retinal Phototoxicity in the Context of Safety Studies. *Toxicologic Pathology*. 41. 813-825.
- De Vicente, J. C., López-Arranz, E., López-Arranz, J. S. 2000.** Tissue regeneration in bone effects adjacent to endosseous implants: an experimental pilot study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry*. 20(1). 41-49.
- Doke, S. K., Dhawale, S. C. 2015.** Alternatives to animal testing. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 23(3). 223-229.
- Doster, A. R. 1995.** Skin diseases of swine. *Journal of Swine Health and Production*. 3(6). 256-261.
- Dubanský, V., Drábek, J. 2002.** Progresivní atrofická rinitida prasat. *Veterinářství*. 52. 81-86.
- Duncan, T. E., O'Steen, W. K. 1985.** The diurnal susceptibility of rat retinal photoreceptors to light-induced damage. *Experimental Eye Research*. 41. 497-507
- Dunlap, G. L., Graham, R. 1937.** Swine Erysipelas. University of Illinois, Circular 471. Illinois. ISBN: IOM-4-37-11736. 16p.
- Emil, S., Kanno, S., Berkeland, J., Kosi, M., Atkindon, J. 1996.** Sustained pulmonary vasodilation after inhaled nitric oxide for hypoxic pulmonary hypertension in swine. *Journal of Pediatric Surgery*. 31(3). 389-393.
- Erkert, H. G, Grober, J. 1986.** Direct modulation of activity and body temperature of owl monkeys (*Aotus lemurinus griseimembra*) by low light intensities. *Folia Primatology* 47.171-188.
- Eskola, S., Lauhikari, M., Voipio, H. M., Laitinen, M., Nevalainen, T. 1999.** Environmental enrichment may alter the number of rats needed to achieve statistical significance. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*. 26. 134-144.

**Ezashi, T., Telugu, B. P., Roberts, R. M. 2012.** Induced pluripotent stem cells from pigs and other ungulate species: an alternative to embryonic stem cells? *Reproduction in Domestic Animals*.47. 492-497.

**FASS. 2010.** Consortium for Developing a Guide for the Care and Use of Agricultural: Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Agricultural Research and Teaching. Champaign, Illinois. ISBN: 978-1-884706-11-0. 177p.

**Feng, Y., Xiao, L. 2011.** Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Revue*. 24(1). 110-140.

**Festing, M. F. W. 1994.** Reduction of animal use: Experimental design and quality of experiments. *Laboratory Animals*. 28. 212-221.

**Festing, M. F. W., Lovell, D. P. 1996.** Reducing the use of laboratory animals in toxicological research and testing by better experimental-design. *Journal of the Royal Statistical Society*. 58(B). 127-140.

**Festing, M. F. W., Altman, D. G. 2002.** Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals. *Ilar Journal*. 43(4). 244-258.

**Fink, J. S., Schumacher, J. M., Ellias, S. L., Palmer, E. P., Saint-Hilaire, M., Shannon, K., Penn, R., Starr, P., VanHorne, C., Kott, H. S., Dempsey, P. K., Fischman, A. J., Raineri, R., Manhart, C., Dinsmore, J., Isacson, O. 2000.** Porcine xenografts in Parkinson's disease and Huntington's disease patients: preliminary results. *Cell Transplantation*. 9(2). 273-278.

**Fisher, T. F. 1993.** Miniature swine in biomedical research: Applications and husbandry considerations. *Laboratory Animal*. 22(5). 47-50.

**Franco, N. H. 2013.** Animal Experiments in Biomedical Research: A Historical Perspective. *Animals*. 3(1). 238-273.

**Freeman, C. P., Holme, D. W., Annison, E. F. 1968.** The determination of the true digestibilities of interesterified fats in young pigs. *British Journal of Nutrition*. 22. 1-10.

- Garner, J. P. 2005.** Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *Ilar Journal*. 46. 106-117.
- Gerylová, A., Holčík, J. 1985.** *Základy statistické metodologie v lékařském výzkumu*. Avicentrum. Praha. ISBN: 08-054-85. 223s.
- Gilbert, L. I. 2008.** Non-Mammalian Models of Endocrine Signalling *Drosophila* is an inclusive model for human diseases, growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 293(2). 25-31.
- Gillette, P. C., Swindle, M. M., Thompson, R. P., Case, Ch. L., Armenia, J., Harold, M., Kerr, Ch. 1991.** Transvenous Cryoablation of the Bundle of His. *Pacing and Clinical Electrophysiology*. 14(4). 504-510.
- Giuffra, E., Kijas J. M. H., Amarger V., Carlborg Ö, Jeon J. T., Anderson L. 2000.** The Origin of The Domestic Pig: Independent Domestication and Subsequent Introgression. *Genetics*. 154. 1758-1791.
- Górska, P. 2000.** Principles in laboratory animal research for experimental purposes. *Medical Science Monitor*. 6(1). 171-180.
- Goyette-Desjardins, G., Auger. J-P., Xu, J., Segura, M., Gottschalk, M. 2014.** *Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent—an update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing. *Emerging Microbes and Infections*. 3(e45). 1-20.
- Grandin, T. 1986.** Minimizing Stress in Pig Handling in the Research Lab. *Laboratory Animal*. 15(3).
- Grandin, T. 1997.** Assessment of Stress During Handling and Transport. *Journal of Animal Science*. 75. 249-257.
- Gerbens, F., Van Erp, A. J., Harders, F. L., Verburg, F. J., Meuwissen, T. H. E., Veerkamp, J. H., Te Pas, M. F. W. 1999.** Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. *Journal of Animal Science-Menasha Then Albany Then Champaign Illinois*. 77. 846-852.

Groenen M. A. M., Archibald A. L., Uenishi H., Tuggle Ch. K., Takeuchi Y., Rothschild M. F. , Rogel-Gaillard C., Park Ch., Milan D., Megens H.-J., Li S., Larkin D. M., Kim H., Frantz L. A. F., Caccamo M., Ahn H., Aken B. L., Anselmo A., Anthon Ch., Auvil L., Badaoui B., Beattie C. W., Bendixen Ch., Berman D., Blecha F., Blomberg J., Bolund L., Bosse M., Botti S., Bujie Z., Bystrom M., Capitanu B., Carvalho-Silva D., Chardon P., Chen C., Cheng R., Choi S.-H., Chow W., Clark R. C., Clee Ch., Crooijmans R. P. M. A., Dawson H. D., Dehais P., De Sapio F., Dibbits B., Drou N., Du Z.-Q., Eversole K., Fadista J., Fairley S., Faraut T., J. Faulkner G. J., Fowler K. E., Fredholm M., Fritz E., Gilbert J. G. R., Giuffra E., Gorodkin J., Darren K., Griffin D., L. Harrow J. L., Hayward A., Howe K., Hu Z.-L., Humphray S. J., Hunt T., Hornshøj H., Jeon J.-T., Jern P., Jones M., Jurka J., Kanamori H., Kapetanovic R., Kim J., Kim J.-H., Kim K.-W., Kim T.-H., Larson G., Lee K., Lee K.-T., Leggett R., Lewin H. A., Yingrui Li Y., Liu W., Loveland J. E., Lu Y., Lunney J. K., Jian Ma J., Madsen O., Mann K., Matthews L., McLaren S., Morozumi T., Murtaugh M. P., Narayan J., Nguyen D. T., Ni P., Oh S.-J., Onteru S., Panitz F., Park E.-W., Park H.-S., Pascal G., Paudel Y., Perez-Enciso M., Ramirez-Gonzalez R., Reecy J. M., Rodriguez-Zas S., Rohrer G. A., Rund L., Sang Y., Schachtschneider K., Schraiber J. G., Schwartz J., Scobie L., Scott C., Searle S., Servin B., Southey B. R., Sperber G., Stadler P., Sweedler J. V., Tafer H., Thomsen B., Wali R., Jian Wang J., Wang J., White S., Xu X., Yerle M., Zhang G., Zhang J., Zhang J., Zhao S., Rogers J., Churcher C., Schook L. B. 2012. Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution. *Nature*. 491. 393-398.

Gross, Ch. G. 1998. Galen and the Squealing Pig. *History of Neuroscience*. 4. 216-221.

Gutierrez, K., Dicks, N., Glanzner, W. G., Agellon, L. B., Bordignon, V. 2015. Efficacy of the porcine species in biomedical research. *Frontiers in Genetics* 6(293). 1-9.

Hai, T., Teng, F., Guo, R., Li, W., and Zhou, Q. 2014. One-step generation of knockout pigs by zygote injection of CRISPR/Cas system. *Cell Research*. 24. 372–375.

HaiJin,Y., Weiwei, G., Lei, Ch., Na, W., JiaNa, L., LiLi, R., ShiMing, Y. 2013. Microdissection of Miniature Pig Ear. *Journal of Otology*. 8(2). 91-96.

- Hansen, A. K., Farlov, H. F., Bollen, P. 1997.** Microbiological monitoring of laboratory pigs. *Laboratory Animals*. 31(193). 1-8.
- Hanhijärvi, H., Nevalainen, T., Männistö, P. 1985.** A Six Month Dermal Irritation Test with Anthralins in the Göttingen Miniature Swine. Receptors and Other Targets for Toxic Substances, *Archives of Toxicology*. 8. 463-468.
- Hamadejová, K., Vítovec, J. 2005.** Occurrence of coccidium *Isospora suis* in piglets. *Veterinary Medicine*. 50(4). 159 – 163.
- Hasenau, J. J., Baggs, R. B., Kraus, A. L. 1993.** Microenvironments in microisolation cages using BALB/c and CD-1 Mice. *Contemporary Topics Laboratory Animal Science*. 32. 11-16.
- Harper, M., Boyce, J. D., Adler, B. 2006.** *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiology Letters*. 265.1-10.
- Hau, J., Schapiro, S. J. 2006.** Non-human Primates in Biomedical Research. *Scandinavian Journal of Laboratory Animals Science*. 33(1). 9-12.
- Hau, J., Schapiro, S. J. 2014.** *Handbook of Laboratory Animal Science, Third Edition, Volume III Animal models*. CRC Press LLC. New York. ISBN: 978-1-4665-5512-9. 321p.
- Havránek, T. 2015.** Odpovídají publikované výsledky skutečným zjištěním?. *Forum*. 4(32). 14-15.
- Helm, M., Furuta, G. T., Stanley, J. S., Ye, J., Cockrell, G., Connaughton, C., Simpson, P., Bannon, G. A., Burks, W. 2008.** A neonatal swine model for peanut allergy. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 109(1). 136-142.
- Hendrick, D. A., Smith, A. C., Kratz, J. M., Crawford, F. A., Spinale, F. G. 1990.** The pig as a model of tachycardia and dilated cardiomyopathy. *Laboratory animal science*. 40(5). 495-501.
- Herron, A. J. 2009.** Pigs as Dermatologic Models of Human Skin Disease. *Proceeding of the ACVP/ASVCP Concurrent Annual Meetings, California. International Veterinary Information Service*. 1-3.

- Hill, A. J., Teraoka, H., Heideman, W., Peterson, R. E. 2005.** Zebrafish as a Model Vertebrate for Investigating Chemical Toxicity. *Toxicological Sciences*. 86(1). 6-19.
- Hughes, H. C. 1986.** Swine in cardiovascular research. *Laboratory Animal Science*. 36(4). 348-350.
- Hughes, H. C., Reynolds, S. 1995.** The use of computational fluid dynamics for modeling air flow design in a kennel facility. *Contemporary Topics Laboratory Animal Science*. 34. 49-53.
- Huntsberry, M. E., Charles, D., Adams, K. M., Weed, J. L. 2008.** The foraging ball as a quick and easy enrichment device for pigs (*Sus scrofa*). *Laboratory Animal*. 37(9). 411-414.
- Chatterjee, D. S. 1978.** A controlled comparative study of the use of porcine xenograft in the treatment of partial thickness skin loss in an occupational health centre. *Current Medical Research Opinion*. 5(9). 726-733.
- Chroust, K., Forejtek, P. 2011.** Svrab, prašivina a zaklíštění u srstnaté zvěře. *Myslivost*. 2. 36-37.
- Jancár, J., Slovíková, A., Amler, E., Krupa, P., Kecová, H., Plánka, L., Gál, P., Nečas, A. 2007.** Mechanical response of porous scaffolds for cartilage engineering. *Physiological Research*. 56. 17-25.
- Jensen, J. C. E., Nielsen, L. H., Arnason, T., Cracknell, V. 2002.** Elimination of Mange Mites *Sarcoptes scabiei* var. *suis* from Two Naturally Infested Danish Sow Herds Using a Single Injection Regime with Doramectin. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 43(2). 75-84.
- Jochems, C. E. A., van der Valk, J. B. F., Stafleu, F. R., Baumans, V. 2002.** The use of fetal bovine serum: ethical or scientific problem? *Alternatives to Laboratory Animals*. 30. 219-227.
- Kaiser, G. M., Heuer, M. M., Frühauf, N. R., Kühne, C. A., Broelsch, C. E. 2006.** General handling and anesthesia for experimental surgery in pigs. *Journal of Surgical Research*. 130(1). 73-79.

- Kight, C. R., Swaddle, J. P. 2011.** How and why environmental noise impacts animals: an integrative, mechanistic review. *Ecology letters*.14(10). 1052-1061.
- Klein, P., Sojka, M. 2012.** A simple method for aseptic collection of blood from minipig metatarsal veins. *Research in Pig Breeding*. 6(2). 1-4.
- Klinghardt, G. W., Pam Fredman, P., Svennerholm, L. 2006.** Chloroquine Intoxication Induces Ganglioside Storage in Nervous Tissue: A Chemical and Histopathological Study of Brain, Spinal Cord, Dorsal Root Ganglia, and Retina in the Miniature Pig. *Journal of Neurochemistry*. 37(4). 897-908.
- Kobayashi, E., Hishikawa, S., Teratani, T., Lefor, A. T. 2012.** The pig as a model for translational research: overview of porcine animal models at Jichi Medical University. *Transplantation Research*. 1(8). 1-9.
- Koopmans, S. J., Schuurman, T. 2015.** Considerations on pig models for appetite, metabolic syndrome and obese type 2 diabetes: from food intake to metabolic disease. *European Journal of Pharmacology*. 759. 231–239.
- Koudela, B. 1999.** Kokcidióza sajících selat, *Veterinární Medicína*. 44(6). 183-191.
- Koudela, B., Russ, M. 2002.** Trichurióza prasat. *Veterinářství*. 52. 32-37.
- Kozáková, H., Tlaskalová-Hogenová, H., Štěpánková, R.. 2012.** Život bez mikrobů. *Vesmír*. 91. 218-219.
- Kozlowsky, T., Shimizu, A., Lambrigts, D., Yamada, K., Fuchimoto, Y., Glaser, R., Monroy, R., Xu, Y., Awwad, M., Colvin, R. B., Cosimi, B., Robson, S. C., Fishman, J, Spitzer, T. R., Cooper, D. K. C., Sachs, D. H. 1999.** Porcine Kidney and Heart Transplantation in Baboons Undergoing a Tolerance Induction Regimen and Antibody Adsorption. *Transplantation*. 67(1). 18-30.
- Kurihara-Bergstrom, T., Woodworth, M., Feisullin, S., Beall, P. 1986.** Characterization of the Yucatan miniature pig skin and small intestine for pharmaceutical applications. *Laboratory Animal Science*. 36(4). 396-399.



**Kuzmuk, K. N., Schook, L. B. 2010.** Pig as model for Biomedical Science. University of Illinois, USA. 426-444.

**Ladurner, R., Hochleitner, B., Schneeberger, S., Barnas, B., Krismer, A., Kleinsasser, A., Offner, F., Königsrainer, I., Margreiter, R., Königsrainer, A. 2005.** Extended Liver Resection and Hepatic Ischemia in Pigs: A New, Potentially Reversible Model to Induce Acute Liver Failure and Study Artificial Liver Support Systems. *European Surgical Research*. 37. 365-369.

**Lagadic, L., Caquet, T. 1998.** Invertebrates in testing of environmental chemicals: are they alternatives? *Environ Health Perspect*. 106(2). 593-611.

**Lane-Petter, W. 1969.** Laboratorní zvířata, základy chovu a ošetřování. Academia. Praha. ISBN: 509-21-875. 678s.

**Larson, G., Dobney, K., Albarella, U., Fang, M., Matisoo-Smith, E., Robins, J., Loden, S., Finlayson, H., Brand, T., Willerslev, E., Rowley-Convey, P., Anderson, L., Cooper, A. 2005.** Worldwide Phylogeography of Wild Boar Reveals Multiple Centres of Pig Domestication. *Science*. 307. 1618-1621.

**Leal, A. J. G., Tannuri, A. C. A., Belon, A. R., Guimarães, R. R. N., Coelho, M. C. M., de Oliveira Gonçalves, J., Serafini, S., de Melo, E. S., Tannuri, U. 2015.** Effects of ischemic preconditioning in a pig model of large-for-size liver transplantation. *Journal List*. 70(2). 126-135.

**Lee, W. M., Morrison, E. S., Scott, R. F., Lee, K. T., Kroms, M. 1976.** Effects of methyl prednisolone and colchicine on the development of aortic atherosclerosis in swine. *Atherosclerosis*. 25(2). 213-224.

**Lee, W. M., Squires, R. H. Jr., Nyberg, S. L., Doo, E., Hoofnagle, J. H. Acute liver failure: Summary of a workshop. 2008.** *Hepatology*. 47(4). 1401-1415.

- Lenis, N. P., Bikker, P., van der Meulen, J., Diepen, J. T. M., van Bakker, J. G. M., Jongbloed, A. W. 1996.** Effect of dietary neutral detergent fiber on ileal digestibility and portal flux of nitrogen and amino acids and on nitrogen utilization in growing pigs. *Journal of Animal Science*. 74(11). 2687-2699.
- Lettellier, A., Messier, S., Lessard, L., Quessy, S. 2000.** Assessment of various treatments to reduce carriage of *Salmonella* in swine. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 64(1). 27-31.
- Luo, Y., Li, J., Liu, Y., Lin, L., Du, Y., Li, S., Yang, H., Vajta, G., Callesen, H., Bolund, L., Sørensen, C. B. 2011.** High efficiency of BRCA1 knockout using rAAV-mediated gene targeting: developing a pig model for breast. *Transgenic Research*. 20(5). 975-88.
- MacInnes, J. I., Desrosiers, R. 1999.** Agents of the "Suis-ide Diseases" of Swine: *Actinobacillus suis*, *Haemophilus parasuis*, and *Streptococcus suis*. *Canadian Journal of Veterinary Research*. 63(83-89). 1-3.
- Maningas, P. A., DeGuzman, L. R., Tillman, F. J., Hinson, Ch. S., Priegnitz, K. J., Volk, K. A., Bellan, R. F. 1986.** Small-volume infusion of 7.5% NaCl in 6% Dextran 70 for the treatment of severe hemorrhagic shock in swine. *Annals of Emergency Medicine*. 15(10). 1131-1137.
- Martínez-Alarcón, L., Ríos, A., Conesa, C., Alcaraz, J., González, M. J., Montoya, M., Parrilla, P. 2005.** Attitude toward xenotransplantation in kidney and liver patients on the transplant waiting list. *Transplantation proceedings*. 37(9). 4107-4110.
- Massie, B. M., Schaefer, S., Garcia, J., Mc Kirnan, D., Schwartz, G. G., Wisneski, J. A. Weiner, M. White, F. C. 1995.** Myocardial High-Energy Phosphate and Substrate Metabolism in Swine With Moderate Left Ventricular Hypertrophy. *Circulation*. 91. 1814-1823.
- McCance, I. 1995.** Assessment of statistical procedures used in papers in the Australian Veterinary Journal. *Australian Veterinary Journal*. 72. 322-328.

- Mason, I. L. 1984.** Evolution of domesticated animals. Longman. London. ISBN0-582-46046-8. 452 p.
- Manciocco, A., Chiarotti, F., Vitale, A., Calamandrei, G., Laviola, G., Alleva, E. 2009.** The application of Russell and Burch 3R principle in rodent models of neurodegenerative disease: the case of Parkinson's disease. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 33(1). 18-32.
- Memarzadeh, F., Harrison, P. C., Riskowski, G. L., Henze, T. 2004.** Comparisons of environment and mice in static and mechanically ventilated isolator cages with different air velocities and ventilation designs. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*. 43. 14-20.
- Meyer, R. C., Bohl, E. H., Kohler, E. M. 1964.** Procurement and Maintenance of Germ-Free Swine for Microbiological Investigations. *Applied Microbiology*. 12(4). 295-300.
- Mitchell, S. E., Anderson, J. H., Swindle, M. M., Strandberg, J. D., Kan, J. 1994.** Atrial septostomy: Stationary angioplasty balloon technique-experimental work and preliminary clinical applications. *Pediatric cardiology*.15(1). 1-7.
- Monsethin, R., Sauer, W. C., Ahrens, F. 1994.** Dietary Pectins Effect on Ileal and Fecal Amino-Acid Digestibility and Exocrine Pancrea Secretion in Growing Pigs. *Journal of Nutrition*. 124(8). 1222-1229.
- Mosekilde, L., Weisbrode, S. E., Safron, J. A., Stills, H. F., Jankowsky, M. L., Ebert, D. C., Danielsen, C. C., Sogaard, C. H., Franks, A. F., Stevens, M. L. 1993.** Calcium-restricted ovariectomized Sinclair S-1 minipigs: an animal model of osteopenia and trabecular plate perforation. *Bone*. 14(3). 379-382.
- Musil, R. 1987.** Vznik, vývoj a vymírání savců. Academia Praha. ISBN: 21-083-87. 291s.
- Nansen P., Roepstorff A. 1999.** Parasitic helminths of the pig: factors influencing transmission and infection levels. *International Journal for Parasitology*. 29(6). 877-891.

- Neeb, Z. P., Edwards, J. M., Alloosh, M., Long, X., Mokelke, E. A., Sturek, M. 2010.** Metabolic syndrome and coronary artery disease in Ossabaw compared with Yucatan swine. *Comparative Medicine*. 60. 300–315.
- Newberry, R. C. 1995.** Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science*. 44. 229-243.
- Newbold, J. A., Chapin, L. T., Zinn, S. A., Tucker, H. A. 1991.** Effects of photoperiod on mammary development and concentration of hormones in serum of pregnant dairy heifers. *Journal of Dairy Science*. 74. 100-108.
- Newman, S. J., Rohrbach, B. 2012.** Pot-bellied pig neoplasia: a retrospective case series (2004-2011). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 24. 1008–1013.
- Nowak, G., Ungerstedt, J., Wernerman, J., Ungerstedt, U., Ericzon, B. G. 2002.** Metabolic changes in the liver graft monitored continuously with microdialysis during liver transplantation in a pig model. *Liver transplantation*. 8(5). 424-432.
- NRC. 1998.** National Research Council: Nutrient Requirements of Swine. 10th Revised Edition. The National Academies Press. Washington, D. C. ISBN 0-309-05993-3. 180p.
- NRC. 2011.** National Research Council: Guide for the care and use of laboratory animals. The National Academies Press. Washington, D. C. ISBN: 978-0-309-15401-7. 246p.
- Obernier, J. A., Baldwin, R. L. 2006.** Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory. *Ilar Journal*. 47(4). 364-369.
- Okumura N., Ishiguro N., Nakano M., Hirai K., Matsui A., Sahara M. 1996.** Geographic population structure and sequence divergence in the mitochondrial DNA control region of the Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*), with reference to those of domestic pigs. *Biochemical Genetics*. 34(5-6). 179-189.
- Oxenhandler, R. W., Adelstein, E. H., Haigh, J. P., Hook, R. R. Jr., Clark, W. H. Jr. 1979.** Malignant Melanoma in the Sinclair Miniature Swine An Autopsy Study of 60 Cases. *American Journal of Pathology*. 96(3). 707-720.

- Palmes, D., Spiegel, H. U. 2004.** Animal models of liver regeneration. *Biomaterials*. 25(9). 1601-1611.
- Pallová, D., Vochyánová, K., Vachútová, D., Ellederová, Z. 2014.** Huntingtonova choroba a zvířecí modely. *Živa*. 6(2014). 262-265.
- Panepinto, L. M., Phillips, R. W., Wheeler, L. R., Will, D. H. 1978.** The Yucatan miniature pig as a laboratory animal. *Laboratory Animal Science*. 28(3). 308-313.
- Panepinto, L. M. 1986.** Character and management of miniature swine. *Agris*. 11-24.
- Park, D. S., Cerrone, M., Morley, G., Vasquez, C., Fowler, S., Liu, N. 2015.** Genetically engineered SCN5A mutant pig hearts exhibit conduction defects and arrhythmias. *Journal of Clinical Investigation*. 125. 403-412.
- Patience, J. F. 2009.** Energy in Swine Nutrition. *Animal Industry Report*. 655(ASLR2457). 1-3.
- Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., Pearce, S. G. 2007.** Animal models for implant biomaterial research in bone: a review. *European Cells and Materials*. 13. 1-10.
- Perkins, S. E., Lipman, N.S. 1995.** Characterization and qualification of microenvironmental contaminants in isolator cages with a variety of contact bedding. *Contemporary Topics Laboratory Animal Science*. 34. 93-98.
- Pescovitz, M. D., Thistlethwaite, J. R., Auchincloss, H., Ildstad, S. T., Sharp, T. G., Terrill, R., Sachs, D. H. 1984.** Effect of class II antigen matching on renal allograft survival in miniature swine. *The Journal of experimental medicine*. 160(5). 1495-1508.
- Peterson, E. A. 1980.** Noise and laboratory animals. *Laboratory Animal Science*. 30. 422-439.
- Pfaff J., Stecker M. 1976.** Loudness levels and frequency content of noise in the animal house. *Laboratory Animals*. 10. 111-117.

- Plánka, L., Nečas, A., Srnec, R., Raušer, P., Starý, D., Jančár, J., Amler, E., Filová, E., Hlučilová, J., Křen, L., Gál, P. 2009.** Use of Allogenic Stem Cells for the Prevention of Bone Bridge Formation in Miniature Pigs. *Physiological Research*. 58. 885-893.
- Prather, R. S., Lorson, M., Ross, J. W., Whyte, J. J., Walters, E. 2013.** Genetically engineered pig models for human diseases. *Annual Review of Animal Biosciences*. 1. 203–219.
- Raab, D. M., Crenshaw, T. D., Kimmel, D. B., Smith, E. L. 1991.** A histomorphometric study of cortical bone activity during increased weight-bearing exercise. *Journal of Bone and Mineral Research*. 6(7). 741-749.
- Rajský, D., Forejtek, P., Sugár, L.. 2012.** Atlas patológie zveri I. diel. MEDIAL, Net s r. o. ISBN: 978-80-971011-0-7. 304s.
- Ratnayake, W. M. N., Galli, C. 2009.** Fat and Fatty Acid Terminology, Methods of Analysis and Fat Digestion and Metabolism: A Background Review Paper. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 55. 8-43.
- Reese, D. E., Thaler, R. C., Brumm, M. C., Lewis, A. J., Miller, P. S. 1995.** Swine Nutrition Guide. University of Nebraska. Lincoln. 1-46.
- Reese, N. A., Muggenburg, B. A., Kowalczyk, T., Grummer, R. H., Hoekstra, W. G. 1966.** Nutritional and Environmental Factors Influencing Gastric Ulcers in Swine. *Journal of Agricultural Science*. 25(1). 14-20.
- Reemtsma, K., Mccracken, B. H., Schlegel, J. U., Pearl, M. A., Pearce, C. W., Dewitt, C. W., Smith, P. E., Hewitt, R. L., Flinner, R. L., Creech, O. Jr. 1964.** Renal Heterotransplantation in Man. *Annals of Surgery*. 160. 384-410.
- Rogers, C. S., Stoltz, D. A., Meyerholz, D. K., Ostedgaard, L. S., Rokhlina, T., Taft, P. J., Rogan, M. P., Pezzulo, A. A., Karp, P. H., Itani, O. A., Kabel, A. C., Wohlford-Lenane, C. L., Davis, G. J., Hanfland, R. A., Smith, T. L., Samuel, M., Wax, D., Murphy, C. N., Rieke, A., Whitworth, K., Uc, A., Starner, T. D., Brogden, K. A., Shilyansky,**

- J., McCray, P. B. Jr., Zabner, J., Prather, R. S., Welsh, M. J. 2008.** Disruption of the CFTR gene produces a model of cystic fibrosis in newborn pigs. *Science* 321, 1837–1841.
- Rood, P. P. M., Cooper, D. K. C. 2006.** Islet Xenotransplantation: Are We Really Ready for Clinical Trials?. *American Journal of Transplantation*. 2006(6). 1269-1274.
- Rothschild, M. F., Ruvinsky, A. 1998.** Genetics of the Pig. Cabi Press. Wallingford, UK. ISBN: 13: 978 1 84593 756 0. 495p.
- Sangild, P. T., Ney, D. M., Sigalet, D. L., Vegge, A., Burrin, D. 2014.** Animal models of gastrointestinal and liver diseases. Animal models of infant short bowel syndrome: translational relevance and challenges. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 307(12).
- Safron, J., Gonder, J. C. 1997.** The SPF Pig in Research. *Ilar Journal*. 38(1). 28-31.
- Sachs, D. H., Leight, G., Cone, J., Schwarz, S., Stuart, L., Rosenberg, S. 1976.** Transplantation in Miniature Swine: I. Fixation of the Major Histocompatibility Complex. *Transplantation*. 22(6). 14-17.
- Sales, G. D, Milligan, S. R., Khirnykh K. 1999.** Sources of sound in the laboratory animal environment: A survey of the sounds produced by procedures and equipment. *Animal Welfare*. 8. 97-115.
- Saltarelli, D. G., Coppola, C. P. 1979.** Influence of visible light on organ weights of mice. *Laboratory Animal Science*. 29.319-322.
- Sato, C., Nakano, T., Nakagawa, A., Yamada, M., Yamamoto, H., Kamei, T., Miyata, G., Sato, A., Fujishima, F., Nakai, M, Niinomi M, Takayama K, Tominaga T, Satomi S. 2013.** Experimental application of pulsed laser-induced water jet for endoscopic submucosal dissection: mechanical investigation and preliminary experiment in swine. *Digestive Endoscopy*. 25(3).
- Semple-Rowland, S. L., Dawson, W. W. 1987.** Retinal cyclic light damage threshold for albino rats. *Laboratory Animal Science*. 37. 289-298.

**Seok, J., Warren, H. S., Cuenca, A. G., Mindrinos, M. N., Baker, H. V., Xua, W., Richards, D. R., McDonald-Smith, G. P., Gao, H., Hennessy, L., Finnerty, C. C., López, C. M., Honari, S., Moore, E. E., Minei, J. P., Cuschieri, J., Bankey, P. E., Johnson J. L., Sperry, J., Nathens, A. B., Billiar, T. R., Westn, M. A., Jeschke, M. G., Klein, M. B., Gamelli, R. L., Gibran, N. S., Brownstein, B. H., Miller-Graziano, C., Calvano, S. E., Mason, P. H., Cobb, J. P., Rahme, L. G., Lowry, S. F., Maier, R. V., Moldawer, L. L.,**

**Herndon, D. N., Davis, R. W., Xiao, W., Tompkins, R. G. 2013.** Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 110(9). 3507–3512.

**Shay, W., Wright, W. E. 2000.** The use of telomerized cells for tissue engineering. *Nature Biotechnology.* 18. 22-23.

**Shurson, G. C., Kerr, B. J., Hanson, A. R.. 2015.** Evaluating the quality of feed fats and oils and their effects on pig growth performance. *Journal of Animal Science and Biotechnology.* 6(10). 104-115.

**Schoeb, T. R., Davidson, M. K., Lindsey, J. R. 1982.** Intracage ammonia promotes growth of *Mycoplasma pulmonis* in the respiratory tract of rats. *Infection and Immunity.* 38. 212-217.

**Schook, L. B., Collares, T. V., Hu, W., Liang, Y., Rodrigues, F. M., Rund, L. A., Schachtschneider, K. M., Seixas, F. K., Singh, K., Wells, K. D., Walters, E. M., Prather, R. S., Counter, Ch. M. 2015.** A genetic porcine model of cancer. *Plos One.* 10(7). 87-112.

**Smith, A. 1988.** Bleeding and intravenous techniques in pigs. *Norsk Veterinærdissskrift.* 100(4). 265-272.

**Smith, E., Stockwell, J. D., Schweitzer, I., Langley S. H., Smith, A.L. 2004.** Evaluation of cage micro-environment of mice housed on various types of bedding materials. *Contemporary Topics Laboratory Animal Science.* 43. 12-17.

**Smith, A. C., Swindle, M. M. 2006.** Preparation of Swine for the Laboratory. *Ilar Journal.* 47(4). 57-63.



- Sneddon, I. A., Beattie, V. E. 1995.** Improving the welfare of pigs. *The Irish Journal of Psychology*. 16. 418–425.
- Sneddon, I. A., Beattie, V. E., Dunne, L., Neil, W. 2000.** The effect of environmental enrichment on learning in pigs. *Animal Welfare*. 9. 373–383.
- Spurlock, M. E., Gabler, N. K. 2008.** The Development of Porcine Models of Obesity and the Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition*. 138(2). 397–402.
- Stahly, T. S. 1984.** Fat as an Alternative Energy Source. Iowa State University. 1-7.
- Starzl, T. E., Fung, J., Tzakis, A., Todo, S., Demetris, A. J., Marino, I. R., Rudert, W. A. 1993.** Baboon-to-human liver transplantation. *The Lancet*. 341(8837). 65-71.
- Stanton, H. C., Mersmann, H. J. 1986.** Swine in Cardiovascular Research. *Laboratory Animal Science*. 36(4). 348-350.
- Stein, H. H., S. P. Connot, S. P., Pedersen, C. 2009.** Energy and Nutrient Digestibility in Four Sources of Distillers Dried Grains with Solubles Produced from Corn Grown within a Narrow Geographical Area and Fed to Growing Pigs. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*. 22(7). 1016 – 1025.
- Steinbach, J., Smidt, D. 1970.** Cyclical phenomena in the female genital tract of swine. Histological observations. *Journal of Animal Science*. 30(4). 573-577.
- Steinhoff, G., Stock, U., Karim, N., Mertsching, H., Timke, A., Meliss, R. R., Bader, A. 2000.** Tissue engineering of pulmonary heart valves on allogenic acellular matrix conduits in vivo restoration of valve tissue. *Circulation*, 102(3). 50-55.
- Stephens, D. B., Adams, C. E. 1982.** Observations on the effects of vibration stress and sound on pregnancy, parturition and respiration in the rabbit. *Laboratory animals*. 16(4). 341-347.
- Stoskopf, M. K. 1983.** The physiological effects of psychological stress. *Zoo Biology*. 2. 179-190.

- Stuart, B. P., Lindsay, D. S., Ernst, J. V., Gosser, H. S. 1980.** *Isospora suis* enteritis in piglets. *Veterinary Pathology Online*. 17(1). 84-93.
- Sullivan, T. P., Eaglstein, W. H., Davis, S. C., Mertz, P. 2001.** The pig as a model for human wound healing. *Wound Repair Regen*. 9(2). 66-76.
- Sun, C., Huang, G., Christensen, F. B., Dalstra, M., Overgaard, S., Bünger, C. Mechanical and histological analysis of bone-pedicle screw interface in vivo: titanium versus stainless steel. 1999.** *Chinese Medical Journal*. 112(5). 456-460.
- Sun, T., Laerke, K. N., Jorgensen, H., Bach Knudsen, K. E. 2006.** The effects of extrusion cooking of different starch sources on the in vitro and in vivo digestibility in growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 131.(1-2). 66-85.
- Surynek, J. 2000.** Pokusy na zvířatech z vědeckého hlediska. *Vesmír*. 86. 139-140.
- Swindle, M. M. 1992.** *Swine as Models in Biomedical Research*. Iowa State University Press. ISBN: 0-8138-1472-3. 312p.
- Swindle, M. M., Smith, A. C., Laber-Laird, K., & Dungan, L. 1994.** Swine in biomedical research: management and models. *ILAR Journal*. 36(1). 1-5.
- Swindle M. M., Wiest, D. B., Smith, A. C., Garner, S. S., Case, C. C., Thompson, R. P., Fyfe, D. A., Gillette, P. C. 1996.** Fetal surgical protocols in Yucatan miniature swine. *Laboratory Animal Science*. 46(1). 90-95.
- Swindle, M. M. 1998.** *Surgery, anesthesia and experimental techniques in swine*. CRC Press LLC. ISBN: 0-8138-1829-X. 329p.
- Swindle, M. M., Thompson, R. P., Carabello, B. A., Smith, A. C., Hepburn, B. J., Bodison, D. R., Corin, W., Fazel, A., Biederman, W. W., Spinale, F. G. 1990.** Heritable ventricular septal defect in Yucatan miniature swine. *Laboratory Animal Science*. 40(2). 155-161.
- Swindle, M. M. 2009.** *Swine as Surgical Models in Biomedical Research*. International Veterinary Information Service. 3. 1-4.

**Swindle M. M., Makin A., Herron A. J, Clubb F. J. Jr, Frazier K. S. 2011.** Swine as models in biomedical research and toxicology testing. *Veterinary Pathology*. 49(2). 344-356.

**Swindle, M. M., Makin, A., Herron, A. J., Clubb, F. J. Jr., Frazier, K. S. 2012.** Swine as Models in Biomedical Research and Toxicology Testing. *Veterinary Pathology*. 49(2). 344-356.

**Špaček F., Bláha K., Buchta S., Horák F., Jelínek K., Kříž L., Kukla F., Mikšík J., Pšenica J., Šotnar F. 1987.** Atlas plemen hospodářských zvířat. Státní zemědělské nakladatelství Praha. ISBN: 07-104-87. 264s.

**Taylor, D. J. 1995.** Pig Diseases. 6th edition. Farming Press Books and Videos. London. ISBN: 978-0950693255. 314p.

**Taylor, K., Gordon, N., Langley, G., Higgins, W. 2008.** Estimates for worldwide laboratory animal use in 2005. *Alternative to Laboratory Animals*. 36(3). 327-342.

**Thorwarth, M., Schultze-Mosgau, S., Kessler, P., Wiltfang, J., Schlegel, K. A. 2005.** Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticulate hydroxyapatite. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 63(11). 1626-1633.

**Tissot, R. G. Beattie, C. W., Amoss, M. S. 1987.** Inheritance of Sinclair swine cutaneous malignant melanoma. *Cancer research*. 47(21). 5542-5545.

**Tonar, Z., Kubíková, T., Prior, C., Demjén, E., Liška, V., Králíčková, M., Witter, K. 2015.** Segmental and age differences in the elastin network, collagen, and smooth muscle phenotype in the tunica media of the porcine aorta. *Annals of Anatomy*. 201. 79-90.

**Tsai, P. P., Stelzer, H. D., Hedrich, H. J., Hackbarth, H. 2003.** Are the effects of different enrichment designs on the physiology and behaviour of DBA/2 mice consistent? *Laboratory Animals*. 37. 314-327.

**Tsukamoto, H., Horne, W., Kamimura, S., Niemelä, O., Parkkila, S., Ylä-Herttuala, S., Brittenham, G. M. 1995.** Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *Journal of Clinical Investigation*. 96(1). 620-630.

- Tucker, H. A., Petitclerc, D., Zinn, S. A.. 1984.** The influence of photoperiod on body weight gain, body composition, nutrient intake and hormone secretion. *Journal of Animal Science*. 59(6). 1610-1620.
- Tumbleson, M. E. 1986.** Swine in Biomedical Research, Vol. 2. Plenum Press. New York. ISBN: 0-306-42415-0. 1986p.
- Turner, J. G., Bauer, C. A., Rybak, L. P. 2007.** Noise in animal facilities: Why it matters. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 46. 10-13.
- Underwood, W. J. 2007.** What Are the Issues?. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. 46(4). 16-19.
- Urriola, P. E., G. C. Shurson, G. C., Stein, H. H. 2010.** Digestibility of dietary fiber in distillers co-products fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*. 88(2). 129-130.
- Vacek, Z. 1995.** Histologie a histologická technika. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví. Brno. ISBN: 80-7013-201-9. 332s.
- Van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F. H. 2000.** Neural consequences of environmental enrichment. *Nature Reviews Neuroscience*. 1. 191-198.
- van Zutphen, L. F. 1986.** Laboratory animals and animal experiments. *Tijdschrift voor diergeneeskunde* 111(3). 121-131.
- Vesell, E. S., Lang, C. M., White, W. J., Passananti, G. T., Hill, R. N., Clemen, T. L., Liu, D. L., Johnson, W. D. 1976.** Environmental and genetic factors affecting response of laboratory animals to drugs. *Federation Proceedings Journal*. 35. 1125-1132.
- Watanabe T., Hayashi Y., Kimura J., Yasuda Y., Saitou N., Tomita T., Ogasawara N. 1986.** Pig mitochondrial DNA: polymorphism, restriction map orientation, and sequence data. *Biochemical Genetics*. 24(5-6). 385-396.
- Wax, T. M. 1977.** Effects of age, strain, and illumination intensity on activity and self-selection of light-dark schedules in mice. *Journal of Comparative Physiology*. 91. 51-62.

- Weaver, M. E., Pantely, G. A., Bristow, J. D., Ladley, H. D. 1986.** A quantitative study of the anatomy and distribution of coronary arteries in swine in comparison with other animals and man. *Cardiovascular Research*. 20(12). 907-917.
- Webster, J. 2009.** Životní pohoda zvířat: kulhání k ráji. Práh. Praha. ISBN: 978-80-7252-264-4. 291s.
- Wiseman, J. 2006.** Variations in starch digestibility in non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*. 130(1-2). 66-77.
- Willott, J. F. 2007.** Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. *Journal of American Association for Laboratory Animal Science*. 46. 23-27.
- Wilson-Sanders, S. E. 2011.** Invertebrate Models for Biomedical Research, Testing, and Education. *Ilar Journal*. 52(2). 126-152.
- Wilson, B. A., Ho, M. 2013.** *Pasteurella multocida: from Zoonosis to Cellular Microbiology*. *Clinical Microbiology Reviews*. 26(3). 631-655.
- Wilson, D. E., Reeder, D. M. 2005.** *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference*. JHU Press. ISBN: 0-8018-8221-4. 2142 p.
- Wondra, K. J., Hancock, J. D., Behnke, K. C., Hines, R. H., Stark, C. R. 1995.** Effects of particle size and pelleting on growth performance, nutrient digestibility, and stomach morphology in finishing pigs. *Journal of animal science*. 73(3). 757-763.
- Würbel, H. 2001.** Ideal homes? Housing effects on rodent brain and behaviour. *Trends in Neuroscience*. 24. 207-211.
- Würbel, H., Garner, J. P. 2007.** Refinement of rodent research through environmental enrichment and systematic randomization. *National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research*. 9.1-9.
- Xi, S., Yin, W., Wang, Z., Kusunoki, M., Lian, X., Koike, T., Fan, J., Zhang, Q. 2004.** A minipig model of high-fat/high-sucrose diet-induced diabetes and atherosclerosis. *International Journal of Experimental Pathology*. 85. 223–231.

**Ye, Y., Niekrasz, M., Kosanke, S., Welsh, R., Jordan, H. E., Fox J. C., Edwards W. C., Maxwell C., Cooper D. K. 1994.** The pig as a potential organ donor for man. A study of potentially transferable disease from donor pig to recipient man. *Transplantation*. 57(5). 694-703.

**Young, R. J. 2003.** Environmental Enrichment for Captive Animals. Universities Federation for Animal Welfare. Blackwell Science. London. ISBN: 0-632-06407-2. 228 p.

**Zimmerman, D. R., Khajarern, S. 1973.** Starter Protein Nutrition and Compensatory Responses in Swine. *Journal of Agricultural Science*. 36(1). 189-194.

## **Internetové zdroje**

**CFSPH. 2012.** Giardiasis. [online]. Aktualizace dne: 1. prosince 2012. [cit. 2015-11-9]. Dostupné z<<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/giardiasis.pdf>>.

**Česko. Zákon č. 166 ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon).** In: Sběrka zákonů České republiky. 1999. částka 57. s. 1-106. Dostupné z<<http://www.vetkom.cz/content/showPage/zakon-166-99-sb-o-veterinarni-peci-99>>.

**Česko. Zákon č. 246 ze dne 15. dubna 1992 na ochranu zvířat proti týrání.** In: Sběrka zákonů České republiky. 1992. částka 50. s. 1284. Dostupné také z<<https://portal.gov.cz/app/zakony/zakonDownload.jsp?idBiblio=39964&nr=246~2F1992&rpp=15#local-content>>.

**Česko. Vyhláška č. 419 ze dne 22. listopadu 2012 o ochraně pokusných zvířat.** In: Sběrka zákonů České republiky. 2012. částka 153. s. 5375-5378. Dostupné z<[http://eagri.cz/public/web/file/185763/V419\\_12\\_PZ.pdf](http://eagri.cz/public/web/file/185763/V419_12_PZ.pdf)>.

**European Commission. 2015.** [online]. Legislation for the protection of animals used for scientific purposes. Aktualizace dne: 3. února 2016. [cit. 2015-12-20]. Dostupné z<[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm)>.

**European Commission-Statistical Reports. 2015.** [online]. [cit. 2015-7-8]. Dostupné z<[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/reports\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/reports_en.htm)>.

**Hančlová, J., Tvrđý, L. 2003.** Úvod do analýzy časových řad. [online]. [cit. 2016-2-3]. Dostupné z<[http://accendo.cz/wp-content/uploads/2003\\_Analyza\\_CR.pdf](http://accendo.cz/wp-content/uploads/2003_Analyza_CR.pdf)>.

**Housing Statistics in the European Union 2010.** [online]. Aktualizace dne: 1. září 2012. [cit. 2015- 8-10]. Dostupné z<<http://www.mmr.cz/getmedia/265d0e64-06a1-4689-8911-bf93d34e3e42/Housing-statistics-in-the-European-Union-2010.pdf>>.

**Kautzner, J. 2009.** Chlopenní srdeční vady, IKEM. [online]. Aktualizace dne: 5. února 2009. [cit. 2015-12-28]. Dostupné z<<http://www.ikem-kardiologie.cz/cs/pro-pacienty/co-u-nas-lecime/chlopenni-srdecni-vady/>>.

**LushPrize. 2014.** A Global View of Animal Experiments. 2014 [online]. Aktualizace dne: 10. dubna 2014 [cit. 2015-6-18]. Dostupné z<[http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global\\_View\\_of-Animal\\_Experiments\\_2014.pdf](http://www.lushprize.org/wp-content/uploads/Global_View_of-Animal_Experiments_2014.pdf)>.

**Samdani, T., Shapiro, R. 2014.** Drugs and diseases. Medscape:Xenotransplantation. [online]. Aktualizace dne: 9. září 2014 [cit. 2015-7-9]. Dostupné z<<http://emedicine.medscape.com/article/432418-overview>>.

**Sinclair Miniature Swine. 2016.** [online]. Aktualizace dne: 1. ledna 2016. [cit. 2015-8-10]. Dostupné z<<http://www.sinclairbioresources.com/miniature-swine/sinclair/>>.

**Spotřeba pokusných zvířat. 2015.** [online]. Aktualizace dne: 1. ledna 2015. [cit. 2015-4-8]. Dostupné z<<http://eagri.cz/public/web/mze/ochrana-zvirat/pokusna-zvirata/prehled-zvirat-pouzitych-k-pokusum/>>.

**Stein, H. H. 2010.** Nutrient and energy utilization by swine. [online]. [cit. 2015-4-8]. Dostupné z<<http://nutrition.ansci.illinois.edu/sites/default/files/NutrientAndEnergyUtilization.pdf>>.

**Taylor, N. 2010.** Lighting for Pig Units. [online]. [cit. 2016-2-2]. Dostupné z<<http://www.cipq.com/documents/LightingForPigUnits.pdf>>.

**ÚKOZ. 2016.** Základní údaje o ÚKOZ. [online]. Aktualizace dne: 1. ledna 2015 [cit. 2015-11-6]. Dostupné z<<http://eagri.cz/public/web/mze/ochrana-zvirat/ustredni-komise-pro-ochranu-zvirat/>>.



## **9 SEZNAM PŘÍLOH**

**Příloha č. 1:** Chovatelský prostor pro laboratorní prasata

**Příloha č. 2:** Ubikace pro laboratorní prase

**Příloha č. 3:** Odběr krve u experimentálního prasete

**Příloha č. 4:** Prvky enrichmentu v laboratorním chovu prasat

**Příloha č. 5:** Příklad zádržného systému v laboratorním chovu prasat

**Příloha č. 6:** Ukázka plemen prasat využívaných v experimentech

**Příloha č. 7:** Experiment týkající se kosterní soustavy prasat

**Příloha č. 8:** Histologické vyhodnocení experimentů

**Příloha č. 9:** Výchozí data pro statistickou analýzu

**Příloha č. 10:** Vykázané hodnoty použitých laboratorních prasat v České republice

**Příloha č. 11:** Historické časové schéma využívání pokusných zvířat pro vědecké účely

## 10 PŘÍLOHY

### Příloha č. 1: Chovatelský prostor pro laboratorní prasata

Na obrázku č. 1 jsou zachyceny prostory, kde mohou být prasata v opickém kontaktu. Okna zajišťují denní světlo a přísun čerstvého vzduchu, více o této problematice v kapitole č. 3.4 Chov laboratorních prasat.



**Obrázek č. 1:** Kotce pro ustájení experimentálních prasat, pracoviště IKEM

(Autor: Šlajerová, 2015)

## Příloha č. 2: Ubikace pro laboratorní prase

Obrázek č. 2 je příklad kotce s plnými stěnami pro jedno prase, chybí zde okna, světlo je umělé, přísun vzduchu je zajištěn pomocí ventilace, více o této problematice v kapitole č. 3.4 **Chov laboratorních prasat**.



**Obrázek č. 2:** Kotec pro laboratorní prase, Biomedicínské centrum v Plzeň

(Autor: Šlajerová, 2015)

### **Příloha č. 3: Odběr krve u experimentálního prasete**

Obrázek č. 3 znázorňuje odběr krve, který je součástí klinického vyšetření prasete před zahájením experimentu. Více o této problematice v kapitole č. **3.4.4 Veterinární péče, onemocnění a parazité v laboratorním chovu prasat.**



**Obrázek č. 3:** Odběr krve z vena auricularis caudalis a vena jugularis

(Zdroj: <http://todaysveterinarypractice.navc.com/todays-technician-venipuncture-in-exotic-companion-mammals/>)

#### **Příloha č. 4: Prvky enrichmentu v laboratorním chovu prasat**

Obrázek č. 4 je ukázkou velmi vysoké úrovně enrichmentu v laboratorním chovu Göttingenských miniprasat. Prasata mohou využívat pro hrabání a „rochání“ podestýlku, pro hru mají k dispozici plastové balóny a jiné zavěšené prvky. Více o této problematice v kapitole č. 3.4.6 **Obohacené prostředí a manipulace s prasaty v laboratorním chovu.**



**Obrázek č. 4:** Příklad obohaceného prostředí v chovu Göttingenských laboratorních miniprasat

(Zdroj: [http://minipigs.dk/uploads/media/Poster\\_Toys.pdf](http://minipigs.dk/uploads/media/Poster_Toys.pdf))

## **Příloha č. 5: Příklad zádržného systému v laboratorním chovu prasat**

Na obrázku č. 5 je zobrazena konstrukce zádržného systému, tento je využit pro různá vyšetření před zahájením experimentu, např. pro odběr krve. Zvíře je znehybněno bez použití anestezie. Více v kapitole č. **3.4.6 Obohacené prostředí a manipulace s prasaty v laboratorním chovu.**



**Obrázek č. 5: Mechanický zádržný systém**

(Zdroj: Smith a Swindle, 2006)

## **Příloha č. 6: Ukázka plemen prasat využívaných v experimentech**

Na obrázek č. 6 je zachyceno prase v anestezii, které bylo omyto dezinfekcí v rámci příprav na sterilní chirurgický zákrok, Biomedicinské centrum Plzeň. Více v kapitole **3.7.1 Plemena prasat využívaná v experimentech.**



**Obrázek č. 6:** Přeštické černostrakaté prase

(Autor: Šlajerová, 2015)



**Obrázek č. 7:** Göttingenské miniprasátko

(Zdroj:  
[http://minipigs.dk/fileadmin/filer/Publications/Anaesthesia\\_and\\_Analgesia\\_in\\_Ellegaard\\_Goettingen\\_Minipigs.pdf](http://minipigs.dk/fileadmin/filer/Publications/Anaesthesia_and_Analgesia_in_Ellegaard_Goettingen_Minipigs.pdf))



## **Příloha č. 7:** Experiment týkající se kosterní soustavy prasat

Obrázek č. 8 se týká experimentů kosterní soustavy prasat, prase s těmito šrouby žije několik týdnů až měsíců. Reakce kosti na povrch implantátů bude vyhodnocena pomocí histologických výbrusů. Více v kapitole č. **3.7.2. Prasata v biomedicinském výzkumu.**



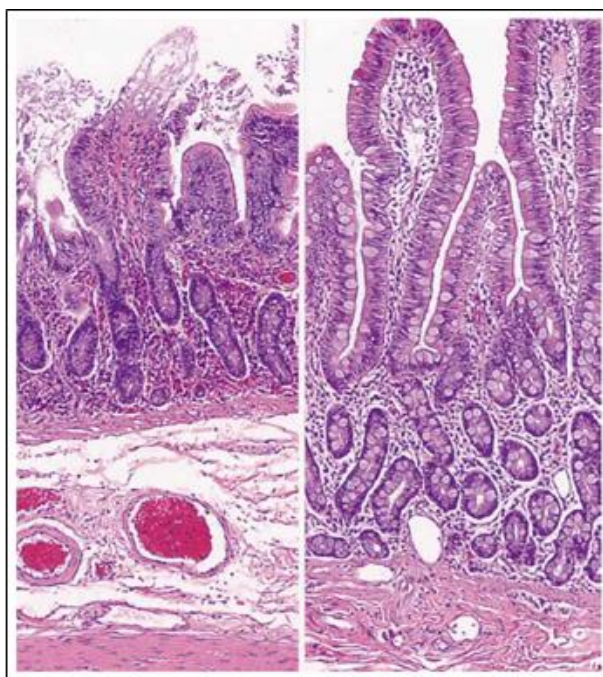
**Obrázek č. 8:** Titanové implantáty v holenní kosti prasete

(Autor: Šlajerová, 2015)



## **Příloha č. 8: Histologické vyhodnocení experimentů**

Obrázek č. 9 v levé části zobrazuje mikroskopický snímek tenkého střeva u selat po orální stimulaci arašídou, zde je patrné významné překrvení, otok sliznice a podslizniční vrstvy. Pravá část snímku zobrazuje tenké střevo selete, které nebylo ořechy ovlivněno. Více v kapitole č. 3.7.2. **Prasata v biomedicinském výzkumu.**



**Obrázek č. 9:** Histologický preparát tenkého střeva (10x)

(Zdroj: Helm et al., 2002)

## Příloha č. 9: Výchozí data pro statistickou analýzu

V Tabulce č. 11 jsou přehledně zobrazeny hodnoty týkající se využití laboratorních prasat v jednotlivých členských zemích Evropské unie, které lze získat z databáze ec.europa.eu. Prázdná kolonka ukazuje nedostupnost dat, hodnota nula znamená, že stát v tomto roce spotřebu laboratorních prasat nevykázal. V pravé části je zobrazen počet obyvatel pro jednotlivé země a sledovaný rok, tyto hodnoty byly získány z Ministerstva pro místní rozvoj. Více v kapitole č. 4.1.1 Analyzovaná data.

Počty (ks) laboratorních prasat ve členských zemích EU						Počet obyvatel (mil)			
stát	období					období			
	1999	2002	2005	2010	2013	1995	2000	2005	2009
Belgie	6.511	3.587	1.876	2.969	2.622	10.131	10.239	10.446	10.750
Dánsko	7.192	5.582	7.697	6.863	8.694	5.216	5.330	5.411	5.511
Německo	10.494	15.687	13.166	12.361	15.090	81.539	82.163	82.501	82.002
Řecko	65	2.751		624		10.595	10.904	11.083	11.260
Španělsko	3.292	940	4.818	15.121		39.343	40.050	43.038	45.828
Francie	8.897	7.808	6.587			57.753	60.545	62.773	64.351
Irsko	844	65	382	224		3.601	3.778	4.109	4.450
Itálie	1.924	2.397	2.579			56.844	56.924	58.462	60.045
Lucembursko	0	0	0			406	434	461	494
Nizozemsko	12.299	7.892	9.853			15.424	15.864	16.306	16.486
Rakousko	366	324	818			7.944	8.002	8.201	8.355
Portugalsko	546	250	113			10.018	10.195	10.529	10.627
Finsko	1.163	2.286	1.471			5.099	5.171	5.237	5.326
Švédsko	3.278	2.341	2.722			8.816	8.861	9.011	9.256
Velká Británie	9.135	9.254	4.127			57.944	58.785	60.060	61.635
Kypr			0			645	690	749	797
Česká Republika		1.384	1.392	2975	2.229	10.333	10.278	10.221	10.468
Estonsko			0	0		1.448	1.372	1.348	1.340
Maďarsko			882			10.337	10.222	10.098	10.031
Lotyšsko			0			2.501	2.382	2.306	2.261
Litva			0			3.643	3.512	3.425	3.350
Malta			0			370	380	403	414
Bulharsko				137	110		8.191	7.761	7.607

**Tabulka č. 11:** Počty laboratorních prasat a obyvatel ve členských zemích EU

(Zdroj: European Commission- Statistical Reports, 2015;

Housing Statistics in the European Union, 2010)

**Příloha č. 10: Vykázané hodnoty použitých laboratorních prasat  
v České republice**

Tabulka č. 12 doplňuje tabulku č. 11, tato data byla rovněž použita pro statistickou analýzu. Více v kapitole č. **4.1.1 Analyzovaná data.**

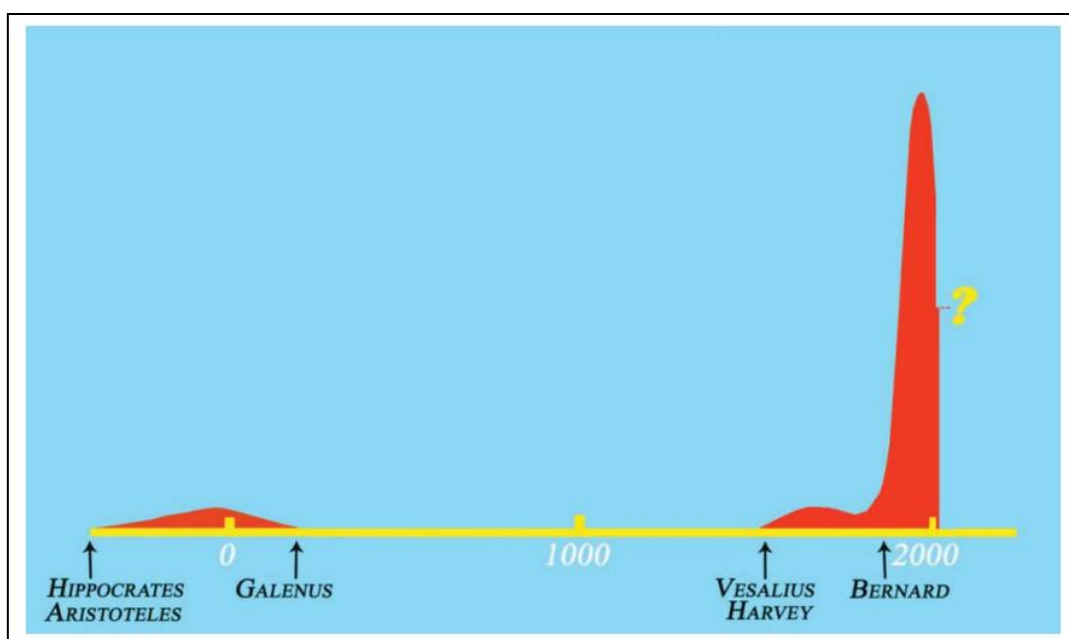
rok	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004
prasata (ks)	1677	2163	1207	7122	2264	2685	2122	1384	2361	2246
rok	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
prasata (ks)	1514	1599	2433	2282	4445	2975	2248	2552	2229	1777

**Tabulka č. 12: Počty laboratorních prasat použitých v České republice,  
v letech 1995-2014**

(Zdroj: eagri.cz)

## **Příloha č. 11:** Historické časové schéma využívání pokusných zvířat pro vědecké účely

Obrázek č. 10 je schématický vývoj využití laboratorních zvířat od první vivisekce, studie klasických řeckých lékařů, lékařský vědecký výzkum, přes středověk, jeho oživení v renesanci a rychlý vztestup v 19. století. Schéma je založeno na domněnkách a odhadech, protože nejsou k dispozici žádné spolehlivé statistické údaje o využívání laboratorních zvířat. Více v kapitole č. 6. **Diskuze.**



**Obrázek č. 10:** Využití laboratorních od Hippocrata až po rok 2000

(Zdroj: Franco, 2013)