

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Biologiczne badania efektywności i bezpieczeństwa terapii fagowej na modelu zakażeń kurcząt wywołanych szczepami *Salmonella*

2. Czas trwania projektu 13.02.2020 - 20.06.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): bakteriofagi, terapia fagowa, patogeny drobiu, *Escherichia coli*

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) B

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Wobec faktu, nadmiernego stosowania antybiotyków prowadzącego do powstania lekoopornych szczepów bakterii tematem priorytetowym staje się poszukiwanie alternatywnych metod zwalczania patogenów bakteryjnych. Jedną z nich jest fagoterapia polegająca na zastosowaniu bakteriofagów, czyli wirusów namnażających się w komórkach bakterii, w wyniku czego dochodzi do ich uszkodzenia. Celem badań jest ocena efektywności oraz wybór schematu stosowania preparatu bakteriofagowego BAFACOL.

Kurczęta w liczbie 180 sztuk podzielone zostaną na 6 równych liczebnie grup. Grupa 1 będzie kontrolą negatywną otrzymującą placebo (procedura 1, czynności 1 i 2). Grupa 2 (kontrola pozytywna), w 14

dniu życia zostanie zakażona zawiesiną bakterii *Escherichia (E.) coli* (procedura 2, czynność 1). Kurczęta z grup 3-6 w 14 dobie życia zostaną zakażone *E. coli* w sposób analogiczny do grupy 2 (procedura 3, czynność 1) i następnie poddane fagoterapii (procedura 3, czynność 2). Pisklęta z grupy 3 otrzymywać będą BAFACOL w dniu zakażenia oraz co 7 dni po inokulacji, ptaki z grupy 4 otrzymywać będą preparat fagowy co 2 dni po inokulacji, grupa 5 otrzyma preparat fagowy w dniu zakażenia oraz w dniach 7-14 po inokulacji *E. coli*; z kolei grupa 6 otrzyma BAFACOL w dniu zakażenia oraz w dniach 14-21 po zakażeniu. Co 7 dni mierzona będzie masa ciała kurcząt (procedury 1 i 3, czynność 3; procedura 2, czynność 2), oraz spożycie wody i paszy. Po upływie 36 dni kurczęta zostaną uśmiercone (procedury 1 i 3 czynność 4; procedura 2, czynność 3) celem pobrania próbek do dalszych analiz.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Kura domowa (*Gallus gallus domesticus*), 180 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED; _Google Scholar; _ \AGRICOLA; Web of Science (JCR)

Wykorzystałem następujące słowa kluczowe:

bakteriofagi, terapia fagowa, patogeny drobiu, *Escherichia coli*

Zastąpienie:

Terapia bakteriofagowa jest interesującą alternatywą dla nadużywanych w produkcji zwierzęcej antybiotyków. Jedną z jej olbrzymich korzyści jest duże bezpieczeństwo stosowania, ponieważ nie indukuje ona powstawania szczepów opornych bakterii ani nie powoduje powstawania skutków ubocznych. Istniejące dane literaturowe potwierdzają skuteczność bakteriofagów względem konkretnych gatunków bakterii w warunkach *in vitro*. Istnieją również dane kliniczne dotyczące bakteriofagów aktywnych wobec bakterii z rodzaju *Salmonella*. Brak jest natomiast danych klinicznych pozwalających na późniejsze praktyczne zastosowanie preparatów bakteriofagowych w zwalczaniu bakterii *Escherichia coli*, które rokrocznie powodują straty w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej.

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Uwzględniony w badaniach preparat bakteriofagowy wykazał w warunkach in vitro aktywność bójczą względem *E. coli*. Dodatkowo w warunkach in vitro opracowano dawkę bakteriofagów gwarantującą skuteczność preparatu (wybrano najniższe miano bakteriofagów, które zostanie użyte w planowanym eksperymencie). Aby potwierdzić skuteczność terapii fagowej w zwalczaniu infekcji bakteryjnych koniecznością staje się przetestowanie ich na zwierzętach. Nie ma możliwości zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym. Eksperyment zostanie przeprowadzony w warunkach kontrolowanych (Pawilon Zakażeń Eksperymentalnych), by wyeliminować potencjalne czynniki mogące mieć wpływ na zafałszowanie wyników. Wyniki uzyskane po przeprowadzeniu eksperymentu pozwolą na opracowanie schematu stosowania preparatów bakteriofagowych w alternatywnej terapii kolibakteriozy kurcząt, co jest głównym celem planowanego doświadczenia.

Ograniczenia:

Liczba zwierząt w grupach zaplanowanych do badań została zredukowana

do niezbędnego minimum umożliwiającego uzyskanie rzetelnych wyników. Podyktowane jest to dotychczasowym doświadczeniem oraz wyliczeniami statystycznymi opartymi na analizie wielkości próby z wykorzystaniem testu analizy jednoczynnikowej wariancji ANOVA. Dalsze ograniczenie liczby osobników w grupie i liczby grup uniemożliwiłoby otrzymanie wiarygodnych wyników, gdyż wpływ cech osobniczych może być znaczący. Dalsze ograniczenie liczby zwierząt doprowadziłoby do uzyskania wyników nieistotnych statystycznie a tym samym naraziłoby zwierzęta

na niepotrzebne i bezzasadne użycie.

Wykonawca posiada duże doświadczenie w technikach i metodach doświadczalnych. Powoduje to, że każde z zaplanowanych w doświadczeniu zwierząt zostanie w pełni wykorzystane do uzyskania wiarygodnych wyników.

Usprawnienia:

W celu sprawdzenia skuteczności terapii fagowej w zwalczaniu infekcji bakteryjnych

u drobiu rozważano zakażenie eksperymentalne przeprowadzone podobnie jak fagoterapia metodą zamgławiania/ inhalacji, co odzwierciedla warunki panujące w terenie. Niestety taka ewentualność nie dałaby możliwości dokładnego określenia dawki zakaźnej jaką przyjęły ptaki. Wobec tego faktu zdecydowano

się przeprowadzić eksperyment jak opisano powyżej. Eksperyment będzie prowadzony w Pawilonie Zakażeń Eksperymentalnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, gdzie grupy doświadczalne ptaków będą od siebie oddzielone co nie stworzy możliwości kontaktu i zafałszowania wyników, bowiem zastosowane w eksperymencie bakteriofagi łatwo przenoszą się w raz z powietrzem. Zwierzęta będą przebywały w kontrolowanych warunkach. Dzięki wieloletniej praktyce osób uczestniczących w doświadczeniach mamy pewność, że zaplanowane procedury zostaną wykonane sprawnie, szybko i przy minimalny bólu i dyskomforcie zwierząt. Doświadczenia zostaną przeprowadzone w warunkach i w sposób ograniczający do minimum stres oraz cierpienie zwierząt. Po zakończeniu doświadczeń zwierzęta zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny i całkowicie eliminujący stres (komora CO₂).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.