

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie odporności i odpowiedzi immunologicznej niemieckich linii hodowlanych pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) podczas zakażenia wirusem VHS.

2. Czas trwania projektu: 12 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Pstrąg tęczowy, odporność, VHSV, odpowiedź immunologiczna, wirusowa posocznica krwotoczna

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A. Badania podstawowe

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.

Wirusowa posocznica krwotoczna (ang. viral haemorrhagic septicaemia – VHS) jest aktualnie największym zagrożeniem w chowie i hodowli pstrąga tęczowego zarówno w Polsce jak i na świecie. Wirus VHS wywołujący wirusową posocznica krwotoczną ryb łososiowatych często powoduje masowe śnięcia ryb hodowlanych, stanowiąc istotny problem dla akwakultury oraz środowiska naturalnego. Aktualnie wirus rozprzestrzenił się na obszarze całej Europy i nie ma dostępnej szczepionki chroniącej ryby w Europie. Jedną z strategii, która może być wykorzystana do ograniczenia strat związanych z VHS jest użycie ryb naturalnie odpornych na zakażenie. We Francji istnieją 2 linie klonalne, które są odporne na zakażenie VHSV, niestety nie są dostępne dla hodowców. Badania prowadzone w warunkach *in vitro* sugerują, że ryby z linii hodowlanych pochodzących z Niemiec mogą mieć zwiększoną odporność na zakażenie wirusem VHS.

Głównym celem projektu jest zbadanie odporności i odpowiedzi immunologicznej niemieckich linii hodowlanych pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) podczas zakażenia wirusem VHS.

Wyniki pozwolą wytypować najbardziej odporną linię hodowlaną pstrąga tęczowego, która mogłaby być użyta w programie hodowlanym, który ograniczyłby zagrożenie dla produkcji tej ryby w Europie. Wyniki z badania odpowiedzi immunologicznej będą użyte do poznania w jaki sposób ryby z linii o zróżnicowanej odporności bronią się przed zakażeniem VHSV oraz jaki profil/typ odpowiedzi immunologicznej musi być pobudzony, żeby ryby przeżyły zakażenie.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W

DOŚWIADCZENIU

Gatunek: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*), linia/szczep R7: 96 szt.

Gatunek: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*), linia/szczep R8: 96 szt.

Gatunek: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*), linia/szczep R3: 96 szt.

Gatunek: pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*), linia/szczep R9: 96 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PubMed, ScienceDirect, Web of Science, Google Scholar.

Wykorzystałem słowa kluczowe: VHSV, wirusowa posocznica krwotoczna, linie pstrąga tęczowego, odporność, odpowiedź immunologiczna.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że nie badano podatności wytypowanych linii/szczepów pstrąga tęczowego na zakażenie VHSV. Istnieją natomiast publikacje opisujące linie klonalne pstrąga tęczowego o zróżnicowanej odporności na zakażenie VHSV, niestety nie są one jednak dostępne dla hodowców. Istnieje również ograniczona ilość publikacji pokazujących ekspresję genów kodujących odpowiedź immunologiczną podczas zakażenia wirusem VHS. Nie ma badań nad odpowiedzią służówki pstrąga tęczowego z różnych linii hodowlanych na zakażenie VHSV w liniach o zróżnicowanej odporności metodą RNA-seq.

Wyniki zaproponowane w niniejszej pracy pozwolą wytypować najbardziej odporną linię hodowlaną pstrąga tęczowego, która mogłaby być użyta w programie hodowlanym, który ograniczyłby straty związane z występowaniem wirusa VHS.

W proponowanym wniosku uwzględniono zasadę 3 R:

Replacement - zasada zastąpienia będzie spełniona poprzez następujące działania:

Część badań nad zakażeniem VHSV została przeprowadzona w warunkach *in vitro* metoda VREFT (ang. viral replication in excised fin tissues - replikacja wirusa w wyciętych tkankach płetw) przez to wytypowano tylko cztery z ośmiu linii pstrąga do zakażeń, badania przeprowadzono z dr Mikołajem Adamkiem (Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej, Hanower). Dzięki tym badaniom udało się odpowiednio dobrać oraz ograniczyć liczbę punktów czasowych. Do badań wybrano gatunek kręgowca o możliwie najniższym poziomie rozwoju oraz zdolności odczuwania bólu i cierpienia. Nie ma możliwości całkowitego zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym, ponieważ badany wirus jest patogenny wyłącznie dla ryby.

Reduction - zasada zmniejszania/ograniczenia będzie spełniona poprzez następujące działania:

Liczba linii pstrąga i punktów czasowych została ograniczona na podstawie wyników z badań *in vitro*. Liczba zwierząt w grupach zaplanowanych do badań została zredukowana do niezbędnego minimum umożliwiającego uzyskanie rzetelnych wyników badań. Wynika ona z dotychczasowego doświadczenia

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

badaczy oraz wyliczeń statystycznych opartych na analizie wielkości próby z wykorzystaniem testu analizy dwuczynnikowej wariancji ANOVA) i dalsze ograniczenia liczebności osobników w grupie i liczby grup uniemożliwiłoby otrzymanie wiarygodnych wyników, gdyż wpływ cech osobniczych na zakażenie wirusem może być znaczący, co zostało uwzględnione w czasie projektowania doświadczenia. Dalsze ograniczanie liczby zwierząt doprowadziłoby do niepowodzenia doświadczenia, a tym samym naraziłoby zwierzęta na niepotrzebne i bezzasadne ich użycie.

Konstrukcja doświadczenia pozwala na ograniczenie do niezbędnego minimum ilości zwierząt. Wykonawcy posiadają duże, udokumentowane publikacjami, doświadczenie w technikach i metodach doświadczalnych co powoduje, że każde z zaplanowanych w doświadczeniu zwierząt zostanie w pełni wykorzystane do uzyskania wiarygodnych wyników. Poza tym tkanki pobrane i zabezpieczone od zwierząt w doświadczeniu posłużą najprawdopodobniej w kilku kolejnych badaniach naukowych, które z tego powodu nie będą już wymagały dalszego użycia zwierząt.

Refinement - zasada udoskonalenia będzie spełniona poprzez następujące działania:

W czasie przeprowadzania eksperymentu ryby będą przetrzymywane w kontrolowanych warunkach, które znacznie przewyższają minimalne normy hodowli dla tego gatunku.

Opisane w doświadczeniu czynności są standardowymi czynnościami wykonywanymi w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie. Wykonujący mają duże doświadczenie w badaniach z wykorzystaniem ryb w tym w czynnościach opisanych we wniosku. Dzięki wieloletniej praktyce potrafią przeprowadzać opisane procedury w sposób bardzo sprawny oraz przy minimalnym bólu oraz stresie.

Planowane jest zbadanie przybliżonej śmiertelności a nie faktycznej śmiertelności kumulatywnej dzięki czemu, ryby zostaną usunięte z eksperymentu poprzez decyzje o humanitarnym zakończeniu procedury co ograniczy ból i stres związany z agonią.

Doświadczenia zostaną przeprowadzone w warunkach i w sposób ograniczający do minimum stres oraz cierpienie zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny i całkowicie eliminujący stres, poprzez przedawkowanie środka anestetycznego.

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.