

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu **Ocena skuteczności zastosowania nieantybiotykowego preparatu do zasuszania krów mlecznych**

1.Czas trwania projektu 1.07.2020 do 30.03.2021

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) cows, mastitis, sealant, dry period/krowy, mastitis, sealant, okres zasuszenia

3.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.

W praktyce hodowlanej istnieją obecnie 2 programy profilaktyki *mastitis* krów w zasuszeniu: i) zasuszanie pod osłoną antybiotyków, ii) zastosowanie „czopów” (sealantów) dowymieniowych, czyli preparatów tworzących mechaniczną barierę w kanale strzykowym w celu uniemożliwienia penetracji gruczołu mlekowego przez drobnoustroje ze środowiska zewnętrznego. Celem badań jest ocena skuteczności dwóch preparatów: tworzącego zewnętrzną osłonę strzyków oraz dostrzykowego (tworzącego w zatoce kanału strzykowego i w kanale strzykowym czop). Pierwsze doświadczenie zostanie wykonane na 16 krowach nie będących w laktacji. Określony zostanie czas utrzymywania się powłoki preparatu na skórze strzyka. Planowane są testy 2 formułacji preparatu osłaniającego (n=8). Preparat będzie podawany w formie „dippingu”, czyli poprzez zanurzenie końcówki strzyka na głębokość 2-3 cm, dzięki czemu powstanie ochronna i elastyczna powłoka, która utworzy zewnętrzną barierę ochronną. W doświadczeniu II zostaną zastosowane preparaty dostrzykowe u 24 krów. W tym przypadku preparat w ilości 4 ml zostanie podany poprzez zastosowanie sterylnych tubostrzykawk dowymieniowych. Aplikator pozwoli zdeponować preparat bezpośrednio za mięśniami zwierzęcymi kanału strzykowego, w dolnej części zatoki strzyka, gdzie utworzy czop uszczelniający. Procedura ta

będzie stanowiła model, zbliżony do zastosowania czopów ograniczających ryzyko wystąpienia nowych infekcji wymienia w okresie zasuszenia. W tym badaniu planowane są 2 formułacje preparatu, natomiast grupę kontrolną stanowić będzie użycie preparatu komercyjnego. Podczas obu doświadczeń wykonywane będą badania kliniczne ogólne i szczegółowe gruczołu mlekowego oraz w II doświadczeniu także badania USG.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Krowy rasy HF – 24 zwierzęta w wieku 3-5 lat.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED; Scopus, Google Scholar, Web of Science; Web of Knowledge.

Wykorzystano słowa kluczowe: cows, mastitis, sealant, dry period.

Obecnie istnieją dwie zasadnicze strategie kontrolowania zapalenia gruczołu mlekowego poprzez programy profilaktyczne realizowane w trakcie zasuszenia. Najbardziej powszechną praktyką jest zasuszanie krów przy wykorzystaniu antybiotyków dowymieniowych – tzw. terapia DC. Polega ona na podaniu do wymienia antybiotyków o długim działaniu, przy czym lek może być podany tylko do zdrowej ćwiartki. Ten rodzaj terapii (profilaktyki) jest bardzo efektywny, jednak wiąże się ze stosowaniem antybiotyków na masową skalę i potencjalnie może w związku z tym wpływać na powstawanie szczepów bakterii opornych na antybiotyki. Co więcej wiele z preparatów do terapii DC opartych jest o antybiotyki z tzw. grup krytycznych, zwłaszcza cefalosporyn III i IV generacji. Drugą koncepcją jest zastosowanie „czopów” dowymieniowych, czyli preparatów tworzących mechaniczną barierę w kanale strzykowym w celu uniemożliwienia penetracji gruczołu mlekowego przez drobnoustroje ze środowiska zewnętrznego. Ta druga koncepcja wpisuje się w obecnie panujący trend szeroko rozumianej profilaktyki przy ograniczeniu stosowania antybiotyków.

Docelowe zastosowanie opracowanych preparatów będzie na zwierzętach produkcyjnych, jednak ze względu na zastosowanie nowatorskiej formułacji konieczny jest etap badań mający na celu wstępne potwierdzenie skuteczności poprzez obserwację w jaki sposób deeping oraz czop (sealant) zachowuje się wewnątrz strzyka. W szczególności, czy czop utrzyma się przez planowany okres 30-60 dni. Na tym etapie badań wykonano badania licznych formułacji na badania na modelu strzyka in vitro oraz badania zachowania się w długotrwałym zanurzeniu w mleku i wybrano formułacje spełniające założone kryteria przewidziane dla czopów (sealantów). Dodatkowo wykonano badania cytotoxiczności na liniach komórkowych, które wykazały brak działania negatywnego. Warto jednocześnie zauważyć, że preparaty oparte na etylocelulozie obecnie są powszechnie dostępne, jako tzw. opatrunki w formie żelu przeznaczone dla ludzi na afty (nadżerki w jamie ustnej), pęknięcia skóry oraz do stosowania w przypadku opryszczki. Obecne badania są ukierunkowane na stworzenie najskuteczniejszej formuły ograniczającej ryzyko występowania mastitis. Badania takie jednak wymagają określenia, czy formuły spełniają założenia po podaniu u zwierząt (głównie dotyczące czasu utrzymywania się po aplikacji). Nie jest więc możliwa ocena ich przydatności bez wykorzystania zwierząt.

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

Zastosowanie do zasuszania krów sealantów/czopów dostrzykowych było przedmiotem wcześniejszych badań, jednak nowatorstwem preparatów proponowanych w badaniach własnych jest użycie w ich składzie etylocelulozy, która modyfikuje lepkość, strukturę i właściwości reologiczne. Dzięki zastosowaniu etylocelulozy preparat posiada silne właściwości barierowe (ochrona przed wnikaniem i namarzaniem się bakterii), przy jednoczesnym długotrwałym zachowaniu pożądanej struktury. Zastosowanie uzyskanych rezultatów badań w praktyce przyczyni się do redukcji występowania mastitis w okresie poporodowym oraz do redukcji zużycia antybiotyków.

Zasada zastąpienia. Proponowany model doświadczalny nie może być zastąpiony innym modelem lub badaniami *in vitro*, gdyż takie już wykonano i nie dały one pełnej odpowiedzi, czy opracowane preparaty będą skuteczne stosując je u krów. Również w innych badaniach tego rodzaju preparaty zawsze są testowane na zwierzętach, gdyż wówczas możliwa jest odpowiedź na postawioną hipotezę dotyczącą ich przydatności profilaktycznej.

Zasada ograniczenia. Wytypowano do poszczególnych grup minimalną ilość zwierząt, która daje możliwość poprawnej weryfikacji statystycznej uzyskanych wyników badań. Obliczono statystycznie minimalną liczebność grup niezbędną do przeprowadzenia doświadczenia przy użyciu programu Statistica 13.0 i uzyskano liczebność w grupie 8 osobników.

Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum ból, cierpienie, stres lub uszkodzenie ciała zwierząt. Należy zaznaczyć, że w planowanym doświadczeniu brak jest procedur bolesnych. Zwierzęta wykorzystane w procedurze 1 (aplikacja preparatu na skórę strzyka; należy, że podkreślić procedura jest bezbolesna i nie wiąże się z dyskomfortem i stresem dla zwierzęcia) będą za zgodą lekarza weterynarii ponownie użyte, w procedurze 2. Pozytywnie wpłynie to na ograniczenie liczby zwierząt w badaniach.

Udoskonalenie. Wszystkie zwierzęta będą utrzymywane w obiekcie inwentarskim (oborze), w optymalnych warunkach środowiskowych spełniających warunki dobrostanu bydła. Będą miały możliwość korzystania z wybiegów oraz wzbogaceń środowiska (przestrzeń, miejsca nasłonecznione/zacienione, czochrała, paśniki, poidła zewnętrzne). Również kontakt socjalny nie będzie w tym czasie zaburzony poprzez realizację eksperymentu. Podczas całego eksperymentu monitorowany będzie stan zdrowia zwierząt. Czynności w procedurach będą wykonywane przez doświadczony personel, uwzględniając eliminację bólu, cierpienia i dystresu.

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.