

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Rola polifenoli *Coleus amboinicus* (Lour.) w modulacji procesu metanogenezy i biouwodorowania w żwaczu jagniąt
2. Czas trwania projektu 20.09.2019-20.06.2021
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) żwacz, kawas rozmarynowy, oregano kubańskie, metan, kwasy tłuszczowe
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych, **A**

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.

**Celem badań jest określenie roli i mechanizmu działania biologicznie aktywnych substancji pochodzących z liści *Coleus amboinicus* (Lour; ) w regulacji procesów metanogenezy i biouwodorowania zachodzących w ekosystemie żwacza jagniąt.**

Proces metanogenezy związany jest z tworzeniem się metanu, a proces biouwodorowania odpowiedzialny jest za zmiany w liczbie C węgla nienasyconych kwasów tłuszczowych.

**Wybrana do badań roślina** *C. amboinicus* lub inaczej *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng jest rośliną należącą do rodziny *Lamiaceae* (Jasnotowate). Polska nazwa *C. amboinicus* to Oregano kubańskie.

Zaplanowano badania *in vivo* prowadzące do jednoznacznego potwierdzenia uzyskanych badań w warunkach *in vitro*. Badania *in vivo* zostaną poprzedzone długoterminowym (10 dniowym) testem *in vitro* - RUSITEC. RUSITEC jest systemem naśladujący pracę żwacza ang. **R**Umen **S**Imulation **T**EChnique. Jest to system bardziej zaawansowany niż technika batch culture, ale podobnie jak system batch culture jest jedynie wstępnym badaniem, finalnie wyłaniającym najlepszy wariant spośród wielu. Jest systemem dynamicznym (stały dopływ substratu i

odpływ produktu), a inkubacja płynu żwacza może trwać kilkanaście dni. W planowanym doświadczeniu Rusitec inkubacja płynu żwacza będzie trwała 10 dni. W doświadczeniu Rusitec wykorzystane zostaną sproszkowane liście Oregano kubańskiego w czterech różnych wariantach: 5%, 10%, 15% and 20% całkowitej ilości inkubowanego substratu. Najlepszy wariant z powyższego doświadczenia zostanie przetestowany w badaniach *in vivo*, w których planuje się wykorzystać 18 owiec domowych (*Ovis aries*, jagnięta, tryczki) [6 jagniąt bez stałych kaniul do żwacza i 3 z założonymi stałymi kaniulami do żwacza w grupie; łącznie po 9 owiec w każdej grupie].

Przewidywane szkody podczas proponowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt podczas zabiegu chirurgicznego założenia kaniul, pobierania krwi i prób płynu żwacza oraz chowem przemysłowym, jednak wszystkie procedury zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością. Do dodatkowych szkód, których mogą doznać zwierzęta zaliczamy również możliwość wystąpienia zapaleń w obrębie kaniuli, brak dostępu do pastwiska oraz śmierć. Brak dostępu do pastwiska podyktowany jest analizą określonych dawek pokarmowych (zarówno w grupie doświadczalnej, jak i kontrolnej), a zastosowanie żywienia na pastwisku poprzez wprowadzenie kolejnego czynnika, spowodowałoby problemy nie tylko w interpretacji uzyskanych wyników, ale ich opublikowaniu (wymagane jest kontrolowane żywienie).

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Owca domowa (*Ovis aries*), jagnięta, tryczki: 18

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

**Replacement** (zastąpienie/zastępowanie) techniki *in vitro* (RUSITEC) pozwalają na wstępne, przesiewowe badania, tym samym stanowią bardzo dobre zastąpienie doświadczeń na zwierzętach w początkowej fazie badań, pozwalając uniknąć prowadzenia doświadczeń na większej liczbie zwierząt. Powyższa technika jest ogólnie przyjętą metodą weryfikacji czynników doświadczalnych na pierwszym etapie badań (weryfikacja dużej liczby wariantów eksperymentalnych, w proponowanym przypadku czterech wariantów: 5%, 10%, 15% and 20% dodatku Oregano kubańskiego). System Rusitec ma jednak swoje ograniczenia (m. in. niższa liczebność mikroorganizmów w porównaniu do *in vivo*, brak wchłaniania powstałych w wyniku fermentacji produktów, analiza tylko tego co się dzieje na poziomie żwacza) i nie jest wystarczająca, aby postawić ostateczne wnioski i stwierdzić, że wyniki mogą być na szeroką skalę zastosowane w żywieniu zwierząt. Zastosowana długoterminowa technika *in vitro* (RUSITEC) pozwoli na wybranie najlepszego wariantu z punktu widzenia zdrowia i bezpieczeństwa zwierząt wykorzystanych w planowanych dalszych etapach badań. Planowana technika jest zgodna z ogólnie przyjętymi zasadami postępowania badawczego opisanego i przyjętego przez wiele laboratoriów zajmujących się badaniami z zakresu żywienia zwierząt. Ponadto pozwala na wytypowanie w przypadku badań na owcach (jagniętach) jednego najlepszego wariantu, a następnie porównaniu z osobnikami będącymi w grupie kontrolnej.

**Reduction** (zmniejszenie/ograniczenie) W celu ograniczenia liczby zwierząt biorących udział w doświadczeniu a równocześnie ograniczenia zwierząt na początkowym etapie badań zostaną przeprowadzone wstępne badania *in vitro*. W planowanych badaniach wstępnych (Rusitec) przewiduje się przetestowanie 4 wariantów doświadczalnych i jednego kontrolnego. Tym samym zastosowanie systemu Rusitec ogranicza liczbę zwierząt będących w doświadczeniu - całe wstępne badania na czterech grupach

doświadczalnych i jednej kontrolnej zostanie przeprowadzone w warunkach *in vitro*. Brak wstępnych badań w warunkach *in vitro* wymusza przeprowadzenie wstępnych badań na zwierzętach, tym samym zastosowanie techniki *in vitro* zmniejsza znacząco liczbę osobników w doświadczeniach. Ponadto zastosowany układ blokowy w badaniach *in vivo*, który przewiduje w każdej z grup: kontrolnej i doświadczalnej włączenie 6 zwierząt bez kaniul i po 3 zwierzęta z założonymi kaniulami do żwacza są znaczącym ograniczeniem liczby zwierząt w tego typu badaniach. Jest to najmniejsza możliwa liczba osobników akceptowalna przez większość bardzo dobrych czasopism. Różnice w liczebności zwierząt (przetokowanych i bez założonych kaniul) wynikają z ograniczenia liczebności zwierząt niezbędnych do przeprowadzenia doświadczenia (mniej zwierząt przetokowanych jest akceptowalne aby przeprowadzić właściwie badania) i doskonale wpisują się w spełnienie zasady 3R. Liczbę zwierząt oszacowano zgodnie z dostępną literaturą światową i wytycznymi zawartymi w opracowaniach. Należy podkreślić, że aby podejmowane działania były wiarygodne oraz eliminowały dodatkowe badania z użyciem zwierząt należy przeprowadzić je w taki sposób, aby eliminować kolejne doświadczenia z badanego zakresu. Zaproponowane układy doświadczeń, zastosowana liczba zwierząt, wykorzystanie techniki *in vitro*, planowane spektrum interdyscyplinarnych analiz pozwoli zmniejszyć liczbę doświadczeń wykorzystanych w skali międzynarodowej poprzez właściwe poznanie procesów decydujących o obserwowanych zmianach, właściwą statystyczną weryfikację uzyskanych danych. Takie działania skutkują publikacją w bardzo dobrych czasopismach naukowych nie tylko zgłębiającą wiedzę z badanego zakresu, ale wykluczającą badania z podobnego zakresu ograniczając tym samym finalnie liczbę zwierząt niezbędną do poznania działania nowych komponentów pasz. Zatem proponowana liczba osobników jest jedynym, właściwym sposobem weryfikacji postawionych hipotez i celów badań.

**Refinement** (udoskonalenie) Zaproponowane procedury pozwalają na pobranie krwi i płynu żwacza, w których można oznaczyć ogromną liczbę wskaźników pozwalających na kompleksową ocenę wpływu *Oregano kubańskiego* na organizm zwierzęcia. Są to procedury o najmniejszej dotkliwości, gwarantujące jednak uzyskanie zakładanego rezultatu i poszerzenie wiedzy z zakresu oddziaływania substancji biologicznie aktywnych na procesy metanogenezy, biouwodorowania i finalnie na zdrowie oraz komfort zwierząt i ludzi. Pobieranie krwi jest również czynnością weterynaryjną, podczas, gdy pobieranie płynu żwacza nie dostarcza zwierzęciu żadnego bólu, pod warunkiem właściwego przeprowadzenia czynności *handlingu*, zastosowaniu atestowanych i bardzo nowoczesnych kaniul wykonanych z materiałów nieinwazyjnych, nie powodujących alergii oraz stanów zapalnych i innych dyskomfortów spowodowanych ich zastosowaniem. Wiele ośrodków naukowych na świecie stosuje techniki kaniulacji, aby wpisać się w pełni w zasadę 3R oraz dla lepszego komfortu zwierząt zaangażowanych w procesy badawcze.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE