

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

„Ekspresja czynników wirulencji Leptospir hodowanych w warunkach in vivo”

2. Czas trwania projektu: 12 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): leptospiroza, chorobotwórczość czynniki wirulencji,

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

Doświadczenie obejmuje wykorzystanie zwierząt w doświadczeniach służących badaniu chorób ludzi i zwierząt, tj. kategorii B - badania translacyjne lub stosowane .

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 badania jest porównanie chorobotwórczości dwóch wybranych szczepów patogennej bakterii *Leptospira*, zarówno pod względem zmian zachodzących w komórce bakteryjnej jak i zmian zachodzących w zakażonym organizmie.

Leptospiroza jest uważana za jedną najbardziej rozpowszechnioną na naszym globie chorobę odzwierzęcą, wywoływaną przez krętki z rodzaju *Leptospira*, których naturalnym rezerwuarem jest wiele gatunków zwierząt, zarówno wolnożyjących jak i domowych. Do zakażenia człowieka dochodzi poprzez kontakt bezpośredni z moczem, mięsem, krwią zakażonych zwierząt lub przez kontakt ze skażoną krętkami wodą, glebą oraz spożycie skażonej wody i żywności. Choroba może przebiegać

bezobjawowo, w postaci łagodnej lub też może występować w ciężkiej postaci.

W ostatnich latach, wiele badań ukierunkowanych było na poznanie chorobotwórczości tych bakterii. Mimo wielu wysiłków, zrozumienie tego problemu nie jest tak zaawansowane jak w przypadku innych patogenów bakteryjnych.

Do badań wybraliśmy cztery szczepy różniące się chorobotwórczością u ludzi. Szczepy te chcemy zaimplantować w odpowiednich rękawach dializacyjnych w jamie otrzewnowej świnek morskich, aby przez okres 8 dni stworzyć im warunki takie jakie panują w organizmie zwierzęcia. Po tym czasie rękawy dializacyjne będą wyciągnięte z jamy otrzewnowej a uzyskane po tym czasie szczepy bakteryjne zostaną poddane dalszym szczegółowym badaniom genetycznym w celu wykazania zmian w komórkach bakteryjnych do których dochodzi po dostaniu się do organizmu zwierzęcia. Jednocześnie, w tym samym czasie chcemy wykonać zakażenia doświadczalne świnek morskich tymi samymi szczepami bakteryjnymi, aby dokładnie opisać różnice w rozwoju choroby i zmiany kliniczne, które wywołują. Śledząc jednocześnie różne zmiany zachodzące w komórce patogenu wraz ze zmianami zachodzącymi w organizmie zakażonego zwierzęcia – będziemy mogli zbliżyć się do poznania czynników bakteryjnych odpowiedzialnych za wywołanie konkretnych objawów chorobowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

52 świnki morskie rasy Dunkin Hartley (Kawia domowa, *Cavia porcellus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazie danych Web of Science (JCR) oraz PUBMED,

Wykorzystałem słowa kluczowe: leptospira, Transcriptomics, Virulence factors.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że brakuje danych na temat czynników, które warunkują różny obraz kliniczny i różny przebieg choroby przy zakażeniach różnymi szczepami *Leptospira*.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku chorobotwórczości tych patogenów.

W celu zminimalizowania użycia zwierząt do poznania tego tematu stosowano zasadę 3 R:

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

Zasada zastąpienia. Uwzględniając zasadę zastąpienia zdecydowano o wykorzystaniu w planowanym doświadczeniu świnek morskich jako uznanego, popularnego i wiarygodnego modelu zwierzęcego do badań nad leptospirozą. Leptospiry są organizmami zewnątrzkomórkowymi, więc nie można tego typu badań przeprowadzać na hodowlach tkankowych. W pierwszej części doświadczenia – wszczepienie rękawów dializacyjnych zawierających hodowlę leptospir umożliwia stworzenie warunków, do hodowli bakterii, jakie panują w organizmie zwierzęcym i ponowne odzyskanie tej hodowli po okresie inkubacji. W drugiej części badań – przeprowadzonej równolegle do pierwszej porównamy zmiany w obrazie klinicznym, aby dokładnie móc opisać różnice chorobowe, i powiązać je ze zmianami zachodzącymi w komórce bakteryjnej.

Zasada Ograniczenia. Przeprowadziliśmy analizę minimalnej liczebności próby, biorąc pod uwagę różnice w zdolności pokonywania barier ochronnych i zasiedlana przez te patogeny narządów wewnętrznych. Na podstawie poprzednich doświadczeń własnych oraz danych literaturowych ustalono, że minimalna ilość osobników w grupie wynosi 8 sztuk.

Zasada Udoskonalenia. Ze względu na dobrostan zwierząt, przez cały okres doświadczenia zwierzęta przebywać będą w standardowych klatkach, wyłożonych ściółką i ze wzbogaceniem środowiska bytowania.

Uśmiercanie zwierząt laboratoryjnych poprzez przedawkowanie znieczulenia barbituranami (Morbital), poprzedzone znieczuleniem wziewnym za pomocą Izofluranu jest metodą ogólnie znaną i dopuszczoną do stosowania przez ustawodawcę. Ww. metodę uśmiercania wybrano na podstawie wieloletniej praktyki. Pozwala ona na prawidłowe pobranie materiału biologicznego.

Wszystkie zwierzęta będą przez cały czas trwania eksperymentu przebywały w klatkach pozwalających na osiągnięcie i monitorowanie stałej temperatury 20 st C wilgotności 50 %, klatki posiadają ciągły system wymian powietrza.. To wszystko w naszym przekonaniu sprawia iż wszystkie zwierzęta w eksperymencie będą miały zapewniony odpowiedni dobrostan przez cały okres jego trwania.

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.