

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ preparatu bakteriofagowego podanego z paszą na odporność przeciwwzakaźną ryb hodowlanych

2. Czas trwania projektu: 11 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): profilaktyka, terapia, bakteriofagi, *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas sp.*

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.

Doświadczenie ma na celu określenie skuteczności profilaktycznego oraz terapeutycznego stosowania nowego preparatu bakteriofagowego Bafador[®] w ograniczeniu śnięć powodowanych przez patogenne bakterie z gatunku *Aeromonas hydrophila* i *Pseudomonas fluorescens* u różnych gatunków ryb. Są to bakterie oportunistyczne wywołujące chorobę u ryb w czasie spadku odporności, wystąpienia urazu lub przy zmianie parametrów fizyko-chemicznych wody. Niepokojącym zjawiskiem obserwowanym w ostatnich latach jest gwałtowny wzrost oporności bakterii patogennych dla ryb na antybiotyki i inne chemioterapeutyki stosowane w rybactwie. Dotyczy to szczególnie *Pseudomonas sp.*, *Aeromonas sp.* i *Yersinia sp.* które powodują masowe śnięcia w podchowach kontrolowanych ryb. Istnieje więc konieczność poszukiwania nowych wysoce skutecznych oraz nisko toksycznych metod ukierunkowanej

terapii chorób bakteryjnych ryb. Do badań użyty zostanie preparat Bafador[®] zawierający bakteriofagi wykazujące silne działanie lityczne (powodujące rozerwanie i śmierć komórki bakteryjnej) wobec bakterii *A. hydrophila* i *P. fluorescens*. Preparat zostanie zmieszany z paszą, aby ocenić jego możliwości profilaktyczne i terapeutycznie nie narażając ryb na dodatkowe manipulacje, a tym samym nie powodując przy tym dodatkowego stresu u ryb.

Po okresie aklimatyzacji w doświadczeniach dotyczących zastosowania profilaktycznego [procedura 1 i 3], ryby zostaną poddane działaniu preparatu bakteriofagowego z paszą przez okres 5 dni, a następnie poddane zakażeniu mieszaniną bakterii *A. hydrophila* i *P. fluorescens* [zakażenie zgodnie z procedurą 1 czynność 3 oraz procedurą 3 czynność 3]. W doświadczeniach dotyczących terapeutycznego zastosowania preparatu [procedura 2 i 4], ryby najpierw poddane zostaną zakażeniu [zgodnie z procedurą 2 czynność 2 oraz procedurą 4 czynność 2], a następnie poddane działaniu preparatu w paszy. Objętość inokulatu planowanego do zakażenia to 0,2ml/rybę. Do zakażenia używane będą 1ml strzykawki tuberkulinowe z igłą 0,5 x 16 mm. Spodziewany poziom śnięć w grupach zakażonych, a nie poddanych działaniu preparatu wynosi 30-40%.

Większość artykułów naukowych dotyczących zakażeń eksperymentalnych na wybranych gatunkach ryb opisuje doświadczenia, których drogą podania patogenu była iniekcja dootrzewnowa. Wykorzystanie tej drogi zakażenia w doświadczeniu własnym pozwoli na lepsze porównanie uzyskanych wyników z dostępnymi w literaturze. Podanie patogenu tą drogą pozwala na precyzyjne ustalenie optymalnej dawki zakaźnej. Węgorz jest rybą zdolną do przebywania bez wody przy odpowiednich warunkach fizyko-chemicznych. Dzięki temu mała ilość wody jest wystarczająca aby przeprowadzić zakażenie w immersji. Niestety dla pozostałych gatunków ryb ilość niezbędnej wody wzrasta wielokrotnie. Przeprowadzenie zakażenia w immersji u ryb innych niż węgorz, wymagałoby bardzo dużych ilości bakterii, dlatego wybrano ten gatunek aby porównać skuteczność działania preparatu w zależności od drogi zakażenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Węgorz europejski (*Anguilla anguilla*) 720

Pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*) 360

Karp (*Cyprinus carpio*) 360

Sum pospolity (*Silurus glanis*) 360

Jesiotr syberyjski (*Acipenser baerii*) 360

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Replacement- zasada zastąpienia będzie spełniona poprzez następujące działanie:

Do badań wybrano główne gatunki ryb aktualnie hodowane w Polsce i na świecie. Są to gatunki podatne na infekcję bakteryjną wywołaną przez *Aeromonas hydrophila* i *Pseudomonas fluorescens*. Nie ma możliwości zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym.

Reduction- zasada zmniejszania będzie spełniona poprzez następujące działania:

Liczba zwierząt w grupach zaplanowanych do badań została zredukowana do niezbędnego minimum umożliwiającego uzyskanie rzetelnych i istotnych statystycznie wyników badań. Wynika ona z dotychczasowego doświadczenia badaczy oraz wyliczeń statystycznych opartych na analizie wielkości próby z wykorzystaniem testów statystycznych. Dalsze ograniczenia liczebności osobników w grupach i liczby powtórzeń grup uniemożliwiłoby otrzymanie wiarygodnych wyników, gdyż wpływ cech osobniczych na zakażenie bakteryjne oraz podatność na stres może być znaczący, co zostało uwzględnione w czasie planowania doświadczenia. Dalsze ograniczenie liczby zwierząt doprowadziłoby do niepowodzenia doświadczenia, a tym samym naraziłoby zwierzęta na niepotrzebne i bezzasadne ich użycie.

Wykonawcy posiadają duże doświadczenie w technikach i metodach doświadczalnych. Powoduje to, 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 kolejnych badaniach naukowych, które z tego powodu nie będą już wymagały dalszego użycia zwierząt.

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

Refinement- zasada udoskonalenia będzie spełniona przez następujące działanie:

W czasie przeprowadzania eksperymentu ryby będą przetrzymywane w kontrolowanych warunkach (punkt 6, podpunkt C). Opisane w doświadczeniu czynności są standardowymi czynnościami wykonywanymi w wielu hodowlach na całym świecie. Wykonujący doświadczenie mają duże doświadczenie w badaniach z wykorzystaniem ryb, w tym w czynnościach opisanych we wniosku. Dzięki wieloletniej praktyce potrafią przeprowadzić opisane procedury w sposób niezwykle sprawny oraz przy minimalnym bólu i dystresie.

Doświadczenie zostanie 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 (służącego do znieczulenia ogólnego).

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.