

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Ocena wpływu enterotoksyn gronkowcowych SEC_{epi} i SEL_{epi} na fizjologię jelit

2. Czas trwania projektu 03.11.2020-30.03.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) toksyny gronkowcowe, efekt biologiczny, higiena żywności

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.

Doświadczenia opisywane we wniosku wchodzą w zakres badań projektu badawczego NCN OPUS. Głównym celem naukowym projektu jest zbadanie czy gronkowiec koagulazoujemny *S. epidermidis* zdolny do wytwarzania enterotoksyn SEC oraz SEL *S. aureus*, nazwanych SEC_{epi} oraz SEL_{epi} (Madhusoodanan i wsp. 2011) stanowi realne zagrożenie w kontekście mikrobiologii żywności i ochrony zdrowia konsumenta. Enterotoksyny gronkowcowe wytwarzane przez *Staphylococcus aureus* są przyczyną gronkowcowych zatruc pokarmowych. Ze względu na zdolność do stymulacji limfocytów T enterotoksyny są także czynnikami wielu jednostek klinicznych (Hennekinne i wsp. 2012). Zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1441/2007, wybrane produkty spożywcze są badane w kierunku enterotoksyn gronkowcowych tylko wtedy, gdy stwierdzi się w nich obecność gronkowców koagulazododatnich, do których należy *S. aureus*. Fakt, że również gronkowce koagulazoujemne mogą posiadać geny enterotoksyn ujawniono stosunkowo niedawno. Ze względu na niewielkie różnice w budowie aminokwasowej pomiędzy obiema toksynami produkowanymi przez *S. epidermidis* a ich odpowiednikami produkowanymi przez *S. aureus* nie można stwierdzić, że posiadają one podobną biologiczną aktywność. **Aktywność biologiczna oraz stabilność enterotoksyn gronkowców koagulazoujemnych nie jest obecnie znana. W celu wyjaśnienia powyższych zagadnień planowane jest zbadanie efektu biologicznego enterotoksyn gronkowców koagulazoujemnych w**

postaci zdolności do wywoływania biegunki i wpływu na układ immunologiczny jelit. Niestety nie można przeprowadzić tego typu doświadczenia *in vitro* (brak możliwości rezygnacji z modelu zwierzęcego). Mysz domowa jest gatunkiem stosunkowo niewrażliwym na działanie enterotoksyn gronkowcowych. Dawki toksyn zostały dobrane w taki sposób aby wywołać efekt na poziomie tkankowym, jednocześnie dane literaturowe sugerują, że nie są one letalne dla zwierząt. W trakcie eksperymentu zwierzęta mogą odczuwać dyskomfort ze strony układu pokarmowego. Po podaniu enterotoksyn stan kliniczny zwierząt, ich waga, pobór paszy oraz wody, a także morfologia i ilość odchodów będą monitorowane

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Do eksperymentu zostanie przeznaczonych 60 myszy szczepu BALB/c (7-8 tygodniowe samice). Jest to najmniejsza liczba gwarantująca statystyczną istotność uzyskanych wyników.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Planując doświadczenie przeprowadzono analizę dostępnej literatury (PUBMED, Google Scholar) celem weryfikacji czy takowe badania nie zostały już przeprowadzone. Proponowane badania są w pełni oryginalne, obejmują nowe, nie opisane w literaturze antygeny i wnoszą nową wiedzę w dziedzinie badań nad zakażeniami bakterii z rodziny *Staphylococcus*.

W projekcie zastosowano zasadę 3R:

1. zasada zastąpienia

Wstępna analiza została przeprowadzona w testach *in vitro*, zbadano cytotoksyczność i immunogenność używanych białek wobec ludzkich PBMC (badania przeprowadzono w zespole dr Keun-Seok Seo w Mississippi State University, USA).

Dawki białek wywołujące zmiany w jelicie myszy zostały oszacowane na pętlach jelitowych myszy poddanych eutanazji ze względu na nadwyżki hodowlane.

Efektywne stężenia inhibitorów zostały zmierzone *in vitro* przy użyciu trypsyny (SIGMA-ALDRICH) oraz pepsyny (SIGMA-ALDRICH) w trakcie ograniczonej proteolizy białek rekombinowanych.

Nie można jednak zastąpić zwierząt w ocenie zdolności do wywoływania biegunek przez niescharakteryzowane dotąd enterotoksyny (nie da się osiągnąć celu bez wykorzystania zwierząt), a w szczególności w badaniu ilości i morfologii produkowanego kału oraz wpływu na kliniczny stan zwierząt.

2. zasada ograniczenia

W ustalaniu liczebności grup badanych kierowano się minimalną ilością zwierząt dla osiągnięcia celu doświadczenia i wymaganej istotności. Co więcej, badania wstępne przeprowadzone *in vitro* pozwoliły na zawężenie ilości stosowanych stężeń toksyn.

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

3. zasada udoskonalenia

Planując eksperyment ograniczono do niezbędnego minimum czynności mogące wywołać dystres u badanych zwierząt (zmniejszono liczbę przyżyciowych pobrań krwi do dwóch). Zwierzęta będą utrzymywane w standardowych warunkach, ze swobodnym dostępem do karmy i wody. Wszystkie czynności prowadzone będą przez przeszkolonych wykonawców, posiadających wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zwierzęta będą znajdowały się pod stałą kontrolą lekarza weterynarii. Po zakończeniu procedury zwierzęta zostaną natychmiast poddane eutanazji.

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.