

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Zmienność genetyczna wirusa grypy ptaków (AIV) w przebiegu zakażenia oraz w wyniku transmisji wirusa u kur i indyków

2. Czas trwania projektu: 2017.07 – 2017.12

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): grypa ptaków, zmienność genetyczna, efekt „wąskiego gardła”

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 doświadczenia jest ocena zmienności populacji wirusa grypy ptaków wydalanego przez zakażone ptaki, jak i ptaki które uległy zakażeniu poprzez kontakt bezpośredni lub pośredni. Jak większość wirusów RNA, wirus grypy ptaków charakteryzuje się dużą zmiennością – podczas każdego cyklu namnażania powstaje wiele różniących się genetycznie wariantów (tzw. quasispecies). Warianty posiadające korzystne mutacje mogą następnie ulegać selekcji i wypierać warianty mniej przystosowane. Większa różnorodność populacji wirusa stanowi o jego większych zdolnościach adaptacyjnych. Spośród gatunków drobiu największą rolę w epidemiologii grypy ptaków odgrywają kury i indyki. Są to gatunki najbardziej wrażliwe na zakażenie AIV, a ponadto najbardziej liczne w produkcji drobiarskiej. Indyki są bardziej podatne na zakażenie AIV niż kury, jednak brak jest danych, czy zwiększona wrażliwość, a co za tym idzie – intensywniejsze namnażanie się wirusa – skutkuje zwiększoną różnorodnością populacji wirusa. Z tego względu projekt przewiduje porównanie zmienności w obrębie populacji wirusa w przebiegu zakażenia u kur i indyków. Ponadto w trakcie przenoszenia wirusa na kolejne osobniki na populację wirusa działa tzw. efekt „wąskiego gardła” (ang.

bottleneck). Jest to zjawisko zmniejszenia złożoności populacji wirusa u osobników kontaktowych w porównaniu z osobnikami, z których nastąpiło przeniesienie wirusa. Mechanizm ten może spowodować np. utrzymanie się u osobnika kontaktowego wariantu posiadającego mutację odpowiedzialną za oporność na lek przeciwwirusowy, lub z drugiej strony – zanik tego wariantu. W ten sposób skala „wąskiego gardła” wpływa na zdolność przystosowywania się wirusa do nowych warunków. W celu zbadania tego zjawiska zostanie określona różnorodność populacji wirusa wydalanego przez ptaki będące w kontakcie bezpośrednim, jak i pośrednim z ptakami zakażonymi. Poruszane w projekcie kwestie dotyczą słabo poznanych zagadnień, co przyczyni się do lepszego zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw zmienności AIV.

W doświadczeniach zostanie użyty wirus AI o niskiej patogenności. Z tego względu zakażenie będzie miało charakter łagodny, a u kur być może nawet bezobjawowy. Ponadto procedury wykonywane w doświadczeniu obejmują zabiegi nieinwazyjne – zakażenie drogą dospojówkową i donosową oraz pobieranie wymazów.

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

W doświadczeniu zostanie wykorzystanych 15 kur i 15 indyków. Przebieg doświadczenia będzie następujący: 5 ptaków danego gatunku zostanie zakażonych drogą donosową i dospojówkową wirusem H7N7 w dawce  $10^6$  EID<sub>50</sub>/ptaka, następnie zostanie do nich dołożone 5 ptaków niezakażonych (kontakt bezpośredni), a kolejnych 5 ptaków zostanie umieszczonych w sąsiedniej klatce, co zapewni swobodny przepływ powietrza, lecz uniemożliwi kontakt fizyczny z ptakami zakażonymi (kontakt pośredni). W 1, 3, 5, 7, 10 i 14 dniu po zakażeniu od wszystkich ptaków zostaną pobrane wymazy z tchawicy i kloaki w celu otrzymania materiału do dalszych badań.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono dotychczasową wiedzę z zakresu objętego projektem w następujących bazach danych: Pubmed, Google Scholar, Science Direct, Ovid, De Gruyter z wykorzystaniem słów kluczowych: influenza, avian influenza, quasispecies, diversity, minority variants, bottleneck effect, transmission bottleneck. Stwierdzono, że niewiele prac porusza kwestię różnorodności populacji wirusa wydalanego przez zakażone osobniki oraz efektu „wąskiego gardła”, przy czym zdecydowana większość badań jest poświęcona wirusom grypy ludzkiej w modelu transmisji ssak-ssak lub ptak-ssak. Brak jest w literaturze danych na temat zmienności populacji wirusa grypy ptaków w przebiegu zakażenia oraz transmisji wirusa u kur i indyków. Wyniki uzyskane w ramach projektu pozwolą uzyskać informacje na temat słabo poznanych zagadnień dotyczących ewolucji AIV, w tym na temat efektu „wąskiego gardła”.

Zasada zastąpienia: brak jest alternatywnych metod oceny zmienności genetycznej wirusa w przebiegu zakażenia i w wyniku transmisji między osobnikami niż testy *in vivo*.

Zasada redukcji: Grupy doświadczalne ograniczono do minimalnej liczebności niezbędnej dla otrzymania

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

wiarygodnych i użytecznych podczas obróbki statystycznej danych. Ponadto ograniczenie częstości pobierania wymazów w drugim tygodniu trwania doświadczenia, gdy można się spodziewać znacznie zmniejszonego siewstwa wirusa, pozwala na uzyskanie odpowiedniego materiału do dalszych badań przy jednoczesnym ograniczeniu częstości wykonywania procedury.

Zasada udoskonalenia: infrastruktura zwierzętarni ACL3 w PIWet-PIB zapewnia najwyższej jakości warunki utrzymania zwierząt i ich obsługę. Przewidziane w doświadczeniu zabiegi ograniczają się do nieinwazyjnej inokulacji drogą dospojówkową i donosową oraz pobierania wymazów. Ponieważ wirus użyty do zakażenia ptaków jest wirusem o niskiej patogenności (LPAI), przebieg choroby będzie miał charakter łagodny lub nawet bezobjawowy.