

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: ***Badanie wpływu mutantów i szczepów dzikich *Legionella pneumophila* serogrupa 1 na infekcję tkanki płucnej myszy***
2. Czas trwania projektu: 4 lata
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): *Legionella pneumophila*, legionelloza, myszy
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.

Bakterie należące do rodziny *Legionellaceae* stanowią naturalną mikroflorę środowisk wodnych i glebowych. W środowisku naturalnym bakterie *Legionella* namnażają się w komórkach wolnożyjących ameb z rodzaju *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Hartmanella*. Po przedostaniu się do systemów dystrybucji wody, które są źródłem skażonego wodno-powietrznego aerozolu, stają się ważnym czynnikiem etiologicznym nietypowego zapalenia płuc u ludzi. Nabyta w toku ewolucji z pierwotniakami wyjątkowa zdolność pałeczek *Legionella* do infekcji makrofagów, czyli komórek predysponowanych do zwalczania drobnoustrojów, prowadzi do rozwoju ostrego, wielopłatowego zapalenia płuc zwanego chorobą legionistów. Badania epidemiologiczne wskazują, że bakterie *Legionella* są odpowiedzialne za 2% do 8% przypadków zapalenia płuc nabytego w środowisku zamieszkania (community-acquired pneumonia). Poziom śmiertelności jest wysoki i sięga 30% u pacjentów leczonych na oddziałach

intensywnej terapii.

Celem projektu jest identyfikacja kluczowych markerów ściany komórkowej bakterii odpowiedzialnych za zwiększoną wirulencję szczepów *Legionella pneumophila*. W ramach doświadczenia przeprowadzone zostanie obrazowanie za pomocą techniki MALDI-MSI tkanki płucnej myszy zainfekowanych szczepami dzikimi i defektywnymi w syntezie lipopolisacharydu, mutantami *L. pneumophila* (9 szczepów). Badanie to pozwoli na określenie zmian zapalnych, jakie zachodzą w płucach myszy podczas infekcji bakteriami *Legionella*. Uzyskane informacje zostaną skorelowane z opisem histologicznym (H+E), który pozwoli na ocenę stanu zwyrodnienia tkanek zwierząt. Z zakażonych bakteriami *Legionella* zwierząt zostanie pobrana krew, w której zostanie oznaczony poziom cytokin prozapalnych (IL-6, TNF- α oraz INF- γ).

Badania te pozwolą na poznanie złożonych mechanizmów modulacji struktury, funkcji i sposobu oddziaływania składników powierzchniowych *Legionella* z komórką gospodarza, co może przyczynić się do opracowania skutecznych schematów leczenia choroby i ograniczenia wysokiej śmiertelności legionellozy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

mysz domowa (*Mus musculus*) szczep C57BL/6J – samce, 222 osobniki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, ScienceDirect i Web of Science (JCR). Wykorzystano następujące słowa kluczowe:

Legionella / *Legionella pneumophila* / legionellosis / lung infection / mice / rats / humans

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że:

- A. Najczęstszą postacią kliniczną, jaką przybiera zakażenie pałeczkami *Legionella* jest choroba płuc zwana legionellozą.
- B. Nadal nie wiadomo, dlaczego tylko jeden gatunek *L. pneumophila* serogrupa 1 odpowiada za ponad 90% przypadków legionellozy.

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

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Pogłębienie wiedzy teoretycznej w zakresie złożonego mechanizmu patogenności bakterii *L. pneumophila*.
- B. Ustalenie, czy struktura składników powierzchniowych (głównie lipopolisacharydu) *L. pneumophila* serogrupa 1 może mieć wpływ na zwiększoną wirulencję poszczególnych szczepów.
- C. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na opracowaniu nowych strategii zapobiegania i leczenia legionellozy.

Proponowane doświadczenie zostało zaplanowane z uwzględnieniem zasady 3R.

Zasada zastąpienia:

Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu niniejszego doświadczenia bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych. W badaniach oceniających działanie związków na procesy zapalne w organizmie żywym zastąpienie zwierząt doświadczalnych innym materiałem doświadczalnym jest niemożliwe. Myszy są najbardziej właściwym gatunkiem do wykonania zaplanowanych doświadczeń, ponieważ większość dotychczasowych badań nad zmianami zapalnymi w wyniku infekcji bakteriami *Legionella* zostało przeprowadzonych właśnie z użyciem myszy. Wykonanie kolejnych badań z wykorzystaniem tego gatunku zwierząt doświadczalnych pozwala na rzetelne porównanie otrzymanych wyników z danymi opublikowanymi przez różne jednostki badawcze

Zasada ograniczenia:

Liczba zwierząt zaplanowanych do doświadczeń została ograniczona do niezbędnego minimum 6 zwierząt w grupie) pozwalającego na rzetelną analizę statystyczną otrzymanych wyników. Podana we wniosku liczba zwierząt została oszacowana na podstawie wstępnych założeń teoretycznych. Rzeczywista liczba zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu może okazać się niższa. Autor wniosku zobowiązuje się do użycia najmniejszej koniecznej do przeprowadzenia zaplanowanych badań liczby zwierząt doświadczalnych.

Zasada udoskonalenia:

Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku. Klatki zaopatrzone będą w elementy wzbogacające środowisko dla gryzoni (domki plastikowe, koła biegowe, rurki tekturowe, materiał gniazdowy). Przed rozpoczęciem doświadczeń podczas 7-dniowego okresu adaptacji do warunków laboratoryjnych stosowana będzie procedura handlingu, w trakcie której zwierzęta przyzwyczajane będą do obecności eksperymentatora i jego dotyku, co pozwoli na zminimalizowanie stresu zwierząt podczas dalszych etapów procedury doświadczalnej. Zwierzęta wykazujące objawy silnego cierpienia i bólu zostaną natychmiast poddane eutanazji w ramach wczesnego i humanitarnego zakończenia procedury. Wszystkie czynności prowadzone będą przez przeszkolonych wykonawców, posiadających wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zwierzęta będą znajdowały się pod stałą kontrolą lekarza weterynarii.

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.