

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Odpowiedź immunologiczna larw danio pręgowanego (*Danio rerio*) podczas zakażenia wirusem TiLV (tilapia lake virus)**

2. Czas trwania projektu: **31 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **TiLV, tilapia lake virus, *Danio rerio***

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **A. Badania podstawowe**

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.

Choroby wirusowe i związane z nimi masowe śnięcia ryb hodowlanych stanowią istotny problem dla akwakultury. Ryby tilapiowate stanowią drugą pod względem wielkości produkcji rodzinę ryb hodowlanych. Od kilku lat obserwuje się masowe śnięcia ryb tilapiowatych spowodowane infekcją wirusem TiLV (tilapia lake virus). Wirus ten rozprzestrzenił się na 4 kontynenty: Azję, Afrykę, Amerykę Południową i Północną i stanowi ogromny problem dla hodowców ryb tilapiowatych. Badania nad tym wirusem są jednak ograniczane w związku z brakiem odpowiednich narzędzi badawczych dostępnych dla ryb tilapiowatych (np. brak dobrze opisanego genomu). W minionym roku opracowano model infekcyjny dla wirusa TiLV z wykorzystaniem dorosłych osobników danio pręgowanego (*Danio rerio*). Głównym celem obecnego projektu jest zbadanie odpowiedzi immunologicznej larw danio pręgowanego podczas infekcji wirusem TiLV.

Danio pręgowany to laboratoryjny organizm modelowy, wykorzystywany w różnych dziedzinach biologii, w tym także badaniach dotyczących odpowiedzi antywirusowej. W odróżnieniu od tilapii, dla danio pręgowanego opracowano nieporównywalnie więcej narzędzi badawczych umożliwiających dokładne zbadanie mechanizmów odpowiedzi immunologicznej na zakażenia różnymi wirusami. Larwy danio zaczynają pobierać pokarm od 5 dnia po zapłodnieniu.

W obecnym projekcie, larwy danio pręgowanego (2,5 dnia po zapłodnieniu) zostaną zakażone wirusem TiLV poprzez mikroiniekcję do ductu Cuviera w celu badania przebiegu infekcji i odpowiedzi immunologicznej (do 14 dnia po zapłodnieniu). Dodatkowo zostanie zbadany wpływ stymulacji interferonem larw na rozwój infekcji TiLV. W wybranych punktach czasowych po zakażeniu larwy zostaną uśmiercone w celu izolacji materiału genetycznego a następnie zostanie wykonana analiza ekspresji genów związanych z wrodzoną odpowiedzią immunologiczną, określenie poziomu wirusa oraz badania histopatologiczne.

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

Gatunek: Danio pręgowany (*Danio rerio*)

Liczba zwierząt: 1722

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych oraz piśmiennictwie naukowym. Na podstawie przeszukania baz danych stwierdzono, że odpowiedź immunologiczna larw danio pręgowanego podczas zakażenia wirusem TiLV nie została opisana.

W proponowanym wniosku uwzględniono zasadę 3 R:

Replacement - zasada zastąpienia będzie spełniona poprzez następujące działania:

Do badań wybrano larwy ryb, a wszelkie manipulacje związane z mikroiniekcją będą wykonane przed 5 dniem po zapłodnieniu. Nie ma możliwości całkowitego zastąpienia żywych zwierząt innym modelem badawczym.

Reduction - zasada zmniejszania będzie spełniona poprzez następujące działania:

Liczba larw w grupach zaplanowanych do badań została zredukowana do niezbędnego minimum umożliwiającego uzyskanie rzetelnych wyników badań. Wynika ona z dotychczasowego doświadczenia badaczy oraz wyliczeń statystycznych opartych na analizie wielkości próby.

Zaplanowano trzy powtórzenia każdego doświadczenia co także pozwala uzyskać wiarygodne wyniki.

Wykonawcy posiadają udokumentowane publikacjami, doświadczenie w technikach i metodach doświadczalnych co powoduje, że każde z zaplanowanych w doświadczeniu zwierząt zostanie w pełni wykorzystane do uzyskania wiarygodnych wyników. Poza tym pobrany i zabezpieczony materiał badawczy posłuży w kilku kolejnych badaniach naukowych, które z tego powodu nie będą już wymagały dalszego użycia larw.

Refinement - zasada udoskonalenia będzie spełniona poprzez następujące działania:

W czasie przeprowadzania eksperymentu larwy będą przetrzymywane w kontrolowanych warunkach.

Opisane w doświadczeniu czynności są standardowymi czynnościami wykonywanymi w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie. Wykonujący mają duże doświadczenie w badaniach z wykorzystaniem ryb w tym w czynnościach opisanych we wniosku. Dzięki wieloletniej praktyce potrafią przeprowadzać opisane procedury w sposób bardzo sprawny oraz przy minimalnym bólu oraz dystresie.

Doświadczenia zostaną przeprowadzone w warunkach ograniczających do minimum stres oraz cierpienie zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny i całkowicie eliminujący stres, poprzez przedawkowanie środka anestetycznego. Z larw zostanie zabezpieczony materiał w celu określenia poziomu wirusa oraz analizy ekspresji genów wrodzonej odpowiedzi przeciwwirusowej (zarówno w grupach zakażonych jak i kontrolnych).

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

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.