

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu " Uzyskanie króliczych przeciwciał przeciw rekombinowanym enterotoksynom SECepi oraz SELepi *S. epidermidis*"

2. Czas trwania projektu 15.05.2019 – 15.08.2019.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): królik, immunizacja, przeciwciała anti-SELepi, anti-SECepi,

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.

Enterotoksyny gronkowcowe powodują najgroźniejsze zatrucia pokarmowe u ludzi i zwierząt. Monitorowanie ryzyka zatruć i ochrona konsumentów stanowią poważne wyzwania dla medycyny weterynaryjnej. Do niedawna panowało przekonanie, że jedynie koagulazododatnie gronkowce *Staphylococcus aureus* są zdolne do syntezy enterotoksyn. Ostatnie odkrycia wskazują jednak, że także uznawane do niedawna za niegroźne, inne gatunki tego rodzaju mogą także produkować enterotoksyny.

Nie znaleziono przeciwciał anti- SELepi i SECepi, w ofertach dostępnych producentów przeciwciał.

Celem doświadczenia jest uzyskanie oczyszczonych przeciwciał króliczych przeciw rekombinowanym enterotoksynom gronkowcowym odkrytym w ostatnich latach u *S. epidermidis*, drobnoustroju uznawanego przez wiele lat za nie produkujący enterotoksyn. SECepi oraz SELepi *S. epidermidis* są ortologami SEC oraz SEL *S. aureus*, jednak analiza ich sekwencji aminokwasowych wykazała, iż różnią się one od ich odpowiedników z *S. aureus* w wielu pozycjach. Możliwe zatem, iż

pewne właściwości enterotoksyn gronkowców koagulazoujemnych mogą różnić się od właściwości enterotoksyn *S. aureus*. W celu zbadania wybranych właściwości enterotoksyn gronkowców koagulazoujemnych musimy dysponować preparatami enterotoksyn natywnych. Żeby je uzyskać wytworzone zostały rekombinowane enterotoksyny SELEpi oraz SECepi *S. epidermidis* w laboratoryjnych szczepach *E. coli*. Białka te stanowiąc będą antygeny do uzyskania surowic z królika. Uzyskane surowice będą oczyszczane i immobilizowane na złożach stałych i posłużą do oczyszczenia natywnych SELEpi oraz SECepi z płynów pochodzących odpowiednich szczepów *S. epidermidis* oraz *S. aureus*.

Wytworzenie swoistych systemów wykrywania badanych enterotoksyn pozwoli na ich lepsze poznanie i określenie ich roli w ryzyku zatruc pokarmowych. Oczekuje się potwierdzenia lub wykluczenia tezy, że enterotoksyny wytwarzane przez gronkowce koagulazoujemne mogą stanowić zagrożenie dla bezpieczeństwa żywności i zdrowia publicznego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane badania będą prowadzone na 2 królikach rasy biały nowozelandzki.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Ilość zwierząt konieczna do przeprowadzenia doświadczenia jest określona na minimalnym poziomie. Planowane badania pozwolą na uzyskanie niezbędnej ilości monoswoistych przeciwciał króliczych przeciw niedawno odkrytym enterotoksynom (SECepi i SELEpi), produkowanym przez drobnoustroj (*Staphylococcus epidermidis*) uznawany wcześniej za nieszkodliwy.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazie danych: PUBMED.

Wykorzystano słowa kluczowe: rabbit/ anti-SELEpi/anti-SECepi/ immunization/ *Staphylococcus epidermidis* enterotoxin.

Nie uzyskano wyświetleń dla połączenia rabbit & anti-SECepi; rabbit& anti-SELEpi. Dla połączenia rabbit & *Staphylococcus epidermidis* enterotoxin uzyskano 2 wyświetlenia z lat 90-tych XX wieku, w których nie wykryto produkcji enterotoksyn tego drobnoustroju w przypadkach szoku toksycznego.

Zasada zastąpienia: Ze względu na planowane użycie jak najmniejszej liczby zwierząt do uzyskania satysfakcjonującej - wystarczającej na długi czas użytkowania puli przeciwciał, wybrano królika.

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

Zasada ograniczenia: Badania charakteryzują się niską dotkliwością i nie są możliwe do przeprowadzenia innymi metodami, wykonywane będą zgodnie z dyrektywą Unii Europejskiej (Directive 81/8522/EEC November 1992). Immunizacja drogą domięśniową powoduje tylko nieznaczny odczyn miejscowy, który zanika w ciągu 2-3 tygodni. Te obserwacje wynikają z wielokrotnych, wcześniejszych doświadczeń własnych i opinii współpracowników.

Kompletny adjuwant Freunda zastąpiono niekompletnym adjuwantem, ta łagodząca zmiana nie powoduje znaczącego osłabienia intensywności humoralnej odpowiedzi immunologicznej.

Zasada doskonalenia:

Procedury zastosowane w doświadczeniu są rutynowo praktykowane przez lekarzy weterynarii i nie sprawiają zwierzętom bólu w stopniu większym niż ukłucie igłą. Wszystkie czynności związane z planowanym badaniem będą przeprowadzane przez doświadczonego lekarza weterynarii, w miejscu stałego bytowania zwierząt co sprzyja zachowaniu dobrostanu.

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.