



DIRECȚIA SANITARĂ VETERINARĂ
ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR
IAȘI

Nr. /

GVERNUL ROMÂNIEI		
AUTORITATEA NAȚIONALĂ SANITARĂ VETERINARĂ ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR		
DIRECȚIA SANITARĂ VETERINARĂ ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR IAȘI		
NR. INTRARE	12755	IESIRE
Ziua	09	Luna 07 Anul 2020

**BIROUL AUTORIZARE, ÎNREGISTRARE, TRACES ȘI GESTIUNEA ACTIVITĂȚII DE
IMPORT-EXPORT**

CĂTRE,
Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor
DIRECȚIA GENERALĂ SĂNĂTATE ȘI BUNĂSTAREA ANIMALELOR
DIRECȚIA BUNĂSTAREA ȘI NUTRIȚIA ANIMALELOR

In conformitate cu N.S. 7445 din 05.12.2018, privind protecția animalelor utilizate in scopuri științifice, ca urmare a solicitării transiterii rezumatului non-tehnic în scopul punerii la dispoziția publicului a acestora, anterior autorizării proiectelor, astfel încât să poată fi comunicate eventualele erori in vederea remedierii, vă transmitem rezumatul non-tehnic, depus la DSVSA Iași, având numărul de înregistrare 12269 din 03.07.2020, de către Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa." Iași, in vederea obținerii autorizării proiectului "Studii privind influențarea farmacologica a comportamentului si a modificărilor biologice in stres la sobolani".



	Nume, Prenume	Funcția	Data	Semnatura
Avizat	Sutacu Ionut	Șef BAITGAIE	09.07.2020	
Elaborat	Paun Laura	Consilier superior	09.07.2020	



**REZUMAT NONTEHNIC AL PROIECTULUI
STUDII PRIVIND INFLUENȚAREA FARMACOLOGICĂ A COMPORTAMENTULUI ȘI A
MODIFICĂRILOR BIOLOGICE ÎN STRES LA SOBOLANI**

Titlul proiectului	Studii privind influențarea farmacologică a comportamentului și a modificărilor biologice în stres la șobolani		
Durata proiectului	15 luni		
Cuvinte cheie (max. 5)	influențarea farmacologică, comportamentului, stres, șobolani.		
Scopul proiectului		DA	NU
	Cercetare de bază		
	Bioechivalență, cercetare translațională și cercetare aplicată	x	
	Utilizare regulată și producții de rutină		
	Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor și animalelor		
	Conservarea speciilor		
	Învățământ superior și instruire		
	Anchete medico-legale		
	Menținerea coloniilor de animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri		
Descrierea obiectivelor proiectului	<p>Scopul proiectului constă în efectuarea unor cercetări experimentale pentru evaluarea efectelor unor antidepresive asupra modificărilor hematologice, biochimice, asupra stresului oxidativ, a unor parametri ai apărării imunitare, a unor markeri de evoluție a tulburărilor afective, precum, asupra modificărilor histopatologice hepatice, renale, cardiace și cerebrale.</p> <p>Proiectul are următoarele obiective:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ evaluarea influenței administrării unor antidepresive (desvenlafaxină, levomilnacipran, vilazodonă, vortioxetină) asupra comportamentului și a modificărilor biologice la șobolani, în condiții de stres (de efort, prin contenție, prin expunere prelungită la lumină continuă/întuneric continuu) ➤ administrarea cronică (timp de 14 zile a antidepresivelor studiate); ➤ evaluare influenței antidepresivelor asupra comportamentului motor spontan; 		

	<ul style="list-style-type: none"> ➤ investigarea efectelor comportamentale ale antidepressivelor la șobolani supuși testului de efort (testul benzii rulante); ➤ studierea efectelor comportamentale ale antidepressivelor la șobolani supuși testului de stres acut prin contenție; ➤ evaluarea influenței antidepressivelor testate asupra modificărilor biologice la șobolani în condiții de stres provocat (la efort, prin contenție); ➤ analiza modificărilor produse de tratamentul cu antidepressive asupra arhitecturii hepatice, renale, cardiace și a creierului.
<p>Care sunt potențialele beneficii aduse de către proiect</p>	<p>Prin datele obținute în urma investigării acțiunii unor antidepressive noi, se vor putea pune în evidență efectele farmacodinamice ale acestor substanțe farmacologic active la șobolani supuși diferitelor forme de stres. În plus, se vor putea aprecia perturbările hematologice, biochimice, imunologice și histopatologice, pe care le produc aceste antidepressive, la șobolani supuși stresului, cu realizarea unor corelații privind intensitatea acțiunii lor și gradul acestor modificări biologice. Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect pot reprezenta puncte de plecare importante pentru optimizarea schemelor terapeutice ce utilizează medicamente antidepressive.</p>
<p>Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat</p>	<p>În vederea realizării obiectivelor activităților proiectului vor fi utilizați un număr total de 90 +/-10 șobolani Wistar. Numărul animalelor a fost ales în acord cu totalitatea activităților (actimetru, testul rezistenței la efort fizic forțat, modelul experimental de stres prin contenție) și numărul substanțelor de testat (apa distilată - lot martor; desvenlafaxin, levomilnacipran, vilazodonă, vortioxetină), fiecare lot fiind constituit din 6 animale.</p>
<p>În contextul procedurilor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradele de severitate metodele de eutanasiu.</p>	<p>Efecte adverse așteptate:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un nivel minim de stres/anxietate poate fi cauzat înainte de obișnuirea animalelor cu tehnicile de manipulare/contenție/mediu de testare. Obișnuirea progresivă cu tehnicile de contenție și echipamentele de testare. Manipulare calmă, empatică. • Disconfort tranzitoriu asociat căii de administrare a substanțelor. Administrare în conformitate cu orientările privind bunele practici. Animalele vor fi observate îndeaproape în vederea identificării efectelor adverse ale substanțelor de testat. • Deficiențe neurologice cronice. Toți factorii de stres vor fi reduși, inclusiv nivelurile de zgomot.

	<p>Temperatura ambiantă va fi ridicată după caz, cu ajutorul așternuturilor și a materialelor de așternut suplimentare.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Este posibil ca animalele să resimtă sarcinile ca fiind stresante dacă abilitățile lor motorii au fost afectate (testele de nocicepție, testele comportamentale). Monitorizarea indicatorilor comportamentali de anxietate sau suferință. Animalele vor fi observate în permanență de către personal cu experiență. <p>Grad de severitate: superficial.</p> <p>Eutanasierea animalelor se va realiza printr-o metodă umană de sacrificare corespunzătoare speciei, cu provocarea unei morți rapide, fără suferință fizică și psihică, conform prevederilor Legii nr. 43/2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, cu modificările și completările ulterioare care transpun prevederile Directivei Consiliului 63/2010/UE privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.</p>
<p>Aplicarea conceptului celor 3R</p>	
<p>Înlocuire – precizați de ce nu pot fi folosite metode alternative pentru obținerea unor rezultate științifice satisfăcătoare</p>	<p>În cadrul temei de cercetare alese pentru acest proiect, nu există posibilitatea ierarhizării intensității efectelor farmacodinamice ale unor antidepressive diferite (desvenlafaxină, levomilnacipran, vilazodonă, vortioxetină) în sistem computerizat sau in vitro, deoarece nu se poate aprecia perturbările hematologice, biochimice, imunologice și histopatologice, pe care le produc aceste antidepressive. În acest context, în care înlocuirea nu este posibilă, vom reduce numărul de animale necesar instruirii prin utilizarea aceluiași lot, în cazurile în care este posibil, pentru determinarea mai multor variabile.</p>
<p>Reducere – Cum vă asigurați ca numărul de animale implicate va fi minim.</p>	<p>În vederea verificării ipotezelor specifice, în cadrul activităților de cercetare s-a ales număr minim de animale ce permite obținerea de rezultate semnificative după prelucrarea statistică a datelor.</p>
<p>Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în proceduri. Explicați alegerea speciei și de ce modelul animal ales este cel mai potrivit. Explicați măsurile generale luate pentru a reduce răul produs animalelor.</p>	<p>În contextul procedurilor realizate pe animale, cu scopul limitării durerii și suferinței se va urmări: menținerea statusului fiziologic a modelelor animale prin adăpostirea în sisteme de tip IVC și practici de creștere adaptate pentru a reduce la minimum riscul de contaminare. Animalele adăpostite în grup și îmbunătățiri aduse mediului de viață pentru a reduce stresul. Creșterea și îngrijirea vor fi revizuite în cazul în care se observă semne de suferință, agresiune sau comportamente anormale. Puncte finale de sacrificare – orice animal care prezintă semne de boli intercurrente va fi sacrificat. Se va realiza un sistem de notare clinică a bunăstării. Puncte finale de sacrificare: animalele vor fi</p>

sacrificate dacă pierderea în greutate depășește 20% din greutatea corporală inițială

Se alege ca specie de animale, șobolanii, deoarece prin datele obținute în urma investigării acțiunii unor antidepresive noi, se vor putea pune în evidență efectele farmacodinamice ale acestor substanțe farmacologic active la șobolani supuși diferitelor forme de stres. În plus, se vor putea aprecia perturbările hematologice, biochimice, imunologice și histopatologice, pe care le produc aceste antidepresive, la șobolani supuși stresului, cu realizarea unor corelații privind intensitatea acțiunii lor și gradul acestor modificări biologice. Rezultatele obținute în cadrul acestui proiect pot reprezenta puncte de plecare importante pentru optimizarea schemelor terapeutice ce utilizează medicamente antidepresive. Totodată, modelele animale prezintă similitudini cu cele întâlnite în cazul organismului uman, similitudini ce nu pot fi reproduse virtual. În plus, s-au ales ca specie șobolanul ca model experimental, datorită motivelor anterioare menționate, precum:

- existența unor modele universal acceptate;
- existența unor standarde clar definite în ceea ce privește aportul alimentar, hidric și a condițiilor de îngrijire;
- raport cost/beneficiu mai optim;
- centrul nostru este prevăzut cu aparatură special concepută pentru mentinerea animalelor în condiții raportate la standarde internaționale, cât și pentru bună desfășurare a activităților experimentale prevăzute în proiect



DIRECȚIA SANITARĂ VETERINARĂ
ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR
IAȘI

Nr. /

GUVERNUL ROMÂNIEI
AUTORITATEA NAȚIONALĂ SANITARĂ VETERINARĂ
ȘI PENTRU SIGURANȚA ALIMENTELOR
DIRECȚIA SANITARĂ VETERINARĂ ȘI PENTRU
SIGURANȚA ALIMENTELOR IAȘI
NR. INTRARE 12754 JEȘIRE
Ziua 09 Luna 07 Anul 2020

**BIROUL AUTORIZARE, ÎNREGISTRARE, TRACES ȘI GESTIUNEA ACTIVITĂȚII DE
IMPORT-EXPORT**

CĂTRE,
Autoritatea Națională Sanitară Veterinară și pentru Siguranța Alimentelor
DIRECȚIA GENERALĂ SĂNĂTATE ȘI BUNĂSTAREA ANIMALELOR
DIRECȚIA BUNĂSTAREA ȘI NUTRIȚIA ANIMALELOR

În conformitate cu N.S. 7445 din 05.12.2018, privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, ca urmare a solicitării transmisei rezumatului non-tehnic în scopul punerii la dispoziția publicului a acestora, anterior autorizării proiectelor, astfel încât să poată fi comunicate eventualele erori în vederea remedierii, vă transmitem rezumatul non-tehnic, depus la DSVSA Iași, având numărul de înregistrare 12268 din 03.07.2020, de către Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa." Iași, în vederea obținerii autorizării proiectului "Date actuale privind posibilitățile de influențare farmacologica a hepatotoxicității induse chimic pe model animal".



	Nume, Prenume	Funcția	Data	Semnatura
Avizat	Sutacu Ionut	Șef BAITGAIE	09.07.2020	
Elaborat	Paun Laura	Consilier superior	09.07.2020	



REZUMAT NONTEHNIC AL PROIECTULUI
DATE ACTUALE PRIVIND POSIBILITĂȚILE DE INFLUENȚARE
FARMACOLOGICĂ A HEPATOTOXICITĂȚII INDUSE CHIMIC PE MODEL
ANIMAL

Titlul proiectului	Date actuale privind posibilitățile de influențare farmacologică a hepatotoxicității induse chimic pe model animal		
Durata proiectului	15 luni		
Cuvinte cheie (max. 5)	nanoparticule, acetaminofen, eritromicină, șoareci		
Scopul proiectului		DA	NU
	Cercetare de bază		
	Bioechivalență, cercetare translațională și cercetare aplicată	x	
	Utilizare regulată și producții de rutină		
	Protecția mediului înconjurător în interesul sănătății și bunăstării oamenilor și animalelor		
	Conservarea speciilor		
	Învățământ superior și instruire		
	Anchete medico-legale		
	Mentținerea coloniilor de animale modificate genetic, care nu sunt utilizate în alte proceduri		
Descrierea obiectivelor proiectului	<p>Scopul acestui proiect constă în evaluarea efectelor unor sisteme nanoparticulate ce încorporează substanțe cu potențial hepatotoxic asupra funcției hepatice și a stresului oxidativ la animale de laborator. Obiective:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ investigarea influenței unor formulări nanoparticulate pe bază de polimeri și de compuși naturali ce conțin acetaminofen și eritromicină asupra integrității hepatice și a stresului oxidativ la șoareci; ➤ caracterizarea fizico-chimică a nanoparticulelor obținute și evaluarea biocompatibilității lor in vivo; ➤ desfășurarea cercetărilor experimentale pe modelul de hepatopatie alcoolică la șoareci; ➤ cercetarea experimentală a efectelor nanoparticulelor ce conțin acetaminofen, respectiv eritromicină în doze hepatotoxice asupra funcției și arhitecturii hepatice 		
Care sunt potențialele beneficii aduse de către proiect	Datele obținute în cadrul acestui proiect vor putea contribui la clarificarea cunoștințelor legate de efectele farmacodinamice ale unor nanoparticule pe bază de polimeri biocompatibili și compuși naturali, ce conțin acetaminofen sau		

	<p>eritromicină, asupra funcției și morfologiei ficatului. Totodată, va fi posibilă extinderea cercetărilor asupra altor nanoparticule, în scopul clarificării anumitor aspecte legate de interdependența bioactivitate-tip de rețea polimerică, cu beneficii reale în obținerea de noi sisteme caraus optime de medicamente.</p> <p>Rezultatele obținute în cursul cercetărilor pot constitui un punct de plecare, pentru obținerea de noi sisteme nanoparticulate ce includ medicamente cu potențial hepatotoxic, precum și optimizarea utilizării acestora pentru efectele lor hepatoprotectoare.</p>
<p>Care este specia utilizată și care este numărul preconizat de animale care va fi utilizat</p>	<p>În vederea realizării obiectivelor activităților proiectului vor fi utilizați un număr total de 120±10 șoareci Swiss/Balb. Loturile utilizate pentru investigații vor fi formate din câte 6 animale fiecare în parte, astfel încât să nu fie compromise obiectivele studiului și totodată să se poată realiza în condiții corespunzătoare analiza statistică a datelor și obținerea unei semnificații biologice reale a rezultatelor obținute.</p> <p>Pentru testarea biocompatibilității <i>in vivo</i> a nanoparticulelor se vor utiliza 9 loturi a câte 6 animale fiecare, care vor fi tratate pe cale orală (L1: martor, L2: chitosan, L3: citral, L4: acetaminofen 150mg/kg, L5: eritromicină 50mg/kg, L6: nanoparticule pe baza de chitosan+ acetaminofen 150mg/kg, L7: nanoparticule pe baza de citral+ acetaminofen 150 mg/kg, L8: nanoparticule pe bază de chitosan+ eritromicină 50mg/kg, L9: nanoparticule pe bază de citral+eritromicină 50mg/kg)</p> <p>Pentru investigarea efectelor chitosanului și citralului la șoareci cu hepatopatie alcoolică se vor utiliza 3 loturi a câte 6 animale fiecare, care vor primi substanțele pe cale orală, în priză unică zilnic, în ultimile 7 zile ale experimentului (L1: martor, L2: model hepatopatie alcoolică+chitosan, L3: model hepatopatie alcoolică+ citral).</p> <p>Pentru testarea efectelor nanoparticulelor studiate asupra funcției și arhitecturii hepatice se vor folosi 7 loturi a câte 6 animale fiecare (L1: martor; L2: acetaminofen 300mg/kg, L3: eritromicină 100mg/kg, L4: nanoparticulele pe bază de chitosan, care încorporează acetaminofen 300 mg/kg, L5: nanoparticulele pe bază de citral, care încorporează acetaminofen 300 mg/kg, L6: nanoparticulele pe bază de chitosan, care încorporează eritromicină 100 mg/kg, L7:</p>

	nanoparticulele pe bază de citral, care încorporează eritromicină 100 mg/kg).
În contextul procedurilor realizate pe animale, care ar fi efectele adverse așteptate, gradele de severitate metodele de eutanasiere	<p>În proiect se va utiliza o metodologie generală și specifică, astfel încât gradul de apariție a efectelor adverse să fie redus la minimum posibil. Cu toate acestea, având în vedere complexitatea proiectului, există riscul apariției următoarelor efecte adverse:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un nivel minim de stres/anxietate poate fi cauzat înainte de obișnuirea animalelor cu tehnicile de manipulare/conținție/mediu de testare. Obișnuirea progresivă cu tehnicile de conținție și echipamentele de testare. Manipulare calmă, empatică. • Disconfort tranzitoriu asociat căii de administrare a substanțelor. Administrare în conformitate cu orientările privind bunele practici. Animalele vor fi observate îndeaproape în vederea identificării efectelor adverse ale substanțelor de testat. • Slăbiciune, semne de durere, oboseală, scăderea în greutate. Monitorizarea indicatorilor hepatici și cardiaci. În eventualitatea în care vor surveni efecte adverse ce determină suferința animalelor, indiferent de etapa experimentelor, acestea vor fi eutanasiate. <p>Puncte finale de sacrificare: animalele vor fi sacrificate dacă pierderea în greutate depășește 20% din greutatea corporală inițială. Animalele care nu se hrănesc mai mult de 48 de ore se vor sacrifica.</p> <p>Grad de severitate: moderat</p> <p>Eutanasierea animalelor se va realiza printr-o metodă umană de sacrificare corespunzătoare speciei, cu provocarea unei morții rapide, fără suferință fizică și psihică, conform prevederilor Legii nr. 43/2014 privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice, cu modificările și completările ulterioare care transpun prevederile Directivei Consiliului 63/2010/UE privind protecția animalelor utilizate în scopuri științifice.</p> <p>Cadavrele animalelor, cât și deșeurile cu potențial risc de contaminare biologică (mănuși, ace, seringi, etc.) sunt ambalate în saci galbeni speciali, destinați deșeurilor biologice. Sacii vor fi preluați de către firme autorizate, specializate în colectarea deșeurilor biologice, după întocmirea documentației necesare.</p>
Aplicarea conceptului celor 3R	
Înlocuire – precizați de ce nu pot fi folosite metode alternative pentru obținerea unor	Interacțiunile formulărilor cercetate cu organismul viu sunt cele mai importante și trebuie decelate pe modelul adecvat. Modelul animal ales nu poate fi substituit de tehnici matematice, modele computerizate sau utilizarea de specii

<p>rezultate științifice satisfăcătoare</p>	<p>inferioare din punct de vedere filogenetic, care să permită replicarea patologiei de studiu. Nu există un sistem de evaluare a efectelor benefice sau adverse în afara modelului animal. Totodată, modelul animal oferă o cunoaștere inestimabilă a funcției hepatice și a stresului oxidativ, fiind etapa premergătoare testelor clinice. De asemenea, după finalizarea studiului, animalele vor fi sacrificate în vederea evaluării macroscopice și microscopice a leziunilor (prin tehnici de histologie).</p>
<p>Reducere – Cum vă asigurați ca numărul de animale implicate va fi minim.</p>	<p>Acest principiu este respectat prin utilizarea unui număr minim de animale prin maximizarea informației obținute per animal (evaluarea macroscopică și microscopică a leziunilor la nivel hepatic). Numărul a fost ales în acord cu studii biostatistice care au arătat că un număr minim de animale este necesar astfel, încât testele statistice să fie aplicabile, iar analiza statistică să aibă putere semnificativă. În acest context, în care înlocuirea nu este posibilă, vom reduce numărul de animale necesare experimentului prin utilizarea aceluiași lot, în cazurile în care este posibil, pentru determinarea mai multor variabile.</p>
<p>Îmbunătățirea metodelor de creștere, adăpostire, îngrijire și utilizare a animalelor în proceduri. Explicați alegerea speciei și de ce modelul animal ales este cel mai potrivit. Explicați măsurile generale luate pentru a reduce răul produs animalelor.</p>	<p>În contextul procedurilor realizate pe animale, cu scopul limitării durerii și suferinței se va urmări: menținerea statusului fiziologic a modelelor animale prin adăpostirea în sisteme de tip IVC și practici de creștere adaptate pentru a reduce la minimum riscul de contaminare. Animalele adăpostite în grup și îmbunătățiri aduse mediului de viață pentru a reduce stresul. Creșterea și îngrijirea vor fi revizuite în cazul în care se observă semne de suferință, agresiune sau comportamente anormale. Puncte finale de sacrificare – orice animal care prezintă semne de boli intercurrente va fi sacrificat. Se va realiza un sistem de notare clinică a bunăstării. Puncte finale de sacrificare: animalele vor fi sacrificate dacă pierderea în greutate depășește 20% din greutatea corporală inițială.</p> <p>Se aleg ca specie de animale, șoarecii, deoarece datele obținute în cadrul acestui proiect vor putea contribui la clarificarea cunoștințelor legate de efectele farmacodinamice ale unor nanoparticule pe bază de polimeri biocompatibili și compuși naturali, ce conțin acetaminofen sau eritromicină, asupra funcției și morfologiei ficatului. Totodată, va fi posibilă extinderea cercetărilor asupra altor nanoparticule, în scopul clarificării anumitor aspecte legate de interdependența bioactivitate-tip de rețea polimerică, cu beneficii reale în obținerea de noi sisteme caraus optime de medicamente. Totodată, modelele animale prezintă similitudini cu cele întâlnite în cazul organismului uman, similitudini ce nu pot fi</p>

reproduse virtual. În plus, s-au ales ca specie soarecii ca model experimental, datorită motivelor anterioare menționate, precum:

- existența unor modele universal acceptate;
- existența unor standarde clar definite în ceea ce privește aportul alimentar, hidric și a condițiilor de îngrijire;
- raport cost/beneficiu mai optim;
- centrul nostru este prevăzut cu aparatură special concepută pentru mentenanța animalelor în condiții raportate la standarde internaționale, cât și pentru bună desfășurare a activităților experimentale prevăzute în proiect.