

# Wniosek przewodni

**dr n. wet. Marcin Śmiałek**

*Katedra Chorób Ptaków*

*Wydział Medycyny Weterynaryjnej*

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

**Rada Dyscypliny Weterynaria**  
Wydział Medycyny Weterynaryjnej  
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie  
Ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn (nazwa i  
dane adresowe podmiotu habilitującego,  
wybranego do przeprowadzenia postępowania)

za pośrednictwem:

**Rady Doskonałości Naukowej**  
pl. Defilad 1  
00-901 Warszawa  
(Pałac Kultury i Nauki, p. XXIV, pok. 2401)

**Marcin Śmiałek**

.....  
(imię i nazwisko wnioskodawcy)

**Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie**

.....  
(miejsce pracy/jednostka naukowa)

## **Wniosek**

z dnia **16.09.2021**

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauki rolnicze w dyscyplinie weterynaria.

Określenie osiągnięcia naukowego będącego podstawą ubiegania się o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Osiągnięcie stanowi cykl publikacji powiązanych tematycznie zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy pod wspólnym tytułem:

*"Immunologiczne podstawy skuteczności szczepień przeciwko wiodącym chorobom układu oddechowego kur i indyków rzeźnych (IB, TRT) oraz potencjalne interakcje tych szczepień ze szczepieniem przeciwko kolibakteriozie w warunkach terenowych, wraz z oceną zasadności szczepienia przeciwko Escherichia coli"*

Wniosuję – na podstawie art. 221 ust. 10 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 zm.) – aby komisja habilitacyjna podejmowała uchwałę w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w głosowaniu **tajnym/jawnym**\*<sup>1</sup>

*Zostałem poinformowany, że:*

*Administratorem w odniesieniu do danych osobowych pozyskanych w ramach postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego jest Przewodniczący Rady Doskonałości Naukowej z siedzibą w Warszawie (pl. Defilad 1, XXIV piętro, 00-901 Warszawa).*


*Kontakt za pośrednictwem e-mail: [kancelaria@rdn.gov.pl](mailto:kancelaria@rdn.gov.pl), tel. 22 656 60 98 lub w siedzibie organu. Dane osobowe będą przetwarzane w oparciu o przesłankę wskazaną w art. 6 ust. 1 lit. c)*

---

<sup>1</sup> \* Niepotrzebne skreślić.

*Rozporządzenia UE 2016/679 z dnia z dnia 27 kwietnia 2016 r. w związku z art. 220 - 221 oraz art. 232 – 240 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, w celu przeprowadzenie postępowania o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz realizacji praw i obowiązków oraz środków odwoławczych przewidzianych w tym postępowaniu.*

*Szczegółowa informacja na temat przetwarzania danych osobowych w postępowaniu dostępna jest na stronie [www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html](http://www.rdn.gov.pl/klauzula-informacyjna-rodo.html)*



(podpis wnioskodawcy)

Załączniki:

1. Wniosek przewodni
2. Dane wnioskodawcy
3. Autoreferat
4. Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny
5. Prace wchodzące w skład osiągnięcie naukowego oraz oświadczenia współautorów
6. Potwierdzenie odbycia stażu
7. Potwierdzenie otrzymania nagród
8. Uwierzytelniona kopia odpisu dyplomu doktora nauk weterynaryjnych
9. Skan dokumentów na nośniku danych - pendrive

# **Autoreferat**

**dr n. wet. Marcin Śmiałek**

*Katedra Chorób Ptaków*

*Wydział Medycyny Weterynaryjnej*

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

### 1. Imię i nazwisko

Marcin Śmiałek

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

**2014**      **Stopień naukowy:** doktor nauk weterynaryjnych w zakresie chorób drobiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

**Tytuł rozprawy doktorskiej:** *„Mechanizmy odpornościowe błon śluzowych górnych dróg oddechowych u indyków uodpornianych przeciwko wirusowi zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (TRT)”*

**2010**      **Tytuł:** lekarza weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych

**01.12.2014 do chwili obecnej**      Adiunkt, Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

**19.12.2011 – 01.12.2014**      Asystent, Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

**18.10.2011 – 19.12.2011**      Technolog, Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

**01.10.2010 – 24.09.2014**      Doktorant, Katedra Chorób Ptaków, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie.

#### **4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy**

##### **4.1. Osiągnięcie stanowi cykl publikacji powiązanych tematycznie pod wspólnym tytułem:**

*„Immunologiczne podstawy skuteczności szczepień przeciwko wiodącym chorobom układu oddechowego kur i indyków rzeźnych (IB, TRT) oraz potencjalne interakcje tych szczepień ze szczepieniem przeciwko kolibakteriozie w warunkach terenowych, wraz z oceną zasadności szczepienia przeciwko Escherichia coli”*

Cykl ten obejmuje 6 publikacji w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), których sumaryczny IF wynosi 10,856, a łączna liczba punktów MNiSW - 455.

##### **4.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład zgłaszanego cyklu:**

**4.2.1.** Śmiałek M\*, Welenc J, Koncicki A: Ogólnoustrojowe oraz lokalne mechanizmy immunologiczne stymulowane w przebiegu zakaźnego zapalenia oskrzeli kur. Med. Weter., 2016,72, 358-363. doi: <http://dx.doi.org/10.21521/mw.5521>.

(IF: 0,218, punkty MNiSW 15)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na: dokonaniu przeglądu dostępnej literatury naukowej, doborze materiałów wykorzystanych podczas opracowywania pracy przeglądowej, przygotowaniu manuskryptu. \* autor korespondencyjny*

**4.2.2.** Śmiałek M\*, Tykałowski B, Dziewulska D, Stenzel T, Koncicki A: Immunological aspects of the efficiency of protectotype vaccination strategy against chicken infectious bronchitis. BMC Vet. Res., 2017, 13, 44. doi: 10.1186/s12917-017-0963-1. (IF: 1.958, punkty MNiSW 40)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu*

*i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**4.2.3.** Śmiałek M\*, Tykałowski B, Dziewulska D, Kowalczyk J, Koncicki A: IFN gamma production profile in turkeys of different immunological status after TRT vaccination. *J. of Vet. Res.*, 2020, 64, 239-245, doi: 10.2478/jvetres-2020-0040. (IF: 1,039, punkty MNiSW 40)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**4.2.4.** Śmiałek M\*, Kowalczyk J, Koncicki A: Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine on general properties of *E. coli* population, IBV vaccination efficiency, and production parameters - a field experiment. *Poult. Sci.*, 2020, 99, 5452-5460. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.039. (IF: 2,659, punkty MNiSW 140)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**4.2.5.** Śmiałek M\*, Kowalczyk J, Gesek M, Kaczorek-Łukowska E, Dziewulska D, Tykałowski B, Koncicki A: The influence of maternally derived antibodies on protection against aMPV/A infection in TRT vaccinated turkeys. *Poult. Sci.*, 2021, 100: 101086, doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101086>. (IF: 2,659, punkty MNiSW 140)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**4.2.6.** Śmiałek M\*, Kowalczyk J, Koncicki A: The Influence of Vaccination of Broiler Chickens and Turkeys with Live E. coli Attenuated Vaccine on E. coli Population Properties and TRT Vaccination Efficacy. *Animals*, 2021, 11:2068; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11072068>. (IF: 2,323, punkty MNiSW 100)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

#### **Źródła finansowania badań:**

Badania przedstawione w publikacji **4.2.3.** były finansowane przez Konsorcjum KNOW (Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący), w ramach konkursu Early Stage Research, projekt pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy indyków o różnym statusie immunologicznym, w kontekście stymulacji mechanizmów odporności komórkowej. Nr umowy UMO-KNOW2015/CB/ESR2/1. Część badań finansowana była przez Narodowe Centrum Nauki, w konkursie SONATA w ramach projektu pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (TRT), w stadach indyków rzeźnych o różnym statusie immunologicznym, w kontekście rozwoju odporności przeciwwzakaźnej. Nr umowy projektu UMO-2016/23/D/NZ6/00099.

Badania przedstawione w publikacji **4.2.5.** były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, w konkursie SONATA w ramach projektu pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (TRT), w stadach indyków rzeźnych o różnym statusie immunologicznym, w kontekście rozwoju odporności przeciwwzakaźnej. Nr umowy projektu UMO- 2016/23/D/NZ6/00099.

Badania przedstawione w publikacji **4.2.2.** były finansowane przez MSD Animal Health w ramach projektu pt.: Development of humoral and cell-mediated immunity in broiler chickens immunized against aMPV, NDV and IBV with the use of MSD Animal Health vaccines. Okres realizacji 01.09.2014-28.02.2015. Łączna kwota finansowania badań: 60 000 EU.



### 4.3. Omówienie prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe

#### 4.3.1. Wprowadzenie i cel przeprowadzonych badań

Jednymi z najpoważniejszych patogenów atakujących układ oddechowy u drobiu są koronawirusy zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV) oraz ptasie metapneumowirusy (aMPV). Zakaźne zapalenie oskrzeli (IB) jest chorobą występującą głównie u kur (indyki nie są wrażliwe na zakażenie), podczas gdy aMPV mogą zakażać zarówno kury, jak i indyki. Jedną z podstawowych konsekwencji zakażenia drobiu tymi wirusami są wtórne infekcje bakteryjne, w tym między innymi *E. coli*. Przeciwko wszystkim tym trzem patogenom opracowano żywe szczepionki, które są powszechnie stosowane w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej.

#### A. ZAKAŹNE ZAPALENIE OSKRZELI

Zakaźne zapalenie oskrzeli (Infectious bronchitis – IB) jest wirusową, wysoce zaraźliwą chorobą kur. Wirus zakaźnego zapalenia oskrzeli (IBV), który jest przedstawicielem rodziny *Coronaviridae* (materiał genetyczny stanowi jednociowy RNA), należy do wirusów ptasich, często zmieniających swoje właściwości genotypowe, antygenowe, tropizm tkankowy, patogenność, a przez to formę samej choroby. W zależności od tropizmu tkankowego oraz potencjału terenowych szczepów IBV do wywoływania zmian anatomopatologicznych w różnych narządach wewnętrznych makroorganizmu do dnia dzisiejszego wyróżnić można kilka postaci IB, takich jak: oddechowa, nerkowa, rozrodcza, mięśniowa czy pokarmowa (2, 15, 24, 44, 47, 55, 56). Główny mechanizm zmienności IBV polega na mutacjach w obrębie genu kodującego zewnątrzotczkowy glikopoliptyd S1, które doprowadzają do zmiany jego struktury antygenowej. Biorąc pod uwagę fakt, że podjednostka S1 IBV jest odpowiedzialna za tropizm tkankowy wirusa oraz stymulację swoistych mechanizmów immunologicznych, wyżej wymienione zjawiska wpływają na obserwowane często przypadki przełamania odporności poszczepiennej, w stadach kur o różnej użytkowości, przez terenowe szczepy IBV (4, 56). Bardzo częstym następstwem IB są wtórne infekcje *E. coli*. Stowarzyszenie do spraw zdrowia zwierząt w USA (United States Animal Health Association) umieściło IB na 5 miejscu wśród chorób przynoszących największe straty w przemyśle drobiarskim w 2014 roku.

Po szczepieniu i zakażeniu IB następuje stymulacja komórkowej i humoralnej odporności ogólnoustrojowej, jak również lokalnej w górnych drogach oddechowych (GDO). IBV charakteryzują się wysoką immunogennością, a największe znaczenie w protekcji przeciwko IBV wydaje się mieć komórkowa odporność ogólnoustrojowa związana głównie z aktywnością cytotoksycznych komórek T. Wykazano, że wzrost ich aktywności był skorelowany ze stopniem oczyszczania płuc i nerek z IBV (12). Pei i wsp. (41) wykazali, że komórki T CD8<sup>+</sup> pamięci immunologicznej izolowane od ptaków, które przechorowały IB i wykorzystane do transferu immunologicznego do kurcząt, które wcześniej nie miały kontaktu z wirusem, są w stanie samodzielnie zredukować stopień nasilenia objawów klinicznych zakażenia oraz zapobiegają przed ostrą postacią choroby.

Mało wiadomo na temat roli odporności GDO w protekcji na zakażenie IBV. Mechanizmy te wydają się być szczególnie istotne biorąc pod uwagę drogę zakażenia wirusami IB. Pierwszymi elementami zaangażowanymi w rozwój protekcji w stosunku do toczącego się zakażenia IBV są nieswoiste mechanizmy oraz komórki związane z naturalną odpornością organizmu, jak makrofagi czy heterofile. Ich aktywacja za pośrednictwem TLR 3 i 7 ogranicza replikację IBV poprzez stymulację produkcji czynników przeciwwirusowych, a dodatkowo jest sygnałem inicjującym rozwój reakcji zapalnej. Mechanizmy te nie są jednak w stanie samodzielnie zwalczyć zakażenia (17, 30, 54). Komórki T CD8<sup>+</sup> są głównie zaangażowane w początkowe fazy rozwoju swoistej odpowiedzi immunologicznej, przyczyniając się do eliminacji wirusa poprzez produkcję IFN $\gamma$  oraz czynników cytotoksycznych (28, 39), jednak w późniejsze etapy rozwoju swoistej odporności zaangażowane są komórki T CD4<sup>+</sup> oraz uczulone limfocyty B (12, 38). Okino i wsp. (38) odnotowali dodatkowo szybki wzrost poziomów swoistych przeciwciał (Igs) w popłuczynach z GDO oraz aktywację parametrów odporności komórkowej w błonie śluzowej tchawicy po zakażeniu w 28 dniu życia IBV piskląt szczepionych w dniu lęgu szczepem H-120. Wyniki te wskazują iż komórki T oraz B w GDO są w stanie nabywać pamięć immunologiczną w stosunku do IBV już po jednokrotnym szczepieniu w pierwszej dobie życia.

Do dzisiaj nie udało się opracować jednego, uniwersalnego programu szczepienia przeciwko IB, co wynika z bardzo wysokiej częstotliwości zmiany dominujących, w warunkach terenowych, serotypów wirusa. Jeden z najczęściej stosowanych protokołów szczepień zakłada jednoczesne lub naprzemienne stosowanie szczepionek bazujących na serotypach Massachusetts i 793B. Wykazano, że szczepienie takie skutkuje wytworzeniem

protekcji na zakażenie homologicznymi szczepami IBV, a jednocześnie indukuje wysoką odporność krzyżową na zakażenie heterologicznymi szczepami IBV, takimi jak D1466 czy QX (14, 52).

## B. PTASIE METAPNEUMOWIRUSY

Ptasie metapneumowirusy (ang. avian Metapneumovirus - aMPV) są silnie zakaźnymi RNA wirusami wywołującymi zakaźne zapalenie nosa i tchawicy (ang. turkey rhinotracheitis - TRT) w stadach indyków. aMPV zaliczane do rodziny *Pneumoviridae* rodzaju *Metapneumovirus* klasyfikowane są obecnie jako 4 podtypy (A – D) (13). Zakażenia aMPV przyczyniają się do znacznych strat w przemyśle drobiarskim, które wynikają m.in. z gorszych przyrostów masy ciała, bezpośrednich padnięć, spadku nieśności oraz immunosupresji zwiększającej wrażliwość ptaków na infekcje wtórne (najczęściej pałeczkami *E. coli*) (49). Zasięg rozprzestrzenienia aMPV obejmuje cały Świat, za wyjątkiem Australii oraz Kanady.

W immunoprofilaktyce swoistej TRT znajdują zastosowanie szczepionki żywe atenuowane oraz inaktywowane. Pomimo powszechności szczepień często obserwowane są przełamania odporności poszczepiennej przez terenowe szczepy aMPV (49). Z drugiej strony, dużą część produkcji indyczej w Polsce stanowią pisklęta importowane z Kanady. Powyższa sytuacja powoduje, że część piskląt odchowywanych w naszym kraju posiada (MDA+) lub nie posiada (MDA-) swoiste przeciwciała matczyne (maternally derived antibodies - MDA) anty-aMPV w pierwszych tygodniach odchowu. Jest to równocześnie termin przypadającego szczepienia przeciwko TRT piskląt indyckich.

Jak wykazano, brak jest jednoznacznej korelacji pomiędzy poziomem swoistej IgY anty-aMPV w surowicy oraz popłuczynach z GDO, a stopniem odporności przeciwko TRT, pomimo że same przeciwciała w nieznacznym stopniu łagodzą kliniczny przebieg choroby (8, 18). Powoduje to, że niezależnie od poziomu przeciwciał matczynych, pisklęta szczepione są najczęściej w pierwszej dobie życia przeciwko TRT.

Do dzisiaj mało jest prac mających na celu określenie wpływu MDA na skuteczność wykonywanego szczepienia przeciwko TRT. Śmiałek i wsp. (49) wykazali, że pisklęta MDA+ charakteryzowały się brakiem produkcji swoistej IgY oraz IgA po przeprowadzonym szczepieniu przeciwko TRT. Dodatkowo, z wykorzystaniem techniki ELISPOT, cytowani autorzy wykazali zaburzenia w nabywaniu swoistości reagowania limfocytów B IgA<sup>+</sup>, u

piskląt MDA<sup>+</sup> po szczepieniu z wykorzystaniem aMPV/A. Ci sami autorzy, wykazali również, że u piskląt MDA<sup>+</sup> replikacja szczepionkowego aMPV w GDO była ograniczona.

Ze względu na niejednoznaczną rolę odporności humoralnej, mechanizmy odporności komórkowej są coraz częściej rozpatrywane jako decydujący czynnik zaangażowany w protekcję przeciwko TRT. Liman i Rautenschlein (34) wykazali znaczny wzrost procentowego udziału subpopulacji CD4<sup>+</sup> limfocytów T w śledzionie z równoczesnym wzrostem ekspresji genów oraz produkcji IFN $\gamma$  w splenocytach po szczepieniu z wykorzystaniem aMPV/B ptaków powyżej 30 doby życia bez obecności przeciwciał anty-aMPV. Z drugiej jednak strony, Cha (3) donosi o wzroście procentowego udziału komórek T CD8<sup>+</sup>, a nie T CD4<sup>+</sup> w strukturach GDO, przy braku wzrostu udziału tych komórek w śledzionach po zakażeniu aMPV/C u 14 dniowych ptaków MDA<sup>-</sup>. W tej samej pracy autorzy wykazali wzrost ekspresji genu IFN $\gamma$  w GDO u zakażonych ptaków. Cytowane wyniki badań wskazują na udział odporności komórkowej, w tym IFN $\gamma$  w protekcji przeciwko aMPV oraz, że jej mechanizmy mogą zależeć od wieku ptaków oraz podtypu aMPV. Dodatkowo, z badań przeprowadzonych przez Śmiałka i wsp. (49, 50), wynika że poziom stymulacji parametrów lokalnej odporności komórkowej w GDO przeciwko TRT może być zależny od poziomu MDA. Cytowani autorzy wykazali różnice w stopniu infiltracji struktur GDO komórkami immunokompetentnymi (limfocytami T CD4<sup>+</sup> oraz CD8<sup>+</sup>), które to zjawiska zdecydowanie silniej zaznaczone były w grupach MDA<sup>-</sup>. Według autorów uzyskane wyniki mogą tłumaczyć częstotliwość obserwowanych przypadków przełamania odporności poszczepiennej przez terenowe szczepy aMPV.

### **C. *ESCHERICHIA COLI***

Kolibakterioza drobiu wywoływana jest przez patogenne dla ptaków szczepy *E. coli* (avian pathogenic *Escherichia coli* - APEC). APEC charakteryzują się bardzo wysokim stopniem zróżnicowania zjadliwości, a choroby przez nie wywoływane pojawiają się jako schorzenia wtórne do pierwotnie występujących zaburzeń homeostazy, które mogą być konsekwencją uszkodzenia układu oddechowego, immunosupresji natury zakaźnej lub niezakaźnej, lub też innych chorób zakaźnych o uogólnionym przebiegu (19). Jednymi z głównych czynników inicjujących zakażenie *E. coli* są koronawirusy IB (u kur) oraz aMPV (zarówno u indyków, jak i u kur) Od lat kolibakterioza jest jedną z najważniejszych przyczyn strat ekonomicznych w produkcji drobiarskiej.

Do dzisiaj, nie udało się opracować skutecznej metody zapobiegania kolibakteriozie. Zapobieganie i zwalczanie choroby opiera się o przeciwdziałanie czynnikom zwiększającym ryzyko jej wystąpienia w stadzie (w tym między innymi szczepienia przeciwko chorobom immunosupresyjnym, poprawa warunków środowiskowych, higiena zakładów wylęgowych, właściwe żywienie ptaków itp.), a w przypadku wystąpienia choroby - o ukierunkowaną antybiotykoterapię, ustaloną na podstawie wyników antybiogramu (19). Aktualnie dostępne są również szczepionki inaktywowane i podjednostkowe przeciwko kolibakteriozie.

Kontrola zakażeń APEC napotyka dodatkowo inne wyzwania. Ostatnio, coraz częściej notowane są przypadki zakażeń wieloopornymi (ang. Multidrug resistant - MDR) i szczepami produkującymi beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ang. extended spectrum beta-lactamase - ESBL) *E. coli* (16, 25, 48). Bakterie MDR stanowią wielkie zagrożenie, w szczególności w krajach szybko rozwijających się, między innymi ze względu na powszechność stosowania antybiotyków w wielkotowarowej produkcji drobiu. Dodatkowo, sytuacja ta jest również bardzo problematyczna, ze względu na wprowadzane ograniczenia co do ilości używanych antybiotyków w przeliczeniu na kilogram żywca drobiowego, jak również ze względu na perspektywiczne wycofywanie określonych substancji czynnych z rynku weterynaryjnego w najbliższych latach. Bakterie MDR stanowią również bezpośrednie zagrożenie dla konsumentów jako donor genów oporności na antybiotyki (37).

Do zakażenia ptaków pałeczkami *E. coli* dochodzi głównie drogą układu oddechowego. Kolibakterioza u ptaków przybierać może różne postacie, od zakażeń miejscowych w poszczególnych układach i narządach do postaci uogólnionej. Za szczególnie chorobotwórcze dla drobiu, najczęściej izolowane od ptaków chorych, uważane są serotypy (O - antygen somatyczny, K - antygen otoczkowo-powierzchniowy): O1:K1, O2:K1 oraz O78:K80, aczkolwiek nie są to jedyne serotypy izolowane z przypadków kolibakteriozy u drobiu (19).

W ostatnim czasie coraz większą popularność zdobywa szczepienie ptaków rzeźnych z wykorzystaniem genetycznie modyfikowanej, żywej szczepionki przeciwko kolibakteriozie (21, 29). Komercyjnie dostępna jest szczepionka skonstruowana w oparciu o delecyjny szczep O78:K80 *E. coli* z trwale usuniętym genem *aroA*. La Regione i wsp. (33) oraz Rawiwet i Chansiripornchai (42) wykazali, że jednokrotne szczepienie w pierwszej dobie życia zabezpiecza przed śmiertelnością oraz w znaczny sposób ogranicza możliwość rozwoju zmian

typowych dla kolibakteriozy u kurcząt i indyków, zakażonych eksperymentalnie w 6 tygodniu życia. W pracy tej autorzy wykazali również fakt odporności krzyżowej w stosunku do innych serotypów *E. coli*, aczkolwiek najwyższą protekcję autorzy Ci uzyskali w przypadku zakażenia homologicznego. Galal i wsp. (22) wykazali dodatkowo, że kurczęta szczepione mają lepsze przyrosty masy ciała po zakażeniu eksperymentalnym IBV i *E. coli*, przy równoczesnej mniejszej śmiertelności i mniejszym nasileniu rozwoju zmian typowych dla kolibakteriozy.

## CEL PRZEPROWADZONYCH BADAŃ

Przeprowadzone badania własne miały na celu ocenę i analizę zjawisk immunologicznych zachodzących u ptaków po szczepieniu przeciwko TRT (u indyków) i IB (u kur). W obu przypadkach analizie poddano inne parametry. W przypadku badań nad immunopatogenezą zakażeń aMPV główny nacisk został położony na zbadanie znaczenia obecności przeciwciał matczynych na skuteczność szczepienia, w kontekście rozwoju odporności przeciwwzakaźnej. Badania nad IBV miały na celu określenie mechanizmów immunologicznych tłumaczących dlaczego stosowany powszechnie program immunoprofilaktyki protektotypowej (połączenie dwóch szczepów IBV z serotypów Mass i 793B) charakteryzuje się tak wysokim stopniem protekcyjności oraz dlaczego stymuluje on tak wysoki poziom odporności krzyżowej, w stosunku do heterologicznych szczepów IBV.

Biorąc dodatkowo pod uwagę fakt, iż programy szczepień przeciwko TRT, IB i *E. coli* są ze sobą bardzo ściśle powiązane, w kontekście terminów szczepień oraz dróg administracji szczepionki, podjęto dalsze badania, które miały na celu określenie potencjalnego wpływu szczepienia symultanicznego u kur i indyków na efektywność tego zabiegu. Zważywszy również na niekorzystną sytuację epidemiologiczną *E. coli* w kontekście zjawisk antybiotykooporności oraz częstotliwości przypadków kolibakteriozy, jako schorzenia wtórnego do pierwotnych infekcji wirusowych (IBV, aMPV), kolejnymi zagadnieniami badanymi w trakcie tych prac była również ocena zasadności szczepienia kurcząt broilerów oraz indyków rzeźnych przeciwko *E. coli*.

Wyniki badań zostały opublikowane w jednej pracy przeglądowej (4.1.1.) oraz w pięciu pracach oryginalnych (4.1.2. - 4.1.6.) i uzyskano je przy zastosowaniu metodyki opisanej poniżej.

## 4.3.2. Materiały i metody

### 4.3.2.1. Materiał badawczy oraz układ doświadczalny

#### A. ZAKAŻNE ZAPALENIE OSKRZELI

Badania przeprowadzono na 359 1-dniowych kurczętach broilerach kurzych. W dniu rozpoczęcia doświadczenia od 23 losowo wybranych ptaków z całej partii pobrano krew oraz popłuczyny z tchawicy celem ustalenia poziomu swoistych przeciwciał matczynych anty-IBV. Pozostałe ptaki podzielono na 4 grupy: grupa kontrolna, nieszczepiona przeciwko IB; Ma5 to grupa szczepiona przeciwko IB w 1 dniu życia szczepem Ma5 (serotyp Mass); grupa 4/91 została zaszczepiona szczepem 4/91 (serotyp 793B); a grupa V2 została zaszczepiona szczepem Ma5 i 4/91 w jednym rozcieńczalniku (sterylna woda destylowana). Wszystkie szczepionki przygotowano zgodnie z instrukcjami (MSD Animal Health) i ptaki szczepiono okulonaszalnie w dawkach zalecanych przez producenta. Ptaki odchowywano do 21 dnia życia w boksach Pawilonu zakażeń eksperymentalnych Katedry Chorób Ptaków, klasy biobezpieczeństwa PCL-3. Boksy tego Pawilonu zaopatrzone są w służbę sanitarną, system wentylacji zaopatrzoney w filtry HEPA na wlocie i wylocie powietrza oraz kaskadę ciśnień umożliwiającą jednokierunkowy przepływ powietrza od strefy czystej do brudnej.

Ptaki odchowywano do 21 doby życia i w tym okresie od ptaków ze wszystkich grup doświadczalnych pobrano kolejne próbki do badań laboratoryjnych. W 3, 7 i 14 dniu po szczepieniu pobrano po 5 próbek gruczołu Hardera (ang. HG; cały narząd obustronnie; jedną próbkę połączono od 3 ptaków, więc 5 próbek pochodziło od 15 ptaków) i 5 próbek śledziona do analizy metodą cytometrii przepływowej liczby komórek T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz komórek B Bu1A<sup>+</sup>. 14 i 21 dni po szczepieniu od ptaków ze wszystkich grup pobrano po 23 próbki krwi do oceny serologicznej IgY anty-IBV w surowicy. W 7, 14 i 21 dobie po szczepieniu pobierano dodatkowo po 15 próbek popłuczyn z tchawicy do serologicznej oceny swoistych poziomów przeciwciał klasy IgY i IgA anty-IBV. Dodatkowo 5 próbek surowicy reagujących dodatnio w teście ELISA, w 21 dobie po szczepieniu, poddano analizie reaktywności krzyżowej z różnymi szczepami diagnostycznymi IBV z wykorzystaniem testu hamowania hemaglutynacji (ang. HI).

## **B1. PTASIE METAPNEUMOWIRUSY - DOŚWIADCZENIE 1**

W doświadczeniach wykorzystano sto osiemdziesiąt komercyjnych indyków, z czego 90 (dostarczonych przez wylęgarnię Grelavi S.A., Polska) posiadało swoiste przeciwciała matczyne anty-aMPV (grupy MDA+). Ptaki te pochodziły od niosek zaszczepionych przeciwko TRT (3 razy żywą szczepionką aMPV/A i 2 razy inaktywowaną szczepionką aMPV/B). Druga połowa (90 indyków z tej samej wylęgarni), które nie posiadały MDA (grupy MDA-) pochodziła ze stada niosek odchowywanych w Kanadzie. Indyki zostały dostarczone przez wylęgarnię w tym samym czasie.

Ptaki odchowywano w boksach Pawilonu zakażeń eksperymentalnych Katedry Chorób Ptaków. Indyki z grup szczepionych szczepiono okulonasznie żywą szczepionką bazującą na szczepie aMPV/A BUT1 #8544.

### **Eksperyment 1 i 2**

W eksperymentach 1 i 2 wykorzystano po 45 1-dniowych indyków MDA+ (Eksperyment 1) lub MDA- (Eksperyment 2). Po dostarczeniu ptaków próbki krwi (n=15) pobrano od indyków MDA+ i MDA- celem oceny ich statusu MDA. Następnie ptaki zostały losowo podzielone (n=15) odpowiednio (MDA+ lub MDA-) na grupy szczepione (0/V) i nieszczepione (0/NV) grupy. Indyki z grup szczepionych zaszczepiono przeciwko TRT w dniu przybycia (0 dzień życia). Ptaki utrzymywano do 14 dnia życia, a próbki śledziona (n=5, na grupę) do dalszej analizy pobierano w 3, 7 i 14 dobie po szczepieniu.

### **Eksperyment 3 i 4**

Projekt eksperymentu był identyczny, ale w doświadczeniach wykorzystano starsze ptaki. Doświadczenia przeprowadzono na 14-dniowych indykach MDA+ (Eksperyment 3) lub MDA- (Eksperyment 4). Zanim ptaki zostały podzielone na grupy szczepione (14/V) i nieszczepione (14/NV), pobrano próbki krwi (n=15) do oceny ich statusu MDA. Ptaki z grup szczepionych zaszczepiono przeciwko TRT w 14 dobie życia. Indyki odchowywano do 28 doby życia, a próbki śledziona (n=5, na grupę) do dalszej analizy pobrano w 3 (17 doba życia), 7 (21 doba życia) i w 14 dniu po szczepieniu (28 doba życia).



## **B2. PTASIE METAPNEUMOWIRUSY - DOŚWIADCZENIE 2**

W badaniach wykorzystano łącznie 782 sztuki indyków rzeźnych, które dostarczyła wylęgarnia Grelavi S.A., Kętrzyn, Polska. Indyki MDA+ (n=391) pochodziły ze stada reprodukcyjnego indyków zaszczonego przeciwko TRT (3 razy żywą szczepionką aMPV/A i dwukrotnie inaktywowaną szczepionką aMPV/B). Indyki MDA- (n=391) pochodziły ze stada niosek odchowywanych w Kanadzie. Wylęgarnia dostarczała indyki w tym samym czasie.

Warunki utrzymania ptaków oraz szczepienie było analogiczne jak w opisanym wcześniej doświadczeniu 1.

### **Eksperyment 1**

Eksperyment 1 przeprowadzono na 207 indykach MDA+ (M+). W dniu wylęgu od 23 losowo wybranych piskląt pobrano krew w celu określenia poziomu MDA. Próbkę surowicy zamrożono (-20°C) do czasu analizy. Pozostałe ptaki przydzielono losowo do następujących grup doświadczalnych: Kontrola (M+0NV; 80 ptaków, z których 40 służyło jako ptaki kontaktowe dla grup zakażonych aMPV/A), Zaszczepione (M+0V; 40 ptaków), Zakażone (M+14I; 32 ptaki) oraz zaszczepione i zakażone (M+0V-14I; 32 ptaki). Ptaki z grup szczepionych - szczepiono przeciwko TRT w 0 dniu życia. Ptaki z zakażonych grup zakażano wirulentnym aMPV/A w 14 dniu życia. Wszystkie ptaki odchowywano do 24. dnia życia. W 14 dniu życia, bezpośrednio przed zakażeniem, eutanazji poddano po 8 ptaków z grupy kontrolnej (M+0NV) i zaszczepionej (M+0V) i zabezpieczono od nich próbki popłuczyn z tchawicy (TW) w celu określenia poziomu swoistych przeciwciał anty-aMPV IgA. Po zakażeniu aMPV/A ptaków z grup M+14I i M+0V-14I do boksów, w których odchowywano te ptaki, wprowadzono ptaki kontaktowe (n=20, do każdej z grup) z grupy kontrolnej. Ptaki kontaktowe oznaczono odpowiednio jako M+14I-CB i M+0V-14I-CB. Następnie w 3, 5, 7 i 10 dobie po zakażeniu, z grupy kontrolnej i z grup zaszczepionych, zakażonych, zaszczepionych i zakażonych poddawano eutanazji po 8 ptaków. Dodatkowo z grup zakażonych, w tych samych okresach, eutanazji poddawano po 4 ptaki kontaktowe. Po eutanazji pobrano próbki małżowin nosowych (n=4) od ptaków kontrolnych, zakażonych i kontaktowych w celu oceny replikacji aMPV/A metodą qRT-PCR. Próbkę jamy nosowej i proksymalnej części tchawicy (n=5 dla każdej) pobrano od ptaków z grupy kontrolnej i zakażonej do badania histopatologicznego. Popłuczyny z tchawicy (n=8) pobierano od

ptaków kontrolnych, zaszczepionych i/lub zakażonych w celu określenia poziomu przeciwciał anty-aMPV IgA. Od ptaków kontrolnych, szczepionych i/lub zakażonych pobrano również próbki śledzion (n=4) do izolacji komórek jednojądrzastych celem określenia w nich poziomu ekspresji genu IFN- $\gamma$ .

## **Eksperyment 2**

W eksperymencie 2 wykorzystano 207 indyków MDA<sup>-</sup> (M<sup>-</sup>). Układ eksperymentu i procedury pobierania próbek były takie same jak opisane w eksperymencie 1. Grupy badane w eksperymencie 2 oznaczono jako kontrolne (M-0NV), zaszczepione (M-0V), zakażone (M-14I) i ich ptaki kontaktowe (M-14I-CB) oraz jako zaszczepione i zakażone (M-0V-14V) oraz ich ptaki kontaktowe (M-0V-14I-CB).

## **Eksperyment 3**

Eksperyment 3 przeprowadzono na 184 indykach MDA<sup>+</sup>. Układ eksperymentu i procedury pobierania próbek były prawie identyczne jak w eksperymentach 1 i 2, z wyjątkiem wieku ptaków. W skrócie, ptaki były odchowywane do 14 doby życia, zanim zostały zaszczepione przeciwko TRT. W 14 dobie pobrano od nich próbki krwi (n=23) z żyły skrzydłowej celem ustalenia poziomów przeciwciał anty-aMPV. Po pobraniu krwi ptaki zostały losowo przydzielone do następujących grup: kontrolne (M+14NV), zaszczepione (M+14V), zakażone (M+28I) i ich ptaki kontaktowe (M+28I-CB) oraz zaszczepione i zakażone (M+14V-28V) i ich ptaki kontaktowe (M+14V-28I-CB). Ptaki z grup szczepionych zaszczepiono przeciwko TRT w 14 dobie życia. Zakażenie wirulentnym aMPV/A przeprowadzono w 28 dobie życia. Próbki do badań pobierano w 3, 5, 7 i 10 dobie po zakażeniu.

## **Eksperyment 4**

Eksperyment 4 przeprowadzono na 184 indykach MDA<sup>-</sup> (M<sup>-</sup>). Układ eksperymentu i procedury pobierania próbek były takie same jak opisane w eksperymencie 3. Grupy badane w eksperymencie 4 oznaczono jako kontrolne (M-14NV), zaszczepione (M-14V), zakażone (M-28I) i ich ptaki kontaktowe (M-28I-CB) oraz zaszczepione i zakażone (M-14V-28V) i ich ptaki kontaktowe (M-14V-28I-CB).

## **C1. *ESCHERICHIA COLI* - DOŚWIADCZENIE 1**

Eksperyment 1 wykonano równolegle na dwóch fermach broilerów kurzych. Na fermie 1 (F1) znajdowały się dwa obiekty inwentarskie: F1-K1 i F1-K2 o obsadzie wynoszącej odpowiednio 40 i 60 tysięcy broilerów kurzych. Na fermie 2 (F2) znajdowały się trzy obiekty inwentarskie: F2-K1, F2-K2 i F2-K3 o obsadzie wynoszącej po 15 tysięcy broilerów kurzych każdy. Na F2 doświadczenie wykonano w obiektach F2-K1 i F2-K2. Doświadczenie rozpoczęto w styczniu 2019 roku, początkowo na F1 wraz z wstawieniem piskląt w połowie stycznia 2019, a następnie zakres doświadczenia rozszerzono na F2, wraz z wstawieniem, które miało miejsce w połowie lutego 2019.

Eksperyment 2 wykonano na fermie F3, na której znajdują się dwa obiekty F3-K1 i F3-K2 o obsadzie wynoszącej odpowiednio 40 i 60 tysięcy broilerów kurzych

W każdym eksperymencie i cyklu produkcyjnym wszystkie kurniki na każdej fermie były zasiedlane pisklętami Ross 308 zakupionymi z jednej wylęgarni, z jednego wylęgu. Dodatkowo w eksperymencie 1 jaja, a ostatecznie pisklęta, które zostały wykorzystane do zasiedlenia F2 zostały dostarczone do wylęgarni z jednego stada reprodukcyjnego.

W doświadczeniu wykorzystano szczepionkę żywą atenuowaną przeciwko zakażeniom *Escherichia coli* (Zoetis), w której substancję czynną (zgodnie z charakterystyką produktu leczniczego) stanowią żywe bakterie *Escherichia coli* z delecją genu *aroA*, typ O78, szczep EC34195. Szczep szczepionkowy, z tożsamej w stosunku do szczepionek wykorzystywanych w ramach doświadczenia partii, poddany został badaniu wrażliwości na antybiotyki, w sposób analogiczny do izolowanych w ramach doświadczenia bakterii *E. coli*.

### **Eksperyment 1**

Eksperyment prowadzono przez 3 kolejne cykle produkcyjne na obu fermach. Broilery kurze były szczepione przeciwko kolibakteriozie, z wykorzystaniem żywej szczepionki, w pierwszej dobie życia, metodą dużej kropli, w dawce rekomendowanej przez producenta. W praktyce broilery szczepiono bezpośrednio po ich przywiezieniu na fermę, w koszach transportowych. Po wykonanym szczepieniu oczekiwano około 10-15 minut po czym broilery rozsypywano z koszy na ściółkę. W trakcie całości trwania eksperymetu 1 na obu fermach szczepieniu poddawano jedynie ptaki odchowywane w kurnikach K1 (F1-K1 i F2-K1). Kurniki F1-K2, i F2-K2 stanowiły obiekty kontrolne - nie szczepione przeciwko kolibakteriozie. W trakcie całości doświadczenia ptaki w kurnikach F1-K1 i F2-K1 nie

otrzymywały antybiotyków co najmniej do 14 dnia odchowu. Ptaki w kurnikach F1-K2 i F2-K2 otrzymywały antybiotyki począwszy od dnia wstawienia do odchowu. W trakcie trwania doświadczenia wszystkie ptaki na obu fermach szczepione były przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli (IB) w pierwszej dobie życia, w zakładach wylęgowych, z wykorzystaniem szczepionek bazujących na szczepach z serotypów Massachusetts i 793B, metodą dużej kropli, w dawkach rekomendowanych przez producenta oraz przeciwko chorobie Gumboro (IBD) w okolicach 16 doby życia ptaków (termin ustalany na podstawie formuły Deventer), z wykorzystaniem szczepionki bazującej na szczepie Winterfield, podanej w wodzie do picia. W ramach doświadczenia w trakcie wszystkich 3 cykli produkcyjnych rejestrowano wyniki produkcyjne na F1. Na F1 i F2, w 3 i 6 tygodniu odchowu od 3 ptaków z K1 i K2, bezpośrednio po uboju diagnostycznym pobierano do badań mikrobiologicznych wymazy z narządów wewnętrznych, w kolejności jak następuje: otrzewna, wątroba, serce, płuca, jelito czcze, staw biodrowy, staw skokowy, tchawica i zatoka podoczodołowa. Z wymazówek wykonywano posiew na mikrobiologię ogólną, z półilościowym oznaczaniem liczebności koloni poszczególnych gatunków bakterii. W przypadku wyizolowania szczepów *E. coli*, każdy z nich indywidualnie przesiewano celem określenia stopnia wrażliwości na panel 20 antybiotyków. Na obu fermach we wszystkich cyklach produkcyjnych odnotowano łączną liczbę dni stosowania antybiotyków w poszczególnych kurnikach. Dodatkowo, w trakcie trzeciego cyklu produkcyjnego od ptaków z F1-K1 i F1-K2 w 6 tygodniu życia, a od ptaków z F2-K1 i F2-K2 w 3 i 6 tygodniu życia pobierano po 23 próbki krwi do badań serologicznych w kierunku IBV.

## **Eksperyment 2**

Podobnie jak w eksperymencie 1 szczepieniu przeciwko kolibakteriozie poddawano ptaki z F3-K1, przy czym szczepienie to wykonywano w 9 dobie życia. Od pierwszej doby życia ptaki w obu kurnikach otrzymywały antybiotyk (Linco-Spectin) w wodzie do picia przez cztery kolejne dni. Szczepienie przeciwko *E. coli* wykonano po zakończeniu okresu karencji dla antybiotyku (wynoszącej 5 dni na tkanki jadalne u kurcząt). Po szczepieniu ptaki w obu kurnikach nie otrzymywały antybiotyków przez kolejnych 14 dni. W pozostałym okresie odchowu schemat stosowania antybiotyków był wspólny dla F3-K1 i F3-K2. Pozostały program szczepienia był tożsamy z doświadczeniem 1. W ramach doświadczenia 2, w 6 tygodniu życia ptaków pobierano do badań mikrobiologicznych wymazy z narządów

wewnętrznych od 3 brojlerów z kurników F3-K1 i F3-K2, w sposób analogiczny do opisanego w eksperymencie 1.

## **C2. *ESCHERICHIA COLI* - DOŚWIADCZENIE 2**

Eksperyment 1 został wykonany na fermie 1, która funkcjonuje w oparciu o jeden kurnik (CH1) o obsadzie 35 000 broilerów kurzych. Na fermie tej prowadzona jest produkcja brojlerów bez użycia antybiotyków i co najmniej przez dwa lata przed rozpoczęciem doświadczenia nie stosowano w terapii ptaków żadnych antybiotyków. Podobnie w trakcie eksperymetu 1 ptaki nie otrzymywały żadnych antybiotyków.

Eksperyment 2 przeprowadzono na fermie 2 funkcjonującej w oparciu o dwa kurniki (CH2 and CH3) o obsadzie około 25 000 ptaków każdy.

Eksperyment 3 został wykonany na fermie indorów rzeźnych funkcjonującej w oparciu o dwa indyczniki (TH1 and TH2) o obsadzie około 3 500 ptaków każdy.

W każdym eksperymencie antybiotyki nie były stosowane przez co najmniej 10 dni po szczepieniu przeciwko *E. coli*. W eksperymencie 1 przez całe badanie nie stosowano żadnych środków przeciwdrobnoustrojowych. W eksperymencie 2 i 3 schemat leczenia przeciwbakteryjnego był taki sam dla obu kurników w konkretnym eksperymencie (CH2 i CH3 w eksperymencie 2; TH1 i TH2 w eksperymencie 3).

### **Eksperyment 1**

Eksperyment 1 prowadzono przez 6 kolejnych cykli produkcyjnych. Przez 3 pierwsze cykle produkcyjne (cykle produkcyjne 1-3) wszystkie ptaki na fermie szczepiono przeciwko kolibakteriozie. Szczepienie to wykonywano w pierwszej dobie życia na terenie fermy bezpośrednio po wstawieniu piskląt w skrzyniach transportowych do obiektu. Pisklęta szczepiono przeciwko *E. coli* w dawce rekomendowanej przez producenta, a następnie po szczepieniu odczekiwano 15 minut. Po tym czasie pisklęta rozsypywano ze skrzyni na ściółkę. W trakcie 3 ostatnich cykli produkcyjnych (cykle produkcyjne 4-6) nie kontynuowano szczepienia przeciwko *E. coli*. Poza opisywanym szczepieniem, pisklęta szczepione były również przeciwko IB z wykorzystaniem szczepionek bazujących na szczepach z serotypów Mass i 793B. W trakcie wszystkich 6 cykli produkcyjnych, w 3 i 6 tygodniu życia ptaków pobierano od nich wymazy z narządów wewnętrznych do badań mikrobiologicznych. Do badań zabezpieczano wymazy od 3 ptaków w ramach każdego

pobrania. Wymazy pobierano bezpośrednio po uboju diagnostycznym ptaków w sposób jałowy, z wykorzystaniem suchych wymazówek bez podłoża transportowych. Od każdego ptaka pobierano wymazy z otrzewnej, wątroby, płuc, serca, jelita czczego, stawu biodrowego i skokowego, tchawicy i zatoki podoczodołowej. Z wymazówek wykonywano posiew na mikrobiologię ogólną, z ilościowym oznaczaniem liczebności koloni poszczególnych gatunków bakterii. W przypadku wyizolowania szczepów *E. coli*, każdy z nich indywidualnie przesiewano celem określenia stopnia wrażliwości na panel 20 antybiotyków.

## **Eksperyment 2**

Ptaki w CH2 poddawano szczepieniu przeciwko *E. coli* w 10 dobie życia, w dawce rekomendowanej przez producenta. Ptaki z CH3 stanowiły kontrolę. Obok opisywanego szczepienia ptaki z obu kurników były szczepione przeciwko IB z wykorzystaniem szczepów z serotypu Mass oraz 793B. Dodatkowo ptaki z obu kurników szczepiono przeciwko TRT z wykorzystaniem szczepionki bazującej na szczepie aMPV/A BUT1 #8544A, w dawce rekomendowanej przez producenta. W przypadku CH2 ptaki szczepiono przeciwko *E. coli* i TRT poprzez wymieszanie obu szczepionek w jednym rozcieńczalniku. Eksperyment 2 prowadzono przez 2 kolejne cykle produkcyjne. W trakcie pierwszego cyklu w 3 i 6 tygodniu życia ptaków oraz w 6 tygodniu życia w trakcie drugiego cyklu produkcyjnego, do badania mikrobiologicznego zabezpieczano wymazy z narządów wewnętrznych od 3 ptaków z CH2 oraz CH3. Sposób pobierania wymazów oraz ich rodzaj był analogiczny do tego, opisanego w ramach eksperymentu 1. Dodatkowo w trakcie obu cykli produkcyjnych w 6 tygodniu życia od ptaków z CH2 i CH3, pobierano po 23 próbki krwi do badań serologicznych celem określenia poziomu swoistych przeciwciał przeciwko IBV i aMPV.

## **Eksperyment 3**

Eksperyment 3 wykonano podczas jednego cyklu produkcyjnego. Indyki w TH1 poddano szczepieniu przeciwko *E. coli* dwukrotnie - w 1 dobie i w 3 tygodniu życia. Zabieg ten wykonywany był analogicznie jak w przypadku eksperymentu 1 oraz 2. Indyki zaszczepiono dodatkowo przeciwko TRT trzykrotnie, z wykorzystaniem szczepionki bazującej na szczepie aMPV/A BUT1 #8544A, w dawce rekomendowanej przez producenta w 1 dobie, w 3 i w 9 tygodniu życia. W indyczniku TH1 szczepienie w 1 dobie i w 3 tygodniu życia przeciwko *E. coli* i TRT wykonywano poprzez wymieszanie obu szczepionek w jednym

rozcieńczalniku. W 3 i 6 tygodniu życia pobrano od ptaków wymazy z narządów wewnętrznych do badań mikrobiologicznych, analogicznie jak w eksperymentach 1 i 2. Dodatkowo w 10 i 14 tygodniu życia, od 6 ptaków z obu indyczników, przyżyciowo pobierano wymazy z jamy nosowej, tchawicy oraz kloaki do badań mikrobiologicznych. Ponadto w 6 i 14 tygodniu życia od ptaków z obu indyczników pobierano po 23 próbki krwi do badań serologicznych, celem określenia poziomu swoistych przeciwciał przeciwko aMPV.

#### **4.3.2.3. Szczegółowa metodyka badawcza**

##### **A. ZAKAŻNE ZAPALENIE OSKRZELI**

###### **Cytometria przepływowa**

Komórki mononuklearne z gruczołu Hardera oraz śledzion ptaków izolowano poprzez ich mechaniczne roztarcie w homogenizatorze manualnym oraz wirowanie (20 min, 20°C, 900 x g) na gradiencie gęstości Percoll (Sigma, Germany). Po wirowaniu komórki płukano trzy-krotnie w PBS (Sigma, Germany). Następnie dla indywidualnych próbek określano liczbę oraz żywotność komórek z wykorzystaniem automatycznego licznika komórek ViCell XR (Beckman Coulter, USA). Ostatecznie komórki wybarwiano przeciwciałami monoklonalnymi anti-CD4 oraz CD8 w stosunku do limfocytów T oraz anti – Bu1a dla limfocytów B w objętości zalecanej przez producenta (Serotec, UK) w przeliczeniu na liczbę komórek. Akwizycję danych oraz immunofenotypowanie komórek wykonano z wykorzystaniem cytometru przepływowego BD FACS CANTO II (BD, USA) oraz oprogramowania FloJo (TreeStar, USA). Dla próbek śledzion wyliczano średni procentowy udział poszczególnych subpopulacji limfocytów B i T pośród limfocytów izolowanych z narządu. Z kolei dla gruczołu Hardera wyliczano bezwzględny udział poszczególnych subpopulacji z wykorzystaniem analizy dwustanowiskowej.

###### **Badania serologiczne**

Badania serologiczne wykonano z wykorzystaniem komercyjnego testu ELISA IBV firmy IDEXX zgodnie z zaleceniami producenta z pewnymi zmianami. Celem wykrycia swoistych przeciwciał IgY surowice od ptaków badano przy ich rozcieńczeniu 1:100 (a nie 1:500) celem zwiększenia czułości wykrywania niskich poziomów przeciwciał, za wyjątkiem badań wykonanych w dniu rozpoczęcia doświadczenia, czyli dla piskląt 1 dniowych.

Popłuczyny z tchawicy badano nierozcieńczone. Oznaczenie poziomu swoistej IgA wykonano, jak opisano wcześniej (53) z niewielkimi modyfikacjami. Detekcję przeciwciał klasy IgA wykonano poprzez zastąpienie koniugatu anty-IgY koniugatem anty-IgA. Poszczególne etapy testów ELISA wykonywano z użyciem automatycznej stacji pipetowania Eppendorf epMotion 5075 LH (Eppendorf, Niemcy), automatycznej płuczki płytek ELISA ELx405 (BioTek, USA) i czytnika płytek BioTek ELx800. W oparciu o wartości gęstości optycznej próbek (OD) wyliczano wartość parametru S/P (stosunek OD próbki badanej do kontroli pozytywnej) i wykorzystano ten parametr do wyrażenia średnich wartości poziomów przeciwciał anty-IBV w surowicy. Do opisu średnich wartości poziomów przeciwciał anty-IBV IgA w popłuczynach tchawicy wykorzystano wartości OD próbek badanych.

### **Test hamowania hemaglutynacji (HI)**

Test HI przeprowadzono z antygenami M41, 793B, D3128, Italy-02, D8880, D274, D1466 pozyskanymi z GD Animal Health Service (Deventer, Holandia). Test HI przeprowadzono zgodnie ze standardową procedurą (OIE) przy użyciu 4 jednostek antygeny na studzienkę. Wynik analiz HI wyrażono jako średnie miano przeciwciał HI ( $\log_2$ )  $\pm$  SD.

## **B. PTASIE METAPNEUMOWIRUSY**

### **Namnażanie wirusa i zakażenie eksperymentalne**

Zjadliwy szczep aMPV/A IT/Ty/A/259-01/03 namnożono i zmiareczkowano zgodnie z procedurą opisaną wcześniej (9, 35, 43). Indyki zakażano okulonasznie dawką  $3,5 \log_{10}$  aMPV/A.

### **Ocena kliniczna**

Do oceny nasilenia objawów TRT zastosowano wcześniej opisany system oceny klinicznej (36), w którym liczbowa ocena opisuje: 0 = brak objawów klinicznych, 1 = wysięk z nosa, 2 = mętny wysięk z nosa, 3 = obrzęk zatok podoczodołowych i/lub spienione oczy.

### **Badanie histopatologiczne**

Skrawki badanych próbek o grubości 4  $\mu$ m wybarwiono hematoksyliną i eozyną. Ocena histopatologiczną wykonano z wykorzystaniem skanera Panoramic MIDI (3DHISTECH, Budapeszt, Węgry). Ocena histopatologiczną przeprowadzono w następujący



sposób: dla każdej próbki rejestrowano następujące zmiany: naciek limfocytów, naciek heterofili, utratę urzęsienia i złuszczenie nabłonka jako wykładniki zmian TRT. W każdej grupie i w każdym dniu po zakażeniu określano liczbę ptaków ze zmianami histopatologicznymi i uzyskaną sumę dzielono przez 10. Maksymalny wynik histopatologiczny dla danej grupy mógł wynieść 2 (5 ptaków x 4 zmiany/10).

### **Badania serologiczne**

Określenie poziomów przeciwciał anti-aMPV IgY wykonano przy użyciu komercyjnego zestawu APV ELISA (IDEXX, USA) zgodnie z zaleceniami producenta.

Poziom swoistych przeciwciał anti-aMPV IgA w popłuczynach z tchawicy (TW) oceniano z wykorzystaniem testu in-house ELISA, zgodnie z procedurą opisaną wcześniej (50). Do opłaszczania płytek maxisorp ELISA (NUNC, Dania) w tym teście wykorzystano szczepionkowy szczep aMPV. Płytki inkubowano (24 godz., 4°C), a następnie płukano 4 razy buforem do przemywania (Invitrogen, USA) i zablokowano (1 godz., 21°C) buforem blokującym (Invitrogen, USA). Nerozcieńczone próbki TW inkubowano (1 godz., 21°C, 200 obr./min) na płytkach. Do wykrywania przeciwciał IgA użyto poliklonalnych przeciwciał anti – Chicken IgA:HRP (1h, 21°C, 200 RPM; AbD Serotec, UK) oraz substratu dla HRP (15m, 21°C; Invitrogen, USA). Wyniki przedstawiono jako średnią wartość OD +/- SD.

### **Izolacja i liczenie komórek mononuklearnych**

Izolację i liczenie komórek jednojądrzastych ze śledzion wykonano tak samo jak w przypadku opisu metodyki dla zakaźnego zapalenia oskrzeli.

### **Określanie poziomu ekspresji genu IFN- $\gamma$**

Izolację RNA ze splenocytów przeprowadzono przy użyciu zestawu NucleoSpin RNA (Macherey-Nagel, Niemcy) zgodnie z zaleceniami producenta. Do izolacji RNA użyto  $5 \times 10^6$  komórek jednojądrzastych. Stężenie i jakość wyizolowanego RNA oceniano za pomocą NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, USA) i Bioanalyzer 2100 (Agilent, USA).

Odwrotną transkrypcję przeprowadzono za pomocą zestawu High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, USA) zgodnie z protokołem producenta. Do syntezy cDNA użyto 0,5  $\mu$ g standaryzowanego RNA na próbkę. W celu określenia ekspresji genu IFN $\gamma$  zastosowano technikę PCR w czasie rzeczywistym. Mieszanina reakcyjna do

qPCR składa się z: 10  $\mu$ L Power SYBR® Green PCR Master Mix (Life Technologies, USA), 1,8  $\mu$ L każdego startera 10  $\mu$ M, 2  $\mu$ L cDNA i 4,4  $\mu$ L wody wolnej od rybonukleaz. Sekwencję starterów zestawiono w Tabeli 1. qPCR przeprowadzono w następujących warunkach: aktywacja polimerazy (95°C przez 10 minut), 40 dwuetapowych cykli: denaturacja (95°C przez 30 sekund), przyłączanie starterów i elongacja (60°C przez 60 sekund). Względą ekspresję genu IFN $\gamma$  obliczono stosując metodę  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  znormalizowaną do korekcji wydajności, poziomów ekspresji genu referencyjnego kodującego dehydrogenazę 3-fosforanu aldehydu glicerynowego (GAPDH) i odpowiednie grupy kontrolne. Analizę przeprowadzono za pomocą oprogramowania do analizy danych GenEx 6.1.0.757 (MultiD, Szwecja).

Starter	Sekwencja 5' -> 3'	Wielkość produktu (bp)	Accession no
IFN $\gamma$ F	CTGACAAGTCAAAGCCGCAC	137	NM_001303179.1
IFN $\gamma$ R	AGTCATTCATCTGAAGCTTGGC		
GAPDH F	CCCTGAGCTCAATGGGAAGC	125	XM_003202048.3
GAPDH R	TCAGCAGCAGCCTTCACTAC		

Table 1. Startery użyte do określenia poziomu ekspresji genu IFN- $\gamma$

### Identyfikacja i określenie poziomu replikacji aMPV/A

Izolację RNA z małżowin nosowych przeprowadzono przy użyciu zestawu NucleoSpin RNA (Macherey-Nagel, Düren, Niemcy) zgodnie z zaleceniami producenta. Stężenia RNA mierzono spektrofotometrem NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). Odwrotną transkrypcję przeprowadzono za pomocą zestawu High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Life Technologies, Waltham, MA, USA) zgodnie z protokołem producenta. Identyfikację i ilościowe oznaczenie aMPV w małżowinach nosowych wykonano z wykorzystaniem metody TaqMan qPCR z użyciem sondy i starterów swoistych dla genu białka przyłączającego (G) zgodnie z metodyką opisaną wcześniej (32). Mieszanina reakcyjna składała się z: 10  $\mu$ l TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (2X), No AmpErase UNG (Life Technologies, Waltham, MA, USA), 1,8  $\mu$ l każdego startera 10  $\mu$ M (aMPVGAF1 5'-TGTTAGAGGAGTG CAGAAACT-3' i aMPVGAR1 5'-CTGTCCTGGGTGGTTGA-3'), 0,8  $\mu$ l sondy 2,5  $\mu$ M (FAM 5'-

CAATGGAGGAGATAGAGATTGGTG-3'), 2  $\mu$ l cDNA i 3,6  $\mu$ l wody wolnej od rybonukleaz. Metodę TaqMan qPCR przeprowadzono w następujących warunkach: aktywacja polimerazy w 95°C przez 10 min, a następnie 40 dwuetapowych cykli denaturacji w 95°C przez 30 s oraz przyłączanie starterów i elongacja w 60°C przez 60 s.

Krzywe standardowe wygenerowano przy użyciu amplikonu szczepu IT/Ty/A/259-01/03 aMPV/A o wielkości 953 bp, który zawierał sekwencję nukleotydową genu aMPV G, komplementarną ze starterami i sondą TaqMan. Reakcję przeprowadzono w termocyklerze Mastercycler (Eppendorf, Hamburg, Niemcy) z wykorzystaniem zestawu HotStar TaqPlus Master Mix Kit (Qiagen, Hilden, Niemcy). Mieszanina reakcyjna miała następujący skład: 10  $\mu$ l HotStar TaqPlus DNA Polymerase (Qiagen), 0,1  $\mu$ l każdego 100  $\mu$ M startera (aMPVaSH1 5'-GCTTTGATCTTCCTTGTTC-3 i aMPVG6 5'-CTGACAAATTGGTCCTGATT-3'), 7,8  $\mu$ l woda wolna od RNaz i 2  $\mu$ l cDNA. Reakcję prowadzono w następujących warunkach: początkowy etap denaturacji w 95°C przez 5 min, po czym 40 cykli denaturacji w 94°C przez 1 min, przyłączanie i elongacja w 72°C przez 1 min oraz końcowy etap wydłużania w 72°C przez 10 min. Następnie produkty PCR oczyszczono z pozostałości mieszaniny reakcyjnej za pomocą zestawu Clean-Up Concentrator Kit (A&A Biotechnology, Gdynia, Polska) i mierzono stężenie amplikonu za pomocą spektrofotometru NanoDrop 2000. Liczbę kopii genu obliczono na podstawie stężenia i wielkości amplikonu za pomocą kalkulatora liczby kopii (Genomics and Sequencing Center, University of Rhode Island, Kingston, RI, USA). Jako matrycę cDNA zastosowano standardowe, 10-krotne seryjne rozcieńczenia amplikonów (począwszy od rozcieńczenia do 10<sup>8</sup> i kończąc na rozcieńczeniu 10<sup>3</sup>).

### **Cytometria przepływowa**

Limfocyty z poszczególnych próbek śledziona w liczbie  $2 \times 10^6$  przenoszono (w trzech powtórzeniach) na 24-dołkowe płytki do hodowli komórkowych (Corning, USA) zawierające 2 ml medium hodowlanego (RPMI-1640, 20 mM HEPES, 10% FBS, Antibiotic Antimycotic Solution; Sigma Aldrich, Niemcy), 4  $\mu$ l koktajlu aktywującego leukocyty BD GolgiPlug<sup>TM</sup> (BD Pharmingen, USA) i 0,3  $\mu$ g/ml mysich przeciwciał monoklonalnego Anti-Chicken CD28 (MCA5760, klon AV7, Bio-Rad, UK) jako czynnik kostymulujący. Po inkubacji (40°C, 5% CO<sub>2</sub>, 6 h) do dołków płytki dodawano 20  $\mu$ l 20 mM roztworu EDTA (Sigma-Aldrich, Niemcy) w PBS. Komórki płukano dwukrotnie w PBS z 1% FBS (Sigma-Aldrich, Niemcy). Do barwienia komórek zastosowano mysie przeciwciała Anti-chicken CD4-

FITC (MCA2164F, Biorad, Wielka Brytania) i Anti-chicken CD8 Alpha-FITC (MCA2166F, Biorad, Wielka Brytania). Po 30 minutach inkubacji komórki płukano w PBS i utrwalano odczynnikiem Leucoperm A (Biorad, UK). Następnie komórki zawieszano w 100  $\mu$ l pożywki do permeabilizacji (Reagent B, Leucoperm, Biorad, Wielka Brytania) i dodawano 5  $\mu$ l króliczego przeciwciała Anti-chicken IFN $\gamma$  (AHP945Z, Biorad, Wielka Brytania). Po kolejnej inkubacji komórki ponownie przemywano w PBS i dodawano drugorzędowe przeciwciała owcze Anti-Rabbit IgG:PE (STAR35A, Bio-Rad, UK). Po końcowej inkubacji komórki przepłukano. Próbkę ponownie zawieszano w PBS i analizowano z wykorzystaniem cytometru przepływowego FACSCanto II (BD, USA). Dla każdej analizowanej próbki analizowano również kontrolę fluorescencji (FMO) (próbki bez pierwszorzędowych przeciwciał Anti-chicken IFN $\gamma$ ).

### **Technika ELISPOT**

Po aktywacji membran (70% etanol, 50  $\mu$ l/studzienkę, 45 s), płytki MultiScreen ELISPOT (Millipore, USA) opłaszczono króliczymi przeciwciałami Anti-chicken IFN $\gamma$  (Biorad, Wielka Brytania) (4°C, 24 godz.). 1,5 x 10<sup>4</sup> limfocytów ze śledzion sortowano (w trzech powtórzeniach) bezpośrednio do dołków wcześniej przygotowanych płytek ELISPOT z wykorzystaniem sortera komórek BD FACSAria II (BD, USA) i przed inkubacją (24 h, 39,5°C, 5% CO<sub>2</sub>), do każdego dołka dodawano 100  $\mu$ l Dulbecos modified Iscove medium (Sigma Aldrich, Niemcy) z zawiesiną szczepionki aMPV/A. Po inkubacji, płytki płukano 4 razy PBS-Tween 20 i raz PBS i następnie inkubowano przez noc (4°C) z biotynylowanymi, poliklonalnymi przeciwciałami Anti-chicken IFN $\gamma$  (Kingfisher Biotech, USA). Po inkubacji płytki płukano 3 razy PBS i po poluzowaniu dna płytki membrany płukano PBS również na spodniej ich stronie. Następnie do studzienek płytki dodano streptawidynę sprzężoną z fosfatazą alkaliczną (Vector, USA). Po 1 godzinie inkubacji w temperaturze pokojowej i po dokładnym wypłukaniu przeprowadzano reakcję enzymatyczną z substratem dla fosfatazy alkalicznej (BCIP/NBT; Vector Laboratories, USA) przez 15 – 25 minut. Reakcję enzymatyczną zatrzymywano poprzez zanurzenie płytek w wodzie destylowanej. Zliczanie jednostek tworzących spoty IFN $\gamma$  (SFU) przeprowadzono za pomocą skanera płytek Eli.Scan i oprogramowania Eli.Analyse (A-EL-VIS, Niemcy). Dane wyrażono jako x-krotną zmianę średniej SFU IFN $\gamma$  w grupach szczepionych w stosunku do grup nieszczepionych.

## **C. *ESCHERICHIA COLI***

### **Badania mikrobiologiczne**

Wymazy preinkubowano w bulionie TSB w 40,5° C. Po 24 h wykonywano posiew na następujące podłoża mikrobiologiczne: Columbia agar z dodatkiem 5% odwłóknionej krwi baraniej i Agar MacConkey . Płytki inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 40,5°. Po tym czasie dokonywano analizy mikrobiologicznej: ocenę morfologii kolonii bakteryjnych i morfologii samych mikroorganizmów barwionych metodą Grama. Po uzyskaniu kultur czystych wykonywano testy biochemiczne (wytwarzanie katalazy, oksydazy, rozkład glukozy, laktozy, wytwarzanie indolu, ureazy, siarkowodoru, wykorzystanie cytrynianu, PYR, ONPG ). Wyizolowane i namnożone szczepy *E. coli* poddawano ocenie co do wrażliwości na panel 20 chemioterapeutyków. Antybiogram wykonywano metodą dyfuzyjno-krażkową, zgodnie z zaleceniami CLSI (51). Do oznaczenia antybiotykooporności szczepów *E. coli* użyto następujących substancji czynnych: Amoksycylina, Amoksycylina z kwasem klawulonowym, Ceftiofur, Klindamycyna, Kolistyna, Doksycyklina, Enrofloksacyna, Erytromycyna, Florfenikol, Gentamycyna, Flumechina, Linkomycyna/Spektynomycyna, Marbofloksacyna, Neomycyna, Norfloksacyna, Oksytetracyklina, Penicylina, Sulfametoksazol z trimetoprimem, Tetracyklina i Tylozyna. Do badań wykorzystano podłoża, testy i krążki do antybiogramów firmy Oxoid (Argenta, Wielka Brytania). Wrażliwość izolatów *E. coli* oceniano według 4 stopniowej skali (0-3, gdzie 0 oznacza brak wrażliwości na dany chemioterapeutyk). Jako szczepy wielowrażliwe określano te, które wykazywały wrażliwość na 35% (n=7) badanych substancji czynnych lub więcej, w zakresie wrażliwości 1 lub więcej.

Wyniki analiz mikrobiologicznych przedstawiono jako średnią liczbę izolatów *E. coli* z narządów wewnętrznych lub wymazów ptaków szczepionych lub kontrolnych w różnych okresach doświadczenia. Wyniki badania lekowrażliwości drobnoustrojów przedstawiono jako średni odsetek szczepów wielowrażliwych wśród wszystkich izolowanych szczepów *E. coli*, w różnych okresach eksperymentu. Dodatkowo, wyniki te przedstawiono jako średnią liczbę antybiotyków, na które wyizolowane *E. coli* były wrażliwe.

## Badania serologiczne

Badania poziomów przeciwciał IgY anty-IBV oraz anty-aMPV, z wykorzystaniem komercyjnych zestawów ELISA (IDEXX, USA) wykonano zgodnie z metodyką opisaną dla zakaźnego zapalenia oskrzeli oraz ptasich metapneumowirusów.

## Wyniki produkcyjne

Zarejestrowane wyniki produkcyjne na F1 (doświadczenie 1 / eksperyment 1) w ramach trzech kolejnych cykli produkcyjnych posłużyły do wyliczenia ~~zarobku~~ zysku w przeliczeniu na sztukę broilera kurzego. Wyliczenia dokonano z wykorzystaniem następującego wzoru: [(cena żywca \* waga końcowa) - %śmiertelności i konfiskat rzeźnych] – [(koszt obsługi weterynaryjnej/liczba ptaków) + (waga końcowa \* FCR \* koszt kilograma paszy)]. Wyniki zestawiono jako różnicę w zarobku/sztuka pomiędzy F1-K1, a F1-K2 w każdym z trzech cykli produkcyjnych niezależnie.

### 4.3.2.4. Analiza statystyczna

Wyniki poszczególnych badań poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem oprogramować GraphPad Prism 6.05 (San Diego, USA) i Statistica 13.1 (StatSoft Poland). W analizach statystycznych wykorzystywano test *U* Mann Whitney oraz test T-student. Różnice uznawano za statystycznie istotne przy  $p < 0,05$ .

### 4.3.3. Podsumowanie uzyskanych wyników i dyskusja

Przeprowadzone badania własne miały na celu kompleksowe przeanalizowanie zjawisk immunologicznych ogólnoustrojowych, jak również na terenie górnych dróg oddechowych u kurcząt i indyków rzeźnych, jakie zachodzą po szczepieniu, lub w przebiegu zakażenia wiodącymi wirusami (IBV, aMPV), będącymi jednymi z najczęstszych przyczyn infekcji GDO u drobiu w warunkach terenowych. W kontekście zakaźnego zapalenia oskrzeli skupiliśmy się na zagadnieniach tłumaczących skuteczność schematu protektotypowego uodporniania kurcząt przeciwko IB. Rozpatrując problematykę zakażeń ptasimi metapneumowirusami, główny nacisk położyliśmy na wpływ przeciwciał matczynych na skuteczność szczepień, w kontekście rozwoju odporności przeciwwzakaźnej. Biorąc dodatkowo pod uwagę bardzo wysoką zależność pomiędzy wymienionymi wirusami, a bakterią *Echerichia coli*, zarówno w kontekście patogenezы (wtórne infekcje i powikłania) oraz

terminów i dróg administracji szczepionek (metoda aerozolowego szczepienia) przeciwko tym chorobom, badania własne miały na celu określenie prawdopodobieństwa wystąpienia pomiędzy tymi szczepionkami (aMPV i IBV a *E. coli*) niekorzystnych interferencji, prowadzących do spadku efektywności szczepienia. Dodatkowo, badania własne miały na celu określenie zasadności szczepienia kurcząt i indyków rzeźnych przeciwko kolibakteriozie.

#### **4.3.3.1. Immunopatogeneza zakaźnego zapalenia oskrzeli i ocena immunologicznych podstaw skuteczności protektotypowego uodporniania kurcząt przeciwko IB**

Biorąc pod uwagę całokształt mechanizmów odpornościowych w przebiegu IB warto podkreślić, iż wykazano, że kaskada zjawisk immunologicznych zachodząca po zakażeniu i szczepieniu ptaków wydaje się być bardzo zbieżna, co obrazuje w ten sposób poniekąd idealny przykład „kontrolowanego zakażenia pierwotnego”, jakim jest szczepienie z wykorzystaniem żywych, atenuowanych szczepionek przeciwko infekcji zjadliwymi IBV. Jak się okazuje, najważniejsze parametry, jakie powinny być rozpatrywane w kontekście immunologicznych indykatorów protekcji w stosunku do IBV to: stopień aktywacji, swoistość reagowania oraz nabywanie pamięci immunologicznej limfocytów T cytotoksycznych w śledzionie (12, 41) oraz w górnych drogach oddechowych (28, 39), poziom swoistych IgY w surowicy (7, 12, 17) oraz poziom swoistych przeciwciał (głównie IgA oraz IgY) w popłuczynach z górnych dróg oddechowych (12, 23, 38).

**Śmiałek M., Welenc J., Koncicki A.:** Ogólnoustrojowe oraz lokalne mechanizmy immunologiczne stymulowane w przebiegu zakaźnego zapalenia oskrzeli kur. *Med. Weter.*, 2016,72, 358-363. doi: <http://dx.doi.org/10.21521/mw.5521>.

W związku ze zmiennością wirusów IB, trudno jest opracować jeden skuteczny program profilaktyki swoistej przeciwko tej chorobie (56). Jednym z częstszych schematów uodporniania stad broilerów kurzych jest równoczesne lub naprzemienne wykorzystywanie szczepionek Mass i 793B. Wielokrotnie wykazywano, iż taki schemat postępowania jest w stanie wzbudzić protekcję krzyżową w stosunku do heterologicznych szczepów IBV. Cook i wsp. (14) wykazali, iż szczepienie Mass i 793B nie wpływa negatywnie na rozwój odporności na zakażenie szczepami homologicznymi, a dodatkowo skutkuje rozwojem lepszej protekcji

na zakażenie szczepami heterologicznymi w porównaniu ze szczepieniami monowalentnymi, np. w stosunku do szczepu A1121, jak i wariantów holenderskich, serotypu Arkansas oraz wielu innych heterologicznych serotypów IBV. Wykazano również skuteczność tego schematu szczepienia przeciwko zakażeniu szczepami QX (52). Nie znamy obecnie jednoznacznej odpowiedzi dlaczego ten schemat szczepienia przeciwko IB jest tak skuteczny.

Rozpatrując wyniki badań własnych należy odnotować następujące zależności. Ptaki grupy Ma5 charakteryzowały się najszybszą stymulacją parametrów odporności komórkowej na terenie HG po przeprowadzonym szczepieniu. Pomimo opóźnionego charakteru stymulacji tych parametrów, w grupie V2 odnotowano najsilniejszą infiltrację struktur GDO komórkami immunokompetentnymi w 14 dobie po szczepieniu. Z kolei ptaki grupy 4/91 charakteryzowały się najsłabszą stymulacją tych parametrów. Biorąc pod uwagę zależności czasowe ekspresji molekuly CD8 na powierzchni komórek T możemy wyróżnić wczesną – związaną z aktywacją komórek NK oraz późną reakcję komórkową – związaną z cytotoksycznymi limfocytami. Wczesna lokalna odporność komórkowa najsilniej stymulowana była w grupie Ma5, a późna w grupie V2.

Wyniki badań nad udziałem komórek B wyglądały analogicznie do komórek T, we wszystkich 3 grupach. Rozpatrując zależności czasowe odnotowane pomiędzy wzrostem liczby komórek T CD4<sup>+</sup> oraz limfocytów B można sugerować, iż główną subpopulacją limfocytów pomocniczych, które uległy stymulacji były komórki Th2 zaangażowane w pobudzenie odporności humoralnej. Nie możemy jednak wykluczyć równoczesnego udziału komórek Th1 uczestniczących w odporności komórkowej.

Podobne zależności procentowego udziału komórek T CD4<sup>+</sup> oraz B Bu1a<sup>+</sup> odnotowaliśmy w śledzionach ptaków szczepionych, przy czym parametry te najsilniej stymulowane były w grupie 4/91 czego konsekwencją najprawdopodobniej były uzyskane wyniki badań HI. Rozpatrując wyniki udziału komórek T CD8<sup>+</sup> w śledzionach okazuje się, że parametr ten wzrósł we wszystkich grupach szczepionych, jednak najsilniej w grupie V2.

W surowicach ptaków wszystkich grup szczepionych stwierdzono wzrost poziomu przeciwciał IgY, przy czym najintensywniejszy wzrost odnotowano w grupie V2. Podobnie jak w surowicy, poziom tej immunoglobuliny wzrósł po szczepieniu w popłuczynach z tchawicy, a najwyższy jego wzrost odnotowano w grupie Ma5. Odnotowaliśmy również wzrost poziomu swoistej IgA w popłuczynach z tchawicy, przy czym w 21 dobie po szczepieniu najwyższy jej poziom odnotowano w grupie V2. W grupie 4/91 poziom jej był zbliżony do



tego obserwowanego w grupie V2. W grupie Ma5 poziom IgA spadł między 14 a 21 dobą po szczepieniu w porównaniu z grupami 4/91 oraz V2.

Z ogólnego podsumowania badań HI pod względem liczby reakcji krzyżowych z różnymi antygenami diagnostycznymi w grupie 4/91 odnotowano reakcje krzyżowe ze wszystkimi badanymi szczepami, a w grupach Ma5 oraz V2 było to odpowiednio 6 i 5 na 7 badanych szczepów. W obrębie poszczególnych szczepów diagnostycznych liczba próbek reagujących pozytywnie była różna, stąd sumarycznie ilość próbek reagujących dodatnio spośród wszystkich badanych wyniosła blisko 80% w grupie 4/91, 60% w grupie V2 oraz niespełna 40% w grupie Ma5.

Wykazano wcześniej, że protokół szczepienia Mass i 793B przeciwko IBV nie wpływa na rozwój ochrony przed homologicznymi szczepami IBV, jednocześnie indukując wysoką ochronę przed heterologicznymi serotypami IBV (14, 52). Pomimo, że w badaniach własnych nie udało nam się jednoznacznie wykazać, dlaczego ten protokół szczepienia protektotypowego jest tak skuteczny, to jednak wydaje się, że łączy on w sobie korzyści szczepienia monowalentnego z użyciem szczepów z serotypu Mass lub 793B. Sumaryczna analiza pozwoliła na konkluzję, iż poziom stymulacji i wykształcenia parametrów rozpatrywanych jako główne immunologiczne indykatory protekcji w stosunku do IBV, był najwyższy w grupie V2. Oba zastosowane szczepy są immunogenne i podczas, gdy Mass wydaje się skuteczniej stymulować odporność typu komórkowego (zwłaszcza w strukturach GDO), tak szczep 793B generuje szersze spektrum reaktywności krzyżowej układu odpornościowego i wyższą produkcję IgA w GDO. Ostateczną odpowiedzią może być zatem fakt, że skuteczność tego protokołu szczepienia wynika z addytywnego wpływu szczepów Mass i 793B na różne elementy układu immunologicznego gospodarza po szczepieniu.

**Śmiałek M.,** Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Immunological aspects of the efficiency of protectotype vaccination strategy against chicken infectious bronchitis. *BMC Vet. Res.*, 2017, 13, 44. doi: 10.1186/s12917-017-0963-1.

#### **4.3.3.2. Wpływ przeciwciał matczynych na skuteczność szczepień indyków przeciwko TRT.**

TRT, czyli zakaźne zapalenie nosa i tchawicy indyków jest wysoce zakaźną chorobą górnych dróg oddechowych, wywoływaną przez ptasie metapneumowirusy. Pomimo

powszechności szczepień często obserwowane są przypadki przełamania odporności poszczepiennej przez terenowe szczepy aMPV (49).

Wykazano, że po szczepieniu jak i zakażeniu wirusami TRT u indyków dochodzi do stymulacji komórkowych, jak i humoralnych mechanizmów odpornościowych (3, 26, 27, 34, 46). Poziom transferu przeciwciał matczynych z nioski do potomstwa bywa silnie zróżnicowany i zmienny w zależności od swoistości tych przeciwciał, czy wieku niosek (20, 31). Wykazano jednak, że w stosunku do aMPV średni poziom tego transferu wynosi 33,2 %, co świadczy, iż obecność przeciwciał u nioski skutkować będzie ich obecnością u potomstwa (31). W poprzednio przeprowadzonych badaniach wykazaliśmy, iż swoiste MDA hamują replikację szczepionkowego aMPV w górnych drogach oddechowych, ograniczają jego immunogenność co skutkuje zahamowaniem stymulacji układu immunologicznego (49, 50), a w konsekwencji, niewykluczone, prowadzić może do zaburzeń w wytwarzaniu protekcji poszczepiennej.

Podsumowując układ eksperymentalny doświadczenia pierwszego można powiedzieć, iż badaliśmy w jaki sposób szczepienie ptaków przeciwko TRT wpływa na ekspresję genu, produkcję oraz nabywanie swoistości wydzielania IFN $\gamma$  przez limfocyty T. Celem nadrzędnym przedsięwziętych badań było ustalenie wpływu przeciwciał matczynych na kształtowanie się tych parametrów.

W dniu wykonywanego szczepienia u ptaków grup MDA+ obecne były wysokie poziomy swoistych przeciwciał, w porównaniu z ptakami MDA-, które tych przeciwciał nie posiadały. Analiza molekularna limfocytów izolowanych ze śledzion ptaków wykazała iż w obu grupach ptaków szczepionych w 14 dobie życia stwierdzono wzrost ekspresji genu IFN- $\gamma$  w 3 dobie po szczepieniu (dps). Nie odnotowano wzrostu ekspresji tego genu w grupach szczepionych w zerowej dobie życia na żadnym etapie prowadzonych analiz.

W śledzionach szczepionych ptaków stwierdzono istotny wzrost obu badanych subpopulacji limfocytów T produkujących IFN $\gamma$ . Wystąpiły jednak różnice, które dotyczyły czasu niezbędnego do tej stymulacji. W porównaniu z grupą MDA- szczepioną w 0-wej dobie życia, w której odnotowano wzrost obu subpopulacji limfocytów T już w 3 dobie po szczepieniu, w grupie MDA+ szczepionej w tym samym wieku wzrost badanych subpopulacji był późniejszy (od 7 dps) i dotyczył przede wszystkim limfocytów T CD4<sup>+</sup>. W obu grupach ptaków szczepionych w 14 dobie wzrost ten (dotyczący obu subpopulacji) miał miejsce już w 3 dobie po szczepieniu i trwał przez cały okres doświadczenia.

Podobne zależności odnotowaliśmy w naszych poprzednich badaniach, nad procesami nabywania swoistości reagowania limfocytów B. W badaniach tych, w szczepionych grupach ptaków MDA+, pomimo bardzo intensywnego wzrostu udziału limfocytów B IgA<sup>+</sup> w górnych drogach oddechowych, nie odnotowaliśmy wzrostu swoistej IgA. W tych samych badaniach u ptaków MDA- stwierdzono wolniejszą infiltrację tych komórek w górnych drogach oddechowych, jednak produkowały one duże ilości swoistej IgA.

**Śmiałek M.**, Tykałowski B., Dziewulska D., Kowalczyk J., Koncicki A.: IFN gamma production profile in turkeys of different immunological status after TRT vaccination. *J. Vet. Res.*, 2020, 64, 239-245, doi: 10.2478/jvetres-2020-0040.

Reasumując całokształt przedstawionych wyników jednoznacznie należy stwierdzić, iż istnieją różnice w mechanizmach stymulacji układu immunologicznego indyków po szczepieniu przeciwko TRT, które zależne są od poziomu przeciwciał matczynych w dniu szczepienia ptaków. Niewykluczone, że różnice te wpływać mogą na częstotliwość obserwowanych przypadków przełamania odporności poszczepiennej przez aMPV w warunkach terenowych. Hipoteza ta stanowiła podstawę do przeprowadzenia doświadczenia drugiego, w trakcie którego celem nadrzędnym było ustalenie, czy odnotowane różnice w mechanizmach stymulacji układu immunologicznego pomiędzy ptakami MDA+, a MDA- mają bezpośredni wpływ na przebieg zakażenia eksperymentalnego.

Porównując wyniki grup szczepionych i nieszczepionych indyków należy stwierdzić, iż w grupach nieszczepionych z sukcesem udało nam się odtworzyć kliniczny przebieg zakażenia aMPV/A. Odnotowaliśmy charakterystyczne objawy, zmiany histopatologiczne oraz statystycznie istotnie wyższą replikację aMPV u ptaków zakażonych i kontaktowych, w porównaniu z analogicznymi grupami indyków szczepionych i zakażonych, w ramach poszczególnych eksperymentów 1-4. Dodatkowo, w naszym doświadczeniu wykazaliśmy, że indyki nieszczepione, niezależnie od statusu MDA, były bardziej podatne na kliniczną formę TRT przy okazji zakażenia w 4 tygodniu życia, aniżeli w 2 tygodniu życia (stwierdzono na podstawie oceny klinicznej i histopatologicznej). Dodatkowo poziom replikacji patogenego aMPV u ptaków starszych, jak i poziom siewstwa aMPV u tych ptaków był wyższy w porównaniu z ptakami zakażonymi w drugim tygodniu życia. Niewykluczone, że różnice te

wynikać mogą z faktu zwiększającej się puli komórek wrażliwych na zakażenie u starszych ptaków, co zwiększa możliwości replikacyjne aMPV.

We wcześniejszych badaniach wykazano, że pomimo braku bezpośredniej korelacji pomiędzy poziomem przeciwciał matczynych a stopniem odporności na zakażenie aMPV u indyków, to jednak przeciwciała te łagodziły kliniczny przebieg choroby (10, 11, 26, 27, 45, 46). Pokrywa się to z wynikami naszych badań, w których wykazaliśmy, że u nieszczepionych indyków grup MDA- przebieg kliniczny TRT po zakażeniu eksperymentalnym był intensywniejszy i trwał dłużej, w porównaniu z ptakami MDA+. Co ciekawe, we wszystkich eksperymentach, u nieszczepionych ptaków po zakażeniu odnotowano porównywalny wzrost poziomu IgA w popłuczynach z tchawicy, który z nielicznymi wyjątkami, był krótkotrwały i miał miejsce w 5 dobie po zakażeniu. U ptaków M+28I podwyższony ich poziom utrzymywał się również w 7 dni po zakażeniu. Nie zmienia to jednak faktu, iż poziom replikacji aMPV w grupach MDA- był intensywniejszy. Jak się jednak okazuje, w nieszczepionych grupach ptaków MDA+, po zakażeniu odnotowaliśmy wyższy i dłużej utrzymujący się podwyższony poziom ekspresji genu  $INF-\gamma$  w splenocytach, w porównaniu z ptakami MDA-, co nie wykluczone może tłumaczyć dlaczego u tych ptaków przebieg kliniczny TRT był słabiej zaznaczony.  $INF\gamma$  jest cytokiną przeciwwirusową, której udział w zwalczaniu zakażenia aMPV został wcześniej potwierdzony (34). U zakażonych ptaków MDA- wzrost ekspresji genu  $INF-\gamma$  stwierdzany był jedynie w 3 dpi, podczas gdy u ptaków MDA+ podwyższony poziom ekspresji tego genu stwierdzany był także w 5 dpi, a nawet w 10 dpi u ptaków zakażonych w 4 tygodniu życia (M+28I). Nie wykluczone zatem, że pozostałość MDA w dniu zakażenia, z jednej strony wpływa bezpośrednio na możliwość neutralizacji wirusa, a z drugiej strony zaangażowane są one w mechanizmy stymulacji odporności typu komórkowego, zmierzającej do eliminacji wirusa. Należy jednak stwierdzić, że obecność przeciwciał matczynych nie była w stanie zabezpieczyć nieszczepionych ptaków przed TRT.

We wcześniejszych pracach wykazano różnice w stymulacji odporności komórkowej i humoralnej po szczepieniu przeciwko TRT ptaków MDA+ i MDA- (49, 50). Pomimo tych różnic, w badaniach własnych wykazaliśmy, że wszystkie grupy ptaków szczepionych, niezależnie od dnia szczepienia jak i statusu MDA, były skutecznie uodpornione przeciwko homologicznemu zakażeniu eksperymentalnemu. U ptaków szczepionych, po zakażeniu nie stwierdzono nasilenia wyniku oceny klinicznej i histopatologicznej, jak również replikacji oraz siewstwa aMPV, z nielicznymi wyjątkami. Należy jednak stwierdzić, iż różnice te nie

były statystycznie istotne i w ogólnym zarysie wyniki naszej pracy korespondują z wynikami poprzednich badań (10, 11), które wskazywały na brak różnic w poziomie protekcji na zakażenie pomiędzy szczepionymi ptakami MDA+ i MDA-.

Co jednak ciekawe, w naszym doświadczeniu wykazaliśmy różnice w mechanizmach stymulacji układu immunologicznego po szczepieniu i zakażeniu aMPV, analogiczne do różnic odnotowanych w poprzednich pracach. Różnice te dotyczyły między innymi poziomu produkcji przeciwciał klasy IgA pomiędzy ptakami MDA+ i MDA-. W poprzednich pracach wykazano brak korelacji pomiędzy poziomem odporności humoralnej i komórkowej, a stopniem protekcji na zakażenie aMPV (26, 46), co nie wykluczone tłumaczy odnotowane przez nas wyniki badań.

**Śmiałek M., Kowalczyk J., Gesek M., Kaczorek-Łukowska E., Dziewulska D., Tykałowski B., Koncicki A.:** The influence of maternally derived antibodies on protection against aMPV/A infection in TRT vaccinated turkeys. *Poult. Sci.*, 2021, 100: 101086, doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101086>.

#### **4.3.3.3. Ocena interakcji pomiędzy szczepieniem przeciwko IB lub TRT ze szczepieniem przeciwko kolibakteriozie w warunkach terenowych**

Z doświadczenia 1 i 2 wynika, iż szczepienie przeciwko *E. coli* w pierwszej dobie życia kurcząt nie wpływa negatywnie na efektywność szczepienia przeciwko IB, jako że nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w średnim mianie przeciwciał przeciwko IBV w 3 i/lub 6 tygodniu życia ptaków, na żadnej z ferm doświadczalnych, pomiędzy ptakami szczepionymi a nieszczepionymi przeciwko kolibakteriozie, w trakcie trzeciego cyklu produkcyjnego. Wyniki te korespondują z wynikami Galal i wsp. (22), którzy wywnioskowali, iż szczepienie przeciwko *E. coli* nie wpływa negatywnie na efektywność szczepienia przeciwko zakaźnemu zapaleniu torby Fabrycjusza, a co dodatkowo ciekawe, może nawet podnosić poziom przeciwciał poszczepiennych przeciwko wirusowi rzekomego drobiu, grypie ptaków oraz IB, jeżeli szczepienia te wykonywane były równocześnie ze szczepieniem przeciwko *E. coli*.

Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine on general properties of *E. coli* population, IBV vaccination efficiency, and production parameters—a field experiment. *Poult. Sci.*, 2020, 99, 5452-5460. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.039.

W kolejnych badaniach własnych potwierdziliśmy dodatkowo brak takich zależności w stosunku do szczepienia przeciwko TRT, zarówno u broilerów kurzych jak i u indyków rzeźnych. Szczepionki bazujące na podtypie A metapneumowirusów ptasich znane są z niskiej immunogenności w odniesieniu do stymulacji produkcji swoistych przeciwciał poszczepiennych wykrywanych testem ELISA, co tłumaczy wyniki naszych badań, w których odnotowano niskie miana przeciwciał poszczepiennych u badanych ptaków. W naszym doświadczeniu nie stwierdziliśmy różnic statystycznie istotnych w poziomie tych przeciwciał, zarówno u kurcząt oraz u indyków, pomiędzy grupami kontrolnymi a szczepionymi przeciwko *E. coli*. Co jest istotne, biorąc pod uwagę często nakładające się na siebie terminy szczepienia ptaków przeciwko TRT i *E. coli* w warunkach praktyki weterynaryjnej w terenie, warto podkreślić, że w badaniach własnych obie szczepionki przygotowywane były we wspólnym diluencie i podawano je ptakom równocześnie w formie spray'u wielkocząsteczkowego. Taki układ doświadczalny miał na celu, w jak największym stopniu odzwierciedlać praktyki stosowane w warunkach terenowych.

Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: The Influence of Vaccination of Broiler Chickens and Turkeys with Live *E. coli* Attenuated Vaccine on *E. coli* Population Properties and TRT Vaccination Efficacy. *Animals*, 2021, 11:2068; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11072068>.

#### **4.3.3.4. Ocena zasadności szczepienia kurcząt i indyków rzeźnych przeciwko kolibakteriozie.**

Antybiotykooporne szczepy *E. coli* stanowią realne zagrożenie dla zdrowia publicznego, jako że szczepy te mogą dostawać się do konsumentów drogą łańcucha żywnościowego. Dodatkowo szczepy te mogą również stanowić istotny wektor genów oporności na antybiotyki dla innych drobnoustrojów (1, 19).

Jednymi z podstawowych elementów jakie rozpatrywane są od dłuższego już czasu, w kontekście ograniczania dalszego rozpowszechniania multioporności pośród patogenów, są:

szybka diagnostyka, ukierunkowane leczenie, kwarantanna, jak również konieczność ograniczenia stosowania antybiotyków w szczególności w sektorze wielkotowarowej produkcji zwierzęcej (19). Ciekawych danych, w kontekście przywracania wrażliwości na chemioterapeutyki, dostarczyły również doświadczenia nad kokcydiozą drobiu. Okazuje się, że wprowadzenie populacji patogenu o szerokim spektrum wrażliwości na chemioterapeutyki do populacji szczepów opornych, może z czasem przyczynić się do wzrostu wrażliwości tych drugich, na zasadzie przekazywani genów wrażliwości na dane chemioterapeutyki (4). W kontekście kokcydiozy, zjawiska te udaje się uzyskać na szeroką skalę w przemyśle drobiarskim, poprzez szczepienie drobiu szczepionkami żywymi, które w swoim składzie zawierają gatunki *Eimerii* o wysokiej wrażliwości na kokcydiostatyki (5, 6, 40).

Z wyników uzyskanych w eksperymencie 1 wynika, iż zastosowanie delecyjnej szczepionki żywej, przeciwko kolibakteriozie przyczyniło się do ograniczenia liczebności *E. coli* w populacji ptaków. Nie jest wykluczone zatem, iż szczepienie metodą aerozolową, poprzez zabezpieczenie w bramie zakażenia, przyczynia się do ograniczenia stopnia infekcji. Znajduje to dodatkowo potwierdzenie w fakcie, że u ptaków szczepionych liczba izolatów *E. coli* we wszystkich narządach, za wyjątkiem płuc i zatoki podoczodołowej, była niższa w porównaniu z ptakami nieszczepionymi. Dodatkowo, szczepienie przyczyniło się do sukcesywnego wzrostu podatności szczepów *E. coli* na chemioterapeutyki. Z nielicznymi wyjątkami, u ptaków nieszczepionych 100% wyizolowanych szczepów *E. coli* charakteryzowała się bardzo mocno zaznaczoną wieloopornością w stosunku do badanych chemioterapeutyków. W tym samym czasie średni procentowy udział szczepów wiołowrażliwych *E. coli* w całej populacji tych bakterii izolowanych od ptaków szczepionych w trakcie całego eksperymentu wyniósł na fermie 1 62,67% i 66,67, odpowiednio w 3 i 6 tygodniu, a na F2 odpowiednio 66,33% i 74%. Równocześnie warto zaznaczyć, iż wrażliwość szczepów *E. coli* na antybiotyki, od ptaków szczepionych, narastała z każdym kolejnym cyklem produkcyjnym. Ciekawym jest również fakt, że żaden izolat *E. coli* od ptaków szczepionych nie posiadał tego samego spektrum wrażliwości co zastosowany szczep szczepionkowy. Ciężko jest jednoznacznie wytłumaczyć przyczynę zaistniałych zależności, nie mniej jednak wydaje się, iż za odnotowane wyniki nie jest odpowiedzialny fakt selekcji szczepów opornych poprzez zastosowanie w pierwszych dobach życia antybiotyków, u ptaków nieszczepionych przeciwko *E. coli*. Dowodzą tego wyniki z eksperymentu 2, w którym pomimo zastosowanej antybiotykoterapii od pierwszej do czwartej doby życia

ptaków, u kurcząt szczepionych odnotowaliśmy, iż procentowy udział szczepów wielowrażliwych wyniósł 75%, w porównaniu z 0% u ptaków nieszczepionych. Podobnie jak w eksperymencie 1, w eksperymencie 2 żaden izolat *E. coli* nie posiadał tego samego spektrum wrażliwości co szczep szczepionkowy. Zjawiska dotyczące możliwości przekazywania genów wrażliwości i oporności na antybiotyki, pomiędzy szczepem szczepionkowym a terenowymi *E. coli* wymagają dalszych badań.

Po zestawieniu rachunku kosztów i przychodów, w którym uwzględniono średnią wagę końcową ptaków, uśredniony FCR, koszt paszy, średnią cenę żywca, śmiertelność i brakowania ptaków, liczbę konfiskat rzeźnych oraz koszt obsługi weterynaryjnej, w tym koszt szczepionki przeciwko *E. coli*, średni bilans zysków uzyskany w trakcie trzech kolejnych cykli produkcyjnych na F1 był średnio o 0,14 pln wyższy w przeliczeniu na sztukę broilera kurzego w porównaniu z ptakami nie szczepionymi. Powyższe, wraz z faktem, iż w kurnikach szczepionych odnotowaliśmy redukcję użycia antybiotyków średnio o ok. 10-40% w przeliczeniu na łączną liczbę dni antybiotykoterapii (w porównaniu z kurnikami kontrolnymi), potwierdza zasadność szczepienia kurcząt przeciwko *E. coli*, oraz mocno sugeruje, iż szczepienie broilerów kurzych przeciwko *E. coli* powinno być rozpatrywane w kategoriach rutynowej profilaktyki swoistej.

**Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.:** Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine on general properties of *E. coli* population, IBV vaccination efficiency, and production parameters—a field experiment. *Poult. Sci.*, 2020, 99, 5452-5460. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.039.

Zachęceni pozytywnymi wynikami pierwszej pracy naukowej w tym obszarze wiedzy, postanowiliśmy kontynuować pracę nad oceną skuteczności i zasadności szczepienia drobiu przeciwko *E. coli* poprzez wykonanie prac w ramach doświadczenia 2, które tym razem obejmowało też indyki rzeźne. Ciekawych obserwacji dostarczyły wyniki eksperymentu pierwszego, w którym zjawiska te badane były na fermie prowadzącej produkcję bezantybiotykową. Jak się okazało, pomimo iż na fermie tej od dłuższego czasu nie stosowano żadnych antybiotyków, w pierwszym cyklu produkcyjnym od kurcząt izolowano szczepy *E. coli*, które w zdecydowanej większości charakteryzowały się bardzo wysokim poziomem antybiotykooporności. W miarę kontynuacji szczepienia z wykorzystaniem żywej



szczepionki przeciwko *E. coli* odnotowaliśmy sukcesywny wzrost lekowrażliwości tych szczepów. Wysoki poziom ich lekowrażliwości odnotowaliśmy również w trakcie trzech kolejnych cykli produkcyjnych po zakończeniu szczepienia. Wskazuje to niezbicie na modulujący wpływ szczepienia na terenową populację *E. coli*. Podobnie jak w poprzedniej pracy, profile wrażliwości antybiotykowej szczepów *E. coli* izolowanych od ptaków w ramach wszystkich eksperymentów (1-3) były inne od spektrum wrażliwości bakterii szczepionkowej. W pracy tej postanowiono dodatkowo, że schematy i ilości stosowanych antybiotyków (w ramach eksperymentu drugiego i trzeciego) będą wspólne dla ptaków szczepionych, jak i kontrolnych. Miało to na celu wykluczenie wpływu antybiotykoterapii na ostatecznie uzyskiwane wyniki liczebności oraz właściwości populacji *E. coli*. Pomimo tego zabiegu uzyskaliśmy wyniki korespondujące z poprzednią pracą, zarówno u szczepionych kurcząt, jak i indyków rzeźnych, co utwierdza nas w przekonaniu o zasadności szczepienia drobiu rzeźnego przeciwko kolibakteriozie.

**Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.:** The Influence of Vaccination of Broiler Chickens and Turkeys with Live *E. coli* Attenuated Vaccine on *E. coli* Population Properties and TRT Vaccination Efficacy. *Animals*, 2021, 11:2068; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11072068>.

#### **4.3.4. Wnioski wynikające z przeprowadzonych badań:**

1. Największe znaczenie w kontekście protekcji przeciwko IBV mają: stymulacja komórek cytotoksycznych odporności ogólnoustrojowej i w górnych drogach oddechowych oraz poziom sekrecji swoistych przeciwciała w strukturach GDO.
2. Protokół protektotypowego szczepienia kurcząt przeciwko IB, wykorzystujący symultaniczną administrację szczepów z serotypów Mass i 793B stymuluje immunologiczne wykładniki protekcji na statystycznie wyższym poziomie aniżeli szczepienia monowalentne szczepami z serotypu Mass lub 793B.
3. Istnieją różnice w kształtowaniu się komórkowej odporności ogólnoustrojowej przeciwko aMPV/A u indyków rzeźnych, które to różnice wynikają z poziomu przeciwciał matczyńskich w dniu szczepienia ptaków.
4. Pomimo istniejących różnic w stopniu replikacji zjadliwego aMPV/A u nieszczepionych indyków, które zależne były od obecności lub braku przeciwciał matczyńskich, zakażenie

- ptaków skutkowało rozwojem choroby zarówno u ptaków MDA+ i MDA-. Przeciwciała matczyne łagodzą przebieg kliniczny TRT, ale nie chronią przed kliniczną formą choroby.
5. Pomimo istniejących różnic w stopniu stymulacji układu immunologicznego u indyków po szczepieniu i/lub zakażeniu aMPV/A, które zależne były od poziomu przeciwciał anti-aMPV w dniu szczepienia i/lub zakażenia ptaków, przeciwciała matczyne nie wpływają na rozwój protekcji poszczepiennej, zabezpieczającej ptaki przed rozwojem choroby po zakażeniu eksperymentalnym.
  6. Równoczesne szczepienie przeciwko IB (z wykorzystaniem szczepów z serotypu Mass i 793B) i *E. coli*, w tym samym dniu życia broilerów kurzych nie wpływa negatywnie na efektywność szczepienia przeciwko IB.
  7. Równoczesne szczepienie przeciwko ptasim metapneumowirusom (z wykorzystaniem szczepionki z podtypu aMPV/A) i *E. coli* w tym samym dniu życia broilerów kurzych nie wpływa negatywnie na efektywność szczepienia przeciwko aMPV.
  8. Równoczesne szczepienie przeciwko ptasim metapneumowirusom (z wykorzystaniem szczepionki z podtypu aMPV/A) i *E. coli* w tym samym dniu życia indyków rzeźnych nie wpływa negatywnie na efektywność szczepienia przeciwko aMPV.
  9. Szczepienie broilerów kurzych i indyków rzeźnych przeciwko kolibakteriozie przyczynia się do ograniczenia liczebności terenowej populacji *E. coli*.
  10. Szczepienie broilerów kurzych i indyków rzeźnych przeciwko kolibakteriozie przyczynia się do wzrostu podatności terenowych szczepów *E. coli* na antybiotyki.
  11. Szczepienie broilerów kurzych przeciwko kolibakteriozie wpływa na poprawę uzyskiwanych wyników produkcyjnych, przy równoczesnym ograniczeniu liczby dni stosowania antybiotykoterapii.

#### 4.3.5. Piśmiennictwo:

1. Akond M.: Antibiotic Resistance of Escherichia Coli isolated from poultry and poultry environment of Bangladesh. Am. J. Environ. Sci., 2009, 5, 47–52.
2. Cavanagh D., Gelb J.J.: Infectious bronchitis [w]: Saif Y.M., Barnes H.J., Glisson J.R., Fadly A.M., McDougald L.R., Swayne D. (red.): Diseases of Poultry, Blackwell Publishing, Ames, USA, 2008, s. 117-136.

3. Cha R.M.: Immunopathogenesis of avian Metapneumovirus in the turkeys. PhD thesis, University of Minnesota, United States 2009.
4. Chapman H.D., Jeffers T.K.: Vaccination of chickens against coccidiosis ameliorates drug resistance in commercial poultry production. *Int. J. Parasitol. Drugs Drug. Resist.* 2014, 4, 214–217.
5. Chapman, H.D.: Sensitivity of field isolates of *Eimeria* to monensin following the use of a coccidiosis vaccine in broiler chickens. *Poult. Sci.*, 1994, 73, 476–478.
6. Chapman H.D., Jeffers T.K.: Restoration of sensitivity to salinomycin in *Eimeria* following 5 flocks of broiler chickens reared in floor-pens using drug programs. *Poult. Sci.*, 2015, 94, 943–946.
7. Chubb R.C.: The effect of the suppression of circulating antibody on resistance to the Australian avian infectious bronchitis virus. *Res. Vet. Sci.* 1974, 17, 169-173.
8. Collins M.S., Gough R.E., Alexander D.J.: Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antibody and mouse monoclonal antibodies. *Avian Pathol.*, 1993, 22, 469–479.
9. Cook J.K.A., Darbyshire J.H., Peter R.W.: The use of chicken tracheal organ cultures for the isolation and assay of avian infectious bronchitis virus. *Arch. Virol.*, 1976, 50, 109–118.
10. Cook J.K.A., Ellis M.M., Dolby C.A., Holmes H.C., Finney P.M., Huggins M.B.: A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. 1. Stability of the attenuated strain. *Avian Pathol.*, 1989, 18, 511-522.
11. Cook J.K.A., Holmes H.C., Finney P.M., Dolby C.A., Ellis, M.M. Huggins M.B.: A live attenuated turkey rhinotracheitis virus vaccine. 2. The use of the attenuated strain as an experimental vaccine. *Avian Pathol.*, 1989, 18, 523-534.
12. Cook J.K.A., Jackwood M., Jones R.C.: The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathol.*, 2012, 41, 239-250.
13. Cook J.K.A., Jones B.V., Ellis M.M., Li J., Cavanagh D.: Antigenic differentiation of strains of Turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies. *Avian Pathol.*, 1993, 22, 257–273.

14. Cook J.K.A., Orbell S.J., Woods M.A., Huggins M.B.: Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathol.*, 1999, 28, 477-485.
15. Cumming R.B.: The etiology of "uraemia" of chickens. *Aust. Vet. J.*, 1962, 38, 554.
16. Davis G.S., Waits K., Nordstrom L., Grande H., Weaver B., Papp K., Horwinski J., Koch B., Hungate B.A., Liu C.M., Price L.B.: Antibiotic-resistant *Escherichia coli* from retail poultry meat with different antibiotic use claims. *BMC Microbiol.*, 2018, 18, 174.
17. de Herdt P., Ducatelle A.R., Uyttebroek A.E., Sneepe A., Torbeyns R.: Infectious bronchitis serology in broilers and broiler breeders: correlations between antibody titers and performance in vaccinated flocks. *Avian Dis.*, 2001, 45, 612-619.
18. De Vriese J., Steensels M., Palya V., Gardin Y., Moore Dorsey M., Lambrecht B., Van Borm S, Van den Berg T.: Passive Protection Afforded by Maternally-Derived Antibodies in Chickens and the Antibodies' Interference with the Protection Elicited by Avian Influenza-Inactivated Vaccines in Progeny. *Avian Dis.*, 2010, 54, 246-252.
19. Dho-Moulin M., Fairbrother J.M.: Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.*, 1999, 30, 299-316.
20. Faulkner O.B., Estevez C., Yu Q., Suarez D.L.: Passive antibody transfer in chickens to model maternal antibody after avian influenza vaccination. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2013, 152, 341-347.
21. Frommer A., Freidlin P.J., Bock R.R., Leitner G., Chaffer M, Heller E.D.: Experimental vaccination of young chickens with a live, nonpathogenic strain of *Escherichia coli*. *Avian Pathol.*, 1994, 23, 425-433.
22. Galal H.M., Tawfek A.M., Abdrabou M.I., Hessain A.M., Alhaaji A.H., Kabli S.A., Elbehiry A., Alwarhi W.A., Moussa I.M.: Recent Approaches for Control of *E. coli* and Respiratory Complex in Middle East. *Saudi. J. Biol. Sci.*, 2018, 25, 1302-1307.
23. Ginkel F.W. van, van Santen V.L., Gulley S.L., Toro H.: Infectious bronchitis virus in the chicken Harderian gland and lachrymal fluid: Viral load, infectivity, immune cell responses, and effects of viral immunodeficiency. *Avian Dis.*, 2008, 52, 608-617.

24. Gough R.E., Randall C.J., Dagless M., Alexander D.J., Cox W.J., Pearson D.: A new strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Vet. Rec.*, 1992, 130, 493-494.
25. Ibrahim R.A., Cryer T.L., Lafi S.Q., Basha E., Good L., Tarazi Y.H.: Identification of *Escherichia Coli* From Broiler Chickens in Jordan, Their Antimicrobial Resistance, Gene Characterization and the Associated Risk Factors. *BMC Vet. Res.*, 2019, 15, 159.
26. Jones R.C., Naylor C.J., al-Afaleq A., Worthington K.J., Jones R.: Effect of cyclophosphamide immunosuppression on the immunity of turkeys to viral rhinotracheitis. *Res. Vet. Sci.*, 1992, 53, 38-41.
27. Jones R.C., Wolliams R.A., Baxter-Jones C., Savage C.E., Wilding G.P.: Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response. *Avian Pathol.*, 1988, 17, 841–850.
28. Kameka A.M., Haddadi S., Kim D.S., Cork S.C., Abdul-Careem M.F.: Induction of innate immune response following infectious bronchitis coronavirus infection in the respiratory tract of chickens. *Virology*, 2014, 114, 450-451.
29. Kariyawasam S., Wilkie B.N., Gyles C.L.: Construction, characterization, and evaluation of the vaccine potential of three genetically defined mutants of avian pathogenic *Escher-ichia coli*. *Avian Dis.*, 2004, 48, 287–299.
30. Kint J., Fernandez-Gutierrez M., Maier H.J., Britton P., Langereis M.A., Koumans J. Wiegertjes G.F., Forlenza M.: Activation of the chicken type I interferon response by infectious bronchitis coronavirus. *J. Virol.*, 2014, 89, 1156 –1167.
31. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Field evaluation of maternal antibody transfer from breeder turkey hens to egg yolks, egg whites, and poults. *Poult. Sci.*, 2019, 98, 3150-3157.
32. Kwon J.S., Lee H.J., Jeong S.H., Park J.Y., Hong Y.H., Lee Y.J., Youn H.S., Lee D.W., Do S.H., Park S.Y., Choi I.S., Lee J.B., Song C.S.: Isolation and characterization of avian metapneumovirus from chickens in Korea. *J. Vet. Sci.*, 2010, 11, 59–66.
33. La Ragione R.M., Woodward M.J., Kumar, M., Rodenberg J., Fan H., Wales A.D., Karaca K.: Efficacy of a live attenuated *Escherichia coli* O78:K80 vaccine in chickens and turkeys. *Avian Dis.*, 2013, 57, 273-279.

34. Liman M., Rautenschlein S.: Induction of local and systemic immune reactions following infection of turkeys with avian Metapneumovirus (aMPV) subtypes A and B. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2007, 115, 273-285.
35. Lupini C., Cecchinato M., Ricchizzi E., Naylor C.J., Catelli E.: A turkey rhinotracheitis outbreak caused by the environmental spread of a vaccine-derived avian metapneumovirus. *Avian Pathol.*, 2011, 40, 525-530.
36. Naylor C.J., Jones, R.C.: Demonstration of a virulent subpopulation in a prototype live attenuated turkey rhinotracheitis vaccine. *Vaccine.*, 1994, 12, 1225–1230.
37. Nhung N.T., Chansiripornchai N., Carrique-Mas J.J.: Antimicrobial Resistance in Bacterial Poultry Pathogens: A Review. *Front. Vet. Sci.*, 2017, 4, 126.
38. Okino C.H., Alessi A.C., Montassier M.S., Rosa A.J., Wang X., Montassier H.J.: Humoral and Cell-Mediated Immune Responses to Different Doses of Attenuated Vaccine Against Avian Infectious Bronchitis Virus. *Viral Immunol.*, 2013, 26, 259-267.
39. Okino C.H., dos Santos I.L., Fernando F.S., Alessi A.C., Wang X., Montassier H.J.: Inflammatory and cell-mediated immune responses in the respiratory tract of chickens to infection with avian infectious bronchitis virus. *Viral. Immunol.*, 2014, 27, 383-391.
40. Peek H.W., Landman W.J.M.: Resistance to anticoccidial drugs of Dutch avian *Eimerias* pp. field isolates originating from 1996, 1999 and 2001. *Avian Pathol.*, 2003, 32, 391–401.
41. Pei J., Briles W.E., Collisson E.W.: Memory T cells protect chicks from acute infectious bronchitis virus infection. *Virology*, 2003, 306, 376-384.
42. Rawiwet V., Chansiripornchai N.: The efficacy of *Escherichia coli* aroA-live vaccine in broilers against avian *E. coli* serotype O78 infection. *Thai J. Vet. Med.*, 2009, 39, 337-342.
43. Reed L.J., Muench, H.: A simple method of estimating fifty percent end points. *Am. J. Hyg.* 1938, 27, 493–497.
44. Roekel H. van, Clarke M.K., Bullis K.L., Olesiuk O.M., Sperling F.G.: Infectious bronchitis. *Am. J. Vet. Res.*, 1951, 12, 140-146.
45. Rubbenstroth D., Rautenschlein S.: Investigations on the protective role of passively transferred antibodies against avian metapneumovirus infection in turkeys. *Avian Pathol.*, 2009, 38, 427-436.

46. Rubbenstroth D., Rautenschlein S.: Compromised T-cell immunity in turkeys may lead to an unpredictable avian metapneumovirus vaccine response and variable protection against challenge. *Avian Pathol.*, 2010, 39, 349-357.
47. Schalk A.E., Hawn M.C.: An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1931, 78, 413-422.
48. Shrestha A., Bajracharya A.M., Subedi H., Turha R.S., Kafle S., Sharma S., Neupane S., Chaudhary D.K.: Multi-drug Resistance and Extended Spectrum Beta Lactamase Producing Gram Negative Bacteria From Chicken Meat in Bharatpur Metropolitan, Nepal. *BMC Res. Notes.*, 2017, 10, 574.
49. Śmiałek M., Pestka D., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Development of vaccine-induced immunity against TRT in turkeys depends remarkably on the level of maternal antibodies and the age of birds on the day of vaccination. *BMC Vet. Res.*, 2015, doi:10.1186/s12917-015-0345-5.
50. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Welenc J., Stenzel T., Koncicki A.: Three-step Anti-aMPV IgA Expression Profile Evaluation in Turkeys of Different Immunological Status After TRT Vaccination. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2016, 19, 509-518.
51. Sweeney M.T., Diaz-Campos D.V., Bowden R., Fritsche T.R., Hayes J., Langston C., Lubbers B., Martin-Jimenez T., Miller C., Pallotta C., Papich M.G., Parkinson A., Schwarz S., Traczewski M.M.: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 2019, VET01, pp: 1-156.
52. Terregino C., Toffan A., Beato M.S., De Nardi R., Vascellari M., Meini A., Ortali G., Mancin M., Capua I.: Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. *Avian Pathol.*, 2008, 37, 487-493.
53. Toro H., van Santen V.L., Li L., Lockaby S.B., van Santen E., Hoerr F.J.: Epidemiological and experimental evidence for immunodeficiency affecting avian infectious bronchitis. *Avian Pathol.*, 2006, 35, 455-464.
54. Vervelde L., Matthijs M.G.R., van Haarlem D.A., de Wit J.J., Jansen C.A.: Rapid NK-cell activation in chicken after infection with infectious bronchitis virus M41. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2013, 151, 337-341.

55. Winterfield R.W., Hitchner S.B.: Etiology of an infectious nephritis-nephrosis syndrome of chickens. *Am. J. Vet. Res.*, 1962, 23, 1273-1279.
56. Wit J.J. de, Cook J.K.A., van der Heijden H.M.: Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathol.*, 2011, 40, 223-235.

**5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej**

**5.1.** Aktywny udział w trzech, cztero-dniowych Światowych Kongresach Lekarzy Weterynarii, Awioopatologów (World Veterinary Poultry Association Congress).

a) w 2013 roku - prezentacja posteru naukowego: Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Selected parameters of upper respiratory tract immunity in turkeys vaccinated against the TRT. Nantes, Francja, WVPAC XVIII Congress, 2013, 19-23.08.

b) w 2015 roku - prezentacja posteru naukowego: Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Rik Koopman., Koncicki A.: Application of Infectious bronchitis (IB) vaccines at hatch day of broiler chickens in different vaccination schedules. Cape Town, RPA, WVPAC XIX Congress, 2015, 7-11.09.2015.

c) w 2019 roku - prezentacja posteru naukowego: Śmiałek M., Gesek M., Dziewulska D., Kowalczyk J., Koncicki A.: Transmissible viral proventriculitis in Poland. Bangkok, Tajlandia, WVPAC XXI Congress, 2019, 16-20.09.2019

**5.2.** 13-15.11.2019 - International symposium on Avian Mycoplasmosis and Infectious Coryza. Royal GD Animal Health, Leusden, Holandia. staż naukowy w zakresie zapoznania się z diagnostyką, prewalencją i profilaktyką Mykoplazmoz i Koryzy drobiu.

**5.3.** Maj-Czerwiec 2021 roku - dwu-miesięczny, doszkalający staż naukowy w dziale badawczo-rozwojowym w SLW Biolab Ostróda - staż miał na celu podniesienie



kompetencji zawodowych i naukowych w kontekście diagnostyki chorób zakaźnych zwierząt hodowlanych.

## **6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę**

### **6.1. Osiągnięcia dydaktyczne:**

Zajęcia dydaktyczne na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej prowadzę od 2010 roku, czyli od momentu podjęcia studiów doktoranckich. Dotychczas realizując pensum dydaktyczne i godziny ponadwymiarowe przeprowadziłem ok. 3 500 godzin dydaktycznych. W ramach swojej działalności dydaktycznej prowadzę zajęcia z przedmiotów:

1. Choroby Ptaków - semestr zimowy i letni / V rok
2. Staż kliniczny z chorób ptaków - semestr letni / V rok
3. Technologie w produkcji drobiarskiej - semestr zimowy / II rok
4. Badania serologiczne w diagnostyce chorób zwierząt - semestr letni / II rok studiów doktoranckich

### **Wykaz najważniejszych osiągnięć dydaktycznych:**

1. Współautor rozdziału pt. Zakażenia metapneumowirusowe, w podręczniku "Choroby Drobiu" pod Redakcją Michała Mazurkiewicza i Aliny Wieliczko. Wrocław 2019, strony: 426-434.
2. Współautor rozdziału pt. Zakaźne, wirusowe zapalenie żołądka gruczołowego kurcząt, w podręczniku "Choroby Drobiu" pod Redakcją Michała Mazurkiewicza i Aliny Wieliczko. Wrocław 2019, strony: 487-490.
3. Autor kilkudziesięciu artykułów popularno-naukowych stanowiących materiały dydaktyczne dla studentów, w tym autor lub współautor artykułów i materiałów dydaktycznych udostępnianych dla studentów na Portalu Weterynaryjnym Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie.
4. Szkolenie specjalizacyjne podnoszące kompetencje dydaktyczne z zakresu chorób drobiu i ptaków ozdobnych - ukończone w 2017 roku wraz z uzyskaniem tytułu specjalisty

5. Wdrożenie zajęć "Badania serologiczne w diagnostyce chorób zwierząt" dla doktorantów 2 roku studiów doktoranckich na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej.
6. Udział w szkoleniu pt. "Profesjonalne prezentacje", których celem było doskonalenie umiejętności prezentacji i wystąpień przed gronem odbiorców z wykorzystaniem programu Power Point. Szkolenie realizowała firma Kalkstein, Podkowa Leśna, ul.Mickiewicza10, 9.11.2018 r.

## **6.2. Osiągnięcia organizacyjne:**

**6.2.1.** 2012 rok - nagroda II stopnia rektora UWM za osiągnięcia w dziedzinie organizacyjnej

**6.2.2.** Od 2012 roku jestem członkiem Światowego Stowarzyszenia Awiopatologów - WVPA (World veterinary poultry association)

**6.2.3.** W 2015 roku byłem członkiem Amerykańskiego Towarzystwa Lekarzy Weterynarii, Awiopatologów - The American Association of Avian Pathologists (AAAP).

**6.2.4.** Kierownik trzech grantów naukowych:

**6.2.4.1.** W latach 2011-2014: Grant finansowany przez Narodowe Centrum Nauki, w ramach konkursu PRELUDIUM, projekt pt.: Odporność swoista i nieswoista błon śluzowych górnych dróg oddechowych oraz wpływ odporności naturalnej biernej na rozwój rezystencji poszczepiennej u piskląt indyckich uodpornianych przeciwko TRT. Nr umowy projektu UMO-2011/01/N/NZ6/05757. Łączna kwota finansowania: 458 750 PLN

**6.2.4.2.** W latach 2017-2020: Grant finansowany przez Narodowe Centrum Nauki, w ramach konkursu SONATA, projekt pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (TRT), w stadach indyków rzeźnych o różnym statusie immunologicznym, w kontekście rozwoju odporności przeciwwakaźnej. Nr umowy projektu UMO- 2016/23/D/NZ6/00099. Łączna kwota finansowania: 335 530 PLN

**6.2.4.3.** W roku 2016: Grant finansowany ze źródeł Konsorcjum Naukowego Ośrodków Wiodących (KNOW), w ramach konkursu Early Stage Research, projekt pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i

tchawicy indyków o różnym statusie immunologicznym, w kontekście stymulacji mechanizmów odporności komórkowej. Łączna kwota finansowania: 50 000 PLN

#### **6.2.5. Wykonawca w czterech grantach naukowych:**

**6.2.5.1.** Projekt pt: Development of humoral and cell-mediated immunity in broiler chickens immunized against aMPV, NDV and IBV with the use of MSD Animal Health vaccines. Źródło finansowania: MSD Animal Health. Okres realizacji 01.09.2014-28.02.2015. Łączna kwota finansowania badań: 60 000 EU

**6.2.5.2.** Projekt pt.: Innowacyjny biopreparat deodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych. Wpływ związków odorowych na zdrowie zwierząt. Okres realizacji 01.07.2014 - 30.06.2017. Nr projektu: PBS2|B8|14|2014

**6.2.5.3.** Projekt pt.: Ocena wpływu rekombinowanego białka kapsydu cirkowirusa gołębiego na kształtowanie się wybranych zjawisk odpornościowych u gołębi. Źródło finansowania: NCN Okres realizacji: 2015-2018. Nr projektu: 2014/15/D/NZ6/02416

**6.2.5.4.** Projekt pt.: Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka owadów w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terytorium RP – Zadanie 3. Źródło finansowania: NCBR. Okres realizacji 01.11.2018-31.10.2021. Nr projektu: Gospostrateg1/385141/16/NCBR/2018

#### **6.3. Osiągnięcia popularyzujące naukę:**

**6.3.1.** Jestem autorem lub współautorem licznych publikacji popularyzujących naukę przeznaczonych dla lekarzy weterynarii praktyków:

1. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Niektóre czynniki wpływające na występowanie schorzeń kończyn u ptaków. cz. 1. Magazyn Hodowcy 3, 2010.
2. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Niektóre czynniki wpływające na występowanie schorzeń kończyn u ptaków. cz. 2. Magazyn Hodowcy 1, 2011.

3. Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Andrzej Koncicki: Kontaktowe zapalenie skóry oraz cellulitis u indyków. *Magazyn Wet., Choroby ptaków - monografia*, 2011, str. 740-744.
4. Daria Pestka, Marcin Śmiałek, Tomasz Stenzel, Bartłomiej Tykałowski, Andrzej Koncicki: Diagnostyka molekularna zakażeń mykoplazmami kur i indyków. *Magazyn Wet.*, 2012, str. 462-467.
5. Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Stany patologiczne wola u ptaków grzebiących. *Życie Wet.*, 2012, 87, str. 1029-1031.
6. Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Patogeneza oraz wybrane zjawiska immunologiczne w przebiegu zakażeń *Mycoplasma spp.* u drobiu grzebiącego. *Magazyn Wet.*, 2013, str. 335-340.
7. Marcin Śmiałek., Andrzej Koncicki: Stany patologiczne wola u ptaków grzebiących. *Magazyn Hodowcy*, 2013, 1, str. 24-28.
8. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Daria Pestka: Możliwości zastosowania żywieniowych dodatków funkcjonalnych do modulacji mechanizmów odpowiedzi immunologicznej u ptaków. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków, Monografia*, 2014, str. 359-362.
9. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Bartłomie Tykałowski, Andrzej Koncicki: Przyczyny występowania zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego u kurcząt broilerów na przykładzie przypadku terenowego. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków, Monografia*, 2014, str. 385-391.
10. Tomasz Stenzel, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Medycyna naturalna w profilaktyce i terapii chorób gołębi. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków, Monografia*, 2014, str. 410-413.
11. Marcin Śmiałek, Tomasz Stenzel, Adam Śmiałek, Andrzej Koncicki: Sarkocystoza kaczek - przypadki kliniczne. *Życie Wet.*, 2014, 89, str. 594-596.
12. Tomasz Stenzel, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Paramyksowiroza gołębi – aktualny stan wiedzy. *Magazyn Wet.*, 2014, 9, str. 915-918.
13. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Tomasz Stenzel, Daria Pestka, Andrzej Koncicki, Michał Gesek: Rola beztlenowców z rodzaju *Clostridium* w patologii indyków. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków*, 2015, str. 36-41.

14. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Beata Ogonowska, Michał Gesek, Andrzej Koncicki: Czy jakość wody pitnej ma wpływ na wyniki produkcyjne drobiu. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków*, 2015, str. 41-46.
15. Tomasz Stenzel, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Problemy immunoprofilaktyki w stadach gołębi. *Magazyn Wet. - Choroby ptaków*, 2015, str. 48-54.
16. Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Andrzej Koncicki: Zakaźne zapalenie nosa i tchawicy indyków (TRT) – poznaj... i kontroluj swojego wroga. *Polskie Drobiarstwo*, 2011, 6, str. 32-35.
17. Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Układ odpornościowy, a czynniki immunosupresyjne i ich następstwa w chowie indyków. *Polskie Drobiarstwo*, 2012, 10, str. 49-55.
18. Marcin Śmiałek, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Plusy i minusy immunoprofilaktyki międzypokoleniowej w uodpornianiu ptaków w pierwszych tygodniach odchowu. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2013, str. 18-21.
19. Bartłomiej Tykałowski, Tomasz Stenzel, Marcin Śmiałek, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Zaburzenia rozwojowe u kur i indyków obserwowane podczas zajęć dydaktycznych z przedmiotu Choroby ptaków. *Polskie Drobiarstwo*, 2014, 8, str. 10-13.
20. Andrzej Koncicki, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Pomianowski, Karolina Koncicka-Świdarska: DIAROSAN P (JHJ) w leczeniu biegunek u drobiu. *Polskie Drobiarstwo*, 2014, 10, str. 67-72.
21. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Tomasz Stenzel, Daria Pestka, Andrzej Koncicki: Rola wirusa krwotocznego zapalenia jelit w patologii indyków. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2014, str. 34-39.
22. Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Probiotyki w produkcji drobiarskiej. *Polskie Drobiarstwo* 2015, 12, str. 51-58.
23. Bartłomiej Tykałowski, Piotr Koncicki, Marcin Śmiałek, Katarzyna Tykałowska, Joanna Welenc, Andrzej Koncicki: Kardiomiopatia rozstrzeniowa u indyków. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2015, str. 28-31.
24. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Welenc, Andrzej Koncicki: Zapalenie skóry poduszek stopy kurcząt brojlerów jako wykładnik dobrostanu w trakcie odchowu. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2015, str. 73-77.

25. Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Probiotyki w produkcji drobiarskiej - ogólna charakterystyka oraz korzyści stosowania na przykładzie preparatu Lavipan. *Polskie Drobiarstwo*, 2016, 1, str. 54-58.
26. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Andrzej Koncicki: Anemia zakaźna kurcząt - praktyczny przegląd aktualnego stanu wiedzy wraz z analizą przypadku terenowego, cz. I. *Polskie Drobiarstwo* 2016, 11, str. 36-41.
27. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Andrzej Koncicki: Anemia zakaźna kurcząt - praktyczny przegląd aktualnego stanu wiedzy wraz z analizą przypadku terenowego, cz. II. *Polskie Drobiarstwo*, 2016, 12, str. 36-41.
28. Andrzej Koncicki, Karolina Koncicka-Świdorska, Tomasz Stenzel, Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Joanna Welenc: Praktyczne uwagi o racjonalnej antybiotykoterapii chorób drobiu. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2016, str. 3-9.
29. Joanna Kowalczyk, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Zakażenia wirusowe układu rozrodczego u drobiu grzebiącego. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2016, str. 25-30.
30. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Welenc, Andrzej Koncicki: Wykorzystanie formuły Deventer do określania optymalnego terminu szczepienia przeciwko IBD w stadach brojlerów kurzych. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2016, str. 64-69.
31. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Michał Gesek, Andrzej Koncicki: Pierwsze przypadki zakaźnego, wirusowego zapalenia żołądka gruczołowego u kurcząt brojlerów w Polsce. *Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii*, 2016, str. 85-87.
32. Joanna Kowalczyk, Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Andrzej Koncicki: Znaczenie zakażeń bakteryjnych w patologii układu rozrodczego u drobiu grzebiącego. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 2, str. 18-25.
33. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Bartłomiej Tykałowski, Adam Śmiałek, Andrzej Koncicki: Protektotypy IBV - znaczenie, ogólne założenia strategii oraz immunologiczne podstawy skuteczności. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 5, str. 56-62.
34. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Analiza etiopatogenezy przypadku klinicznego zespołu martwicy główki kości udowej. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 6, str. 60-65.

35. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Adam Śmiałek, Andrzej Koncicki: Czy szczepienie indyków przeciwko chorobie Mareka jest uzasadnione? *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 7, str. 74-79.
36. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Zakażenia drobiu bakteriami z rodzaju *Campylobacter* oraz ich znaczenie dla zdrowia publicznego. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 11, str. 16-21.
37. Joanna Kowalczyk, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Zaburzenia funkcjonowania jajowodu i ich konsekwencje u drobiu grzebiącego oraz ptaków ozdobnych. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 11, str. 44-48.
38. Daria Dziejulska, Tomasz Stenzel, Joanna Kowalczyk, Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Andrzej Koncicki: Zasady pobierania materiału biologicznego od ptaków do badań z wykorzystaniem technik biologii molekularnej. *Polskie Drobiarstwo*, 2017, 12, str. 12-27.
39. Andrzej Koncicki, Tomasz Stenzel, Karolina Koncicka-Świdorska, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk: Algorytmy diagnostyczno-terapeutyczne w przebiegu wybranych bakteryjnych chorób indyków. *Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii*, 2017, str. 42-44.
40. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Wykorzystanie wykluczenia kompetencyjnego w drobiarstwie, w dobie „wielkich wyzwań” XXI wieku. *Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii*, 2017, str. 79-83.
41. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Katarzyna Bogusławska, Andrzej Koncicki: Aktualne dane na temat epidemiologii, diagnostyki i immunoprofilaktyki TRT, cz. I. *Polskie Drobiarstwo*, 2018, 3, str. 1-7.
42. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Katarzyna Bogusławska, Andrzej Koncicki: Aktualne dane na temat epidemiologii, diagnostyki i immunoprofilaktyki TRT, cz. II. *Polskie Drobiarstwo*, 2018, 4, str. 24-29.
43. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Katarzyna Bogusławska, Andrzej Koncicki: Aktualne dane na temat epidemiologii, diagnostyki i immunoprofilaktyki TRT, cz. III. *Polskie Drobiarstwo*, 2018, 5, str. 54-58.
44. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Paweł Hefta, Andrzej Koncicki: Przypadek kliniczny IBD jako konsekwencja złego szczepienia w ZWD. *Polskie Drobiarstwo*, 2018, 10, str. 22-27.

45. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Praktyczna immunomodulacja u drobiu. Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii, 2018, str. 3-9.
46. Marcin Śmiałek, Michał Gesek, Bartłomiej Tykałowski, Joanna Welenc, Nina Milewska, Andrzej Koncicki: Znaczenie aviadenowirusów w patologii indyków. Polskie Drobiarstwo, 2019, 2, str. 26-30.
47. Marcin Śmiałek, Paweł Hefta, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: *Runting-stunting syndrome*, czyli dlaczego kurczaki nie rosną? Cz. I. Polskie Drobiarstwo, 2019, 5, str. 9-12.
48. Marcin Śmiałek, Paweł Hefta, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: *Runting-stunting syndrome*, czyli dlaczego kurczaki nie rosną? Cz. II. Polskie Drobiarstwo, 2019, 6, str. 10-13.
49. Marcin Śmiałek, Paweł Hefta, Adam Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: *Runting-stunting syndrome*, czyli dlaczego kurczaki nie rosną? Cz. III. Polskie Drobiarstwo, 2019, 7, str. 18-21.
50. Joanna Kowalczyk, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Andrzej Koncicki: Wpływ fitoncydów na mikroflorę przewodu pokarmowego u drobiu. Polskie Drobiarstwo, 2019, 9, str. 32-35.
51. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Dogadajmy się z sąsiadem. Polskie Drobiarstwo 2020, 2, str. 14-18.
52. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Jak to, przecież były szczepione?! Cz. I. Polskie Drobiarstwo 2020, 6, str. 22-27.
53. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Jak to, przecież były szczepione?! Cz. II. Polskie Drobiarstwo 2020, 7, str. 42-47.
54. Joanna Kowalczyk, Marcin Śmiałek, Bartłomiej Tykałowski, Andrzej Koncicki: Enteropatie wirusowe u indyków. Polskie Drobiarstwo 2020, 11, str. 6-9.
55. Marcin Śmiałek, Adam Śmiałek, Paweł Hefta, Michał Gesek, Andrzej Koncicki: TVP - klinika, diagnostyka i próby zapobiegania. Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii, 2019, październik, str. 61-64.
56. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Immunoprofilaktyka jutra - czy nowoczesna technologia gwarantuje lepszą skuteczność? Polskie Drobiarstwo - Suplement dla lekarzy weterynarii, 2020, listopad, str. 3-8.



57. Marcin Śmiałek: Skuteczność szczepienia ptaków rzeźnych przeciwko kolibakteriozie szczepionką Poulvac® E. coli - najważniejsze jest niewidoczne dla oczu. Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii, 2020, listopad, str. 29-33.
58. Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Tomasz Stenzel, Andrzej Koncicki: Immunoprofilaktyka krwotocznego zapalenia jelit u indyków. Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii, 2020, listopad, str. 78-84.
59. Andrzej Koncicki, Karolina Koncicka-Świdorska, Bartłomiej Tykałowski, Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Tomasz Stenzel: Czy fitoncydy stosowane w profilaktyce i terapii chorób drobiu mogą ograniczyć antybiotykoterapię? Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii, 2020, listopad, str. 96-100.
60. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Bartłomiej Tykałowski, Andrzej Koncicki: Test ELISA - tajemnica „jednego słupka”. Polskie Drobiarstwo, 2021, 1, str. 16-18.
61. Katarzyna Lipczyńska-Olczyk, Marcin Śmiałek, Michał Gesek: Wysoce zjadliwa grypa w stadzie indyków rzeźnych - opis przypadku klinicznego. Polskie Drobiarstwo, 2021, 4, str. 46-48.
62. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Jak minimalizować stopień infekcji *Campylobacter* spp. w stadach drobiu na etapie produkcji pierwotnej – część 1. Polskie Drobiarstwo, 2021, 5, str. 6-11.
63. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Jak minimalizować stopień infekcji *Campylobacter* spp. w stadach drobiu na etapie produkcji pierwotnej – część 2. Polskie Drobiarstwo, 2021, 6, str. 44-49.
64. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Jak minimalizować stopień infekcji *Campylobacter* spp. w stadach drobiu na etapie produkcji pierwotnej – część 3. Polskie Drobiarstwo, 2021, 7, str. 12-15.
65. Marcin Śmiałek, Joanna Kowalczyk, Andrzej Koncicki: Znaczenie soku z granata w produkcji drobiarskiej - przepis na błędy i tragedię. Polskie Drobiarstwo, 2021, 8, str. 16-19.

**6.3.2.** Jestem autorem lub współautorem licznych doniesień, wystąpień ustnych oraz posterów naukowych prezentowanych na naukowych konferencjach krajowych i międzynarodowych:

1. Koncicki A., Stenzel T., Tykałowski B., Śmiałek M.: Current problems in turkey pathology. XXII International Poultry Symposium PBWPSA, Olsztyn, 6-8.08.2010.

2. Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Koncicki A.: Chosen problems concerning ossification processes and their disorders in birds. XXII International Poultry Symposium PBWPSA, Olsztyn, 6-8.08.2010.
3. Tykałowski B., Śmiałek M., Stenzel T., Jankowski J., Koncicki A.: Wybrane parametry odporności komórkowej u kurcząt brojlerów w przebiegu eksperymentalnej kokcydiozy. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów". Wrocław, 01-02.07.2011.
4. Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: Odporność lokalna błon śluzowych górnych dróg oddechowych u indyków uodpornianych przeciwko TRT. Konferencja naukowa z okazji 20-lecia SLW BIOLAB "Diagnostyka i immunoprofilaktyka chorób zakaźnych". Stare Jabłonki, 27-28.09.2011.
5. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Rola gruczołu Hardera w odporności lokalnej błony śluzowej górnych dróg oddechowych u drobiu. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów". Wrocław, 01-02.07.2011.
6. Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A.: Monitoring wybranych zakażeń wirusowych gołębi na terenie Polski. XIV Kongres PTNW - „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-5.09.2012.
7. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Wybrane parametry lokalnej odporności komórkowej oraz humoralnej u indyków uodpornianych przeciwko TRT. XIV Kongres PTNW – „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-15.09.2012.
8. Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Koncicki A.: Wpływ zakażenia indyków adenowirusem krwotocznego zapalenia jelit i immunomodulacji na kształtowanie się odsetka śledzionowej subpopulacji limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> syntetyzujących INF-gamma w odpowiedzi na mitogeny (badania in vitro). XIV Kongres PTNW - „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-15.09.2012.
9. Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Pestka D., Koncicki A. Wpływ oksytetracykliny stosowanej per os na wybrane parametry układu odpornościowego indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.

10. Tykałowski B., Śmiałek M., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Możliwość zastosowania immunomodulatorów we wspomaganiu terapii chorób bakteryjnych drobiu wywołanych przez szczepy odporne na antybiotyki. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.
11. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Wykorzystanie sortera komórek oraz techniki ELISPOT do oceny rozwoju pamięci immunologicznej komórek B IgA<sup>+</sup> po szczepieniu indyków przeciwko aMPV. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.
12. Stenzel T., Szulia G., Fordońska J., Górka J., Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Koncicki A.: Antybiotykooporność wybranych bakterii izolowanych od gołębi w Polsce na przestrzeni lat 2010-2013. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.
13. Koncicki A., Śmiałek M., Pestka D.: Mykoplazmoza indyków - klinika, diagnostyka, terapia i zapobieganie. VetForum III Kongres Praktyki Weterynaryjnej 2013, 135-138.
14. Tykałowski B., Śmiałek M., Pestka D.: Zastosowanie cystometrii przepływowej do oceny stanu komórek układu immunologicznego ptaków w przebiegu chorób o etiologii wirusowej. Konferencja naukowa pt. "Poznańskie dni cytometrii i immunopatologii", Poznań, 16-17.05.2013.
15. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Selected parameters of upper respiratory tract immunity in turkeys vaccinated against the TRT. World Veterinary Poultry Association Congress, Nantes, Francja, 2013, 19-23.08.
16. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Fizjologia układu oddechowego ptaków grzebiących w kontekście zjawisk odporności poszczepiennej i zakażeń naturalnych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.
17. Koncicki A., Stenzel T., Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D.: Występowanie zakażeń *Bordetela avium* u indyków i ptaków wolno żyjących. Konferencja naukowa pt.

- "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.
18. Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A.: Występowanie i zróżnicowanie genetyczne Chlamydia psittaci izolowanych od gołębi w Polsce. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.
  19. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A. Czynniki warunkujące skuteczność programów profilaktyki swoistej w stadach indyków reprodukcyjnych i rzeźnych. Konferencja Międzynarodowa pt. "Szczepionki i szczepienia drobiu: teraźniejszość i przyszłość". Puławy 17-18.10.2014.
  20. Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A. Immunomodulacja w kontekście odporności poszczepiennej przeciwko wybranym chorobom drobiu o etiologii wirusowej. Konferencja Międzynarodowa pt. "Szczepionki i szczepienia drobiu: teraźniejszość i przyszłość". Puławy 17-18.10.2014.
  21. Koncicki A., Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T. Fizjologia przewodu pokarmowego i przyczyny jej zaburzeń u drobiu. VetForum, IV Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź 5-6.04.2014.
  22. Koncicki A., Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T.: Błędy w żywieniu jako przyczyna problemów zdrowotnych w wielkostadnej produkcji drobiu. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.
  23. Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: Wybrane polietiologiczne stany patologiczne skóry u drobiu grzebiącego – przyczyny, występowanie i ich następstwa. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.
  24. Śmiałek M., Śmiałek A.: Wpływ zakażenia wirusem anemii zakaźnej na funkcjonowanie układu immunologicznego i produktywność kurcząt brojlerów. Kongres Biopoint, II Kongres Praktyki Terenowej, Olsztyn 22-23.05.2015.
  25. Tykałowski B., Śmiałek M., Stenzel T., Pestka D., Tykałowska K., Koncicki A.: Wpływ wirusa krwotocznego zapalenia jelit na układ odpornościowy indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków". Wrocław 25-26.06.2015.

26. Koncicki A., Śmiałek M., Tykałowski B.: Aspekty kliniczne i epidemiologiczne kamylobakteriozy drobiu. Konferencja naukowa pt. "Kamylobakterioza – stan obecny i perspektywy zmian", Olsztyn, 23.09.2015.
27. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koopman R., Koncicki A.: Application of Infectious bronchitis (IB) vaccines at hatch day of broiler chickens in different vaccination schedules. Cape Town, RPA, WVPAC XIX Congress 2015, 7-11.09.2015.
28. Koncicki A., Tykałowski B., Śmiałek M., Stenzel T.: Wpływ żywienia i warunków chowu na odporność i stan zdrowotny indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków", Wrocław, 25-26.06.2015.
29. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koopman R., Koncicki A.: New insight into protectotype strategy as a tool in chicken infectious bronchitis control. Boston, USA, AAAP Annual Meeting, 11-14.07.2015.
30. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koncicki A.: Immunologiczne podstawy skuteczności protektotypowej strategii uodporniania kurcząt broilerów przeciwko IB. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków", Wrocław, 25-26.06.2015.
31. Koncicki A., Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T.: Błędy w żywieniu jako przyczyna problemów zdrowotnych w wielkostadnej produkcji drobiu. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.
32. Śmiałek M., Koncicki A.: Probiotyki w produkcji drobiarskiej. VetForum, VI Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 23-24.04.2016.
33. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Kowalczyk J., Stenzel T., Koncicki A.: Kształtowanie się odporności poszczepiennej przeciwko TRT u indyków o różnym statusie immunologicznym. XV Kongres PTNW, Lublin, 23.09.2016
34. Tykałowski B., Śmiałek M., Kowalczyk J., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: The influence of haemorrhagic enteritis virus infection on the immunological system and the associated risk of pathogenic E.coli in turkeys in Poland. 11th Turkey Science and Production Conference, UK, Chester, 2017.

35. Śmiałek M, Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A.: Mechanizmy odporności poszczepiennej przeciwko TRT u indyków o różnym statusie immunologicznym. „Zdrowe Zwierzę –Bezpieczna Żywność”, Konferencja KNOW, Wierzbica 11-13.06.2017
36. Śmiałek M., Burchardt S., Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A.: Możliwość redukcji stopnia infekcji bakteriami zoonotycznymi u drobiu poprzez zastosowanie preparatów probiotycznych. Wyniki badań własnych z zastosowaniem preparatu Lavipan (JHJ, Polska). Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
37. Stenzel T., Dziewulska D., Tykałowski B., Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Ocena prewalencji i seroprewalencji cirkowirusa gołębiego (PICV) u reprodukcyjnych gołębi pocztowych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
38. Dziewulska D., Stenzel T., Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Ocena wpływu ekstraktu z aloesu i lukrecji na przebieg zakażenia PPMV-1 u gołębi. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
39. Kowalczyk J., Śmiałek M., Dziewulska D., Stenzel T., Tykałowski B., Koncicki A.: Bakterie z rodzaju Klebsiella spp. w patologii drobiu. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
40. Śmiałek M., Koncicki A.: Praktyczne (i naukowe) aspekty diagnostyki i immunoprofilaktyki TRT. Konferencja OneZoetis. Warszawa, 01.08.2017.
41. Śmiałek M., Śmiałek A., Koncicki A.: Formuła Deventer - analiza wyników badań własnych i praktyczne uwagi. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.
42. Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Kowalczyk J., Stenzel T., Gesek M., Koncicki A.: TVP - aktualne dane na temat sytuacji epidemiologicznej w stadach broilerów kurzych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.

43. Tykałowski B., Śmiałek M., Kowalczyk J., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Wpływ uodporniania indyków przeciwko adenowirusowi krwotocznego zapalenia jelit na mechanizmy odpowiedzi komórkowej w warunkach dużej presji wirusa terenowego. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.
44. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Wpływ okresu nieśności indyczek reprodukcyjnych na transfer przeciwciał matczynych na potomstwo. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.
45. Śmiałek M., Kowalczyk J., Tykałowski B., Pestka D., Koncicki A.: Koncepcja odporności protektotypowej przeciwko zakażeniom wirusami zakaźnego zapalenia oskrzeli kur Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. "Zakaźne zapalenie oskrzeli kur - ogólnoswiatowy problem w przemyśle drobiarskim". PIW-PIB Puławy 28-29.09.2018.
46. Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Probiotyki a wykluczenie kompetycyjne - wyniki badań własnych. Międzynarodowa Konferencja Prohealth IV. Jachranka. 15.02.2019
47. Śmiałek M., Śmiałek P., Hefta P., Gesek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: TVP w Polsce - aktualne dane. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój 28-30.06.2019.
48. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Struktura układu immunologicznego jajowodu indyczek reprodukcyjnych w zależności od okresu nieśności. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój 28-30.06.2019.
49. Tykałowski B., Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Fitonocydy w profilaktyce i terapii histomonozoy indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój 28-30.06.2019.
50. Śmiałek M., Gesek M., Dziewulska D., Kowalczyk J., Koncicki A.: Transmissible viral proventriculitis in Poland. Bangkok, Tajlandia, WVPAC XXI Congres 2019, 16-20.09.2019
51. Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Mechanizm immunosupresji w przebiegu zakażeń wirusem anemii zakaźnej kurcząt. Międzynarodowa Konferencja

Naukowa pt. „Zakaźne zapalenie bursy Fabrycjusza, anemia zakaźna kurcząt oraz zakażenia cirkowirusowe ptaków”, PIW-PIB Puławy, 18-19.10.2019.

52. Śmiałek M., Śmiałek A., Hefta P., Szczucińska E., Banucha Ł., Koncicki A.: Wstępne wyniki badań nad wykorzystaniem żywej szczepionki przeciwko kolibakteriozie w stadach broilerów kurzych. Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Zakaźne zapalenie bursy Fabrycjusza, anemia zakaźna kurcząt oraz zakażenia cirkowirusowe ptaków”, PIW-PIB Puławy, 18-19.10.2019.

Wykłady przeprowadzone online:

1. Śmiałek M.: Zasadność szczepienia broilerów kurzych przeciwko kolibakteriozie – wyniki badań własnych. Akademia Zoetis. 08.07.2020.
2. Śmiałek M.: TRT bez tajemnic - czyli nauka praktyczna - część 1. Akademia Zoetis. 27.04.2021.
3. Śmiałek M.: TRT bez tajemnic - czyli nauka praktyczna - część 2. Akademia Zoetis. 27.05.2021.
4. Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine – a field experiment. World Poultry Virtual Congress by Hipra. 14-17.06.2021.

**6.3.3.** Byłem recenzentem prac naukowych publikowanych w czasopismach międzynarodowych, m. in. Polish Journal of Veterinary Sciences - IF 0,860, Animals - IF - 2,323, Veterinary Immunology and Immunopathology - IF - 1,95.

**7.** Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.

**7.1.** Byłem promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim lek. wet. Joanny Kowalczyk. Tytuł rozprawy doktorskiej: Odporność ogólna i lokalna układu rozrodczego indyczek reprodukcyjnych i jej przekazywanie na potomstwo. Data obrony pracy doktorskiej: 23.10.2020.



7.2. Jestem laureatem prestiżowych stypendiów naukowych, wyróżnień i nagród w tym:

- a) Wyróżnieniem roku 2011 przyznane przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych, na mocy Uchwały Zarządu Głównego z dnia 29 marca 2012 roku, za publikację: Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Local immunity of the respiratory mucosal system in chickens and turkeys. Pol. J. Vet. Sci. 2011, 14, 291-297.
- b) Wyróżnieniem roku 2011 przyznane przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych, na mocy Uchwały Zarządu Głównego z dnia 29 marca 2012 roku, za publikację: Stenzel T., Tykałowski B., Śmiałek M., Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: The influence of different doses of methisoprinol on the percentage of the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes subpopulations and anti-NDV antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. Pol. J. Vet. Sci., 2011, 14, 367-371.
- c) Stypendium Dr Inno 3 - lata 2012-2013.
- d) Stypendium MNiSW dla doktorantów za wybitne osiągnięcia przyznane na rok akademicki 2013/2014.
- e) 2015 - Nagroda III stopnia, Rektora UWM w Olsztynie za osiągnięcia w dziedzinie naukowej.
- f) Dyplom Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, za najlepszą pracę przedstawioną przez młodych pracowników nauki w Sekcji chorób ptaków, XV Kongresu PTNW, Lublin, 23.09.2016.
- g) 2016 - Nagroda III stopnia, Rektora UWM w Olsztynie za osiągnięcia w dziedzinie naukowej.
- h) 2018 - Nagroda III stopnia, Rektora UWM w Olsztynie za osiągnięcia w dziedzinie naukowej.
- i) 2019 - Nagroda Rektora UWM w Olsztynie za wyróżniające się artykuły naukowe, opublikowane w 2019 roku.
- j) 2020 - Nagroda Rady Naukowej projektu Regionalna Inicjatywa Doskonałości, dla wyróżniających się zespołów badawczych za badania naukowe i prace rozwojowe w 2020 r.
- k) Stypendium MNiSW dla wybitnych młodych naukowców przyznane na lata 2020 - 2023.

**7.3.** W prowadzonych przeze mnie pozostałych badaniach naukowych można wyróżnić następujące kierunki/obszary badawcze:

**7.3.1. Badanie struktury układu immunologicznego drobiu oraz wpływu różnych immunomodulatorów lub czynników o potencjalnym znaczeniu immunomodulującym i wybranych czynników zakaźnych na jego kształtowanie się**

Od samego początku kariery naukowej byłem bardzo mocno zaangażowany w prace badawcze Katedry Chorób Ptaków, a głównym kierunkiem badawczym były badania struktury układu immunologicznego drobiu oraz wpływu różnych immunomodulatorów lub czynników o potencjalnym znaczeniu immunomodulującym i wybranych czynników zakaźnych na jego kształtowanie się. Owocem mojego zaangażowania są publikacje, które powstały jeszcze przed obroną pracy doktorskiej (7.3.1.1. - 7.3.1.3.) oraz prace opublikowane po obronie (7.3.1.4. - 7.3.1.6.)

Wyniki prac naukowych opublikowane pod pozycją 7.3.1.1. dotyczyły badań nad wpływem zakażenia krajowym, nisko-patogennym izolatem wirusa krwotocznego zapalenia jelit (HEV) indyków na kształtowanie się wybranych parametrów odporności komórkowej oraz przebieg kolibakteriozy. Indyki zakażano *per os* wirusem HEV w dawce  $10^{4.3}$  EID 50/ml i/lub *E. coli* (serotyp O78:K80:H9) w dawce  $4 \times 10^9$  CFU/ml. Zakażenie HEV i *E. coli* wykonywano równocześnie lub z 5-dniową przerwą pomiędzy HEV i *E. coli*. Pięć dni po zakażeniu HEV u indyków stwierdzono istotny spadek subpopulacji limfocytów T i B we krwi indyków. W tym samym czasie w próbkach śledzion odnotowano wzrost odsetka komórek  $CD3^+CD4^+$  i istotny spadek subpopulacji  $CD3^+CD8\alpha^+$  limfocytów T oraz  $IgM^+$  limfocytów B. Odnotowane różnice mogą tłumaczyć cięższy przebieg kolibakteriozy u indyków zakażonych HEV, aniżeli u ptaków zakażonych jedynie *E. coli*. Dodatkowo przebieg kolibakteriozy był cięższy u ptaków zakażonych *E. coli* 5 dni po zakażeniu HEV, aniżeli u ptaków zakażonych *E. coli* i HEV w tym samym czasie.

W kolejnej pracy nad immunopatogenezą zakażeń HEV badaliśmy wpływ stosowania dodatku metioniny do paszy na konsekwencje zakażenia wirusem krwotocznego zapalenia jelit u indyków. W badaniach tych ptaki przypisano do 4 grup dietetycznych, różniących się między sobą koncentracją (0.55 i 0.78% w przedziale 1-4 tygodnie życia; 0.45 i 0.65% w

przedziale 5-8 tydz.) i źródłem egzogennej metioniny (DL-methionine (DLM) lub DL-methionine hydroxy analogue (MHA)). Wyniki badań wykazały, że skarmianie ptaków paszą o wyższej zawartości metioniny (niezależnie od jej źródła) ma łagodzący wpływ na immunosupresyjne oddziaływanie HEV. Dodatkowo, wykazano, że podwyższony poziom metioniny w paszy ma również pozytywny wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego ptaków nie zakażonych HEV (7.3.1.5.).

Brałem również udział w badaniach mających na celu ustalenie wpływu oxytetracykliny, stosowanej *per os* (w dawce 0,5 g/l wody pitnej, przez 5 dni) na kształtowanie się wybranych parametrów układu immunologicznego u indyków. W badaniach tych wykazano statystycznie istotny spadek odsetka limfocytów T CD8<sup>+</sup> oraz B IgM<sup>+</sup> we krwi oraz spadek liczby limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> w śledzionach. Ostateczny wniosek jaki został sformułowany w tej pracy mówi iż oxytetracyklina wykazuje działanie immunosupresyjne u indyków, czego konsekwencją mogą być zakażenia oportunistyczne, jak również niższy poziom protekcji poszczepiennej (7.3.1.2.)

Uczestniczyłem również w badaniach nad wpływem stosowania dodatku pełnego ziarna pszenicy w paszy dla indyków na wybrane parametry odporności humoralnej i komórkowej. Badania te prowadzono na trzech grupach indyków skarmianych paszami o zawartości pełnego ziarna względem całkowitej zawartości pszenicy na poziomach: 0% (W0), 50% (W50) i 100% (W100). W badaniach wykazano, że pełne ziarno pszenicy ma korzystny wpływ na kształtowanie się elementów układu immunologicznego w strukturach przewodu pokarmowego oraz miało ono również wpływ na podwyższenie poziomu komórek T CD4<sup>+</sup> we krwi obwodowej. Powyższe obserwacje były bezpośrednio skorelowane z faktem, że w grupach ptaków W50 i W100 odnotowano wyższe miana przeciwciał poszczepiennych swoistych w stosunku do NDV i aMPV. Uzyskane wyniki wskazują na korzystne oddziaływanie diety bogatej w pełne ziarno pszenicy u indyków na funkcjonowanie ich układu immunologicznego (7.3.1.3.).

Brałem również udział w pracach mających na celu określenie wpływu komercyjnych preparatów adiSalmo<sup>SOL</sup> PF i adiCox<sup>SOL</sup>PF (zawierających w swoim składzie aktywne biologicznie fitonocydy) na kształtowanie się wybranych parametrów immunologicznych oraz

na przebieg kliniczny histomonozы indyków. W badaniach z wykorzystaniem preparatu adiSalmoSOL PF wykazaliśmy, iż jego stosowanie w sposób istotny przyczynia się do wzrostu odsetka subpopulacji komórek immunokompetentnych, w takich strukturach immunologicznych jak: torba Farycjusza, grasicca, kępkі peyera, migdałki jelit ślepych jak również we krwi obwodowej, zarówno u kurcząt, jak i u indyków rzeźnych. W badaniach tych wykazaliśmy również korzystny wpływ preparatu na uzyskiwaną wysokość mian poszczepiennych (7.3.1.4.). Dodatkowo w badaniach wykorzystujących preparat adiCox<sup>SOL</sup> PF, obok korzystnego oddziaływania fitoncydów na układ immunologiczny, wykazaliśmy również bardzo silne działanie preparatu w kontekście zapobiegania i terapii klinicznej formy histomonozы indyków (7.3.1.6.).

7.3.1.1. Koncicki A., Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Pestka D.: Effect of infection of turkeys with haemorrhagic enteritis adenovirus isolate on the selected parameters of cellular immunity and the course of colibacillosis. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2012, 15, 215-220. IF: 0,570, MNiSW: 20 pkt.

7.3.1.2. Tykałowski B., Stenzel T., Śmiałek M., Pestka D., Choszcz D., Koncicki A.: Influence of the oral administration of oxytetracycline on selected parameters of cellular immunity in turkeys. *Med. Weter.*, 2013, 69, 432-435. IF: 0,196, MNiSW: 15 pkt.

7.3.1.3. Tykałowski B., Śmiałek M., Pestka D., Stenzel T., Jankowski J., Mikulski D., Koncicki A.: Effect of whole wheat feeding on selected immune parameters in growing male turkeys. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, 17(2), 255-262. IF: 0,604, MNiSW: 20 pkt.

7.3.1.4. Koncicki A., Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T.: The influence of phytoncides on the immune system of broiler chickens and turkeys. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2015; 40 (3): 287-291. IF: 0,309, MNiSW: 15 pkt.

7.3.1.5. Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A., Ognik K., Zdunczyk Z., Jankowski J.: The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. *BMC Vet. Res.*, 2019, 15, doi: 10.1186/s12917-019-2138-8, IF: 1,835, MNiSW: 140 pkt.

7.3.1.6. Tykalowski, B., Śmiałek, M., Kowalczyk, J., Dziewulska, D., Stenzel, T., Koncicki, A.: Phytoncides in the prevention and therapy of blackhead disease and their effect on the turkey immune system. *J. Vet. Res.*, 2021, 65, 79-85, doi: 10.2478/jvetres-2021-0010. IF: 1,039, MNiSW: 40 pkt.

### **7.3.2. Badanie struktury układu immunologicznego związanego z układem oddechowym drobiu oraz zachodzących w nim zjawisk immunologicznych po szczepieniu przeciwko metapneumowirusom ptaków**

Głównym trendem naukowym poruszonym i niejednokrotnie badanym w trakcie mojej kariery zawodowej była odporność lokalna układu oddechowego u drobiu oraz zmiany zachodzące w jej strukturach i mechanizmach funkcjonowania po szczepieniu i zakażeniu ptasimi metapneumowirusami (aMPV). Jednym z nadrzędnych parametrów jakie staraliśmy się ustalić w ramach swojej pracy naukowej był wpływ przeciwciał matczynych na efektywność szczepienia indyków przeciwko aMPV. Na przestrzeni lat, wraz z postępem prac badawczych opublikowaliśmy liczne prace naukowe poruszające opisywaną problematykę.

Przed obroną pracy doktorskiej powstały dwie prace przeglądowe mojego współautorstwa opisujące odpowiednio: strukturę oraz mechanizmy funkcjonowania układu immunologicznego w drogach oddechowych ptaków (7.3.2.1.) oraz immunopatogenezę i perspektywy immunoprofilaktyki zakażeń ptasimi metapneumowirusami (7.3.2.2.). Publikacja 7.3.2.1. stanowi jedną z najczęściej cytowanych prac w moim dorobku naukowym. W pracy tej opisaliśmy bardzo szczegółowo strukturę tkanki limfatycznej związanej z błoną śluzową jamy nosowej (NALT), spojówek (CALT) oraz oskrzeli (BALT). Dodatkowo dużo uwagi poświęciliśmy opisowi struktury gruczołu Hardera u ptaków, jako narządu bardzo istotnie zaangażowanego w mechanizmy odporności humoralnej górnych dróg oddechowych.

W drugiej pracy przeglądowej (7.3.2.2.) skupiliśmy się na zagadnieniach dotyczących zjawisk immunologicznych zachodzących po szczepieniu oraz zakażeniu ptaków aMPV. Dodatkowo, w pracy tej dokonaliśmy syntetycznego przeglądu literatury naukowej na temat nowo konstruowanych szczepionek nowej generacji przeciwko aMPV. Główne wymagania jakie

stawiane są idealnym szczepionkom przyszłości to: brak ryzyka rewersji do formy zjadliwej, brak oddziaływania immunosupresyjnego oraz łatwość stosowania. W kontekście aMPV największe nadzieje budzą szczepionki rekombinowane, jak również możliwość wdrożenia w codziennej praktyce zakładów wylęgowych techniki szczepienia *in ovo*.

Po obronie pracy doktorskiej opublikowaliśmy dwie prace oryginalne, skupiające się w głównej mierze na zjawiskach odporności lokalnej po szczepieniu przeciwko aMPV u indyków o różnym statusie immunologicznym - posiadających (MDA<sup>+</sup>) lub nie posiadających (MDA<sup>-</sup>) przeciwciała matczyne (Maternally Derived Antibodies - MDA) anty-aMPV. Niezależnie od wieku ptaków w dniu szczepienia u indyków MDA<sup>-</sup> odnotowaliśmy silną stymulację komórek T CD8<sup>+</sup> w gruczole Hardera oraz w błonie śluzowej tchawicy, podczas gdy u ptaków MDA<sup>+</sup> stymulacji uległy głównie komórki T CD4<sup>+</sup>. U ptaków grup MDA<sup>-</sup> odnotowano stymulację produkcji swoistych przeciwciał klasy IgY. Natomiast u ptaków MDA<sup>+</sup> szczepionych przeciwko aMPV w dniu wylęgu, odnotowano szybszy zanik przeciwciał matczynych w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki te wskazywały na to, iż MDA mogą wpływać, poprzez neutralizację wirusa szczepionkowego, na osłabienie stopnia stymulacji odporności humoralnej i komórkowej w górnych drogach oddechowych (GDO) (7.3.2.3.). Wykazaliśmy dodatkowo, że obecność MDA w dniu szczepienia indyków, wpływa na zaburzenie nabywania swoistości reagowania limfocytów B IgA<sup>+</sup> w strukturach GDO, jak również fakt, iż jedynie u ptaków MDA<sup>-</sup> możliwa jest detekcja swoistych przeciwciał klasy IgA w popłuczynach z GDO po przeprowadzonym szczepieniu (7.3.2.4.). Wyniki te tłumaczyć mogą dlaczego w warunkach terenowych tak często obserwowane są przypadki przełamania odporności poszczepiennej przez terenowe szczepy aMPV (7.3.2.3.).

7.3.2.1. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Local immunity of the respiratory mucosal system in chickens and turkeys. Pol. J. Vet. Sci. 2011, 14, 291-297. IF: 0,565, MNiSW: 20 pkt.

7.3.2.2. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: The perspective of immunoprophylaxis and selected immunological issues in the course of the turkey rhinotracheitis. Pol. J. Vet. Sci., 2012, 15, 175-180. IF: 0,570, MNiSW: 20 pkt.

7.3.2.3. Śmiałek M, Pestka D, Tykałowski B, Stenzel T, Koncicki A.: Development of vaccine-induced immunity against TRT in turkeys depends remarkably on the level of maternal antibodies and the age of birds on the day of vaccination. *BMC Vet Res.* 2015 Feb 7;11:28. doi: 10.1186/s12917-015-0345-5. IF: 1,643, MNiSW:35 pkt.

7.3.2.4. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Welenc J., Stenzel T., Koncicki A.: Three-step Anti-aMPV IgA Expression Profile Evaluation in Turkeys of Different Immunological Status after TRT Vaccination. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2016, 19, 509-518. IF: 0,697, MNiSW: 20 pkt.

### **7.3.3. Badania nad etiopatogenezą oraz prevalencją zakaźnego, wirusowego zapalenia żołądka gruczołowego u kurcząt**

W trakcie swojej kariery naukowej po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych, bardzo intensywnie zaangażowałem się w prace mające na celu zbadanie etiopatogenezy oraz prevalencji zakaźnego, wirusowego zapalenia żołądka gruczołowego (TVP) u kurcząt broilerów w populacji tych ptaków w Polsce. Owocem oraz równoczesnym inicjatorem tych prac była publikacja w *Polish Journal of Veterinary Sciences* z 2017 roku (7.3.3.1.), w której wraz ze współautorami opisaliśmy pierwszy kliniczny przypadek tej choroby u kurcząt broilerów w naszym kraju.

W ślad za tym doniesieniem naukowym prowadzono dalsze prace badawcze mające na celu ustalenie czynnika etiologicznego TVP. W kolejnej pracy wykorzystaliśmy homogenat żołądków pochodzących z wcześniej opisanego przypadku klinicznego TVP do zakażenia 25-dniowych broilerów kurzych odchowywanych od pierwszego dnia życia w pełnej izolacji w Pawilonie zakażeń eksperymentalnych, Katedry Chorób Ptaków, UWM w Olsztynie. Udało nam się z powodzeniem odtworzyć przebieg kliniczny choroby i równocześnie wykazaliśmy, że za chorobę odpowiedzialny jest wirus należący do rodziny Birnaviridae określany mianem Chicken Proventricular Necrosis Virus (CPNV). Dodatkowo w analizowanym przypadku klinicznym wykazaliśmy współdziałanie ptasich adenowirusów. Biorąc jednak pod uwagę fakt, iż nie były one stwierdzane bezpośrednio w przedżołądkach ptaków ich udział najprawdopodobniej sprowadzał się jedynie do potęgowania skali obserwowanych zmian patologicznych. W dalszym toku prac wykazaliśmy, iż wirus CPNV

wykazuje reaktywność krzyżową z innym przedstawicielem birnawirusów - powszechnie występującym w populacji drobiu, czyli z wirusem zakaźnego zapalenia torby Fabrycjusza (IBDV). W badaniach własnych wykazaliśmy bowiem silną serokonwersję w stosunku do IBDV u ptaków zakażonych homogenatem żołądków z klinicznego przypadku TVP, pomimo, iż badania z wykorzystaniem technik biologii molekularnej wykluczyły obecność tego wirusa w narządach wewnętrznych ptaków (7.3.3.2.).

W zaakceptowanej do druku pracy z 2021 roku (7.3.3.3.), dokonaliśmy przeglądowej analizy przypadków TVP zdiagnozowanych w Katedrze Chorób Ptaków oraz w Katedrze Anatomii Patologicznej UWM w Olsztynie, na przestrzeni 2017-2019 roku. Jak się okazało CPNV zidentyfikowany został w 43,47% przypadków klinicznych TVP. Dodatkowo, wykazaliśmy zależność pomiędzy wiekiem ptaków (stopniem zaawansowania zmian patologicznych i/lub stopniem regeneracji tych zmian), a możliwością detekcji CPNV. Okazało się, że im wcześniej zabezpieczano od ptaków próbki do badań, wówczas stopień zaawansowania zmian patologicznych był wyższy, co równocześnie przekładało się na wyższe prawdopodobieństwo identyfikacji wirusa CPNV w analizowanym materiale badawczym.

7.3.3.1. Śmiałek M., Gesek M., Śmiałek A., Koncicki A.: Identification of Transmissible Viral Proventriculitis (TVP) in broiler chickens in Poland. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2017, 20, 417-420. doi: 10.1515/pjvs-2017-0050, IF: 0,839, MNiSW: 20 pkt.

7.3.3.2. Śmiałek M., Gesek M., Dziewulska D., Niczyporuk J.S., Koncicki A.: Transmissible Viral Proven-triculitis Caused by Chicken Proven-tricular Necrosis Virus Displaying Serological Cross-Reactivity with IBDV. *Animals*, 2020, doi:<https://doi.org/10.3390/ani11010008>. Opublikowane online w dniu 23.12.2020, IF: 2,323, MNiSW: 100 pkt

7.3.3.3. Śmiałek M., Gesek M., Dziewulska D., Koncicki A. Relationship between chicken proventricular necrosis virus prevalence and transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in Poland. *Pol. J. Vet. Sci.*. Praca w druku. IF: 0,516, MNiSW: 40 pkt.



#### **7.3.4. Badania nad możliwością wykorzystania probiotyków u drobiu jako alternatywna minimalizująca stopień infekcji bakteriami zoonotycznymi na etapie produkcji pierwotnej**

Po obronie pracy doktorskiej zaangażowałem się również bardzo intensywnie w prace nad możliwością zastosowania preparatów probiotycznych w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej, jako zintegrowany element minimalizujący ryzyko zakażeń oraz stopień infekcji drobiu drobnoustrojami zoonotycznymi (*Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp.)

W ostatnich latach coraz częściej podkreśla się udział bakterii z rodzaju *Campylobacter* spp. w schorzeniach przewodu pokarmowego ludzi. Według danych szacunkowych EFSA w 2015 roku, w Europie, liczba zarejestrowanych i potwierdzonych przypadków zakażeń ludzi bakteriami z rodzaju *Campylobacter* spp. wyniosła w przybliżeniu 230 000. Co dodatkowo niepokojące, z roku na rok liczba udokumentowanych przypadków tych zakażeń rośnie. Za powszechne źródło infekcji *Campylobacter* spp. uważany jest drób i mięso drobiowe. Dla przykładu w 2015 roku 46.7% spośród 6,707 próbek świeżego mięsa od kurcząt broilerów było pozytywnych w kierunku obecności bakterii *Campylobacter* spp. i był to równocześnie wynik wyższy niż w roku poprzednim. W badaniach własnych wykazaliśmy, iż dodatek preparatu probiotycznego (multiprobiotyczny preparat Lavipan, którego producentem jest polska firma JHJ Sp z o.o.), stosowany w paszy przez cały cykl produkcyjny broilerów kurzych wpływa na ograniczenie populacji *Campylobacter* spp. w przewodzie pokarmowym kurcząt i w środowisku bytowania ptaków, a w konsekwencji również w mięśniach piersiowych, przyczyniając się w ten sposób do poprawy parametrów higienicznych tuszek drobiowych i bezpieczeństwa konsumentów. Na uwagę zasługuje dodatkowo fakt, iż badania te prowadzone były w warunkach terenowych, co tym bardziej ugruntowuje zasadność stosowania probiotyków w wielkotowarowej produkcji drobiarskiej (7.3.4.1.)

Bakterie z rodzaju *Salmonella* spp. są jedną z głównych przyczyn odzwierzęcych zakażeń jelitowych u ludzi na całym świecie. Według danych szacunkowych Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności liczba zarejestrowanych przypadków salmonellozy u ludzi w EU, w 2015 roku wyniosła 94,625. Dwa najczęściej rejestrowane serowary

*Salmonella* w tym okresie stanowiły *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*, które odpowiedzialne były za odpowiednio 45,7% i 15,8% wszystkich przypadków salmonellozy u ludzi. Za główne źródło infekcji dla ludzi po raz kolejny uważany jest drób oraz produkty drobiowe. Od wielu lat preparaty probiotyczne rozpatrywane są jako jedna z alternatywnych metod ograniczania inwazji pałeczkami z rodzaju *Salmonella* spp. u drobiu. W badaniach własnych wykazaliśmy skuteczność krajowej produkcji probiotyku Lavipan, w kontekście ograniczania zdolności zasiedlania przewodu pokarmowego kurcząt przez pałeczki *S. Enteritidis* (SE). Jak się bowiem okazało, 6 tygodni po zakażeniu kurcząt SE w grupie kontrolnej wzrost tej bakterii odnotowano w 87,5% próbek kału z jelit ślepych, podczas gdy w grupie otrzymującej badany preparat probiotyczny wynik pozytywny uzyskano jedynie w 12,5% przypadków. Równocześnie, zastosowany preparat wpłynął znacznie na ograniczenie możliwości izolacji *Salmonelli* z mięśni piersiowych zakażonych kurcząt (7.3.4.2.).

Owoce wieloletniej pracy dotyczącej preparatów probiotycznych jest również praca przeglądowa z 2021 roku (7.3.4.3.), opisująca szczegółowo mechanizmy działania probiotyków w kontekście minimalizacji ryzyka infekcji drobiu bakteriami z rodzaju *Campylobacter* spp.

7.3.4.1. Śmiałek M., Burchardt S., Koncicki A.: The influence of probiotic supplementation in broiler chickens on population and carcass contamination with *Campylobacter* spp. - Field study. *Res Vet Sci*, 2018, 118, 312-316, doi: 10.1016/j.rvsc.2018.03.009, IF: 1,751, MNiSW: 35 pkt.

7.3.4.2. Śmiałek M., Kaczorek E., Szczucinska E., Burchardt S., Kowalczyk J., Tykalowski B., Koncicki A.: Evaluation of *Lactobacillus* spp. and yeast based probiotic (Lavipan) supplementation for the reduction of *Salmonella* Enteritidis after infection of broiler chickens. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2019, 22:5-10, doi: 10.24425/pjvs.2018.125616, IF: 0,516, MNiSW: 40 pkt

7.3.4.3. Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A. The Use of Probiotics in the Reduction of *Campylobacter* spp. Prevalence in Poultry. *Animals* 2021, 11:1355; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11051355>, IF: 2,323, MNiSW: 100 pkt

### **7.3.5. Wpływ stosowania immunomodulatorów na przebieg kliniczny zakażenia gołębi paramyksowirusem typu pierwszego (PPMV-1)**

Jeszcze przed obroną pracy doktorskiej byłem również zaangażowany w badania nad możliwością wykorzystania różnych immunomodulatorów na funkcjonowanie układu odpornościowego oraz przebieg kliniczny zakażenia gołębi paramyksowirusem typu 1 (PPMV-1).

W pierwszej pracy (7.3.5.1.) podjęto próbę określenia wpływu trzech immunomodulatorów ( $\beta$ -glukanów, metizoprynolu i lewamizolu) na odsetek limfocyty T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> we krwi obwodowej i śledzienie oraz miano przeciwciał anti-NDV w surowicy gołębi. Ptaki w liczbie 80 podzielono na 4 grupy (po 20 ptaków), zależnie od rodzaju użytego immunomodulatora: grupa A – kontrolna; grupa B - otrzymywała metizoprinol domięśniowo przez 3 dni w dawce 300 mg/kg masy ciała; grupa C - otrzymywała lewamizol jako 7,5% roztwór chlorowodoru lewamizolu w dawce 2 mg/kg masy ciała domięśniowo przez 1 dzień; grupa D - otrzymywała  $\beta$ -glukany przez 10 dni przed szczepieniem, doustnie w dawce 5 mg/kg masy ciała. Gołębie w każdej grupie immunizowano przeciwko paramyksowirozie w 6 i 9 tygodniu życia. Wyniki wykazały, że lewamizol i  $\beta$ -glukany w stosowanych dawkach stymulują wzrost mian przeciwciał anti-NDV i odsetka subpopulacji limfocytów T CD4<sup>+</sup> we krwi obwodowej (lewamizol) wraz ze wzrostem odsetka limfocytów T CD8<sup>+</sup> w śledzienie gołębi, zaszczepionych przeciwko paramyksowirozie. Brak efektu po podaniu metizoprinolu mógł wynikać ze zbyt dużej dawki zastosowanego immunomodulatora (7.3.5.1.). W związku z powyższym podjęto dodatkowe badania, w trakcie których gołębie otrzymywały metizoprinol w dawkach 100, 200 i 600 mg/kg masy ciała przez 3 dni przed każdym szczepieniem. Wyniki wskazały, że metizoprinol podawany domięśniowo w dawce 100 i 200 mg/kg masy stymuluje mechanizmy odporności humoralnej i komórkowej, na co wskazywały wyższy odsetek subpopulacji limfocytów T CD4<sup>+</sup> we krwi obwodowej i w śledzienie oraz wyższe miano przeciwciał anti-NDV (7.3.5.2.).

Biorąc pod uwagę korzystne wyniki badań nad immunomodulującym działaniem metizoprinolu u gołębi, podjęto badania dodatkowe, które miały na celu określenie zasadności jego użycia w terapii lub profilaktyce infekcji PPMV-1 u gołębi. W doświadczeniu

wykorzystano trzy grupy gołębi. Przed eksperymentem ptaki badano na obecność przeciwciał swoistych dla paramyksowirusa i oceniano ich wrażliwość na zakażenie PPMV-1. Gołębie ze wszystkich trzech grup zakażono dożylnie zawiesiną paramyksowirusa (szczep APMV-1/gołąb/Polska/AR3/95 uzyskany z Instytutu Weterynarii w Puławach). Ptaki w grupach doświadczalnych (B1 i B2) poddano immunomodulacji metizopriolem w dawce 200 mg/1 kg masy ciała. Immunomodulator podawano domięśniowo przez 3 kolejne dni przed (grupa B1) lub trzy kolejne dni po (grupa B2) zakażeniu doświadczalnym. Gołębie z trzeciej grupy K stanowiły kontrolę. W wybranych terminach po zakażeniu uśmiercano po 5 ptaków z każdej grupy i pobierano od nich wycinki narządów wewnętrznych (płuca, nerki, mózg) oraz wymazy z kloaki w celu wykrycia wirusowego RNA. Ptaki poddawano również obserwacji klinicznej. Objawy odnotowano od pierwszego dnia po zakażeniu, a największe ich nasilenie zaobserwowano w grupach B1 i K (100% ptaków z objawami neurologicznymi). Całkowita śmiertelność zarażonych ptaków wahała się od 70% (grupa B2) do 100% (grupy B1 i K). Objawy kliniczne najszybciej ustąpiły w grupie B2. Największą liczbę próbek dodatnich na obecność PPMV-1 uzyskano z grup B1 i K. Na podstawie uzyskanych wyników sformułowano wniosek, że metizopriol stosowany po zakażeniu PPMV-1 w dawce 200 mg/kg masy ciała wykazuje działanie przeciwwirusowe, objawiające się wolniejszym rozwojem paramyksowirusy u gołębi (7.3.5.3.).

Zmotywowani faktem korzystnych rezultatów z poprzednich badań podjęto kolejne prace naukowe zmierzające do oceny wpływu immunomodulatorów pochodzenia naturalnego na przebieg kliniczny zakażenia gołębi PPMV-1. Celem pierwszej pracy opublikowanej po obronie pracy doktorskiej, było określenie wpływu różnych dawek wyciągów z aloesu i z lukrecji na przebieg zakażenia PPMV-1 u gołębi. Gołębie otrzymywały *per os*, przez 7 dni po zakażeniu eksperymentalnym PPMV-1, wyciąg z aloesu lub lukrecji w dawkach 300 lub 500 mg/ kg m.c. W wybranych dniach po zakażeniu od ptaków pobierano wymazy z kloaki oraz próbki mózgu, nerek, wątroby i trzustki, w których dokonywano ilościowego oznaczenia kopii RNA PPMV-1 metodą TaqMan qPCR. Wyniki badań potwierdziły hamujące właściwości wyciągów z lukrecji i aloesu na replikację PPMV-1. Najsilniejsze właściwości hamujące replikację PPMV-1 wykazano dla aloesu w dawce 300 mg/ kg.m.c. (7.3.5.4.).

Biorąc powyższe pod uwagę podjęto kolejne badania, które tym razem miały na celu ustalenie wpływu wyciągów z aloesu i z lukrecji na wybrane mechanizmy odpowiedzi

komórkowej i humoralnej u gołębi zakażanych PPMV-1. Badania wykazały, że u niezakażanych gołębi otrzymujących wyciągi z obu ziół w dawce 300 mg/ kg m.c. występował wzrost ekspresji genów kodujących receptory CD4 i CD8. Znotowano również spadek ekspresji tych genów u ptaków otrzymujących wyciąg z aloesu w dawce 500 mg/kg mc. Z kolei u gołębi zakażanych eksperymentalnie PPMV-1 i otrzymujących ekstrakt z aloesu w obu dawkach wykazano wzrost ekspresji genu kodującego receptor CD4. Ekspresja genu kodującego receptor powierzchniowy CD3 wykazywała dynamikę zbliżoną do ekspresji genu kodującego receptor CD4 i CD8. Ponadto stwierdzono wzrost ekspresji genu kodującego IFN- $\gamma$  u gołębi ze wszystkich grup poddanych immunomodulacji. Nie stwierdzono różnic w kształtowaniu się odsetka limfocytów B IgM<sup>+</sup> pomiędzy badanymi grupami gołębi (7.3.5.5.). W świetle uzyskanych wyników wykazano potencjalną możliwość zastosowania wyciągów z badanych roślin jako dodatków paszowych dla gołębi stosowanych zarówno w profilaktyce chorób wirusowych, w celu nieswoistego podniesienia odporności ptaków oraz wspomagająco w trakcie leczenia chorób wirusowych gołębi.

7.3.5.1. Stenzel T., Tykałowski B., Śmiałek M., Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: Effect of different immunomodulators on the percentage of the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and the antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. *Med. Weter.*, 2011, 67, 254-257. IF: 0,00, MNiSW: 10 pkt.

7.3.5.2. Stenzel T., Tykałowski B., Śmiałek M., Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: The influence of different doses of methisoprinol on the percentage of the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes subpopulations and anti-NDV antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2011, 14, 367-371. IF:0,565, MNiSW: 20 pkt.

7.3.5.3. Stenzel T., Bancercz-Kisiel A., Tykałowski B., Śmiałek M., Pestka D., Koncicki A.: Influence of methisoprinol on the course of an experimental infection with PPMV-1 in pigeons. *Med. Weter.*, 2014, 70 (4), 219-223. IF: 0,218, MNiSW: 15 pkt.

7.3.5.4. Dziewulska D., Stenzel T., Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: An evaluation of the impact of aloe vera and licorice extracts on the course of experimental pigeon paramyxovirus type 1 infection in pigeons. *Poult. Sci.*, 2018, 97:470-476. doi: 10.3382/ps/pex341. IF: 2,216, MNiSW: 40 pkt.

7.3.5.5. Dziewulska D., Stenzel T., Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: The impact of Aloe vera and licorice extracts on selected mechanisms of humoral and cell-mediated immunity in pigeons experimentally infected with PPMV-1. BMC Vet Res. 2018, 14:148. doi: 10.1186/s12917-018-1467-3. IF: 1,958. MNiSW: 40 pkt.

### **7.3.6. Badania struktury i funkcjonowania mechanizmów immunologicznych w układzie rozrodczym indyczek reprodukcyjnych**

Po obronie pracy doktorskiej zaangażowany byłem również w badania struktury i funkcjonowania mechanizmów immunologicznych w układzie rozrodczym indyczek reprodukcyjnych. W ramach tej pracy powstały dotychczas trzy publikacje, z czego pierwsza, przeglądowa (7.3.6.1.) opisuje strukturę układu immunologicznego w drogach rodnych samic drobiu, na przykładzie kury, podczas gdy dwie kolejne prace oryginalne (7.3.6.2. i 7.3.6.3.) opisują strukturę układu immunologicznego w układzie rozrodczym indyczek reprodukcyjnych oraz mechanizmy przekazywania odporności matczynej na potomstwo.

Układ rozrodczy ptaków, zarówno ze względu na anatomię, jak i funkcje, różni się znacząco od układu rozrodczego ssaków. Składa się tylko z lewego jajnika i jajowodu, który uchodzi do steku, co sprawia, że jest stale narażony na zakażenia wstępujące, ale i na infekcje ogólnoustrojowe. Stąd niezwykle ważne jest prawidłowe funkcjonowanie lokalnych mechanizmów odporności humoralnej i komórkowej w tym układzie. Zarówno w jajniku, jak i jajowodzie kury wykazano ekspresję receptorów Toll-podobnych oraz obecność limfocytów T i B. Subpopulacje limfocytów T CD4<sup>+</sup> są głównie zlokalizowane w blaszce właściwej ściany jajowodu, w mniejszej ilości znajdują się w błonie podśluzowej i w warstwie mięśniowej. Limfocyty T CD8<sup>+</sup> rozmieszczone są w jednakowym stopniu w wymienionych warstwach ściany jajowodu. Natomiast komórki B IgY<sup>+</sup> obecne są przede wszystkim wśród komórek nabłonkowych i silnie związane z tkanką gruczołową na całej długości jajowodu, zwłaszcza w nabłonku lejka jajowodu oraz części wielkiej i macicznej. Komórki B IgA<sup>+</sup> oraz B IgM<sup>+</sup> występują we wszystkich odcinkach jajowodu, ale najliczniej w tkance gruczołowej części wielkiej jajowodu. Komórek B IgY<sup>+</sup> nie wykryto na terenie jajnika, w odróżnieniu od obecnych w zrębie jajnika komórek B IgM<sup>+</sup>. W ścianie pęcherzyka jajnikowego i w błonie

śluzowej jajowodu, poza subpopulacjami limfocytów T oraz limfocytami B i związanymi z nimi immunoglobulinami, obecne są liczne makrofagi i APC. Wejście w dojrzałość płciową u ptaków manifestuje się zmianami w odsetku tych komórek, a miejscowa immunosupresja w układzie rozrodczym w tym okresie jest głównym czynnikiem umożliwiającym rozwój zakażeń bakteryjnych, m. in. *Salmonella* Enteritidis. U starzejących się ptaków zmniejsza się bowiem populacja limfocytów T i B w błonie śluzowej jajowodu, co ułatwia rozwój zakażeń układu rozrodczego. Ponadto mechanizmy odpornościowe układu rozrodczego ptaków są związane z przekazywaniem przeciwciał matczynych IgY, IgA i IgM do jaja, które pełnią funkcję ochronną zanim układ odpornościowy pisklęcia stanie się w pełni wydajny. Zatem mechanizmy odporności lokalnej na terenie układu rozrodczego ptaków odgrywają istotną rolę w zapobieganiu zakażeniom prowadzącym do zmian funkcjonalnych narządu i kontaminacji jaj (7.3.6.1.).

W kolejnej pracy naukowej zwróciliśmy szczególną uwagę na mechanizmy oraz poziomy transferu przeciwciał matczynych od niosek indyckich na potomstwo. Przeciwciała przekazywane z nioski na potomstwo, które początkowo obecne są w jajach, a z czasem również w rozwijających się zarodkach i ostatecznie w surowicy wyklutych piskląt, odgrywają istotną rolę protekcyjną w trakcie embriogenezy oraz w trakcie pierwszych tygodni życia ptaków do momentu, aż ich własny układ immunologiczny będzie w pełni wydajny. Biorąc pod uwagę powyższe, celem pracy było określenie ogólnego poziomu przeciwciał klasy IgM i IgY oraz poziomów przeciwciał IgY swoistych w stosunku do wybranych patogenów (APV, NDV, ORT, PM) w próbkach surowicy indyczek reprodukcyjnych oraz ich potomstwa (pobieranych w różnych okresie produkcji nieśnej), jak również w żółtku i białku jaj. W badaniach własnych wykazano, że poziom przeciwciał IgY w surowicy indyczek reprodukcyjnych był wyższy niż u kur i wynosił w trakcie produkcji nieśnej średnio 22,04 mg/ml. Ponadto wykazano, że średni poziom transferu przeciwciał klasy IgY z nioski na potomstwo wynosił ok. 31,4%, jednak poziom tego transferu był zróżnicowany w zależności od charakteru patogenu i wynosił odpowiednio 33,2%, 51,9%, 45,1%, 44,3% dla APV, NDV, ORT i PM. Dodatkowo stwierdzono różnice w poziomie transferu na różnych etapach nieśności indyczek reprodukcyjnych. Badania własne potwierdziły obserwowaną wcześniej zależność co do klasy przeciwciał przekazywanych do jaj przez nioski i podczas, gdy IgY są dominującymi przeciwciałami w żółtku, IgM stwierdzane były jedynie w białku jaj i nie

dostają się one do krążenia piskląt indyckich. Zgodnie z naszą wiedzą są to pierwsze badania opisujące szczegółowo zjawisko przekazywania przeciwciał matczynych u indyków (7.3.6.2.).

Biorąc pod uwagę brak doniesień naukowych opisujących strukturę układu immunologicznego w układzie rozrodczym indyczek reprodukcyjnych podjęliśmy badania własne, które miały na celu określenie udziału subpopulacji limfocytów B i T w różnych częściach jajowodu indyczek na różnych etapach nieśności. Wyniki badań dowodzą, iż w początkowym etapie nieśności, niezależnie od analizowanej części jajowodu (część główna, cieśń, część maciczna, część pochwowa), u indyczek ma miejsce intensywna infiltracja błony śluzowej komórkami immunokompetentnymi. Z drugiej strony, wraz z wiekiem ptaków, w późnym etapie nieśności ma miejsce sukcesywny zanik utkania immunologicznego w tych strukturach. Różnice w strukturze układu immunologicznego w drogach rodnych indyczek reprodukcyjnych, które zależą w głównej mierze od wieku ptaków oraz zaawansowania etapu nieśności, mogą poniekąd tłumaczyć obserwowane w warunkach terenowych zależności dotyczące częstotliwości oraz okresów predylekcyjnych do występowania przypadków schorzeń układu rozrodczego u tych ptaków.

7.3.6.1. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: Selected issues in local immune system of hen's reproductive tract. *Med. Weter.*, 2016, 72, 671-676, 2016. IF: 0,195, MNiSW: 15 pkt.

7.3.6.2. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dzewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Field evaluation of maternal antibody transfer from breeder turkey hens to egg yolks, egg whites, and poults. *Poult. Sci.*, 2019, 98:3150-3157, doi: 10.3382/ps/pez126, IF: 2,659, MNiSW: 140 pkt

7.3.6.3. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dzewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Research Note: Effect of age on the distribution of lymphocytes in the oviduct in Turkey breeder hens. *Poult. Sci.*, 2020, 99, 3009-3014, doi: 10.1016/j.psj.2020.03.005, IF: 2,659, MNiSW: 140 pkt



### **7.3.7. Badania nad możliwością wykorzystania rekombinowanej proteiny kapsydu cirkowirusa gołębi w immunoprofilaktyce zakażeń tymi wirusami**

Po obronie pracy doktorskiej byłem również zaangażowany w badania nad immunopatogenezą, diagnostyką oraz immunoprofilaktyką zakażeń cirkowirusami gołębi (PiCV), ze szczególnym ukierunkowaniem na próby konstrukcji i oceny skuteczności rekombinowanej szczepionki podjednostkowej przeciwko PiCV.

Celem pierwszej pracy (7.3.7.1.) w tym zakresie była ocena statusu serologicznego gołębi domowych niezakażonych i bezobjawowo zakażonych cirkowirusem gołębi (PiCV) za pomocą testu immuno-enzymatycznego opartego na rekombinowanym białku kapsydu PiCV. Rekombinowane białko kapsydu PiCV wytworzono przez transformację kolonii *E. coli* BL21 (DE3) Rosetta plazmidami ekspresyjnymi. Próbkę krwi i wymazy z kloaki pobrano od 171 gołębi, nie wykazujących żadnych objawów klinicznych, które podzielono na dwie grupy (zakażone i niezakażone PiCV) zależnie od wyników przesiewowego badania PCR na obecność materiału genetycznego PiCV. Około 70% gołębi uzyskało wynik pozytywny na obecność przeciwciał anti-PiCV, niezależnie od statusu zakażenia, jednak poziomy tych przeciwciał były istotnie wyższe w grupie gołębi zakażonych. Wyniki wskazują, że ELISA jest bardzo użytecznym testem uzupełniającym metody molekularne w ocenie stanu zakażenia PiCV u gołębi domowych.

Biorąc pod uwagę, że zakażenia cirkowirusem gołębi (PiCV) są najczęściej diagnozowaną chorobą wirusową u gołębi podjęto badania własne zmierzające do opracowania szczepionki podjednostkowej przeciwko zakażeniom PiCV. Celem badań była ocena odpowiedzi immunologicznej gołębi na szczepienie przeciwko PiCV z wykorzystaniem rekombinowanego białka kapsydu wirusa (rCP) jako szczepionki. W dniu szczepienia oraz 2, 23, 39 i 46 dni po pierwszej immunizacji od ptaków z każdej grupy pobierano próbki krwi, śledziona i torby Fabrycjusza w celu określenia poziomu przeciwciał anti-PiCV (z wykorzystaniem testu ELISA opisanego w pracy 7.3.7.1.), swoistych anti-PiCV rCP<sup>+</sup> komórek B pamięci immunologicznej, ekspresji genu IFN- $\gamma$  i odsetka limfocytów T CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> oraz B IgM<sup>+</sup>. W badaniach odnotowano iż szczepienie stymuluje humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną, co przejawiało się produkcją swoistych przeciwciał, znacząco wyższą liczbą komórek B pamięci immunologicznej oraz istotnie

wyższym poziomem ekspresji genu IFN- $\gamma$ . Podsumowując, PiCV rCP wykazuje właściwości immunogenne i można je uznać za potencjalnego kandydata na antygen w podjednostkowych szczepionkach przeciwko infekcjom PiCV u gołębi (7.3.7.2.). Biorąc jednak pod uwagę powszechność występowania subklinicznych zakażeń PiCV w populacji gołębi, podjęto dalsze prace, mające na celu określenie skuteczności badanej szczepionki. W kolejnych badaniach, celem nadrzędnym była odpowiedź na pytanie, czy szczepienie bezobjawowo zakażonych gołębi wywołuje podobną odpowiedź immunologiczną na PiCV rCP jak u ptaków niezakażonych. Podsumowując uzyskane wyniki badań można wywnioskować, że rekombinowane białko kapsydu cirkowirusa gołębi wywołuje odpowiedź immunologiczną zarówno u gołębi naturalnie zakażonych, jak i niezakażonych, ale szybkość tej odpowiedzi zmienia się w zależności od statusu zdrowotnego gołębi. Zakażenie PiCV maskuje potencjalną komórkową odpowiedź immunologiczną stymulowaną po szczepieniu PiCV rCP i prowadzi do osłabionej stymulacji odporności humoralnej (7.3.7.3.).

7.3.7.1. Stenzel T., Woźniakowski G., Pestka D., Choszcz D., Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A.: Application of pigeon circovirus recombinant capsid protein for detecting anti-PiCV antibodies in the sera of asymptomatic domestic pigeons and the potential use of a combination of serological and molecular tests for controlling circovirus infections in pigeon breeding flocks. *Poult. Sci.*, 2017, 96, 303-308. doi: 10.3382/ps/pew266. IF:2,216, MNiSW: 40 pkt.

7.3.7.2. Stenzel T., Dziewulska D., Tykałowski B., Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: Immunogenicity of pigeon circovirus capsid protein in pigeons. *Viruses*, 2018, 10, 596; doi:10.3390/v10110596. IF: 3,761, MNiSW: 40 pkt.

7.3.7.3. Stenzel T., Dziewulska D., Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Comparison of the immune response to vaccination with pigeon circovirus recombinant capsid protein (PiCV rCP) in pigeons uninfected and subclinically infected with PiCV. *Plos ONE*, 2019, 14, Article Number: e0219175, doi: 10.1371/journal.pone.0219175, IF: 2,74, MNiSW: 100 pkt

### **7.3.8. Pozostałe naukowe prace oryginalne i przeglądowe:**

Biorąc pod uwagę moje zaangażowanie w badanie zjawisk odporności lokalnej górnych dróg oddechowych drobiu dokonałem również przeglądu wiedzy w zakresie immunopatogenezy oraz perspektyw immunoprofilaktyki zakaźnego zapalenia krtani i tchawicy kur (7.3.8.1.), jak również uczestniczyłem w pracach mających na celu ustalenie metodyki umożliwiającej różnicowanie szczepionkowych szczepów Ma5 i 4/91, wirusa zakaźnego zapalenia oskrzeli kur (7.3.8.9.). W ramach swojej kariery naukowej dokonywałem również przeglądów oraz wykonywałem analizy statystyczne wyników badań serologicznych wykonywanych dla stad drobiu, czego owocem są prace dotyczące seroprewalencji zakażeń *Bordetella avium* w stadach indyków w Polsce (7.3.8.5.) oraz praca na temat praktycznych uwag dotyczących układania programów profilaktyki swoistej IBD na podstawie formuły Deventer (7.3.8.6.).

Równocześnie byłem zaangażowany w prace epidemiologiczne nad wybranymi jednostkami wirusowymi gołębi w naszym kraju (7.3.8.2.) oraz w badania nad określeniem profili lekooporności bakterii izolowanych od tych ptaków (7.3.8.4.).

Brałem również udział między innymi w badaniach nad prewalencją zakażeń *Bordetella avium* u ptaków dziko żyjących (7.3.8.8.), jak również jestem współautorem pracy przeglądowej nt. prewalencji i znaczenia zakażeń bakteriami z rodzaju *Klebsiella* spp. u drobiu.

Jako ciekawostka, warto również wspomnieć, iż aktywnie uczestniczyłem w pracy mającej na celu ustalenie stopnia apoptozy neutrofilii i makrofagów określanej w wypłuczynach z oskrzeli koni z nawracającą obturacją dróg oddechowych (7.3.8.3.)

7.3.8.1. Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Infectious laryngotracheitis: pathogenesis and perspectives of immunoprophylaxis. *Med. Weter.*, 2012, 68, 656-661. IF: 0,203, MNiSW: 10 pkt.

7.3.8.2. Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A.: Epidemiological investigation of selected pigeon viral infections in Poland. *Vet. Rec.* 2012 (22):562. doi: 10.1136/vr.100932. Epub 2012 Oct 31. IF: 1,803, MNiSW: 30 pkt.

7.2.8.3. Niedźwiedz A., Jaworski Z., Tykałowski B., Śmiałek M.: Neutrophil and macrophage apoptosis in bronchoalveolar lavage fluid from healthy horses and horses with recurrent airway obstruction (RAO). BMC Vet. Res. 2014 Jan 24. IF: 1,777, MNiSW: 40 pkt.

7.2.8.4. Stenzel T., Bancercz-Kisiel A., Tykałowski B., Śmiałek M., Pestka D., Koncicki A.: Antimicrobial resistance in bacteria isolated from pigeons in Poland. Pol. J. Vet. Sci. 2014, 17(1), 169-71. IF: 0,604, MNiSW: 20 pkt.

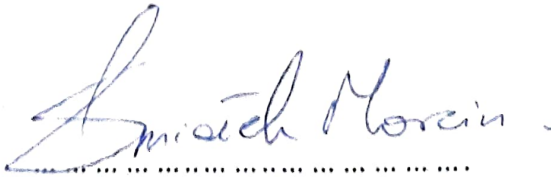
7.2.8.5. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Epidemiological situation of turkey coryza (*bordetellosis*) in Poland. Pol. J. Vet. Sci. 2015, 18 (3), 659-661. IF: 0,719, MNiSW: 20 pkt.

7.2.8.6. Śmiałek M., Śmiałek A., Koncicki A.: Practical aspects of estimation of optimal time for vaccination of chicken against IBD with use of "Deventer formula". Pol. J. Vet. Sci., 2016, 19, 425-427. IF: 0,697, MNiSW: 20 pkt.

7.2.8.7. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Koncicki A.: Klebsiella spp. in the pathology of poultry and their role in epidemiology of human foodborne diseases. Med. Weter., 2017, 73, 528-531, doi: 10.21521/mw.5776, IF:0,197, MNiSW: 15 pkt.

7.2.8.8. Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., Śmiałek M., Koncicki A., Bancercz-Kisiel A.: Detection of *Bordetella avium* by TaqMan real-time PCR in tracheal swabs from wildlife birds. Pol. J. Vet. Sci., 2017, 20, 31-36. doi: 10.1515/pjvs-2017-0005. IF: 0,839, MNiSW: 20 pkt.

7.2.8.9. Stenzel T., Dziewulska D., Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Differentiation of infectious bronchitis virus vaccine strains Ma5 and 4/91 by TaqMan real-time PCR. Pol. J. Vet. Sci., 2017, 20, 599-601. doi: 10.1515/pjvs-2017-0073. IF:0,839, MNiSW: 20 pkt.



(podpis wnioskodawcy)

**Wykaz osiągnięć naukowych oraz  
artystycznych, stanowiący znaczny  
wkład w rozwój dyscypliny**

**dr n. wet. Marcin Śmiałek**

*Katedra Chorób Ptaków*

*Wydział Medycyny Weterynaryjnej*

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie*

**Wykaz osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny**

*Informacje zawarte w poszczególnych punktach tego dokumentu powinny uwzględniać podział na okres przed uzyskaniem stopnia doktora oraz pomiędzy uzyskaniem stopnia doktora*

*a uzyskaniem stopnia doktora habilitowanego.*

**I. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH NAUKOWYCH ALBO ARTYSTYCZNYCH, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1. PKT 2 USTAWY**

**1. Monografia naukowa, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2a Ustawy; lub**

-----

**2. Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy**

**Osiągnięcie stanowi cykl publikacji powiązanych tematycznie pod wspólnym tytułem:**

*„Immunologiczne podstawy skuteczności szczepień przeciwko wiodącym chorobom układu oddechowego kur i indyków rzeźnych (IB, TRT) oraz potencjalne interakcje tych szczepień ze szczepieniem przeciwko kolibakteriozie w warunkach terenowych, wraz z oceną zasadności szczepienia przeciwko *Escherichia coli*”*

Cykl ten obejmuje 6 publikacji w czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), których sumaryczny IF wynosi 10,856, a łączna liczba punktów MNIŚW to 455.

**I.2.1. Śmiałek M.\***, Welenc J., Koncicki A.: Ogólnoustrojowe oraz lokalne mechanizmy immunologiczne stymulowane w przebiegu zakaźnego zapalenia oskrzeli kur. *Med. Weter.*, 2016,72, 358-363. doi: <http://dx.doi.org/10.21521/mw.5521>.

(IF: 0,218, punkty MNIŚW 15)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na: dokonaniu przeglądu dostępnej literatury naukowej, doborze materiałów wykorzystanych podczas opracowywania pracy przeglądowej, przygotowaniu manuskryptu. \* autor korespondencyjny*

**I.2.2. Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Immunological aspects of the efficiency of protectotype vaccination strategy against chicken infectious bronchitis. BMC Vet. Res., 2017, 13, 44. doi: 10.1186/s12917-017-0963-1.

(IF: 1.958, punkty MNiSW 40)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**I.2.3. Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Dziewulska D., Kowalczyk J., Koncicki A.: IFN gamma production profile in turkeys of different immunological status after TRT vaccination. J. Vet. Res., 2020, 64, 239-245, doi: 10.2478/jvetres-2020-0040.

(IF: 1,039, punkty MNiSW 40)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**I.2.4. Śmiałek M.\***, Kowalczyk J., Koncicki A.: Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine on general properties of *E. coli* population, IBV vaccination efficiency, and production parameters - a field experiment. Poult. Sci., 2020, 99, 5452-5460. doi: 10.1016/j.psj.2020.08.039.

(IF: 2,659, punkty MNiSW 140)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

\* autor korespondencyjny

**I.2.5. Śmiałek M.\***, Kowalczyk J., Gesek M., Kaczorek-Łukowska E., Dziewulska D., Tykałowski B., Koncicki A.: The influence of maternally derived antibodies on protection against aMPV/A infection in TRT vaccinated turkeys. *Poult. Sci.*, 2021, 100: 101086, doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101086>, (IF: 2,659, punkty MNiSW 140)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

\* autor korespondencyjny

**I.2.6. Śmiałek M.\***, Kowalczyk J., Koncicki A.: The Influence of Vaccination of Broiler Chickens and Turkeys with Live E. coli Attenuated Vaccine on E. coli Population Properties and TRT Vaccination Efficacy. *Animals*, 2021, 11:2068; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11072068>, (IF: 2,323, punkty MNiSW 100)

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na opracowaniu koncepcji badań, opracowaniu metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu większości analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

\* autor korespondencyjny

### **3. Wykaz zrealizowanych oryginalnych osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych lub artystycznych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2c Ustawy.**

-----

*W przypadku prac dwu- lub wieloautorских zaleca się złożenie oświadczenia przez habilitanta oraz współautorów wskazujące na ich merytoryczny (a NIE procentowy) wkład w powstanie każdej pracy [np. twórca hipotezy badawczej, pomysłodawca badań, wykonanie specyficznych badań (np. przeprowadzenie konkretnych doświadczeń, opracowanie i zebranie ankiet, itp.), wykonanie analizy wyników, przygotowanie*



*manuskrytu artykułu, i innej]. Określenie wkładu danego autora, w tym habilitanta, powinno być na tyle precyzyjne, aby umożliwić dokładną ocenę jego udziału i roli w powstaniu każdej pracy.*

## II. INFORMACJA O AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ ALBO ARTYSTYCZNEJ

1. Wykaz opublikowanych monografii naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.1).

-----

2. Wykaz opublikowanych rozdziałów w monografiach naukowych.

### **Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

**II.2.1.** Koncicki A., Śmiałek M.: Zakażenia metapneumowirusowe. "Choroby drobiu" pod Redakcją Michała Mazurkiewicza i Aliny Wieliczko. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2019, ISBN: 978-83-7717-314-5, strony: 426-434.

**II.2.2.** Śmiałek M., Gesek M., Koncicki A.: Zakaźne, wirusowe zapalenie żołądka gruczołowego kurcząt. "Choroby drobiu" pod Redakcją Michała Mazurkiewicza i Aliny Wieliczko, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2019, ISBN: 978-83-7717-314-5, strony: 487-490.

3. Informacja o członkostwie w redakcjach naukowych monografii.

-----

4. Wykaz opublikowanych artykułów w czasopismach naukowych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.2).

### **Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora:**

**II.4.1.** Śmiałek M., Tykałowski B., Stenzel T., Konciki A.: Local immunity of the respiratory mucosal system in chickens and turkeys. Pol. J. Vet. Sci. 2011, 14, 291-297. IF: 0,565, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.2.** Stenzel T.\*, Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: Effect of different immunomodulators on the percentage of the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and the antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. *Med. Weter.*, 2011, 67, 254-257. IF: 0,00, MNiSW: 10 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: przygotowywaniu próbek do badań cytometrycznych.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.3.** Stenzel T.\*, Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Kwiatkowska-Stenzel A., Koncicki A.: The influence of different doses of methisoprinol on the percentage of the CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes subpopulations and anti-NDV antibody titres in pigeons immunised against PPMV-1. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2011, 14, 367-371. IF:0,565, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: przygotowywaniu próbek do badań cytometrycznych i bieżącej pomocy w doświadczeniu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.4.** **Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Infectious laryngotracheitis: pathogenesis and perspectives of immunoprophylaxis. *Med. Weter.*, 2012, 68, 656-661. IF: 0,203, MNiSW: 10 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na: dokonaniu przeglądu dostępnej literatury naukowej, doborze materiałów wykorzystanych podczas opracowywania pracy przeglądowej, przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.5.** **Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: The perspective of immunoprophylaxis and selected immunological issues in the course of the turkey rhinotracheitis. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2012, 15, 175-180. IF: 0,570, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na: dokonaniu przeglądu dostępnej literatury naukowej, doborze materiałów wykorzystanych podczas opracowywania pracy przeglądowej, przygotowaniu manuskryptu.*

\* autor korespondencyjny

**II.4.6.** Stenzel T.\*, Pestka D., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Koncicki A.:  
Epidemiological investigation of selected pigeon viral infections in Poland. Vet  
Rec. 2012 (22):562. doi: 10.1136/vr.100932. Epub 2012 Oct 31. IF: 1,803,  
MNiSW: 30 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: bieżącej pomocy w ramach realizacji  
doświadczenia.*

\* autor korespondencyjny

**II.4.7.** Koncicki A.\*, Tykałowski B., Stenzel T., **Śmiałek M.**, Pestka D.: Effect of  
infection of turkeys with haemorrhagic enteritis adenovirus isolate on the selected  
parameters of cellular immunity and the course of colibacillosis. Pol. J. Vet. Sci.,  
2012, 15, 215-220. IF: 0,570, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonywaniu analiz cytometrycznych,  
przygotowaniu i realizacji doświadczenia.*

\* autor korespondencyjny

**II.4.8.** Tykałowski B.\*, Stenzel T., **Śmiałek M.**, Pestka D., Choszcz D., Koncicki A.:  
Influence of the oral administration of oxytetracycline on selected parameters of  
cellular immunity in turkeys. Med. Weter., 2013, 69, 432-435. IF: 0,196, MNiSW:  
15 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu  
i interpretacji wyników.*

\* autor korespondencyjny

**II.4.9.** Niedzwiedz A.\*, Jaworski Z., Tykałowski B., **Śmiałek M.**: Neutrophil and  
macrophage apoptosis in bronchoalveolar lavage fluid from healthy horses and  
horses with recurrent airway obstruction (RAO). BMC Vet. Res., 2014 Jan 24. IF:  
1,777, MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: przygotowywaniu próbek wykonaniu analiz  
cytometrycznych.*

\* autor korespondencyjny

- II.4.10.** Stenzel T.\*, Bancercz-Kisiel A., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Pestka D., Koncicki A.: Influence of methisoprinol on the course of an experimental infection with PPMV-1 in pigeons. Med. Weter., 2014, 70 (4), 219-223. IF: 0,218, MNiSW: 15 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.11.** Stenzel T.\*, Bancercz-Kisiel A., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Pestka D., Koncicki A.: Antimicrobial resistance in bacteria isolated from pigeons in Poland. Pol. J. Vet. Sci. 2014, 17(1), 169-71. IF: 0,604, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.12.** Tykałowski B.\*, **Śmiałek M.**, Pestka D., Stenzel T., Jankowski J., Mikulski D., Koncicki A.: Effect of whole wheat feeding on selected immune parameters in growing male turkeys. Pol. J. Vet. Sci. 2014, 17(2), 255-262. IF: 0,604, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników.*

*\* autor korespondencyjny*

#### **Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

- II.4.13.** Koncicki A.\*, **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T.: The influence of phytoncides on the immune system of broiler chickens and turkeys. Cent. Eur. J. Immunol. 2015; 40 (3): 287-291. IF: 0,309, MNiSW: 15 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników oraz współudział w przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.14.** **Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Epidemiological situation of turkey coryza (*bordetellosis*) in Poland. Pol. J. Vet. Sci. 2015, 18 (3), 659-661. IF: 0,719, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.15.**      **Śmiałek M.\***, Pestka D., Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.:  
Development of vaccine-induced immunity against TRT in turkeys depends remarkably on the level of maternal antibodies and the age of birds on the day of vaccination. BMC Vet. Res., 2015 Feb 7;11:28. doi: 10.1186/s12917-015-0345-5. IF: 1,643, MNiSW:35 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.16.**      Kowalczyk J.\*, **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Koncicki A.: Selected issues in local immune system of hen's reproductive tract. Med. Weter., 2016, 72, 671-676, 2016. IF: 0,195, MNiSW: 15 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: pomocy w dokonaniu przeglądu i wyboru literatury naukowej, redakcji manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.17.**      **Śmiałek M.\***, Tykałowski B., Pestka D., Welenc J., Stenzel T., Koncicki A.: Three-step Anti-aMPV IgA Expression Profile Evaluation in Turkeys of Different Immunological Status after TRT Vaccination. Pol. J. Vet. Sci., 2016, 19, 509-518. IF: 0,697, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.18.**      **Śmiałek M.\***, Gesek M., Śmiałek A., Koncicki A.: Identification of Transmissible Viral Proventriculitis (TVP) in broiler chickens in Poland. Pol. J. Vet. Sci., 2017, 20, 417-420. doi: 10.1515/pjvs-2017-0050, IF: 0,839, MNiSW: 20 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.19.** Stenzel T.\*, Woźniakowski G., Pestka D., Choszcz D., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Koncicki A.: Application of pigeon circovirus recombinant capsid protein for detecting anti-PiCV antibodies in the sera of asymptomatic domestic pigeons and the potential use of a combination of serological and molecular tests for controlling circovirus infections in pigeon breeding flocks. *Poult. Sci.*, 2017, 96, 303-308. doi: 10.3382/ps/pew266. IF:2,216, MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.20.** Stenzel T.\*, Dziewulska D., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Kowalczyk J., Koncicki A.: Immunogenicity of pigeon circovirus capsid protein in pigeons. *Viruses*, 2018, 10, 596; doi:10.3390/v10110596. IF: 3,761, MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.21.** **Śmiałek M.\***, Burchardt S., Koncicki A.: The influence of probiotic supplementation in broiler chickens on population and carcass contamination with *Campylobacter* spp. - Field study. *Res. Vet. Sci.*, 2018, 118, 312-316, doi: 10.1016/j.rvsc.2018.03.009, IF: 1,751, MNiSW: 35 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

- II.4.22.** Dziewulska D.\*, Stenzel T., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Koncicki A.: An evaluation of the impact of aloe vera and licorice extracts on the course of experimental pigeon paramyxovirus type 1 infection in pigeons. *Poult. Sci.*, 2018, 97:470-476. doi: 10.3382/ps/pex341. IF: 2,216, MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.23.** Dziewulska D.\*, Stenzel T., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Koncicki A.:

The impact of Aloe vera and licorice extracts on selected mechanisms of humoral and cell-mediated immunity in pigeons experimentally infected with PPMV-1. BMC Vet. Res., 2018, 14:148. doi: 10.1186/s12917-018-1467-3. IF: 1,958. MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.24.** Tykałowski B.\*, **Śmiałek M.**, Koncicki A., Ognik K., Zdunczyk Z.,

Jankowski J.: The immune response of young turkeys to haemorrhagic enteritis virus infection at different levels and sources of methionine in the diet. BMC Vet. Res., 2019, 15, doi: 10.1186/s12917-019-2138-8, IF: 1,835, MNiSW: 140 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.25.** **Śmiałek M.\***, Kaczorek E., Szczucinska E., Burchardt S., Kowalczyk

J., Tykałowski B., Koncicki A.: Evaluation of Lactobacillus spp. and yeast based probiotic (Lavipan) supplementation for the reduction of Salmonella Enteritidis after infection of broiler chickens. Pol. J. Vet. Sci., 2019, 22:5-10, doi: 10.24425/pjvs.2018.125616, IF: 0,516, MNiSW: 40 pkt

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.26.** Stenzel T.\*, Dziewulska D., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Kowalczyk

J., Koncicki A.: Comparison of the immune response to vaccination with pigeon circovirus recombinant capsid protein (PiCV rCP) in pigeons uninfected and subclinically infected with PiCV. Plos ONE, 2019, 14, Article Number: e0219175, doi: 10.1371/journal.pone.0219175, IF: 2,74, MNiSW: 100 pkt

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.27.** Kowalczyk J.\*, **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Field evaluation of maternal antibody transfer from breeder turkey hens to egg yolks, egg whites, and poults. *Poult. Sci.*, 2019, 98:3150-3157, doi: 10.3382/ps/pez126, IF: 2,659, MNiSW: 140 pkt

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków i redakcji manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.28.** Kowalczyk J.\*, **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Research Note: Effect of age on the distribution of lymphocytes in the oviduct in Turkey breeder hens. *Poult. Sci.*, 2020, 99, 3009-3014, doi: 10.1016/j.psj.2020.03.005, IF: 2,659, MNiSW: 140 pkt

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, interpretacji wyników, sformułowaniu wniosków i redakcji manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.29.** **Śmiałek M.\***, Gesek M., Dziewulska D., Niczyporuk J.S., Koncicki A.: Transmissible Viral Proven-triculitis Caused by Chicken Proven-tricular Necrosis Virus Displaying Sero-logical Cross-Reactivity with IBDV. *Animals*, 2020, doi:<https://doi.org/10.3390/ani11010008>. Opublikowane online w dniu 23.12.2020, IF: 2,323, MNiSW: 100 pkt

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.30.** Tykałowski, B.\*, **Śmiałek, M.**, Kowalczyk, J., Dziewulska, D., Stenzel, T., Koncicki, A. Phytoncides in the prevention and therapy of blackhead disease and their effect on the turkey immune system. *Journal of Veterinary Research*, 2021, 65, 79-85, doi: 10.2478/jvetres-2021-0010. IF: 1,039, MNiSW: 40 pkt.



*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: wykonaniu analiz laboratoryjnych i bieżącej pomocy w ramach realizacji doświadczenia.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.31.**      **Śmiałek M.\***, Kowalczyk J., Koncicki A. The Use of Probiotics in the Reduction of Campylobacter spp. Prevalence in Poultry. *Animals*, 2021, 11:1355; doi: <https://doi.org/10.3390/ani11051355>, IF: 2,323, MNiSW: 100 pkt

*Mój wkład w powstanie tej publikacji polegał na: dokonaniu przeglądu dostępnej literatury naukowej, doborze materiałów wykorzystanych podczas opracowywania pracy przeglądowej, przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

**II.4.32.**      **Śmiałek M.\***, Gesek M., Dziewulska D., Koncicki A. Relationship between chicken proventricular necrosis virus prevalence and transmissible viral proventriculitis in broiler chickens in Poland. *Pol. J. Vet. Sci.*, praca w druku. IF: 0,516, MNiSW: 40 pkt.

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na: opracowaniu koncepcji badań i metodyki, zaplanowaniu i wykonaniu analiz laboratoryjnych, opracowaniu i interpretacji wyników, sformułowanie wniosków oraz przygotowaniu manuskryptu.*

*\* autor korespondencyjny*

5. Wykaz osiągnięć projektowych, konstrukcyjnych, technologicznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

-----

6. Wykaz publicznych realizacji dzieł artystycznych (z zaznaczeniem pozycji niewymienionych w pkt I.3).

-----

7. Informacja o wystąpieniach na krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych lub artystycznych, z wyszczególnieniem przedstawionych wykładów na zaproszenie i wykładów plenarnych.

**Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora:****II.7.1. Wystąpienia ustne:**

- II.7.1.1.** Koncicki A., Stenzel T., Tykałowski B., **Śmiałek M.**: Current problems in turkey pathology. XXII International Poultry Symposium PBWPSA, Olsztyn, 6-8.08.2010.
- II.7.1.2.** Tykałowski B., Stenzel T., **Śmiałek M.**, Koncicki A.: Chosen problems concerning ossification processes and their disorders in birds. XXII International Poultry Symposium PBWPSA, Olsztyn, 6-8.08.2010.
- II.7.1.3.** Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Stenzel T., Jankowski J., Koncicki A.: Wybrane parametry odporności komórkowej u kurcząt brojlerów w przebiegu eksperymentalnej kokcydiozy. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów". Wrocław, 01-02.07.2011.
- II.7.1.4.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Koncicki A.: Odporność lokalna błon śluzowych górnych dróg oddechowych u indyków uodpornianych przeciwko TRT. Konferencja naukowa z okazji 20-lecia SLW BIOLAB "Diagnostyka i immunoprofilaktyka chorób zakaźnych". Stare Jabłonki, 27-28.09.2011.
- II.7.1.5.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Rola gruczołu Hardera w odporności lokalnej błony śluzowej górnych dróg oddechowych u drobiu. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem pasożytów". Wrocław, 01-02.07.2011
- II.7.1.6.** Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Koncicki A.: Monitoring wybranych zakażeń wirusowych gołębi na terenie Polski. XIV Kongres PTNW - „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-5.09.2012.
- II.7.1.7.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Wybrane parametry lokalnej odporności komórkowej oraz humoralnej u indyków uodpornianych przeciwko TRT. XIV Kongres PTNW – „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-15.09.2012.
- II.7.1.8.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Fizjologia układu oddechowego ptaków grzebiących w kontekście zjawisk odporności poszczepiennej i zakażeń naturalnych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.

- II.7.1.9.** Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Pestka D.: Zastosowanie cytometrii przepływowej do oceny stanu komórek układu immunologicznego ptaków w przebiegu chorób o etiologii wirusowej. Konferencja naukowa pt. "Poznańskie dni cytometrii i immunopatologii", Poznań, 16-17.05.2013.
- II.7.1.10.** Koncicki A. **Śmiałek M.**, Pestka D.: Mykoplazmoza indyków - klinika , diagnostyka, terapia i zapobieganie. VetForum, III Kongres Praktyki Weterynaryjnej 2013.
- II.7.1.11.** Stenzel T., Szulia G., Fordońska J., Górska J., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Koncicki A.: Antybiotykooporność wybranych bakterii izolowanych od gołębi w Polsce na przestrzeni lat 2010-2013. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.
- II.7.1.12.** Koncicki A., Stenzel T., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D.: Występowanie zakażeń *Bordetela avium* u indyków i ptaków wolno żyjących. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.
- II.7.1.13.** Stenzel T., Pestka D., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Koncicki A.: Występowanie i zróżnicowanie genetyczne Chlamydia psittaci izolowanych od gołębi w Polsce. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób układu oddechowego", Wrocław, 26-27.06.2014.

## **II.7.2. Doniesienia konferencyjne:**

- II.7.2.1.** Tykałowski B., Stenzel T., **Śmiałek M.**, Koncicki A.: Wpływ zakażenia indyków adenowirusem krwotocznego zapalenia jelit i immunomodulacji na kształtowanie się odsetka śledzionowej subpopulacji limfocytów T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> syntetyzujących INF-gamma w odpowiedzi na mitogeny (badania in vitro). XIV Kongres PTNW - „Nauka Praktyce”, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 13-15.09.2012.
- II.7.2.2.** Tykałowski B., Stenzel T., **Śmiałek M.**, Pestka D., Koncicki A. Wpływ oksytetracykliny stosowanej per os na wybrane parametry układu odpornościowego indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze

szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.

**II.7.2.3.** Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Możliwość zastosowania immunomodulatorów we wspomaganiu terapii chorób bakteryjnych drobiu wywołanych przez szczepy odporne na antybiotyki. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.

**II.7.2.4.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: Wykorzystanie sortera komórek oraz techniki ELISPOT do oceny rozwoju pamięci immunologicznej komórek B IgA<sup>+</sup> po szczepieniu indyków przeciwko aMPV. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów", Wrocław, 27-28.06.2013.

### **II.7.3. Plakaty naukowe:**

**II.7.3.1.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T., Pestka D., Koncicki A.: Selected parameters of upper respiratory tract immunity in turkeys vaccinated against the TRT. Nantes, Francja, XVIII World Veterinary Poultry Assotiation (WVPA) Congress, 2013, 19-23.08.

### **Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

#### **II.7.4. Wystąpienia ustne:**

**II.7.4.1.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A. Czynniki warunkujące skuteczność programów profilaktyki swoistej w stadach indyków reprodukcyjnych i rzeźnych. Konferencja Międzynarodowa pt. "Szczepionki i szczepienia drobiu: terażniejszość i przyszłość". Puławy, 17-18.10.2014.

**II.7.4.2.** Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Koncicki A. Immunomodulacja w kontekście odporności poszczepiennej przeciwko wybranym chorobom drobiu o etiologii wirusowej. Konferencja Międzynarodowa pt. "Szczepionki i szczepienia drobiu: terażniejszość i przyszłość". Puławy, 17-18.10.2014.

**II.7.4.3.** Koncicki A., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T. Fizjologia przewodu pokarmowego i przyczyny jej zaburzeń u drobiu. VetForum, IV Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź 5-6.04.2014, 139-141.

- II.7.4.4.** Konciki A., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T.: Błędy w żywieniu jako przyczyna problemów zdrowotnych w wielkostadnej produkcji drobiu. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.
- II.7.4.5.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Koncicki A.: Wybrane polietiologiczne stany patologiczne skóry u drobiu grzebiącego – przyczyny, występowanie i ich następstwa. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.
- II.7.4.6.** **Śmiałek M.**, Śmiałek A.: Wpływ zakażenia wirusem anemii zakaźnej na funkcjonowanie układu immunologicznego i produktywność kurcząt brojlerów. Kongres Biopoint, II Kongres Praktyki Terenowej, Olsztyn 22-23.05.2015.
- II.7.4.7.** Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Stenzel T., Pestka D., Tykałowska K., Koncicki A.: Wpływ wirusa krwotocznego zapalenia jelit na układ odpornościowy indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków". Wrocław 25-26.06.2015.
- II.7.4.8.** Koncicki A., **Śmiałek M.**, Tykałowski B.: Aspekty kliniczne i epidemiologiczne kamylobakteriozy drobiu. Konferencja naukowa pt. "Kamylobakterioza – stan obecny i perspektywy zmian", Olsztyn, 23.09.2015.
- II.7.4.9.** Koncicki A., Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Stenzel T.: Wpływ żywienia i warunków chowu na odporność i stan zdrowotny indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków", Wrocław, 25-26.06.2015.
- II.7.4.10.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koopman R., Koncicki A.: New insight into protectotype strategy as a tool in chicken infectious bronchitis control. Boston, USA, AAAP Annual Meeting, 11-14.07.2015.
- II.7.4.11.** **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koncicki A.: Immunologiczne podstawy skuteczności protektotypowej strategii uodporniania kurcząt broilerów przeciwko IB. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem chorób aspektów zootechniczno-weterynaryjnych w chowie kur mięsnych i indyków", Wrocław, 25-26.06.2015.
- II.7.4.12.** Konciki A., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T.: Błędy w żywieniu jako przyczyna problemów zdrowotnych w wielkostadnej produkcji drobiu. VetForum, V Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 25-26.04.2015.

- II.7.4.13.Śmiałek M.,** Koncicki A.: Probiotyki w produkcji drobiarskiej. VetForum, VI Kongres Praktyki Weterynaryjnej, Łódź, 23-24.04.2016.
- II.7.4.14.Śmiałek M.,** Tykałowski B., Pestka D., Kowalczyk J., Stenzel T., Koncicki A.: Kształtowanie się odporności poszczepiennej przeciwko TRT u indyków o różnym statusie immunologicznym. XV Kongres PTNW, Lublin, 23.09.2016
- II.7.4.15.**Tykałowski B., **Śmiałek M.,** Kowalczyk J, Pestka D., Stenzel T., Koncicki A.: The influence of haemorrhagic enteritis virus infection on the immunological system and the associated risk of pathogenic E.coli in turkeys in Poland. 11th Turkey Science and Production Conference, UK, Chester 2017.
- II.7.4.16.Śmiałek M.,** Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A.: Mechanizmy odporności poszczepiennej przeciwko TRT u indyków o różnym statusie immunologicznym. „Zdrowe Zwierzę –Bezpieczna Żywność”, Konferencja KNOW, Wierzbica 11-13.06.2017
- II.7.4.17.Śmiałek M.,** Burchardt S., Kowalczyk J., Tykałowski B., Koncicki A.: Możliwość redukcji stopnia infekcji bakteriami zoonotycznymi u drobiu poprzez zastosowanie preparatów probiotycznych. Wyniki badań własnych z zastosowaniem preparatu Lavipan (JHJ, Polska). Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
- II.7.4.18.**Stenzel T., Dzięwulska D., Tykałowski B., **Śmiałek M.,** Kowalczyk J., Koncicki A.: Ocena prewalencji i seroprewalencji cirkowirusa gołębiego (PICV) u reprodukcyjnych gołębi pocztowych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
- II.7.4.19.**Dzięwulska D., Stenzel T., **Śmiałek M.,** Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Ocena wpływu ekstraktu z aloesu i lukrecji na przebieg zakażenia PPMV-1 u gołębi. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.
- II.7.4.20.Śmiałek M.,** Koncicki A.: Praktyczne (i naukowe) aspekty diagnostyki i immunoprofilaktyki TRT. Konferencja One Zoetis. Warszawa, 01.08.2017.
- II.7.4.21.Śmiałek M.,** Śmiałek A., Koncicki A.: Formuła Deventer - analiza wyników badań własnych i praktyczne uwagi. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy

w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.

**II.7.4.22.Śmiałek M.**, Tykałowski B., Dziewulska D., Kowalczyk J., Stenzel T., Gesek M., Koncicki A.: TVP - aktualne dane na temat sytuacji epidemiologicznej w stadach broilerów kurzych. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.

**II.7.4.23.**Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Kowalczyk J., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.: Wpływ uodporniania indyków przeciwko adenowirusowi krwotocznego zapalenia jelit na mechanizmy odpowiedzi komórkowej w warunkach dużej presji wirusa terenowego. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.

**II.7.4.24.Śmiałek M.**, Kowalczyk J., Tykałowski B., Pestka D., Koncicki A.: Koncepcja odporności protektotypowej przeciwko zakażeniom wirusami zakaźnego zapalenia oskrzeli kur Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. "Zakaźne zapalenie oskrzeli kur - ogólnoświatowy problem w przemyśle drobiarskim". PIW-PIB Puławy, 28-29.09.2018.

**II.7.4.25.Śmiałek M.**, Kowalczyk J., Koncicki A.: Probiotyki a wykluczenie kompetycyjne - wyniki badań własnych. Międzynarodowa Konferencja Prohealth IV. Jachranka, 15.02.2019.

**II.7.4.26.Śmiałek M.**, Śmiałek A., Hefta P., Gesek M., Kowalczyk J., Koncicki A.: TVP w Polsce - aktualne dane. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój, 28-30.06.2019.

**II.7.4.27.**Kowalczyk J., **Śmiałek M.**, Tykałowski B., Stenzel T., Koncicki A.: Struktura układu immunologicznego jajowodu indyczek reprodukcyjnych w zależności od okresu nieśności. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój, 28-30.06.2019.

**II.7.4.28.**Tykałowski B., **Śmiałek M.**, Kowalczyk J., Koncicki A.: Fitoncydy w profilaktyce i terapii histomonozji indyków. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu". Polanica Zdrój, 28-30.06.2019.

**II.7.4.29.Śmiałek M.**, Tykałowski B., Kowalczyk J., Koncicki A.: Mechanizm immunosupresji w przebiegu zakażeń wirusem anemii zakaźnej kurcząt.

Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Zakaźne zapalenie bursy Fabrycjusza, anemia zakaźna kurcząt oraz zakażenia cirkowirusowe ptaków”, PIW-PIB Puławy, 18-19.10.2019.

**II.7.4.30. Śmiałek M., Śmiałek A., Hefta P., Szczucińska E., Banucha Ł., Koncicki A.:** Wstępne wyniki badań nad wykorzystaniem żywej szczepionki przeciwko kolibakteriozie w stadach broilerów kurzych. Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt. „Zakaźne zapalenie bursy Fabrycjusza, anemia zakaźna kurcząt oraz zakażenia cirkowirusowe ptaków”, PIW-PIB Puławy, 18-19.10.2019.

#### **II.7.5. Wykłady przeprowadzone online:**

**II.7.5.1. Śmiałek M.:** Zasadność szczepienia broilerów kurzych przeciwko kolibakteriozie – wyniki badań własnych. Akademia Zoetis, 08.07.2020.

**II.7.5.2. Śmiałek M.:** TRT bez tajemnic - czyli nauka praktyczna - część 1. Akademia Zoetis, 27.04.2021.

**II.7.5.3. Śmiałek M.:** TRT bez tajemnic - czyli nauka praktyczna - część 2. Akademia Zoetis, 27.05.2021.

**II.7.5.4. Śmiałek M., Kowalczyk J., Koncicki A.:** Influence of vaccination of broiler chickens against *Escherichia coli* with live attenuated vaccine – a field experiment. World Poultry Virtual Congress by Hipra, 14-17.06.2021.

#### **II.7.6. Doniesienia konferencyjne:**

**II.7.6.1. Kowalczyk J., Śmiałek M., Dziewulska D., Stenzel T., Tykałowski B., Koncicki A.:** Bakterie z rodzaju *Klebsiella* spp. w patologii drobiu. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu - stare i nowe wyzwania istotne w produkcji drobiarskiej", Wrocław, 29-30.06.2017.

**II.7.6.2. Kowalczyk J., Śmiałek M., Tykałowski B., Dziewulska D., Stenzel T., Koncicki A.:** Wpływ okresu nieśności indyczek reprodukcyjnych na transfer przeciwciał matczynych na potomstwo. Konferencja naukowa pt. "Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem monitorowania zdrowia ptaków", Wrocław, 23-24.06.2018.

#### **II.7.7. Plakaty naukowe:**



**II.7.7.1. Śmiałek M., Gesek M., Dziewulska D., Kowalczyk J., Koncicki A.:**  
Transmissible viral proventriculitis in Poland. Bangkok, Tajlandia, WVPAC XXI  
Congres 2019, 16-20.09.2019

**II.7.7.2. Śmiałek M., Tykałowski B., Pestka D., Stenzel T., Furmanek D., Koopman R.,  
Koncicki A.:** Application of Infectious bronchitis (IB) vaccines at hatch day of broiler  
chickens in different vaccination schedules. Cape Town, RPA, WVPAC XIX Congres  
2015, 7-11.09.2015.

8. Informacja o udziale w komitetach organizacyjnych i naukowych konferencji  
krajowych lub międzynarodowych, z podaniem pełnionej funkcji.

-----

9. Informacja o uczestnictwie w pracach zespołów badawczych realizujących projekty  
finansowane w drodze konkursów krajowych lub zagranicznych, z podziałem  
na projekty zrealizowane i będące w toku realizacji, oraz z uwzględnieniem informacji  
o pełnionej funkcji w ramach prac zespołów.

#### **II.9.1. Kierownik projektów naukowych:**

##### **Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora:**

**II.9.1.1.** W latach 2011-2014: Grant finansowany przez Narodowe Centrum  
Nauki, w ramach konkursu PRELUDIUM, projekt pt.: Odporność swoista i  
nieswoista błon śluzowych górnych dróg oddechowych oraz wpływ odporności  
naturalnej biernej na rozwój rezystencji poszczepiennej u piskląt indyckich  
uodpornianych przeciwko TRT. Nr umowy projektu UMO-2011/01/N/NZ6/05757.  
Łączna kwota finansowania: 458 750 PLN. Projekt zrealizowany

##### **Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

**II.9.1.2.** W latach 2017-2020: Grant finansowany przez Narodowe Centrum  
Nauki, w ramach konkursu SONATA, projekt pt.: Ocena efektywności programów  
profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (TRT), w stadach  
indyków rzeźnych o różnym statusie immunologicznym, w kontekście rozwoju  
odporności przeciwwakaźnej. Nr umowy projektu UMO- 2016/23/D/NZ6/00099.  
Łączna kwota finansowania: 335 530 PLN. Projekt zrealizowany.

**II.9.1.3.** W roku 2016: Grant finansowany z KNOW (Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący), w ramach konkursu Early Stage Research, projekt pt.: Ocena efektywności programów profilaktyki swoistej zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy indyków o różnym statusie immunologicznym, w kontekście stymulacji mechanizmów odporności komórkowej. Łączna kwota finansowania: 50 000 PLN. Projekt zrealizowany.

## **II.9.2. Wykonawca w grantach naukowych:**

### **Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

**II.9.2.1.** Projekt pt: Development of humoral and cell-mediated immunity in broiler chickens immunized against aMPV, NDV and IBV with the use of MSD Animal Health vaccines. Źródło finansowania: MSD Animal Health. Okres realizacji 01.09.2014-28.02.2015. Łączna kwota finansowania badań: 60 000 EU. Projekt zrealizowany.

**II.9.2.2.** Projekt pt.: Innowacyjny biopreparat deodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych. Wpływ związków odorowych na zdrowie zwierząt. Okres realizacji 01.07.2014 - 30.06.2017. Nr projektu: PBS2|B8|14|2014. Projekt zrealizowany.

**II.9.2.3.** Projekt pt.: Ocena wpływu rekombinowanego białka kapsydu cirkowirusa gołębiego na kształtowanie się wybranych zjawisk odpornościowych u gołębi. Źródło finansowania: NCN Okres realizacji: 2015-2018. Nr projektu: 2014/15/D/NZ6/02416. Projekt zrealizowany.

**II.9.2.4.** Projekt pt.: Opracowanie strategii wykorzystania alternatywnych źródeł białka owadów w żywieniu zwierząt umożliwiającej rozwój jego produkcji na terytorium RP – Zadanie 3. Źródło finansowania: NCBR. Okres realizacji 01.11.2018-31.10.2021. Nr projektu: Gospostrateg1/385141/16/NCBR/2018. Projekt zrealizowany.

10. Członkostwo w międzynarodowych lub krajowych organizacjach i towarzystwach naukowych wraz z informacją o pełnionych funkcjach.

**II.10.1.** Od 2012 roku jestem **członkiem** Światowego Stowarzyszenia Awioopatologów - WVPA (Word veterinary poultry association)

**II.10.2.** W 2015 roku byłem **członkiem** Amerykańskiego Towarzystwa Lekarzy Weterynarii, Awioopatologów - The American Association of Avian Pathologists (AAAP).

11. Informacja o odbytych stażach w instytucjach naukowych lub artystycznych, w tym zagranicznych, z podaniem miejsca, terminu, czasu trwania stażu i jego charakteru.

**Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora:**

**II.11.1.** 13-15.11.2019 - International symposium on Avian Mycoplasmosis and Infectious Coryza. Royal GD Animal Health, Leusden, Holandia. staż naukowy w zakresie zapoznania się z diagnostyką, prevalencją i profilaktyką mykoplazmoz i koryzy drobiu

**II.11.2.** Maj-Czerwiec 2021 roku - dwu-miesięczny, doszkalający staż naukowy w dziale badawczo-rozwojowym w SLW Biolab Ostróda - staż miał na celu podniesienie kompetencji zawodowych i naukowych w kontekście diagnostyki chorób zakaźnych zwierząt hodowlanych.

12. Członkostwo w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism wraz z informacją o pełnionych funkcjach (np. redaktora naczelnego, przewodniczącego rady naukowej, itp.).

**II.12.1.** Od 2018 - Członek Rady Programowej w czasopiśmie "Polskie Drobiarstwo - Supplement dla lekarzy weterynarii". ISSN 1231-0387.

13. Informacja o recenzowanych pracach naukowych lub artystycznych, w szczególności publikowanych w czasopismach międzynarodowych.

Byłem recenzentem manuskryptów w czasopismach naukowych z listy JCR:

**II.13.1.** Polish Journal of Veterinary Sciences - IF = 0,860. Piętnaście recenzji w latach 2015-2020.

**II.13.2.** Animals - IF = 2,323. Pięć recenzji w latach 2020-2021.

**II.13.3.** Veterinary Immunology and Immunopathology - IF = 1,95. Trzy recenzje w latach 2014-2017.

14. Informacja o uczestnictwie w programach europejskich lub innych programach międzynarodowych.

-----

15. Informacja o udziale w zespołach badawczych, realizujących projekty inne niż określone w pkt. II.9.

**II.15.1.** KNOW - Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący – Konsorcjum Naukowe “Zdrowe Zwierzę – Bezpieczna Żywność” w latach 2015-2019, beneficjent.

**II.15.2.** RID - Regionalna Inicjatywa Doskonałości "Innowacyjna żywność wysokiej jakości dla zdrowia społeczeństwa i zrównoważonego rozwoju – zintegrowany program rozwoju badań naukowych i innowacji w zakresie nauk rolniczych i nauk weterynaryjnych na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie". Projekt finansowany w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego pod nazwą "Regionalna Inicjatywa Doskonałości" w latach 2019-2022, beneficjent.

16. Informacja o uczestnictwie w zespołach oceniających wnioski o finansowanie badań, wnioski o przyznanie nagród naukowych, wnioski w innych konkursach mających charakter naukowy lub dydaktyczny.

-----

### III. INFORMACJA O WSPÓŁPRACY Z OTOCZENIEM SPOŁECZNYM I GOSPODARCZYM

1. Wykaz dorobku technologicznego.

-----

2. Informacja o współpracy z sektorem gospodarczym.

**III.2.1.** Oceniam swoją współpracę z sektorem gospodarczym na bardzo wysokim poziomie. Przez lata udało mi się wypracować bliskie relacje oraz współpracę z licznymi firmami zaangażowanymi w przemysł drobiarski oraz lekarzami weterynarii, praktykami oraz samymi producentami drobiu. Wyrazem tej współpracy są liczne seminaria oraz szkolenia przeprowadzone dla osób zaangażowanych w sektor drobiarski w naszym kraju, liczne artykuły popularne-naukowe publikowane na łamach czasopism branżowych, jak również badania naukowe produktów dla drobiu. Za szczególnie istotne uznaję swoją współpracę z takimi firmami jak Zoetis, MSD, AdiFeed, Biolab Ostróda, JHJ czy ICB Pharma.

3. Uzyskane prawa własności przemysłowej, w tym uzyskane patenty, krajowe lub międzynarodowe.

-----

4. Informacja o wdrożonych technologiach.

-----

5. Informacja o wykonanych ekspertyzach lub innych opracowaniach wykonanych na zamówienie instytucji publicznych lub przedsiębiorców.

-----

6. Informacja o udziale w zespołach eksperckich lub konkursowych.

-----

7. Informacja o projektach artystycznych realizowanych ze środowiskami pozaartystycznymi.

-----

## IV. INFORMACJE NAUKOMETRYCZNE

- 1. Informacja o punktacji Impact Factor (w dziedzinach i dyscyplinach, w których parametr ten jest powszechnie używany jako wskaźnik naukometryczny) i informacja o liczbie punktów MNiSW.**

Rodzaj publikacji	Liczba publikacji	IF*	Punktacja MNiSW**
Prace oryginalne i przeglądowe z czasopism z listy JCR (lista „A”) MNiSW niewykorzystane w postępowaniu habilitacyjnym, opublikowane przed obroną pracy doktorskiej	11	7,675	230
Prace oryginalne i przeglądowe z czasopism z listy JCR (lista „A”) MNiSW niewykorzystane w postępowaniu habilitacyjnym, opublikowane po obronie pracy doktorskiej	23	34,970	1 185
Prace oryginalne i przeglądowe z czasopism z listy JCR (lista „A”) MNiSW wykorzystane w postępowaniu habilitacyjnym	6	10,856	455
Prace oryginalne z listy „B” MNiSW (tj. czasopisma bez naliczonego IF)	1	-	10
<b>Łącznie</b>	<b>41</b>	<b>53,501</b>	<b>1 890</b>

\* Współczynnik wpływu (IF, Impact Factor) podano dla roku w którym opublikowano pracę. Dla artykułów opublikowanych w roku 2021 podano ostatnio ustalony IF z roku 2020.

\*\* Punktacje MNiSW podano według komunikatu MNiSW obowiązującego dla roku publikacji.

- 2. Informacja o liczbie cytowań publikacji wnioskodawcy, z oddzielnym uwzględnieniem autocytowań.**

**IV.2.1.** Liczba cytowań według bazy Web of Science - **225**, bez autocytowań - **178**

**IV.2.2.** Liczba cytowań według bazy SCOPUS - **221**, bez autocytowań- **170**

- 3. Informacja o posiadanym indeksie Hirscha.**

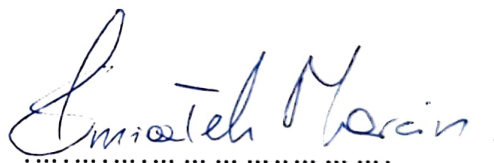
**IV.3.1.** Współczynnik Hirscha według bazy Web of Science Core Collection - **8**

**IV.3.2.** Współczynnik Hirscha według bazy SCOPUS - **9**

Informacje zawarte w pkt. IV powinny wskazywać również na bazę danych, na podstawie której zostały podane.

Przy wyborze tej bazy należy zwracać uwagę na specyfikę dziedziny i dyscypliny naukowej, w której kandydat ubiega się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Rada Doskonałości Naukowej informuje, że podawanie danych naukometrycznych – w opinii Rady Doskonałości Naukowej – jest wskazane i zalecane, wynika to także ze stosowanej powszechnie praktyki przez samych kandydatów ubiegających się o awans naukowy. Należy jednak podkreślić, że podane we wnioskach o wszczęcie postępowania awansowego dane naukometryczne nie mogą stanowić kryterium oceny dorobku naukowego Kandydata dla podmiotów doktoryzujących, habilitujących oraz samej Rady Doskonałości Naukowej, organów prowadzących postępowania w sprawie nadania stopnia lub tytułu. Zadaniem tych organów jest przede wszystkim ocena ekspercka dorobku naukowego Kandydata ubiegającego się o awans naukowy, zaś decyzja o nadaniu stopnia lub tytułu nie powinna być uzależniona od podania tych danych.



(podpis wnioskodawcy)