

AUTOREFERAT

dr n. wet. Małgorzata Marta Pomorska-Mól

Zakład Chorób Świń
Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy w
Puławach

Puławy, 2013

Autoreferat

1. Imię i nazwisko

Małgorzata Marta Pomorska-Mól

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej

2011 tytuł: specjalista z zakresu weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej, Komisja do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Puławy,

2011 dyplom ukończenia studiów podyplomowych z zakresu weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy w Puławach,

2007 stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR (obecnie UP) w Lublinie, tytuł rozprawy doktorskiej:
Wyznaczenie oraz porównanie podstawowych wskaźników farmakokinetycznych tiamuliny po podaniu doustnym u kurcząt rzeźnych

2001 tytuł: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej AR (obecnie UP) w Lublinie, odznaka wyróżniającego się absolwenta

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych

1.05.2009 do dnia dzisiejszego Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, adiunkt

1.04.2008-30.04.2009 Zakład Chorób Świń, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy, główny specjalista badawczo-techniczny

1.10.2003-17.12.2007

Zakład Farmakologii, Katedra Przedklinicznych Nauk
Weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Akademia Rolnicza, Lublin, doktorantka

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 poz.595 ze zm.)

4.1. Osiągnięcie pod tytułem

„Białka ostrej fazy w wybranych bakteryjnych, wirusowych i mieszanych zakażeniach układu oddechowego oraz diagnostyce i monitoringu stanu zdrowia świń”

tworzy jednotematyczny cykl następujących publikacji:

publikacje przeglądowe stanowiące wstęp (2):

4.1.1 Pomorska-Mól M. Białka ostrej fazy w weterynarii: przydatność w diagnostyce i monitoringu stanu zdrowia *Medycyna Wet.* 2010, 66, 822-826 (punkty MNiSW₂₀₁₀ 9, IF₂₀₁₀ brak);

Mój wkład w autorstwo: **100%** - pomysł pracy, zebranie piśmiennictwa, napisanie manuskryptu

4.1.2 Pomorska-Mól M. Białka ostrej fazy u świń – aktualny stan wiedzy. *Medycyna Wet.* 2010, 66, 732-735 (punkty MNiSW₂₀₁₀ 9, IF₂₀₁₀ brak);

Mój wkład w autorstwo: **100%** - pomysł pracy, zebranie piśmiennictwa, napisanie manuskryptu

publikacje oryginalne (7):

4.1.3 Pomorska-Mól M.*, Kwit K., Markowska-Daniel I.: Major acute phase proteins in pigs from birth to slaughter. *Bull Vet Inst Pulawy* 2012, 56, 553-557 (punkty

MNiSW₂₀₁₂ 20, IF₂₀₁₁ 0,414);

Mój wkład w autorstwo **80%** - opracowanie koncepcji badań, zaplanowanie doświadczenia, wykonanie doświadczeń na zwierzętach, wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu

*autor korespondencyjny

- 4.1.4 Pomorska-Mól M.*, Markowska-Daniel I., Kwit K., Stępniewska K., Pejsak Z.: Kinetics of the response of four positive acute phase proteins in pigs experimentally infected with toxigenic *Pasteurella multocida*. *Vet Microbiol* 2011, 152, 429-435 (punkty MNiSW₂₀₁₀ 32, IF₂₀₁₀ IF: 3,25);

Mój wkład w autorstwo **70%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie części doświadczeń na zwierzętach (zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

*autor korespondencyjny

Praca nagrodzona Doroczną Nagrodą PTNW I stopnia za rok 2011.

- 4.1.5 Pomorska-Mól M.*, Urbaniak K., Markowska-Daniel I.: Porcine acute phase protein response to experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*. *Bull Vet Inst Pulawy* 2011, 55, 371-375 (punkty MNiSW₂₀₁₀ 20, IF₂₀₁₀ 0,321);

Mój wkład w autorstwo **80%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie doświadczeń na zwierzętach (wybór zwierząt do badań, zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu

*autor korespondencyjny

Praca nagrodzona Doroczną Nagrodą PTNW I stopnia za rok 2011.

- 4.1.6 Pomorska-Mól M.*, Markowska-Daniel I., Kwit K.: Acute phase response in pigs experimentally co-infected with swine influenza virus and *Bordetella bronchiseptica* " *Centr Eur J Immunol* 2012, 3, 221-226 (punkty MNiSW₂₀₁₂ 15, IF₂₀₁₁ 0,317);

Mój wkład w autorstwo **80%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie części doświadczeń na zwierzętach (zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

*autor korespondencyjny

- 4.1.7 Pomorska-Mól M.*, Markowska-Daniel I., Kwit K. Immune and acute phase response in pigs experimentally infected with H1N2 swine influenza virus. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012, 66, 334-342 (punkty MNiSW₂₀₁₂ 20, IF₂₀₁₁ 2,441); Mój wkład w autorstwo **80%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie części doświadczeń na zwierzętach (zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu.

*autor korespondencyjny

- 4.1.8 Pomorska-Mól M.*, Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Acute phase protein response during subclinical infection of pigs with H1N1 swine influenza virus. *Vet Microbiol*, 2012, 159, 499-503 (punkty MNiSW₂₀₁₂ 40, IF₂₀₁₁ 3,327);

Mój wkład w autorstwo **80%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie doświadczeń na zwierzętach (wybór zwierząt do badań, zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych, analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu

*autor korespondencyjny

- 4.1.9 Pomorska-Mól M.*, Markowska-Daniel I., Kwit K., Stępniewska K., Pejsak Z.: Creactive protein, haptoglobin, serum amyloid A and pig major acute phase protein response in pigs simultaneously infected with H1N1 swine influenza virus and *Pasteurella multocida*. *BMC Vet Res* 2013, 9:14 (punkty MNiSW₂₀₁₂ 45, IF₂₀₁₁ 2,00); Mój wkład w autorstwo **70%** - opracowanie koncepcji badań i zaplanowanie doświadczenia, wykonanie części doświadczeń na zwierzętach (zakażanie, badanie kliniczne, badanie anatomopatologiczne), wykonanie części analiz laboratoryjnych,

analiza statystyczna i interpretacja uzyskanych wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptu

*autor korespondencyjny

Łączna punktacja 9 prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, zgodnie z rokiem opublikowania, wynosi:

- wg listy czasopism punktowanych MNiSW - **210 pkt.**
- łączny współczynnik wpływu (IF) – **12,07**

Badania finansowane były z projektu badawczego własnego (N N308 235938) „*Białka ostrej fazy w monitorowaniu stanu zdrowia świń oraz we wczesnej diagnostyce wybranych bakteryjnych i wirusowych chorób układu oddechowego*” przyznanego przez MNiSW (2010-2013), kierownik dr n. wet. Małgorzata Pomorska-Mól

4.2. Omówienie celu naukowego prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

W związku ze wzrostem konkurencyjności produkcji świń w ostatnich latach obserwuje się intensyfikację działań zmierzających do poprawy wydajności produkcyjnej, wykorzystania istniejących rezerw i obniżenia kosztów produkcji. Takie postępowanie oddziałuje stresogennie na zwierzęta. Naturalną jego konsekwencją jest obniżenie odporności świń na infekcje. Jednocześnie postęp, jaki dokonał się w zakresie zwalczania zakażeń wywoływanych przez patogeny bezwzględnie chorobotwórcze spowodował, że aktualnie chorobami, które nabierają coraz większego znaczenia są złożone zakażenia wieloczynnikowe układu oddechowego świń, powodowane przez szereg czynników infekcyjnych. Są one przyczyną ogromnych strat ekonomicznych ponoszonych przez producentów trzody chlewnej, a jednocześnie nastroczają wielu problemów diagnostycznych. Należy mieć świadomość, że jednoczesna obecność kilku patogenów powoduje, że obraz zmian klinicznych i sekcyjnych bywa mało typowy dla określonych

jednostek chorobowych. Zatarciu obrazu zmian klinicznych i sekcyjnych sprzyjają również szczepienia ochronne.

Z wymienionych powodów diagnostyka laboratoryjna pełni bardzo istotną rolę w procesach poprawy rentowności produkcji i stanowi integralną część procesu zwalczania chorób. Wyniki badań laboratoryjnych są narzędziem pomocnym nie tylko w rozpoznaniu choroby, lecz także pozwalają na prognozowanie rozwoju schorzenia i niejednokrotnie warunkują dobór terapii. W codziennej praktyce lekarz weterynarii wielokrotnie styka się z trudnością w ustaleniu etiologii choroby (bakteryjna czy wirusowa). Problemy diagnostyczne pojawiają się także przy poszukiwaniu okoliczności pogorszenia stanu ogólnego zwierząt z już ustalonym rozpoznaniem.

Postęp w naukach biomedycznych sprawił, że obecnie techniki stosowane w laboratoriach diagnostycznych są coraz nowocześniejsze i dokładniejsze. Szczególnie ważną rolę w procesach rozwoju metod diagnostycznych miały osiągnięcia w zakresie genetyki. Jednak pomimo znacznego postępu w diagnostyce mikrobiologicznej, serologicznej i molekularnej, dzięki któremu można coraz częściej wskazać konkretny czynnik etiologiczny choroby, nie zawsze możliwe jest wykonanie pełnej diagnostyki przy wykorzystaniu powyższych metod swoistych np. ze względu na dostępność testów serologicznych czy ograniczenia finansowe. Dlatego opracowanie uniwersalnych, wiarygodnych i prostych w użyciu metod monitorowania stanu zdrowia świń, niewątpliwie doprowadziłoby do wzrostu efektywności i opłacalności produkcji trzody chlewnej, gdyż wczesne rozpoznanie rozwijającego się zakażenia pozwala na szybsze wdrożenie właściwego leczenia. Z drugiej strony opóźnienie w wyborze i rozpoczęciu leczenia doprowadzić może do rozwoju bardziej nasilonych zmian czy rozprzestrzenienia choroby w stadzie.

Badania ostatnich lat oraz doświadczenia przeniesione z medycyny człowieka wskazują, że to właśnie białka ostrej fazy (BOF) mogą być jednym z narzędzi usprawniających diagnostykę chorób zwierząt, zwłaszcza w kontekście wczesnego wykrywania infekcji, w tym infekcji podklinicznych. Białka ostrej fazy są nieswoistym wykładnikiem istnienia i aktywności procesu zapalnego, dlatego pomiar ich stężeń może dostarczyć bardzo istotnych informacji o kondycji organizmu. Przydatność oznaczania stężeń BOF u ludzi została dowiedziona w przypadku wielu chorób, w których istotną komponentą jest obecność stanu zapalnego, m.in. w: reumatoidalnym zapaleniu stawów, nadciśnieniu tętniczym, cukrzycy insulinozależnej, alergiach, chorobach nowotworowych (Sobieska i

wsp., 1998; Zozulińska i wsp., 1996, Kasprzyk i wsp., 2008). Ocena stężeń BOF jest w medycynie ludzkiej wykorzystywana także do wykrywania zakażeń oraz określania rozległości urazów, a także jako marker skuteczności podjętej terapii (Strzelczyk i wsp., 1994, Franz i wsp., 2004, Atarowska i wsp., 2005).

Pojęcie „ostrej fazy” wprowadzili w 1941 roku Abernethy i Avery, którzy opisali właściwości osocza gorączkującego chorego zawierającego białko C-reaktywne. Reakcja ostrej fazy to niespecyficzna odpowiedź organizmu na zaburzenia jego homeostazy będące wynikiem zakażenia, uszkodzenia tkanek, rozrostu nowotworowego bądź zaburzeń immunologicznych. Jej celem jest przywrócenie zaburzonych fizjologicznych procesów homeostazy poprzez ograniczenie odczynu zapalnego i usunięcie czynnika, który go wywołał. Reakcja ostrej fazy stanowi element odporności nieswoistej i obejmuje najwcześniej zachodzące zmiany w odpowiedzi na uszkodzenie tkanek.

Szczególną cechą ostrej fazy jest skoordynowana synteza szeregu białek nazywanych białkami ostrej fazy. Za uruchomienie syntezy BOF, w wyniku reakcji na bodziec uszkadzający, odpowiadają cytokiny, z których największe znaczenie mają interleukina (IL) 1, IL-6 oraz czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α). W badaniach porównawczych tych trzech cytokin wykazano jednak, że tylko IL-6 stymuluje syntezę pełnego spektrum BOF i pełni kluczową rolę w ich syntezie, podczas gdy IL-1 i TNF- α hamują syntezę β -fibrynogenu, albumin i transferryny. Wykazano także, że najważniejszymi producentami cytokin - mediatorów reakcji ostrej fazy - są monocyty i makrofagi.

Białka ostrej fazy są produkowane głównie w wątrobie (95% całkowitej produkcji). Ponadto wytwarzają je monocyty, limfocyty oraz makrofagi pęcherzyków płucnych. Podstawą do zaliczenia danego białka do BOF jest zmiana jego surowiczego stężenia podczas reakcji ostrej fazy, co najmniej o 25% wartości wyjściowej.

Do BOF zalicza się m.in. białko C-reaktywne (CRP), haptoglobinę (Hp), kwaśną 1α -glikoproteinę (AGP), fibrynogen (Fb), surowiczy składnik amyloidu A (SAA), α lipoproteinę A (Apo-A-1), transferrynę, białko wiążące retinol (RBP) transtyreinę (TTR) i in. Dotychczasowe wyniki badań wskazują, że odpowiedź BOF (rodzaj reagujących białek i stopień zmiany koncentracji) jest różna u zwierząt towarzyszących, gospodarskich i ludzi. U człowieka największy wzrost stężenia wykazuje CRP oraz amyloid A, natomiast u bydła CRP praktycznie nie zmienia swego stężenia. U szczura najbardziej reaktywna jest alfa2-makroglobulina. Transferryna, która jest zaliczana do negatywnych BOF u większości gatunków ssaków, u kurcząt reaguje jak białko pozytywne. Ponadto, stężenia

poszczególnych BOF w surowicy mogą wzrastać w różnym stopniu zależnie od czynnika wywołującego reakcję ostrej fazy.

Poszczególne BOF mają różne właściwości fizykochemiczne i bardzo szeroki zakres funkcji biologicznych. Zapobiegają uogólnianiu się procesu zapalnego i ograniczają obszar uszkodzenia tkanek. Należą do nieswoistych mechanizmów humoralnej odporności wrodzonej. Wzmacniają nieswoistą odpowiedź immunologiczną poprzez opsonizację i aglutynację bakterii, zwiększanie chemotaktycznej aktywności leukocytów oraz aktywację składowych dopełniacza (Kostro i wsp., 2003, Murata i wsp., 2004). Niektóre z BOF, wiążąc się z receptorami komórek układu leukocytarnego, modulują odpowiedź immunologiczną. Wyniki badań uzyskane przez Yong i wsp. (2000) wskazują, że Hp jest jednym z czynników regulujących funkcję komórek Langerhansa. Jako ko-stymulator Hp uczestniczy w aktywacji „naiwnych” limfocytów T podczas prezentacji antygeny w węzłach chłonnych. Białka ostrej fazy uczestniczą także w procesach krzepnięcia i fibrynolizy oraz chronią organizm przed utratą żelaza, dezaktywują wolne rodniki. Priorytetowe działanie BOF polega jednak na przywracaniu homeostazy organizmu.

W medycynie ludzkiej oraz u bydła i psów analiza stężeń BOF, takich jak CRP, SAA i Hp, okazała się użyteczna w ocenie statusu zdrowotnego, monitorowaniu przebiegu choroby oraz prognozowaniu jej zejścia, a także w ocenie skuteczności terapii (Paltrinieri, 2007). Ponadto stwierdzono, że utrzymywanie się stale podwyższonego poziomu BOF w surowicy wskazuje na chroniczne pobudzenie układu immunologicznego (np. w przewlekłych infekcjach), co może zostać wykorzystane w diagnostyce (Gonzalez i wsp., 2008).

Szczegółowo istniejący stan wiedzy, zarówno w odniesieniu do świń, jak i pozostałych gatunków zwierząt oraz możliwości zastosowania analizy stężeń BOF u zwierząt przedstawiono w dwóch pracach przeglądowych, wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji, opublikowanych w Medycynie Weterynaryjnej (Autoreferat, poz. 4.1.1. i 4.1.2.)

Głównym celem badań własnych, których wyniki składają się na jednotematyczny cykl publikacji, było poznanie przebiegu odpowiedzi głównych BOF u świń tj. CRP, Hp, SAA oraz Pig-major acute phase protein (Pig-MAP), po ich zakażeniu wybranymi, ważnymi patogenami układu oddechowego oraz określenie użyteczności monitoringu stężeń BOF. Zidentyfikowanie wiarygodnych markerów różnicowania zakażeń bakteryjnych i

wirusowych u świń mogłoby przyczynić się do opracowania bardziej racjonalnych strategii terapeutycznych, co w dobie coraz większego nacisku na ograniczenie stosowania antybiotyków u zwierząt jest zagadnieniem niezmiernie istotnym z punktu widzenia ochrony zdrowia publicznego. Kolejnym celem przeprowadzonych badań własnych była ocena korelacji pomiędzy zmianami sekcyjnymi i poziomami BOF w surowicy, co pozwoliłoby ocenić ewentualną przydatność analizy stężeń BOF w ocenie stanu zdrowia świń. Określono także stężenia BOF w surowicy zdrowych świń w różnym wieku (od urodzenia do uboju).

W badaniach skupiono się na ważnych z ekonomicznego i epizootiologicznego punktu widzenia wirusowych i bakteryjnych patogenach układu oddechowego, w tym wirusie grypy świń (SIV) oraz *Pasteurella multocida* (Pm) oraz *Bordetella bronchiseptica* (Bbr), jako tych, które w istotny sposób mogą wpływać na obniżenie rentowności produkcji świń, a w odniesieniu, do których, brak było danych w omawianym zakresie. Wirusa grypy świń wybrano nie przypadkowo. Infekcje wywoływane przez różne podtypy SIV są często obserwowane w terenie, poza tym wiadomo, że uszkadzając nabłonek dróg oddechowych, usposabiają do wystąpienia nadkażeń bakteryjnych, które wikłają proces chorobowy oraz istotnie zwiększają straty ekonomiczne.

Celem doświadczenia, którego wyniki przedstawiono w publikacji **4.1.3.** (*Pomorska-Mól i wsp. Major acute phase proteins in pigs from birth to slaughter. Bull Vet Inst Pulawy 2012, 56, 553-557*) było określenie fizjologicznych stężeń głównych BOF (CRP, Hp, SAA i Pig-MAP) w surowicy zdrowych świń w różnym wieku (od 1 do 19 tygodni).

Uzyskane wyniki wykazały występowanie istotnych różnic w aspekcie koncentracji poszczególnych BOF w surowicy świń będących w różnym wieku. Uogólniając, w przypadku wszystkich analizowanych białek obserwowano istotny statystycznie wzrost stężenia wraz z wiekiem zwierząt (korelacja dodatnia). Największą osobniczą zmienność obserwowano w przypadku CRP, Hp i SAA, natomiast najmniejszą w odniesieniu do Pig-MAP. Nie stwierdzono różnic pomiędzy stężeniami analizowanych BOF u samic i samców, aczkolwiek należy zaznaczyć, że knurki użyte w doświadczeniu były kastrowane, co mogło mieć wpływ na uzyskane wyniki.

Stężenie białka CRP szczególnie wzrosło w okresie po odsadzeniu prosiąt i następnie utrzymywało się na relatywnie stałym poziomie. Stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy średnim stężeniem CRP w surowicy, a wiekiem zwierząt

($R_{\text{Spearman}}=0,30$, $p<0,05$). Koncentracja Hp także wzrastała wraz z wiekiem zwierząt do ok. 13 tygodnia życia, po czym uległa nieznacznemu obniżeniu u zwierząt starszych. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy średnim stężeniem Hp w surowicy a wiekiem ($R_{\text{Spearman}} = 0,63$, $p<0,001$). Najwyższe stężenia obserwowano u zwierząt w wieku od 13 do 16 tygodnia życia i były one prawie dwukrotnie wyższe niż w pierwszych tygodniach życia. Podobne zmiany obserwowano w odniesieniu do SAA i Pig-MAP, w obu przypadkach także stwierdzono istnienie istotnej korelacji pomiędzy stężeniem badanych białek w surowicy, a wiekiem świń.

Opublikowane wyniki stanowią pierwsze doniesienie na temat fizjologicznych stężeń CRP i SAA u zdrowych świń w różnym wieku. W chwili podejmowania badań brak było także takich informacji dla innych gatunków zwierząt.

W pracy **4.1.4.** (*Pomorska-Mól i wsp. Kinetics of the response of four positive acute phase proteins in pigs experimentally infected with toxigenic Pasteurella multocida. Vet Microbiol 2011, 152, 429-435*) skupiono się na ocenie wczesnej humoralnej odpowiedzi immunologicznej oraz odpowiedzi ostrej fazy w przebiegu eksperymentalnego, donosowego zakażenia świń z użyciem Pasteurella multocida.

Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie kinetyki zmian stężeń głównych BOF u świń, w tym CRP, Hp, SAA oraz Pig-MAP w surowicy w pierwszych 10 dniach po zakażeniu Pm. Ponadto, przeanalizowano przebieg zakażenia z uwzględnieniem stanu klinicznego zwierząt, zmian anatomopatologicznych w obrębie układu oddechowego oraz stopień rozprzestrzenienia Pm w obrębie układu oddechowego i wpływ pobranego materiału (wymazy z nosa lub migdałków) na możliwość detekcji patogenów w próbkach pobranych przyżyciowo od zwierząt zakażanych. Przeanalizowano także korelacje pomiędzy stężeniami badanych BOF, a zmianami obserwowanymi w obrębie małżowin nosowych oraz płuc.

Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wykazały istotny wzrost stężenia analizowanych BOF. Silny wzrost obserwowano nie tylko w porównaniu do grupy kontrolnej, ale także w odniesieniu do wartości oznaczonych u zwierząt klinicznie zdrowych w tym samym wieku (**publikacja 4.1.3**). W przebiegu zakażenia eksperymentalnego wywołanego przez Pm białko CRP można określić, jako bardzo szybko reagujące krótkotrwałym wzrostem stężenia, Hp jako białko szybko reagujące, z

przedłużonym spadkiem stężenia do wartości wyjściowych, SAA może być określone, jako białko bardzo szybko reagujące, a Pig-MAP jako białko reagujące umiarkowanie szybko z nieco przedłużoną odpowiedzią. Uzyskane wyniki wskazują, że określenie poziomów BOF w surowicy może bardzo szybko ujawnić toczącą się infekcję.

Wykazano silną korelację pomiędzy zmianami w płucach a poziomem Hp ($r = 0,81$; $p < 0,05$) i SAA ($r = 0,94$, $p < 0,05$) w surowicy. Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem badanych BOF a stopniem zaawansowania zmian w obrębie małżowin nosowych.

W pracy **4.1.5.** (*Pomorska-Mól i wsp. Porcine acute phase protein response to experimental infection with Bordetella bronchiseptica. Bull Vet Inst Pulawy 2011, 55, 371375*) przeanalizowano kinetykę zmian stężeń białek ostrej fazy w surowicy prosiąt po ich donosowym zakażeniu z użyciem *Bordetella bronchiseptica*.

Bordetella bronchiseptica jest czynnikiem etiologicznym nieprogresywnego zapalenia nosa u świń, a wraz z Pm może wywoływać progresywną postać tej choroby. Może być także przyczyną zapalenia płuc u świń. Z innymi patogenami (w tym z wirusem grypy świń) może przyczyniać się do wystąpienia zespołu oddechowego świń (PRDC).

W przeprowadzonym eksperymencie zwierzęta zakażano donosowo szczepem Bbr wyizolowanym od świń z kliniczną postacią zakaźnego zanikowego zapalenia nosa (zzzn). Stężenia większości analizowanych BOF wzrosły po zakażeniu. Stężenie białka CRP wzrosło ponad 8 razy, Hp ponad 5 razy, Pig-MAP trzykrotnie, natomiast SAA ponad 40-krotnie. Nie zmieniło się istotnie stężenie -1-kwasnej glikoproteiny (AGP). Stwierdzono silną korelację pomiędzy stężeniem Hp i SAA, oraz Hp i Pig-MAP (odpowiednio $r = 0,71$ i $0,79$; $p < 0,05$), a także pomiędzy Pig-MAP i SAA ($r = 0,75$; $p < 0,05$). Nie stwierdzono natomiast korelacji pomiędzy zmianami w obrębie małżowin nosowych i poziomami badanych BOF w surowicy

Podsumowując kinetykę zmian stężeń poszczególnych BOF po zakażeniu świń Bbr wykazano, że stężenie CRP wzrastało istotnie już w 1 dniu po zakażeniu jednak jego stężenie równie szybko wróciło do wartości wyjściowych (już w 3 dniu). Podobną kinetyką zmian stężeń w czasie cechowało się białko SAA. Stężenie Hp i Pig-MAP uległo istotnemu podwyższeniu w 2 dniu po zakażeniu. Podwyższona koncentracja Hp utrzymywała się do 7 dnia po zakażeniu.

Podobnie jak to miało miejsce w przypadku zakażenia z użyciem Pm, nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem analizowanych BOF, a stopniem zaawansowania zmian w

obrębie małżowin nosowych. Wyniki doświadczenia potwierdzają, że określenie poziomów BOF w surowicy może bardzo szybko ujawnić toczącą się infekcję bakteryjną. Podsumowując wyniki przeprowadzonych zakażeń (Pm i Bbr) można zauważyć znaczne podobieństwo w odpowiedzi ostrej fazy w obu przypadkach. Nie jest to zaskoczeniem biorąc pod uwagę fakt, że w obu przypadkach do zakażenia użyto bakterii wywołujących podobne zmiany patologiczne (czynniki etiologiczne zzzn).

W publikacji **4.1.6.** (*Pomorska-Mól i wsp. Acute phase response in pigs experimentally coinfectd with swine influenza virus and Bordetella bronchiseptica" Centr Eur J Immunol 2012, 3, 221-226*) prześlędzono odpowiędź ostrej fazy w przebiegu mieszanego zakażenia z użyciem podtypu H1N1 wirusa grypy świń i Bbr.

Koinfekcja przy współdziale dwóch lub większej liczby patogenów jest zjawiskiem bardzo często obserwowanym w warunkach terenowych w przebiegu zakażeń układu oddechowego u większości gatunków zwierząt, w tym u świń. Wirus grypy świń jest ważnym czynnikiem patogennym u świń, nie tylko jako patogen pierwotny, ale także jako czynnik predysponujący do wystąpienia wtórnych infekcji bakteryjnych. Predyspozycja ta jest m. in. konsekwencją uszkodzeń jakie wirus grypy wywołuje w obrębie dróg oddechowych (utrata rzęsek, wzrost ilości śluzu, martwica i metaplasja nabłonka oddechowego), co ogranicza zdolność dróg oddechowych do samooczyszczania (Opriessnig i wsp., 2011, Brown, 2000). Jak wykazano w badaniach przeprowadzonych przez Loving et al. (2010), SIV może potęgować kolonizację Bbr w układzie oddechowym świń.

W przeprowadzonym doświadczeniu 6-tygodniowe prosięta zostały zakażone donosowo podtypem H1N1 SIV oraz szczepem terenowym Bbr. Zwierzęta kontrolne otrzymały PBS jako placebo. Jest to pierwsze doniesienie dotyczące oceny odpowiedzi BOF w przebiegu infekcji mieszanej wywołanej przez wirusa grypy świń i Bbr – koinfekcji, która często może mieć miejsce w warunkach terenowych.

Poza oceną odpowiedzi ostrej fazy, przeanalizowano także przebieg kliniczny infekcji, obecność patogenów użytych do zakażenia w wymazach z nosa (siewstwo) oraz czas utrzymywania się oraz rozprzestrzenienia w/w patogenów w obrębie układu oddechowego.

W badaniach wykorzystano zarówno techniki bakteriologii klasycznej, jak i metody biologii molekularnej (PCR).

Stężenia wszystkich analizowanych BOF wzrosły po zakażeniu. Poziom białka CRP wzrósł prawie 8-krotnie, Hp około 5-krotnie, Pig-MAP 3-krotnie, natomiast SAA blisko 40-krotnie. W porównaniu do zakażenia z użyciem jedynie Bbr, istotny wzrost stężenia Hp obserwowany był wcześniej i utrzymywał się dłużej w przebiegu koinfekcji, podobnie dłuższy czas utrzymywania się podwyższonego stężenia obserwowano w przypadku CRP.

Stwierdzono silną korelację pomiędzy stężeniem Hp i SAA w surowicy oraz zmianami w płucach (odpowiednio $r=0,79$ i $0,71$, $p<0,05$), a także pomiędzy stężeniem Hp i SAA i zmianami w obrębie małżowin nosowych (odpowiednio $r=0,83$ i $0,78$; $p<0,05$), co czyni te biomarkery potencjalnie użytecznymi w ocenie stopnia zaawansowania zmian chorobowych.

W kolejnym doświadczeniu (**publikacja 4.1.7**) (*Pomorska-Mól i wsp. Immune and acute phase response in pigs experimentally infected with H1N2 swine influenza virus. FEMS Immunol Med Microbiol 2012, 66, 334-342*) analizie poddano wczesną odpowiedź immunologiczną oraz odpowiedź ostrej fazy w przebiegu monoinfekcji wirusowej, wywołanej przez wirusa grypy świń, podtyp H1N2.

Zwierzęta doświadczalne zakażano dużą dawką wirusa grypy świń, podtypu H1N2. Objawy kliniczne, charakterystyczne dla grypy świń, rozwinęły się u wszystkich zakażonych zwierząt. U zakażonych świń pierwsze swoiste przeciwciała skierowane przeciwko hemaglutyninie wirusa stwierdzono w 7 dpi, natomiast swoistą odpowiedź komórkową już w 5 dpi. Pomiędzy 3 a 7 dniem u zakażonych świń obserwowano statystycznie istotny spadek liczby limfocytów, z towarzyszącym wzrostem liczby komórek MID (middle-sized cells, komórki średniej wielkości – reprezentowane głównie przez monocyty), bez leukopenii. Stwierdzono istotnie obniżenie stosunku limfocytów do MID (LIM/MID ratio) w 3 i 7 dniu po zakażeniu. Podobne wyniki w aspekcie obniżenia stosunku LIM/MID zostały opublikowane przez Cunha i wsp. (2009), z konkluzją, że wskaźnik ten może być wykorzystany jako marker infekcji wywołanej przez wirus H1N1 u ludzi i zastosowany np. przy planowaniu kolejności badania próbek technikami molekularnymi w przypadku dużej ich liczby np. w okresie epidemii czy pandemii.

Potwierdzenie tego zjawiska oraz użyteczność wskaźnika LIM/MID u świń w aspekcie wstępnej diagnostyki grypy wymaga dalszych badań.

Stężenia CRP, Hp i SAA wzrosły istotnie u zakażanych zwierząt (pomiędzy 1 a 3 dpi), a więc w okresie, w którym obserwowano największe siewstwo wirusa. Poziom Pig-MAP pozostał niezmienny. Porównując wyniki tego doświadczenia do wyników opisanych powyżej, a także do prac innych autorów (Heegaard et al., 1998, Sorensen et al., 2006) należy zaznaczyć, że maksymalne stężenia badanych białek były niższe niż w przypadku infekcji bakteryjnych lub mieszanych, co potencjalnie może zostać wykorzystane w różnicowaniu infekcji tła wirusowego i bakteryjnego. Podobnie, jak we wcześniej opisanych zakażeniach, wykazano pozytywną korelację pomiędzy maksymalnym poziomem SAA w surowicy, a zmianami makroskopowymi w płucach, co potwierdza potencjalną przydatność tego BOF jako użytecznego markera w przyżyciowej ocenie nasilenia zmian patologicznych w płucach (np. w różnego rodzaju zakażeniach eksperymentalnych, w ocenie efektywności szczepień, w bardziej precyzyjnej ocenie stanu zdrowia świń, co może mieć wpływ na wprowadzenie odpowiednio dobranej terapii). Im wyższe stężenia SAA stwierdzano w surowicy tym bardziej nasilone zmiany obserwowano w płucach podczas badania sekcyjnego zwierząt.

W kolejnej pracy (4.1.8) (*Pomorska-Mól i wsp.: Acute phase protein response during subclinical infection of pigs with H1N1 swine influenza virus. Vet Microbiol, 2012, 159, 499-503*) prześlędzono kinetykę zmian stężeń białek ostrej fazy w przebiegu grypy świń o charakterze podklinicznym, celem oceny czy monitoring stężeń BOF pozwoli wykryć także zakażenie o takim charakterze.

Jest to pierwsze doniesienie nt. odpowiedzi ostrej fazy w przebiegu grypy o charakterze podklinicznym. Do zakażenia wykorzystano podtyp H1N1 SIV. Pięcioletniowe prosięta zakażono donosowo dawką $10^{7,3}$ TCID₅₀/zwierzę (badania wstępne wskazały, że użycie takiej dawki posiadanego przez nas szczepu donosowo generuje infekcję o charakterze podklinicznym).

W surowicy zakażonych świń od 7 dnia po zakażeniu stwierdzano obecność swoistych przeciwciał (miano HI od 20 do 160) skierowanych przeciwko hemaglutyninie oraz potwierdzono siewstwo wirusa (od 2 do 5 dnia). Zwierzęta kontrolne nie wykazywały żadnych patologicznych objawów, oraz były seronegatywne w odniesieniu

do SIV przez cały okres doświadczenia. W badaniu anatomopatologicznym stwierdzono zmiany w płucach typowe dla grypy, zlokalizowane głównie w płucu prawym, w płacie środkowym. We wszystkich przypadkach potwierdzono obecność materiału genetycznego w tkance płuc i popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelowych do 4 dnia po zakażeniu. Średni *lung score* wynosił 2.88 ± 1.83 ; (ocena wg. Madec i Kobisch, 1982).

W przebiegu podklinicznej infekcji jedynie stężenia Hp i SAA istotnie wzrosły po zakażeniu, jednak wzrost ten był krótkotrwały i nie tak spektakularny jak to miało miejsce w przypadku zakażeń bakteryjnych oraz w przebiegu zakażeń mieszanych. Podsumowując kinetykę zmian stężeń poszczególnych BOF po zakażeniu świń szczepem H1N1 białka Hp i SAA można określić jako bardzo szybko reagujące (1-2 dpi) krótkotrwałym wzrostem stężenia (ok. 3 lub 15-krotnym odpowiednio dla Hp i SAA). Poziom CRP, Pig-MAP nie uległ zasadniczym zmianom. Maksymalne stężenia Hp i SAA w surowicy zbiegły się w czasie z okresem najsilniejszego siewstwa wirusa grypy, co może czynić monitoring stężeń w/w BOF (w połączeniu z białkiem Pig-MAP, stężenie którego pozostaje bez zmian w przebiegu grypy) użytecznym w identyfikacji zwierząt najbardziej przydatnych do specyficznej diagnostyki grypy (identyfikacja zwierząt z najsilniejszym siewstwem). Stężenia Hp i SAA wzrosły istotnie zanim w surowicy można było wykryć swoiste przeciwciała. Ponadto, podobnie jak w we wcześniej opisanych doświadczeniach, stwierdzono pozytywną korelację pomiędzy zmianami w płucach, a maksymalnym stężeniem SAA w surowicy ($R\text{-Spearman} = 0.65$, $p < 0.05$), co może okazać się użyteczne w prognozowaniu przebiegu choroby oraz w ustaleniu schematu leczenia. Uzyskane wyniki wskazują, że monitoring stężeń BOF może być użyteczny także w identyfikacji zakażeń o przebiegu podklinicznym.

Praca (4.1.9.) (Pomorska-Mól i wsp. : *C reactive protein, haptoglobin, serum amyloid A and pig major acute phase protein response in pigs simultaneously infected with H1N1 swine influenza virus and Pasteurella multocida*. *BMC Vet Res* 2013, 9:14) stanowi pierwsze doniesienie nt. odpowiedzi ostrej fazy w przebiegu mieszanej infekcji wywołanej przez wirusa grypy świń oraz Pm.

W doświadczeniu, poza odpowiedzią ostrej fazy, przeanalizowano także przebieg infekcji (objawy kliniczne, parametry układu białokrwinkowego, zmiany anatomopatologiczne, siewstwo wirusa). Zwierzęta zakażano donosowo podtypem H1N1

wirusa grypy świń (izolat terenowy) oraz dermonekrotoksycznym szczepem Pm (także izolat terenowy). W wyniku zakażenia u zwierząt pojawiły się objawy ze strony układu oddechowego tj: kichanie, kaszel, przyspieszony oddech, duszność, wypływ z nosa. Wewnętrzna ciepłota ciała wzrosła powyżej 40°C u wszystkich zakażonych zwierząt. W badaniu anatomopatologicznym stwierdzono zmiany w obrębie płuc, z których wyizolowano Pm w czystej kulturze oraz potwierdzono obecność materiału genetycznego wirusa grypy świń. U świń usypianych w 10 dniu po zakażeniu potwierdzono występowanie zmian zanikowych w obrębie małżowin nosowych o różnym stopniu nasilenia. Siewstwo wirusa potwierdzono od 2 do 7 dnia.

Stężenia CRP, Hp, SAA, Pig-MAP po zakażeniu istotnie wzrosły, przy czym kinetyka zmian stężeń poszczególnych BOF była różna. Białka CRP i SAA można określić jako bardzo szybko reagujące krótkotrwałym wzrostem stężenia (1-3 dpi), podobnie jak SAA (2-3 dpi), natomiast Hp i Pig-MAP jako umiarkowanie szybko reagujące, z przedłużonym spadkiem stężenia do wartości wyjściowych. Stopień zmiany stężeń badanych BOF był generalnie wyższy w przypadku zakażenia mieszanego w porównaniu do zakażenia pojedynczego (monoinfekcji *P. multocida* lub SIV, wywołanej przez te same szczepy drobnoustrojów; 4.1.4. i 4.1.8). Obserwowano także nieznaczne przesunięcia czasowe w odniesieniu do reakcji BOF w porównaniu do zakażeń pojedynczych. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że interakcje pomiędzy patogenami powodują wystąpienie bardziej nasilonych objawów niż obserwowane w przypadku zakażeń pojedynczych.

Podobnie jak to miało miejsce w przypadku wcześniej opisanych zakażeń eksperymentalnych, wykazano istotną, pozytywną korelację pomiędzy maksymalnym poziomem SAA w surowicy a zmianami anatomopatologicznymi w płucach ($r = 0,85$ i $0,87$, $p < 0.05$; odpowiednio dla Hp i SAA). Pozytywną korelację potwierdzono także pomiędzy maksymalnym stężeniem Pig-MAP i SAA, a stanem klinicznym zwierząt (clinical score).

Wnioski

1. Monitoring stężeń większości badanych BOF w surowicy może bardzo szybko ujawnić toczącą się infekcję zarówno bakteryjną, wirusową, jaki i mieszaną.
2. Odpowiedź BOF u świń (rodzaj reagujących białek i/lub stopień zmiany koncentracji) różni się w zależności od etiologii infekcji (bakteryjna, wirusowa i/lub mieszana).
3. Analiza stężeń SAA lub Hp (wzrost stężenia) w kombinacji z Pig-MAP (stężenie niezmienione) (Indeks BOF) może być użytecznym wskaźnikiem w różnicowaniu często występujących bakteryjnych i wirusowych chorób układu oddechowego świń (zakażenia z udziałem Pm, Bbr oraz SIV).
4. Do zmian stężeń BOF dochodzi przed wystąpieniem wyraźnych objawów klinicznych oraz przed pojawieniem się swoistej odpowiedzi immunologicznej. Zmiany koncentracji BOF występują także w przebiegu zakażeń podklinicznych.
5. Monitoring stężeń BOF może być wykorzystany do oceny stanu zdrowia zwierząt np. przed ich włączeniem do nowego stada, łączeniem w grupy technologiczne czy przy selekcji zwierząt do badań naukowych. Zwierzęta z wysokimi stężeniami BOF mogą być wybrane do diagnostyki ukierunkowanej na wykrycie czynnika odpowiedzialnego za infekcję, a wczesna diagnoza i leczenie może ograniczyć rozprzestrzenianie się infekcji w stadzie.
6. Ze względu na występowanie pozytywnej korelacji pomiędzy maksymalnym poziomem SAA w surowicy i zmianami makroskopowymi w płucach, białko to wydaje się być użytecznym markerem w przyżyciowej ocenie nasilenia zmian w obrębie płuc. Oznaczanie jego stężeń może być przydatne np. w ocenie efektywności szczepień, w bardziej precyzyjnej ocenie stanu zdrowia świń, co może mieć wpływ na wprowadzenie odpowiednio dobranej terapii oraz w różnego rodzaju zakażeniach eksperymentalnych.

**Prace stanowią oryginalny element badań
nad odpowiedzią ostrej fazy u świń oraz użytecznością analizy stężeń BOF
w monitorowaniu i ocenie stanu zdrowia świń.**

Piśmiennictwo:

1. Brown I: The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Vet Microbiol* 2000, 74: 29-46.
2. Cunha BA, Pherez FM, Schoch P (2009) Diagnostic importance of relative lymphopenia as a marker of swine influenza (H1N1) in adults. *Clin Infect Dis* 49: 1454-1456.
3. Gonzalez F.H.D., Tecles F., Marinez-Subiela S., Tvarijonaviciute L.S., Ceron J.J.: Acute phase protein response in goats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008, 20, 580-584
4. Heegaard, P.M.H., Klausen, J., Nielsen, J.P., Gonzalez-Ramon, N., Pineiro, M., Lampreave, F., Alava, M.A., 1998. The porcine acute phase response to infection with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Haptoglobin, C-reactive protein, major acute phase protein and serum amyloid A protein are sensitive indicators of infection. *Comp. Biochem. Physiol.* 119B, 365-373.
5. Kostro K., Gliński Z.: Białka ostrej fazy u zwierząt. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2003.
6. Loving CL, Brockmeier SL, Vincent AL, Palmer MV, Sacco RE, Nicholson TL: Influenza virus coinfection with *Bordetella bronchiseptica* enhances bacterial colonization and host responses exacerbating pulmonary lesions. *Microb Pathogen* 2010, 49:237-245.
7. Madec, F., Kobisch M., 1982. Bilan lesionnel des pumons de porcs charcutiers a l'abbotir. *Journees de la Recherche Porcine en France* 14, 405-412.
8. Murata H., Shimada N., Yoshioka M.: Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. Journal* 2004, 168, 28-40
9. Opriessnig T, Gimenez-Lirola LG, Halbur PG: Polymicrobial respiratory disease in pigs. *Animal Health Res Rev* 2011, 12:133-148.
10. Paltrinieri S.: Early biomarkers of inflammation in dogs and cats: The acute phase proteins. *Vet. Res. Comm. (Suppl.1)* 2007, 31, 125-129
11. Sorensen, N.S., Tegtmeier, C., Andresen, L.O., Piñeiro, M., Toussaint, M.J., Campbell, F.M., Lampreave, F., Heegaard, P.M., 2006. The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113, 157-168.
12. Yong X., Li Y., Zhang Q., Stiller M.J., Wang C.L.A., Streilein W.J.: Haptoglobin is a natural regulator of Langerhans cell function in the skin *J. Dermatol. Sci.* 2000, 24, 25-37
13. Sobieska M.: Białka ostrej fazy w diagnostyce różnicowej chorób reumatycznych. *Post. Nauk Med.* 1998, 11, 81-82.
14. Zozulińska D., Majchrzak A., Markiewicz S., Sobieska M., Wiktorowicz K., Wierusz-Wysocka B.: Selected markers of inflammatory response in diabetic patients. *Diab. Res.* 1996, 31, 33-39.
15. Kasprzyk M., Dyszkiewicz W., Zwaruń D., Leśniewska K., Wiktorowicz K.: Ocena wybranych białek ostrej fazy jako czynników rokowniczych u chorych leczonych chirurgicznie z powodu niedrobnokomórkowego raka płuc. *Pneumonol. Alergoz. Pol.* 2008, 76, 321-326.
16. Strzelczyk J., Wasiak J., Modzelewski B.: Monitorowanie białka C-reaktywnego w celu wczesnego wykrywania powikłań po zabiegach operacyjnych. *Pol. Przegl. Chir.* 1994, 66, 352-357.
17. Franz A.R., Bauer K., Schalk A., Garland S.M., Bowman E.D., Rex K., Nyholm C., Norman M., Bougateg A., Kron M., Mihatsch W.A., Pohlandt F.: Measurement of interleukin-8 in combination with C-reactive protein reduced unnecessary antibiotic therapy in newborn infants: a multicenter, randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2004, 114, 1-8.
18. Atarowska M., Sobieska M., Ozachowska S., Ponikowska I., Samborski W.: Oznaczanie białek ostrej fazy oraz profilu ich glikozylacji przy ocenie skuteczności krioterapii ogólnoustrojowej u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Now. Lek.* 2005, 74, 127-130.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

5.1. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze przed uzyskaniem stopnia doktora

Po ukończeniu studiów na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej AR w Lublinie rozpoczęłam studia doktoranckie w Zakładzie Farmakologii, Katedry Przedklinicznych Nauk Weterynaryjnych tego samego Wydziału, pod opieką prof. dr hab. Cezarego Kowalskiego.

W okresie studiów doktoranckich skupiałam się na opanowaniu technik stosowanych w badaniach dotyczących farmakokinetyki i farmakodynamiki leków używanych w medycynie weterynaryjnej (głównie antybiotyków). W tym czasie rozpoczęłam także szczegółowe badania nt. farmakokinetyki tiamuliny po stosowaniu u kurcząt rzeźnych, których wyniki przedstawiłam w pracy doktorskiej oraz publikacjach naukowych.

W okresie studiów doktoranckich brałam udział w szkoleniach z zakresu nadzoru nad obrotem detalicznym i stosowaniem produktów leczniczych oraz nt. metod analitycznych w ocenie jakości leków, celem doskonalenia technik analitycznych i pogłębienia wiedzy w omawianym obszarze. Brałam także aktywny udział w realizacji kilku projektów badawczych, w tym projektu badawczego realizowanego na zlecenie firmy Chemifarma (Włochy) dotyczącego badań biorównoważności preparatu „Tamulina 10%” (Nr Umowy WKD/U-29/2005), projektu badawczego zleconego przez firmę BLOWET PESHTERA (Bułgaria) dotyczącego badań biorównoważności preparatu „Tylovet premix” prowadzonych na brojlerach i warchlakach (Nr Umowy WZF/U22/2004) oraz projektu badawczego realizowanego na zlecenie firmy Tarchomin Polfa (Polska): Ocena występowania biorównoważności pomiędzy preparatem „Erytrowet® granulat” a preparatem referencyjnym „Erytrowet®” po stosowaniu u kurcząt rzeźnych.

Efektem badań prowadzonych w tym okresie są następujące publikacje:

w czasopismach z listy JCR:

1. Kowalski C., Roliński Z., Pomorska M., Zań R. Porównanie farmakokinetyki oksytetracykliny stosowanej w postaci proszku i granulatu u świń. *Med Weter* 2005, 61, 188-190
2. Kowalski C., Pomorska M., Sławik T: “Development of HPLC with UV-VIS Detection for the Determination of the Level of Oxytetracycline in the Biological Matrix”. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2006, 18, 2721- 2731.

3. Kowalski C., Łebkowska B., Pomorska M., Immunotoxic properties of the pesticides. *Polish Journal of Environmental Studies* 2007, 16, 213-216.
4. Pomorska-Mól M., Kowalski C.: Determination of Tiamulin in Chickens' Plasma by HPLC with UV-VIS Detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2009, 7, 1023-1031.
5. Kowalski C., Pomorska-Mól M.: Evaluation of bioequivalence of two erythromycin thiocyanate formulations after oral administration to broiler chickens. *Bull Vet Inst Puławy* 2009, 53, 247-250.

w innych recenzowanych czasopismach (Lista MNiSW)

6. Kowalski C., Pomorska M., Głód B.K., Konior A.: „Zastosowanie metody fluorymetrycznej do oszacowania całkowitego potencjału antyoksydacyjnego”. *Annales UMCS. Sectio DD*, 2006, LXI, 6, 55-59.
7. Kowalski C., Pomorska M.: “Evaluation of bioequivalence of two tylosin formulations after oral administration in broiler chickens”. *Annales UMCS. Sectio DD*, 2006, LXI, 3, 25-29
8. Pomorska-Mól M., Kowalski J.C.: Wybrane aspekty farmakokinetyki tiamuliny u kurcząt rzeźnych *Med Weter*, 2009, 4, 277-280.

Sumaryczny Impact factor: 3,185

Punkty MNiSW: 87

Wyniki badań z tego obszaru były także prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci wykładów i doniesień posterowych:

1. Kowalski C., Krasucka D., Pomorska M. Wpływ penicylin na zagrożenia zdrowotne w chorobach układu krążenia i wstrząs anafilaktyczny. III Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt: Epidemiologia chorób niezakaźnych w Polsce – ich następstwa zdrowotne i społeczne. Puławy 27-28.05.2004
2. Kowalski C., Pomorska M. Wpływ kwasu acetylosalicylowego na zagrożenia zdrowotne w chorobach układu krążenia. III Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt: Epidemiologia chorób niezakaźnych w Polsce – ich następstwa zdrowotne i społeczne. Puławy 27-28.05.2004
3. Kowalski C., Zań R., Burmańczuk A., Pomorska M. Oznaczanie oksytetracykliny we krwi prosiąt metodą HPLC. XII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, Warszawa 15-17.09. 2004
4. Kowalski C., Głód B.K., Konior A., Stafiej A., Pomorska M.: Total antioxidant potential measurement using improved fluorometric assay. Międzynarodowa Konferencja Importance of pathogenetic mechanisms in the therapy and prophylaxis of diseases. Lublin, 22- 23.09. 2005.
5. Pomorska M.: Wyznaczenie oraz porównanie podstawowych wskaźników farmakokinetycznych tiamuliny po podaniu doustnym u kurcząt rzeźnych. IV Konferencja Naukowa Doktorantów – Problemy technologii produkcji roślinnej, zwierzęcej i żywności. Lublin 6-7. 04. 2006.
6. Kowalski C., Pomorska M., Łebkowska B.: Determination of OTC in biological matrices. The 5th Multidisciplinary Conference on Drug Research. Darłówko Wschodnie 15-17. 05. 2006.

7. Kowalski C., Łebkowska B., Pomorska M. Probiotics – an alternative for antibiotics. The 5th Multidisciplinary Conference on Drug Research. Darłówko Wschodnie 15-17. 05. 2006
8. Kowalski C., Pomorska M., Łebkowska B. Pozostałości sulfadiazyny oraz trimetoprimu w jadalnych tkankach warchlaków. III Konferencja szkoleniowa „Immunologia i Immunotoksykologia” Naturalne i syntetyczne modulatory odpowiedzi immunologicznej i angiogenezy. Jurata 2-3. 06. 2006
9. Kowalski C., Pomorska M., Łebkowska B. Oznaczanie erytromycyny w osoczu po jej zastosowaniu w dawkach terapeutycznych. Sympozjum: Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych. Lublin 21-22.09.2006.
10. Kowalski C., Łebkowska B., Pomorska M. Oznaczanie stężenia tylozyny w osoczu z wykorzystaniem techniki HPLC. Sympozjum: Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych Lublin 21-22.09.2006.
11. Kowalski C, Łebkowska B., Pomorska M.: Wlewy i iniekcje dożylnie cz. I i II. VII Konferencja Lekarzy Weterynarii, Serock 30.09.2006
12. Kowalski C., Pomorska M., Łebkowska B.: Niekorzystny wpływ antybiotyków stosowanych w weterynarii na środowisko oraz ich oznaczanie w matrycach biologicznych. II Międzynarodowe Sympozjum Naukowe „Środowiskowe źródła zagrożeń zdrowotnych” Kazimierz Dolny 26-28.04.2007
13. Pomorska-Mól M., Kowalski C.: Podstawowe wskaźniki farmakokinetyczne tiamuliny u kurcząt rzeźnych. Materiały Kongresowe: XIII Kongres PTNW „Od nauki do praktyki” 18-20 września 2008. Olsztyn

Zakończeniem tego etapu moich badań było uzyskanie stopnia doktora nauk weterynaryjnych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej AR (obecnie UP) w Lublinie 17 grudnia 2007 roku na podstawie pracy *„Wyznaczenie oraz porównanie podstawowych wskaźników farmakokinetycznych tiamuliny po podaniu doustnym u kurcząt rzeźnych”*, której promotorem był prof. dr hab. Cezary Jacek Kowalski.

5.2. Pozostałe osiągnięcia naukowo-badawcze po uzyskaniu stopnia doktora

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych zostałam zatrudniona w Zakładzie Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, kierowanym przez prof. dr hab. Zygmunta Pejsaka, w którym pracuję do chwili obecnej.

W związku ze zmianą miejsca pracy zmianie uległ także profil moich zainteresowań naukowych. Od samego początku pracy w Instytucie koncentruje się na zagadnieniach związanych z patogenezą zakaźnych chorób świń oraz badaniach nad odpowiedzią immunologiczną świń i wpływem różnych czynników na jej przebieg.

Ponadto, w Krajowym Laboratorium Referencyjnym ds. Afrykańskiego Pomoru Świń (ASF) odpowiadam za diagnostykę serologiczną ASF.

Główne tematy badawcze, na których koncentruję się obecnie, poza badaniami nad odpowiedzią ostrej fazy, obejmują:

5.2.1. Badania nad humoralną i komórkową swoistą odpowiedzią immunologiczną świń oraz wpływem wieku i statusu immunologicznego na zmienność wybranych poszczepiennych wskaźników odpornościowych

Stosunkowo duża śmiertelność noworodków świń w okresie od urodzenia do odsadzenia stanowi niezmiennie istotny problem, zarówno z naukowego, jak i praktycznego punktu widzenia i znacząco wpływa na rentowność produkcji świń. Według danych z piśmiennictwa okresu tego nie przeżywa ponad 10% nowonarodzonych prosiąt. Przyczyn tego zjawiska upatruje się m.in. w niższej sprawności układu immunologicznego młodych zwierząt.

U świń, w związku z obecnością łożyska typu nabłonkowo-kosmówkowego, brak jest wewnątrzmacicznego transferu przeciwciał od matki do płodu. W naturalnych warunkach prosięta rodzą się więc z hypo- bądź agammaglobulinemią. Ponadto w związku z brakiem stymulacji antygenowej podczas rozwoju prenatalnego ich układ immunologiczny jest niedojrzały, określany jako „dziewiczy”.

Wśród sposobów poprawy ochrony przeciwwzakaźnej osesków wymienia się możliwie najwcześniejsze po urodzeniu zapewnienie prosiętom odpowiedniej dawki dobrej jakościowo siary, szczepienie matek oraz immunizację prosiąt, aczkolwiek skuteczność immunoprofilaktyki prowadzonej w tak młodym wieku wciąż jest dyskusyjna. Potencjalne straty wynikające ze zbyt wczesnej immunizacji prosiąt mogą być wynikiem obniżonej skuteczności szczepień, będącej konsekwencją zarówno niższej sprawności układu immunologicznego noworodków, jak i częściowej lub całkowitej neutralizacji antygenu szczepionkowego przez przeciwciała siarowe. Z drugiej strony nie można pominąć zjawiska wczesnego naznaczenia (priming) limfocytów prosiąt nawet w obecności wysokiego poziomu przeciwciał matczynych. W konsekwencji naznaczenia limfocytów rewakcynacja przeprowadzona w późniejszym wieku może powodować silniejszą i szybszą odpowiedź immunologiczną.

Badania dotyczące odpowiedzi immunologicznej i sprawności układu immunologicznego u świń są niezwykle istotne także w związku z obserwowanym narastaniem oporności drobnoustrojów na powszechnie stosowane chemioterapeutyki i wynikającą stąd konieczność racjonalizacji ich stosowania.

W realizowanych przeze mnie badaniach ocenie poddano wpływ różnych czynników, m.in.: rodzaju antygeny (atenuowany, inaktywowany, bakteryjny, wirusowy), wieku, statusu immunologicznego (obecności przeciwciał laktogennych w surowicy prosiąt lub ich braku) na humoralną i komórkową odpowiedź immunologiczną świń. Badania te były realizowane w ramach projektu badawczego MNiSW nr NN 308 275934, w którym byłam głównym wykonawcą.

Dotychczasowym efektem badań realizowanych w ramach tego obszaru są następujące prace:

1. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Bednarek D.: Humoral response and changes in IL-2 receptor's expression after immunisation of piglets with maternal antibodies against Aujeszky's Disease. *Bull Vet Inst Pulawy* 2009, 53, 169-174.
2. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Evaluation of humoral and antigen-specific T-cell responses after vaccination of pigs against pseudorabies in the presence of maternal antibodies. *Veterinary Microbiology* 2010, 144, 450-454.
3. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Pejsak Z.: The influence of age and maternal antibodies on the postvaccinal response against swine influenza viruses in pigs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2011, 142, 81-86.
4. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Rachubik J., Pejsak Z.: Effect of maternal antibodies and pig age on the antibody response after vaccination against Glässer disease. *Veterinary Research Communication* 2011, 35, 337-43.
5. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Pejsak Z., Effect of age and maternally derived antibody status on humoral and cellular immune responses to vaccination of pigs against *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Veterinary Journal* 2012, 194, 128-130

Summary Impact factor: 8,574 Punkty MNiSW: 144

Wyniki badań z tego obszaru u były także prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci wykładów i doniesień posterowych:

1. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kowalczyk A., Stępniewska K.: Early priming of T-cells with the attenuated viral vaccine-implication to cell-mediated immunity of pigs. *Materiały III Międzynarodowej Konferencji Epizootycznej, Turcja, 2009.*
2. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Lipowski A.: Antigen-specific T-cell response after vaccination of pigs against pseudorabies in the presence of maternal antibodies.

- Mat. XI Congress of International Society of Developmental and Comparative Immunology, Praga, 28.06-03.07. 2009.
3. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Wpływ odporności laktogennej na kształtowanie się odporności czynnej prosiąt po odsadzeniu. *Mat. V Konferencji Naukowo-Szkoleniowej „Wpływ ksenobiotyków i zagrożeń cywilizacyjnych na mechanizmy odporności i angiogenezy oraz możliwości zapobiegania”*. Jurata 2009.
 4. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kowalczyk A, Rachubik J: Influence of age and maternal antibodies on the postvaccinal response against influenza viruses in pigs. *Materiały 9th International Veterinary Immunology Symposium. Japonia, Tokyo, 16-20.08.2010*
 5. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kowalczyk A. : Dynamika utrzymywania się matczyńskich przeciwciał przeciwko hemaglutyninie typu 1 wirusa grypy świń u prosiąt. *Materiały VI Konferencji naukowo-Szkoleniowej „Aktualne problemy profilaktyki, diagnostyki i terapii chorób zapalnych, infekcyjnych i nowotworowych”*, Jurata 20-23. 05. 2010
 6. Pomorska-Mól M., Kwit K., Markowska-Daniel. The influence of age and maternal antibodies on postvaccinal response against swine influenza viruses in pigs. *XIV International Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology*, Gdańsk, 2011
 7. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kwit K., Z. Pejsak: Influence of age and maternal antibodies on the humoral and cellular response after vaccination of pigs against erysipelas *Materiały 22nd International Pig Veterinary Society Congress. Bacteriology & Bacterial Diseases. Korea, Jeju, 10-13.06.2012, pp784.*
 8. Pomorska-Mól M. Wpływ przeciwciał matczyńskich oraz wieku zwierząt na rozwój i utrzymywanie się odporności poszczepiennej u świń. *Materiały XIV Kongresu PTNW. Wrocław 2012, 09, 13-15.*
 9. Pomorska-Mól M., Kwit K., Markowska-Daniel. Wpływ wieku i przeciwciał laktogennych na rozwój i utrzymywanie się odpowiedzi poszczepiennej po zastosowaniu inaktywowanej szczepionki przeciwko chorobie Glässera. *Materiały II Konferencji Naukowej „Farmakologiczne i środowiskowe aspekty racjonalnej terapii”*. Krynica Zdrój 11-14.12.2012.

5.2.2. Badania nad wpływem wieku zwierząt oraz ich stanu fizjologicznego na wartość wybranych wskaźników immunologicznych

W wyniku realizacji badań w ramach tego obszaru tematycznego przeprowadziłam szereg doświadczeń, w których przeanalizowałam zmienność wybranych wskaźników układu immunologicznego w zależności od wieku i stanu fizjologicznego zwierząt.

W związku z brakiem w piśmiennictwie danych dotyczących kształtowania się wielu wskaźników immunologicznych u zdrowych świń w okresie od urodzenia do końca tuczu, w badaniach skupiono się na ocenie parametrów układu leukocytnego (liczba leukocytów, limfocytów, granulocytów, odsetek granulocytów i limfocytów), z uwzględnieniem zmienności poszczególnych subpopulacji limfocytów (CD3+, CD21+, CD4+, CD8+, CD4+CD8+), a także zmienności parametrów immunologicznych siary i

mleka w okresie całej laktacji. Ocena kształtowania się w/w parametrów pozwoliła na określenie różnic i/lub podobieństw w obrębie układu immunologicznego trzody chlewnej w zależności od wieku zwierząt. Wyniki dotychczas wykonanych badań jednoznacznie wskazują na dużą dynamikę zmian analizowanych wskaźników, w zależności od wieku i stanu fizjologicznego świń (wczesna, późna laktacja)

Efektom badań prowadzonych w ramach tego obszaru są następujące publikacje:

1. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Pejsak Z: Dynamic changes of immunoglobulin concentrations in pig colostrum and serum around parturition. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 13, 21-27, 2010.
2. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M.: Shifts in immunoglobulins levels in the porcine mammary secretions during whole lactation period. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 54, 345-349, 2010
3. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Bednarek D. Flow cytometric analysis of leukocytes in porcine mammary secretions. *Bull Vet inst Pulawy* 2010, 54, 188-192
4. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Age-dependent changes in the relative and absolute size of lymphocyte subsets in the blood of pigs from birth to slaughter. *Bull Vet inst Pulawy* 2011, 55, 305-310.

Sumaryczny Impact factor: 1,119

Punkty MNiSW: 80

Wyniki badań z tego obszaru były także prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci wykładów i doniesień posterowych:

1. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Dynamic changes of IgA, IgM and IgG concentrations in pigs colostrum and serum around parturition. *Materiały XI Congress of International Society of Developmental and Comparative immunology, Praga, 28.06-03.07. 2009*
2. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M.: Age dependent changes in relative and absolute size of leukocyte subsets in the porcine peripheral blood. *Materiały 21st International Pig Veterinary Society (IPVS) Congress. Kanada, Vancouver 18-21.07.2010.*
3. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Kształtowanie się wybranych wskaźników immunologicznych w wydzielinie gruczołu mlekowego loch. *Materiały VI Konferencji naukowo-Szkoleniowej "Aktualne problemy profilaktyki, diagnostyki i terapii chorób zapalnych, infekcyjnych i nowotworowych", Jurata 20-23. 05. 2010.*

5.2.3. Badania nad patogenezą oraz profilaktyką swoistą zakaźnych chorób świń

Kolejnym kierunkiem badań, którym zajmowałam się po uzyskaniu stopnia doktora są badania nad patogenezą chorób zakaźnych świń, zwłaszcza grypy świń. Od 2010 roku

uczestniczę w realizacji międzynarodowego projektu badawczego pt.: Pathogenesis and transmission of influenza in pigs (FLUPIG) finansowanego w ramach 7 Programu Ramowego UE (2010-2015), którego celem jest ustalenie roli świń w generacji nowych wariantów genetycznych wirusów grypy o potencjalnie pandemicznym znaczeniu. Ponadto w ramach realizacji projektu prowadzone są badania nad mechanizmami patogenezы i transmisji różnogatunkowych wirusów grypy w organizmie świni. Byłam także wykonawcą w projekcie badawczym dotyczącym badań nad patogenezą oraz odpowiedzią immunologiczną świń w przebiegu wieloczynnikowego zespołu zaburzeń oddechowych finansowanym przez MNiSW (N N308 097537, 2009-2012).

Zmienność genetyczna wirusów grypy oraz ich zdolność do przełamywania barier gatunkowych stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego i była uzasadnieniem dla podjęcia badań nad mechanizmami patogenezы i transmisji wirusów grypy w ramach projektu FLUPIG. W piśmiennictwie można spotkać się ze stwierdzeniami, że świnię odgrywa ważną rolę w międzygatunkowych zakażeniach wirusami grypy, co może być determinowane obecnością w ich drogach oddechowych receptorów wiążących zarówno ludzkie, jak i ptasie antygeny wirusa grypy. Celem badań, w których obecnie uczestniczę w charakterze wykonawcy, jest określenie 1: czynników determinujących wydajność replikacji wirusów grypy o różnym pochodzeniu w organizmie świni, z uwzględnieniem sekwencji aminokwasów i konstelacji genów determinujących zdolność replikacji różnych wirusów grypy w organizmie świni, a także specyfiki receptorów komórkowych, do których się one przyłączają; 2. cech determinujących zdolność wirusów do zakażeń kontaktowych świnia-świnia. Badania pozwolą na określenie, jaka jest rola świń w generacji nowych wariantów genetycznych wirusów grypy. W pierwszym etapie badań podjęto próbę adaptacji, drogą seryjnych pasaży, szczepu A/duck/Bawaria/77, reprezentującego podtyp H1N1 (prototypowego szczepu grypy świń o ptasim pochodzeniu genów) do organizmu świni. Dotychczasowe wyniki wskazują, że przekroczenie bariery gatunkowej jest trudniejsze niż to się powszechnie sądzi, w warunkach eksperymentalnych nie doszło dotychczas do efektywnej transmisji wirusa grypy ptasiej w populacji świń.

W obrębie tego obszaru zainteresowań prowadziłam także badania związane z udziałem wirusa PCV2 w patogenezie zespołu martwicy uszu u świń oraz jego roli w zaburzeniach rozrodu u świń. W pracach skupiłam się szczególnie na ocenie skuteczności immunoprofilaktyki swoistej w aspekcie ograniczenia niepożądanych zjawisk w

przebiegu zakażenia PCV2. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano pozytywny wpływ szczepień przeciwko zakażeniom wywoływanym przez PCV2 zarówno na wskaźniki produkcyjne związane z rozrodem, jak i w aspekcie ograniczenia strat powodowanych przez zespół martwicy uszu świń.

Współuczestniczę także, jako wykonawca, w realizacji projektu badawczego MNiSW „Wpływ zakażenia loch szczepem H1N2 wirusa grypy świń na przebieg ciąży i ewentualne zaburzenia w rozrodzie” (N N308 564140) w ramach, którego prowadzone są badania nad przebiegiem ciąży u świń po eksperymentalnym zakażeniu podtypem H1N2 wirusa grypy świń, drogą donosową i dotchawiczą, w różnych okresach ciąży (1, 2 i 3 miesiąc ciąży). U świń problemy w rozrodzie mogą być konsekwencją działania różnych czynników, zarówno zakaźnych i niezakaźnych. Spośród czynników infekcyjnych największe straty ekonomiczne powodują wirusowe infekcje ciężarnych loszek i macior. W prowadzonych w ramach projektu eksperymentach badany jest mechanizm patogenyzy zakażeń prośnych loszek wirusem grypy świń zależnie od podtypu wirusa, dawki, drogi zakażenia oraz okresu prośności. W celu oszacowania wpływu infekcji na efektywność produkcji analizowane są wybrane wskaźniki rozrodu i wskaźniki produkcyjne. Nie mniej ważnym zadaniem jest próba ustalenia częstotliwości występowania poronień w przebiegu grypy świń w warunkach terenowych, w krajowych fermach trzody chlewnej.

Dotychczasowym efektem badań realizowanych w ramach tego obszaru są następujące prace:

1. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I.: Znaczenie profilaktyki swoistej w ograniczaniu rozprzestrzeniania się chorób zwierząt. W: Immunologia kliniczna: wybrane problemy. Wydawca: Edycja s.c. Olsztyn 2010, p.321-334.
2. Pejsak Z., Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Porowski M., Kończak R: Ear necrosis reduction in pigs after vaccination against PCV2. Res Vet Sci 2011, 91, 125-128.
3. Pejsak Z. Kusior G., Pomorska-Mól M., Podgórska K.: Influence of long-term vaccination of a breeding herd of pigs against PCV2 on reproductive parameters Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 15, No. 1 (2012), 37-42
4. Markowska-Daniel I, Pomorska-Mól M., Marian Porowski, Michał Oleszkiewicz, Stanisław Karbowski, Kwit K. Profilaktyka swoista grypy świń – za i przeciw. Magazyn Weterynaryjny – Choroby świń monografia. 2012, 06, 626-630.

Wyniki badań z tego obszaru były także prezentowane na konferencjach krajowych i międzynarodowych w postaci wykładów i doniesień posterowych:

1. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Kowalczyk A., Urbaniak K., Kwit K., Pejsak Z.; *In vivo* adaptation of wholly influenza virus to the pig. Materiały 22nd International Pig Veterinary Society Congress. Virology & Viral Diseases. Korea, Jeju, 1013.06.2012, pp.432.
2. Markowska-Daniel I., K. Kwit, Pomorska-Mól M.: Analiza występowania zaburzeń w rozrodzie loch związanych z zakażeniem wirusem grypy świń. Materiały: VII Konferencji naukowej "Aktualne problem immunologii doświadczalnej i klinicznej" Olsztyn 2012, 05, 24-26.

5.2.4. Badania nad wpływem fitoterapii, nutraceutyków i związków o potencjalnym działaniu immunomodulacyjnym na wyniki produkcyjne oraz układ immunologiczny świń.

Poza badaniami dotyczącymi immunoprofilaktyki swoistej, w mojej pracy naukowej koncentruję się także na ocenie wpływu różnych substancji, zwłaszcza pochodzenia naturalnego, na układ immunologiczny oraz wskaźniki produkcyjne u świń. Konsekwencją presji środowiska i braku swoistej odporności matczynej u nowo narodzonych prosiąt jest duża zachorowalność i śmiertelność noworodków w okresie od urodzenia do odsadzenia. Z tego powodu wiele ośrodków naukowo-badawczych na świecie prowadzi badania nad możliwością sterowania ich odpowiedzią immunologiczną. Do badań klinicznych wprowadza się nowe substancje modulujące odpowiedź immunologiczną i podnoszące odporność ustroju na infekcje. Efektem ich działania jest zmiana odpowiedzi immunologicznej organizmu, bądź to w postaci podniesienia jej poziomu i przedłużenia czasu trwania, lub też skrócenia czasu niezbędnego dla powstania swoistej odporności na patogeny środowiskowe. Ma to szczególnie duże znaczenie w okresie neonatalnym, kiedy to prosięta narażone są na występowanie szeregu schorzeń wywoływanych przez drobnoustroje warunkowo chorobotwórcze. Prawidłowa czynność układu odpornościowego chroni organizm przed rozwojem zakażeń (bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych), pomimo praktycznie stałej obecności mikroorganizmów na błonach śluzowych, nabłonku, skórze czy w środowisku. Jak wskazują na to wyniki badań wielu autorów nowym, obiecującym, trendem w ochronie zdrowia zwierząt, w tym świń, jest podawanie nutraceutyków. Są to suplementy diety pochodzenia naturalnego, łączące w sobie wartości żywieniowe i cechy środków farmaceutycznych, posiadające

właściwości prozdrowotne. Zawierają one substancje o właściwościach immunomodulujących, do których zalicza się np. immunoglobuliny żółtka jaja kurzego tzw. immunoglobuliny Y. Jednym z podstawowych mechanizmów działania wielu z tych substancji jest również ich działanie antyoksydacyjne, prowadzące do ochrony struktur komórkowych przed procesami degeneracji, wynikającymi z zanieczyszczenia środowiska, procesów starzenia i innych procesów niekorzystnych dla zdrowia. Skuteczność działania nutraceutyków u prosiąt wiązana jest z modulacją odpowiedzi immunologicznej i poprawą odporności w pierwszych tygodniach życia, co może sprzyjać ograniczaniu strat zwierząt.

Ponadto w ostatnich latach obserwowany jest wzrost zainteresowania preparatami naturalnymi, w tym preparatami ziołowymi i możliwością ich efektywnego stosowania u zwierząt rzeźnych, co w dużej mierze jest konsekwencją wprowadzonego w 2006 r. przez Unię Europejską zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Dodatkowym stymulatorem badań w obszarze fitoterapii wydaje się być obserwowany w ostatniej dekadzie wzrost zainteresowania konsumentów żywnością o wysokich walorach dietetycznych. Spośród substancji biologicznie czynnych występujących w ziołach wymienia się: garbniki, saponiny, terpeny, flawonoidy, alkaloidy, olejki eteryczne, śluzы roślinne i pektyny. Aby wykorzystać wszystkie ich właściwości najczęściej stosuje się mieszanki różnych ziół. Zwiększa to zakres działania takiego dodatku. Pozytywne działanie ziół próbuje się wykorzystać także w żywieniu świń. Kolejnym zagadnieniem jest zastosowanie ziół w żywieniu prosiąt po odsadzeniu i warchlaków, celem czynnego pobudzenia ich układu immunologicznego, a także poprawy parametrów produkcyjnych. W piśmiennictwie światowym pojawiają się doniesienia o możliwym pozytywnym wpływie preparatów ziołowych podawanych w okresie szczepień profilaktycznych na poszczepienną odpowiedź immunologiczną (właściwości adiuwancyjne). Biorąc pod uwagę fakt, że poziom odporności poszczepiennej koreluje z odpornością przeciwwzakaźną możliwość stymulacji odpowiedzi poszczepiennej byłaby niewątpliwie korzystna.

W ramach tego obszaru zainteresowań prowadziłam, i dalej prowadzę badania nad wpływem różnych substancji pochodzenia naturalnego na poziom odporności u loch i potomstwa oraz efektywność profilaktyki swoistej u świń, a także wybrane parametry produkcyjne.

Dotychczasowym efektem badań realizowanych w ramach tego obszaru są następujące publikacje i komunikaty konferencyjne:

1. Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Gardziński G., Kuberka Z., Kwit K., Wasielek R., Wojciechowski J., Pejsak Z.: Nutraceutyki w ochronie zdrowia świń. *Lecznica Dużych Zwierząt* 2009, 4, 33-38
2. Markowska – Daniel I., Pomorska-Mól M., Kwit K., Urbaniak K., Pejsak Z.: Fitoterapia – nowy trend w żywieniu loch w okresie okołoporodowym. *Życie weterynaryjne* 2010, 85, 159-62
3. Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I. Influence of iron and immunomodulators on growth performance and immunohematological status of piglets. *Central Eur J Immunol* 2010, 35, 63-68
4. Heinzl I., Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M.: Immunglobuline aus dem Ei: Care-Pakete für die Jüngsten. *Tierärztliche Umschau* 2012, 67, 264-268.
5. Pomorska-Mól M., Kwit K.: Adiuwancyjne właściwości ziół. *Med Weter* 2011, 67, 449-452.
6. Kwit K., Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I. Ocena wpływu wybranych ziół na efektywność profilaktyki swoistej u świń. Materiały: VII Konferencji naukowej "Aktualne problem immunologii doświadczalnej i klinicznej" Olsztyn 2012, 05, 24-26.

Sumaryczny Impact factor: 0,273

Punkty MNiSW: 43

5.2.5. Badania nad wpływem antybiotyków na sprawność wybranych mechanizmów układu immunologicznego na modelu świni domowej.

Pierwszym badaczem, który zainteresował się wpływem substancji przeciwdrobnoustrojowych na układ immunologiczny był Miecznikow, który już w roku 1908 prowadził badania nad immunomodulacyjnymi właściwościami guaniny. Jedną z najwcześniejszych publikacji dotyczących modulacji systemu odpornościowego przez antybiotyki została ogłoszona w 1950 r. przez Munoza i Geistera. Badacze ci wykazali, że stężenie chlorotetracykliny, wynoszące 0,01 µg/ml, znacząco hamowało fagocytozę *Staphylococcus albus* przez ludzkie leukocyty *in vitro*. W innych badaniach wykazano, że humoralna odpowiedź anamnestyczna na toksoid laseczki tężca była osłabiona u pacjentów, którzy dziennie otrzymali 2-4 g chloramfenikolu, oraz po podaniu trimetoprimu (Hauser, 1982). Zagadnieniem tym zajmowali się także inni naukowcy wykazując, że leki przeciwdrobnoustrojowe mogą modulować odpowiedź układu odpornościowego. Niestety większość z przeprowadzonych do dziś badań, to badania wykonywane *in vitro* i dotyczące wpływu

wybranych antybiotyków głównie na nieswoistą odpowiedź układu immunologicznego. Nie ma zatem jednoznacznego dowodu, że działanie antybiotyków i innych związków przeciwdrobnoustrojowych w leczeniu u ludzi, a tym bardziej w warunkach terenowych u zwierząt, po stosowaniu w dawkach terapeutycznych, jest identyczne z wynikami badań laboratoryjnych. Zgodnie z moją wiedzą do chwili obecnej brak jest danych na temat możliwego oddziaływania antybiotyków na swoistą odpowiedź immunologiczną u świń, w tym także w aspekcie swoistej odpowiedzi poszczepiennej. W nielicznych pracach badawczych prowadzonych w tym zakresie na modelu mysim, analizowano wpływ jedynie długotrwałego (3-4 tygodniowego) podawania antybiotyków na odpowiedź swoistą, nie analizowano natomiast wpływu antybiotyków podawanych w dawkach najczęściej zalecanych. W badaniach przeprowadzonych na ptakach uzyskano sprzeczne wyniki. Ponieważ w produkcji trzody chlewnej antybiotyki są często stosowane, niejednokrotnie łącznie ze szczepionkami, a antybiotykoterapia nie stanowi ewidentnego przeciwwskazania do szczepień, niezmiernie istotne wydaje się zbadanie słuszności takiego postępowania.

Obecnie brak jest naukowych podstaw pozwalających jednoznacznie potwierdzić lub wykluczyć immunomodulujący efekt antybiotyków *in vivo* u świń, dlatego też w Zakładzie Chorób Świń PIWet-PIB podjęto tego rodzaju tematykę w ramach realizacji projektu badawczego NCN zatytułowanego: Wpływ antybiotykoterapii na sprawność wybranych mechanizmów układu immunologicznego na modelu świni domowej (*Sus scrofa domestica*) – UMO-2012/05/B/NZ7/03114), w którym pełnię rolę **głównego wykonawcy** (2013-2016).

Zgodnie z najlepszą wiedzą będą to pierwsze badania dotyczące próby określenia oddziaływania antybiotyków na układ odpornościowy, przeprowadzone na świniach. W ramach projektu badawczego przeprowadzone zostaną kompleksowe badania zmierzające do określenia wpływu chemioterapeutyków powszechnie stosowanych w medycynie weterynaryjnej na funkcjonowanie układu odpornościowego trzody chlewnej. Potwierdzenie lub też wykluczenie wpływu badanych antybiotyków na układ immunologiczny jest niezwykle ciekawe ze względów naukowych i umożliwi przeprowadzenie dalszych badań i prac badawczo-rozwojowych, które mogą doprowadzić do racjonalizacji stosowania antybiotyków oraz poprawić skuteczność immunoprofilaktyki, nie tylko u trzody chlewnej, ale także pozostałych zwierząt gospodarskich oraz ludzi. W przyszłości wyniki tych badań mogą także zaowocować

opracowaniem nowych strategii terapeutycznych, wykorzystujących poza działaniem antydrobnoustrojowym, także ewentualne działania immunomodulujący tej grupy leków.

Publikacje ogłoszone w ramach tego obszaru:

1. Pomorska-Mól M., Pejsak Z. Effects of antibiotics on acquired immunity *in vivo* – current state of knowledge. *Pol J Vet Sci* 2012, 15(3), 583-588

Sumaryczny Impact factor: 0,565

Punkty MNiSW: 20

6. Udział w projektach badawczych

Projekty VII Programu Ramowego UE

FP7-KBBE.2010.1.3-06, No. 258084, FLUPIG: Patogeneza i transmisja wirusów grypy u świń - **wykonawca**

Projekty Badawcze MNiSW i NCN

N N308 235938 pt.: Białka ostrej fazy w monitorowaniu stanu zdrowia świń oraz we wczesnej diagnostyce wybranych bakteryjnych i wirusowych chorób układu oddechowego, **kierownik**

N N308 275934 pt.: Interferencja odporności biernej i czynnej po immunizacji prosiąt wybranymi atenuowanymi oraz inaktywowanymi szczepionkami bakteryjnymi i wirusowymi, **wykonawca**

N N308 097537 pt.: Badania nad patogenezą oraz odpowiedzią immunologiczną świń w przebiegu wieloczynnikowego zespołu zaburzeń oddechowych, **wykonawca**

N N308 293537 pt.: Charakterystyka odpowiedzi immunologicznej i przebiegu infekcji atenuowanymi szczepami wirusa klasycznego pomoru świń (CSFV), **wykonawca**

N N308 564140 pt.: Wpływ zakażenia loch szczepem H1N2 wirusa grypy świń na przebieg ciąży i ewentualne zaburzenia w rozrodzie, **wykonawca**

UMO-2012/05/B/NZ7/03114 Wpływ antybiotykoterapii na sprawność wybranych mechanizmów układu immunologicznego na modelu świni domowej (*Sus scrofa domestica*), **główny wykonawca**

Projekty badawcze prowadzone w ramach działalności statutowej

S/080 pt.: Wpływ adiuwancyjnych właściwości wybranych fitomodulatorów na efektywność profilaktyki swoistej wybranych chorób świń, **kierownik**

7. Zestawienie dorobku publikacyjnego przed i po uzyskaniu stopnia doktora

Rodzaj publikacji	Przed uzyskaniem stopnia dr	Po uzyskaniu stopnia dr	Razem
Artykuły w czasopismach z listy JCR	3	25	28
Artykuły w czasopismach punktowanych zgodnie z listą MNiSW, bez IF	2	16	18
Artykuły monograficzne w recenzowanym wydawnictwie zbiorowym	3	4	7
Artykuły popularnonaukowe w czasopismach branżowych o zasięgu krajowym	6	21	27
Wykłady wygłoszone na konferencjach			
-międzynarodowych	0	2	2
-krajowych	1	3	4
Doniesienia posterowe na konferencjach			
-międzynarodowych	6	13	19
-krajowych	5	10	15
ŁĄCZNIE	26	94	120

8. Zestawienie dorobku publikacyjnego z uwzględnieniem liczby punktów i współczynnika wpływu (IF) (zgodnie z rokiem opublikowania, uwzględniono jedynie publikacje z listy MNiSW)

Rodzaj publikacji	Liczba	Punkty MNiSW	IF
Oryginalne prace twórcze	29	585	26,976
(w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej)	(7)	(192)	(12,07)
Artykuły przeglądowe	17	124	1,192
(w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej)	(2)	(18)	(0)
ŁĄCZNIE	46	709	28,168
(w tym wykorzystane w rozprawie habilitacyjnej)	(9)	(210)	(12,07)

9. Zestawienie całości dorobku publikacyjnego z uwzględnieniem miejsca w szeregu autorskim oraz języka publikacji

	Przed uzyskaniem stopnia dr	Po uzyskaniu stopnia dr	Razem
Pierwszy i/lub jedyny autor	2	69	71
Drugi autor	12	16	28
Trzeci lub kolejny autor	12	9	21
Prace w języku polskim	20	55	75
Prace w języku obcym (angielski, niemiecki)	6	39	45

10. Działalność dydaktyczna

W trakcie studiów doktoranckich (2003-2007), po odbyciu 6-cio miesięcznego kursu pedagogicznego, brałam czynny udział w przygotowywaniu i prowadzeniu ćwiczeń, w tym ćwiczeń laboratoryjnych, ze studentami III i IV roku kierunku weterynaria, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, AR w Lublinie (obecnie UP). W okresie tym (4 lata) prowadziłam ćwiczenia z 2 przedmiotów: *farmakologia weterynaryjna* oraz *farmacja weterynaryjna*.

11. Działalność organizacyjna

W trakcie mojej pracy zawodowej brałam czynny udział w działalności organizacyjnej Instytutu. W roku 2011 decyzją Dyrektora PIWet-PIB zostałam powołana w skład zespołu opracowującego ankietę oceny pracownika naukowego Instytutu.

W pracach tego zespołu uczestniczę do chwili obecnej.

Brałam aktywny udział w organizacji następujących konferencji:

1. Doroczna Konferencja Krajowych Laboratoriów Referencyjnych ds. afrykańskiego pomoru świń 18.05.2010, Puławy, Polska
2. Doroczna Konferencja Krajowych Laboratoriów Referencyjnych ds. klasycznego pomoru świń 19-20.05.2010, Puławy, Polska

Ponadto, dzięki osobistemu zaangażowaniu w przygotowanie aplikacji grantowej Zakład Chorób Świń PIWet-PIB otrzymał środki na zakup:

1. automatycznego czytnika płytek Digital RID Plate Reader (środki przyznane przez MNiSW – 15 590zł) – autor wniosku
2. cytometru przepływowego (środki przyznane przez FNiTP – 500 000zł) – współautor wniosku
3. wyposażenia laboratorium wirusologicznego klasy CL3+ (środki przyznane przez FNiTP – 1 650 000zł) - współautor wniosku

12. Nagrody i wyróżnienia

Young Investigator Scholarship in Veterinary Medicine, 2012, przyznana przez Pfizer Animal Health, nagroda dla obiecującego młodego naukowca za dotychczasowy dorobek naukowy i realizowane projekty badawcze

Nagroda PTNW II stopnia, 2012, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za pracę:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Effect of age and maternally derived antibody status on humoral and cellular immune responses to vaccination of pigs against *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Veterinary Journal* 2012, 194, 128-130

Nagroda PTNW II stopnia, 2012, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za cykl prac:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Acute phase protein response during subclinical infection of pigs with H1N1 swine influenza virus. *Veterinary Microbiology*, 2012, 159, 499-503.

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kwit K. Immune and acute phase response in pigs experimentally infected with H1N2 swine influenza virus. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 2012, 66, 334-342.

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Rachubik J.: Development of early humoral and cell-mediated immunity in piglets with experimentally induced

subclinical swine influenza. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2012, 56, 133-137.

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kwit K.: Acute phase response in pigs experimentally co-infected with swine influenza virus and *Bordetella bronchiseptica* " *Central European Journal of Immunology* 2012, 37 (3), 221-226

Nagroda PTNW I stopnia, 2011, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk

Weterynaryjnych, za cykl 2 prac:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Kwit K., Stępniewska K., Pejsak Z.: "Kinetics of the response of four positive acute phase proteins in pigs experimentally infected with toxigenic *Pasteurella multocida*", opublikowaną w *Veterinary Microbiology* 2011, 152, 429-435

Pomorska-Mól M., Urbaniak K., Markowska-Daniel I.: „Porcine acute phase protein response to experimental infection with *Bordetella bronchiseptica*”, opublikowaną w *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 2011, 55, 371-375

Nagroda PTNW II stopnia, 2011, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk

Weterynaryjnych za prace:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Rachubik J., Pejsak Z.: „Effect of maternal antibodies and pig age on the antibody response after vaccination against Glässer disease”, opublikowaną w *Veterinary Research Communications* 2011, 35, 337-343

Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Pejsak Z.: "The influence of age and maternal antibodies on the postvaccinal response against swine influenza viruses in pigs", opublikowaną w *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2011, 142, 81-86

Nagroda PTNW III stopnia, 2011, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk

Weterynaryjnych za pracę:

Pejsak Z., Markowska-Daniel I., Pomorska-Mól M., Porowski M., Kołacz R.: „Ear necrosis reduction in pigs after vaccination against PCV2”, opublikowaną w *Research in Veterinary Science* 2011, 91, 125-128.

Nagroda III stopnia PTNW, 2010, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk

Weterynaryjnych, za pracę:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: Evaluation of humoral and antigen-specific T-cell responses after vaccination of pigs against pseudorabies in the presence of maternal antibodies *Vet Microbiol* 144, 450-454

Nagroda PTNW w kategorii wybitna monografia z zakresu nauk weterynaryjnych,

2010, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za cykl 2 prac:

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I. 2010. Prenatalna ontogeneza limfocytów u trzody chlewnej. *Med Weter* 66, 17-21

Pomorska-Mól M., Markowska-Daniel I. 2010. Status immunologiczny prosięcia w pierwszych tygodniach życia. *Med Weter* 66, 593-596

Nagroda PTNW w kategorii wybitna monografia z zakresu nauk weterynaryjnych, 2009, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych za publikację:

Markowska-Daniel I., Kowalczyk A., Pomorska-Mól M.: Aktualne dane na temat zakażeń wywołanych przez wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego opublikowaną w *Medycynie Weterynaryjnej* 2009, 11.

Nagroda I stopnia PTNW, 2009, przyznana przez Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych, za pracę:

Pomorska-Mól M, Kowalski C. Determination of tiamulin in chickens' plasma by HPLC with UV-VIS detection. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 32, 1023-1031

Sześciokrotnie Nagroda Dyrektora Państwowego Instytutu Badawczego w konkursie na najlepsze publikacje pracowników naukowych Państwowego Instytutu Badawczego (w latach 2009, 2010, 2011)

13. Szkolenia

1. Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Zakład Farmakologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, 28.01.2013-1.02.2013, Analiza biochemiczna krwi u zwierząt oraz metody przygotowania próbek osocza i surowicy do analizy chromatograficznej.
2. Puławy, Seminarium organizowane przez firmę Promega GmbH, Testy komórkowe: metody i narzędzia do badania odpowiedzi komórkowej, 30.10.2012.
3. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, 1.10.2012-3.10.2012, Charakterystyka białek: elektroforeza SDS PAGE i „western blotting”
4. Kazimierz Dolny, Polskie Towarzystwo Cytometrii, Warsztaty z zakresu cytometrii przepływowej i mikroskopii konfokalnej, 7.09.2012,
5. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, Zakład Cytologii Klinicznej, 25.01.2011-29.01.2011, Podstawy cytometrii przepływowej – zastosowanie w diagnostyce
6. Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego w Warszawie, Zakład Cytologii Klinicznej, 20.10.2011-21.10.2011, Podstawy immunologii

7. Puławy, Warsztaty organizowane przez Thomson Reuters nt. Platformy Web of Knowledge 5, 5.12.2011
8. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, Zakład Chorób Świń, 25.10.2010-27.10.2010, szkolenie praktyczne organizowane przez BD w zakresie wykonywania analiz na cytometrze BD FACS Canto II
9. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, 2009-2011, praktyczne podyplomowe szkolenie specjalizacyjne z zakresu weterynaryjnej diagnostyki laboratoryjnej
10. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, liczne szkolenia dotyczące systemu jakości (w tym m. in.: Opracowywanie i modyfikowanie procedur badawczych, postępowanie z odpadami weterynaryjnymi, chemicznymi i promieniotwórczymi, wymagania normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 + Ap1:2007, walidacja i sterowanie jakością w metodach serologicznych, walidacja i sterowanie jakością w metodach mikrobiologicznych – szacowanie niepewności, akredytacja laboratoriów badawczych- wymagania normy PN EN ISO/IEC 17025:2005, i in.)
11. Kraków, StatSoft Polska, Metody wizualizacji danych, 15.02.2010
12. Kraków, StatSoft Polska, Statystyka w medycynie – metody analizy wariancji i analizy regresji. 23-25.-2.2010
13. Kraków, StatSoft Polska, Statystyka w medycynie – metody podstawowe, 09-10.09.2009.
14. Lublin, Centrum Edukacji, Zapewnienie jakości badań, nadzorowanie wyposażenia i spójność pomiarowa w laboratorium, 5.11.2009
15. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, szkolenie organizowane przez firmę Witko i Caliper Life Sciences, Analizy kwasów nukleinowych i białek z zastosowaniem technologii LabChip HT, 26.06.2009
16. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, Zakład Chorób Bydła i Owiec, 2008, Cytometria przepływowa – zasady metody, immunofenotypowanie leukocytów krwi obwodowej.
17. Kazimierz Dolny, Flow cytometry Workshop, 29.05.2008,
18. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, szkolenie organizowane przez firmę LGC Standards, Szczepy wzorcowe w laboratoriach mikrobiologicznych i badania biegłości laboratoriów, 25.04.2008,

19. Lublin, Centrum Edukacji, Zarządzanie kompetencjami technicznymi oraz walidacja metod i zapewnienie jakości wyników badań w laboratorium mikrobiologicznym, 26-27.08.2008
20. Państwowy Instytut Weterynaryjny w Puławach, szkolenie organizowane przez firmę Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Liofilizacja – teoria i praktyka, 17.09.2008.
21. Kraków, Projekt Phare PL2003/004-379/04.01.03; 11-14.09.2006, Nadzór nad obrotem detalicznym i stosowaniem produktów leczniczych
22. Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Farmakologii, 01.2004, Metody analityczne w ocenie jakości leków

14. Udział w konferencjach międzynarodowych i krajowych

1. Puławy, III Międzynarodowa Konferencja Naukowa pt: Epidemiologia chorób niezakaźnych w Polsce – ich następstwa zdrowotne i społeczne. 27-28.05.2004
2. Warszawa, XII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, 15-17.09. 2004
3. Lublin, Międzynarodowa Konferencja „Importance of pathogenetic mechanisms in the therapy and prophylaxis of diseases, 22-23.09. 2005
4. Lublin, Nowoczesne techniki badawcze w ocenie jakości produktów leczniczych 21-22.09.2006.
5. Lublin, IV Konferencja Naukowa Doktorantów – Problemy technologii produkcji roślinnej, zwierzęcej i żywności. AR Lublin, 2006 - **referat ustny**
6. Kazimierz Dolny, II Międzynarodowe Sympozjum Naukowe „Środowiskowe źródła zagrożeń zdrowotnych” 2007
7. Puławy, XIV Międzynarodowa Konferencja Naukowa: Postęp genetyczny, optymalne żywienie oraz ochrona zdrowia – podstawy konkurencyjnej produkcji świń, 10-11.06.2008
8. Olsztyn, XIII Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych, 18-20.09. 2008
9. Kazimierz Dolny, II Konferencja „Immunologia i Immunoterapia” 29.05.2008

10. Puławy, XV Międzynarodowa Konferencja Naukowa: Ochrona zdrowia, środowiska i dobrostanu w intensywnej produkcji trzody chlewnej. 9-10.06.2009
11. Czechy, Praga, XI International Congress of the International Society of Developmental and Comparative Immunology, 28.06-04.07. 2009 – **referat ustny**
12. Jurata, V Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Wpływ ksenobiotyków i zagrożeń cywilizacyjnych na mechanizmy odporności i angiogenezy oraz możliwości zapobiegania. 28-31.05.2009
13. Puławy, II Sympozjum Farmacja weterynaryjna w Polsce, 15-16.10.2009

14. Gdańsk, XIV Congress of the Polish Society of Experimental and Clinical Immunology, 16-18.06.2010 - **referat ustny**
15. Japonia, Tokio, 9th International Veterinary Immunology Symposium. 16-20.08.2010
16. Jurata VI Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Aktualne problemy profilaktyki, diagnostyki i terapii chorób zapalnych, infekcyjnych i nowotworowych”, 20-23.05.2010
17. Puławy, Doroczna Konferencja Krajowych Laboratoriów Referencyjnych ds. klasycznego pomoru świń 19-20.05.2010
18. Puławy, Doroczna Konferencja Krajowych Laboratoriów Referencyjnych ds. afrykańskiego pomoru świń 18.05.2010
19. Puławy, XVI Międzynarodowa Konferencja Naukowa – Wykorzystanie osiągnięć naukowych w praktyce – warunek konkurencyjnej produkcji trzody chlewnej, 7-8.06.2011
20. Kościelisko k/Zakopanego, Konferencja Naukowo-Szkoleniowa „Nowe kierunki badań w farmakologii i toksykologii weterynaryjnej” 8-11.12.2011 - **referat ustny**
21. Kazimierz Dolny, II Zjazd Polskiego Towarzystwa Cytometrii, 7-8.09.2012
22. Wrocław, XIV Kongres Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych 13-15.09.2012 - **referat ustny**
23. Peru, Lima, 10th American Congress of Immunology ALAI 2012, 29.05-2.06.2012.
24. Krynica Górská, II Konferencji naukowej „Farmakologiczne i środowiskowe aspekty racjonalnej terapii” 11-14.12.2012 - **referat ustny**
25. Austria, Wiedeń, International Meeting on Emerging Diseases and Surveillance, 15-18.02.2013

Wykaz całości dorobku naukowego, wraz z dokładnymi informacjami o osiągnięciach naukowo-badawczych znajduje się w Załączniku nr 3 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

Małgorzata Tomonius-Moń