

Załącznik nr 2 do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego

## **AUTOREFERAT**

**dr Michał Janusz Czopowicz**

Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Warszawa, 2018

### **1. Imię i nazwisko:**

Michał Czopowicz

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

- tytuł: lekarz weterynarii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa, 2007 r.

- stopień naukowy: doktor nauk weterynaryjnych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Warszawa 2013 r., tytuł rozprawy doktorskiej: „Wieloczynnikowy model epidemiologiczny do oceny ryzyka utraty płodów w stadach kóz”

- tytuł: specjalista europejski z zakresu „Zarządzanie zdrowiem małych przeżuwaczy”, European College of Small Ruminant Health Management, 2014 r.

- tytuł: specjalista krajowy z zakresu „Choroby psów i kotów”, Komisja do Spraw Specjalizacji Lekarzy Weterynarii, Puławy, 2015 r.

### **3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/ artystycznych.**

Od 2012 r. do dnia dzisiejszego – Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie na stanowiskach:

- od 1.12.2012 r. do 31.01.2013 r. – Zakład Chorób Zakaźnych i Epidemiologii Weterynaryjnej, Katedra Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, asystent
- od 1.02.2013 r. do 30.09.2013 r. – Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, asystent z doktoratem
- od 1.10.2013 r. do dnia dzisiejszego – Samodzielna Pracownia Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SGGW w Warszawie, adiunkt

**4. Wskazanie osiągnięcia\* wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):**

**a) tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,**

jedno-tematyczny cykl publikacji objęty tytułem:

Wpływ zakażenia kóz lentiwirusem małych przeżuwaczy na humoralną odpowiedź immunologiczną i stężenia wybranych białek ostrej fazy

**b) (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa, recenzenci wydawniczy):**

1. **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. 2018. Decline of maternal antibodies to small ruminant lentivirus in goat kids. *Animal Science Journal*, Jun 6. doi: 10.1111/asj.13038. (IF<sub>2016</sub> **1,402**; MNiSW<sub>2016</sub> **30**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w pozyskaniu środków na badania, zaplanowaniu całości badań, opracowaniu planu badań, wykonaniu badań serologicznych i opracowaniu wyników (w tym wykonaniu całej analizy statystycznej i epidemiologicznej) oraz napisaniu artykułu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

2. **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Witkowski L., Moroz A., Markowska-Daniel I., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. 2017. Fall in antibody titer to small ruminant lentivirus in the periparturient period in goats. *Small Ruminant Research* 147:37-40; doi: 10.1016/j.smallrumres.2016.12.006. (IF<sub>2017</sub> **0,974**; MNiSW<sub>2016</sub> **30**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w pozyskaniu środków na badania, zaplanowaniu całości badań, opracowaniu planu badań, wykonaniu badań serologicznych i opracowaniu wyników (w tym wykonaniu całej analizy statystycznej i*

*epidemiologicznej) oraz napisaniu artykułu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

3. **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Bagnicka W., Kaba J. 2017. Influence of true within-herd prevalence of small ruminant lentivirus infection in goats on agreement between serological immunoenzymatic tests. *Preventive Veterinary Medicine* 144:75–80; doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.017. (IF<sub>2017</sub> **1,924**; MNiSW<sub>2016</sub> **45**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w pozyskaniu środków na badania, zaplanowaniu całości badań, opracowaniu planu badań, wykonaniu badań serologicznych i opracowaniu wyników (w tym wykonaniu całej analizy statystycznej i epidemiologicznej) oraz napisaniu artykułu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

4. **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Moroz A., Mickiewicz M., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Bagnicka E., Kaba J. 2018. Use of two commercial caprine arthritis-encephalitis immunoenzymatic assays for screening of arthritic goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 30:36-41; doi: 10.1177/1040638717729397. (IF<sub>2016</sub> **1,219**; MNiSW<sub>2016</sub> **30**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w pozyskaniu środków na badania, zaplanowaniu całości badań, opracowaniu planu badań, wykonaniu badań laboratoryjnych i klinicznym badaniu zwierząt, opracowaniu wyników (w tym wykonaniu całej analizy statystycznej i epidemiologicznej) oraz napisaniu artykułu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

5. **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Stefaniak T., Bagnicka E., Kaba J. 2017. Haptoglobin and serum amyloid A in goats with clinical form of caprine arthritis-encephalitis. *Small Ruminant Research* 156:73-77; doi: 10.1016/j.smallrumres.2017.09.013. (IF<sub>2016</sub> **0,974**; MNiSW<sub>2016</sub> **30**)

*Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w pozyskaniu środków na badania, zaplanowaniu całości badań, opracowaniu planu badań, wykonaniu badań laboratoryjnych i klinicznym badaniu zwierząt, opracowaniu wyników (w tym wykonaniu*

*całej analizy statystycznej i epidemiologicznej) oraz napisaniu artykułu (autor korespondencyjny). Mój udział procentowy szacuję na 75%.*

Łączna punktacja prac wchodzących w skład jednotematycznego cyklu publikacji:

- według części A wykazu czasopism naukowych zawierający historię czasopisma z publikowanych wykazów za lata 2013-2016 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 27 stycznia 2017 roku: **165 punktów**
- łączny *impact factor* wg listy JCR: **6,493**

Dla publikacji z roku 2018 (publikacje nr 1 i 4) podano aktualny IF z roku 2017.

Artykuły stanowiące osiągnięcie naukowe oraz oświadczenia współautorów, określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie pracy znajdują się w załączeniu.

**c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

### **Wstęp**

Zapalenie stawów i mózgu kóz (ang. caprine arthritis-encephalitis, CAE) jest przewlekłą, wolno postępującą chorobą kóz, wywołaną przez wirus należący do rodziny *Retroviridae*, rodzaju *Lentivirus*, klasyfikowany obecnie wraz z wirusem odpowiedzialnym za chorobę Meadi-Visna do gatunku określanego mianem lentiwirusa małych przeżuwaczy (ang. small ruminant lentivirus, SRLV). Zakażenie SRLV następuje najczęściej drogą pionową na skutek spożycia przez koźlęta siary lub mleka od zakażonej matki. Możliwe jest również zakażenie drogą poziomą, przez długotrwały bezpośredni kontakt między zwierzętami oraz przez skażone kubki udojowe (Adams i wsp., 1983; McGuire i wsp., 1990; Rowe i wsp., 1992; Rowe i East, 1997). Wirus wykazuje tropizm do układu monocytarno-makrofagowego określonych tkanek i narządów – głównym miejscem docelowym są stawy, w szczególności stawy kończyn i staw szczytowo-potyliczny, wymię (Lerondelle i wsp., 1989), płuca i ośrodkowy układ nerwowy. Proces chorobowy rozwija się bardzo powoli i kozy wykazują

pierwsze objawy kliniczne dopiero po 1-2 lub więcej latach od zakażenia. Przebieg kliniczny zakażenia dotyczy jednak jedynie części kóz, pozostałe pozostają bezobjawowe (Crawford i Adams, 1981).

Niezależnie od występowania objawów klinicznych wszystkie kozy zakażone stanowią źródło wirusa, a więc są zagrożeniem dla innych osobników w stadzie. Zakażenie SRLV jest dożywotnie, a choroba nieuleczalna więc jedynym sposobem zwalczania choroby jest eliminacja zwierząt zakażonych ze stada. Wymaga to jednak zastosowania metod diagnostycznych dobrze identyfikujących kozy zakażone, dlatego diagnostyka CAE opiera się na metodach laboratoryjnych. Obecnie istnieją dwa podejścia diagnostyczne – badanie wirusologiczne bezpośrednio wykrywające obecność SRLV we krwi lub tkankach oraz badanie serologiczne wykrywające obecność swoistych przeciwciał w surowicy lub mleku zwierząt zakażonych (de Andrés i wsp., 2005; Herrmann-Hoesing, 2010). Choć optymalne wydaje się podejście diagnostyczne oparte na połączeniu obu grup metod (Brinkhof i wsp., 2010; Panneum i Rukkwamsuk, 2017), obecnie na rynku dostępne są jedynie testy serologiczne.

Komercyjne testy serologiczne oparte są na metodzie immunoenzymatycznej ELISA i wykorzystują kilka kombinacji antygenów. Istnieją testy oparte na mieszaninie różnych antygenów wirusowych np. ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test (ID.vet Innovative Diagnostics, Grabels, France), testy oparte na rekombinowanym antygenie transbłonowym (gp45, TM) i kapsydu (p28, CA) np. IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA) oraz testy oparte na glikoproteinie osłonki (gp135, antygen powierzchniowy, SU) np. Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit, cELISA (VMRD, Pullman, WA, USA). Testy serologiczne, choć ogólnie charakteryzują się wysoką trafnością, mają kilka poważnych ograniczeń.

Po pierwsze nie nadają się do diagnostyki kóz młodych, ponieważ w pierwszym okresie życia mogą dawać wyniki fałszywie dodatnie na skutek wykrywania przeciwciał siałkowych. Jednakże wiek kóz do którego może następować tego typu zafałszowanie nie został jak dotąd określony i było to tematem pierwszego artykułu w moim jednotematycznym cyklu publikacji.

Po drugie warunkiem ich prawidłowego działania jest obecność we krwi odpowiednio wysokiego poziomu przeciwciał. Wiadomym jest, że humoralna reakcja immunologiczna rozwija się po zakażeniu powoli i przez co najmniej kilka tygodni (a często dłużej) po

zakażeniu wynik testu serologicznego jest zwykle fałszywie ujemny (Rimstad i wsp., 1983). Również w toku trwającego już zakażenia poziom przeciwciał może z różnych powodów spadać. Jedną z takich sytuacji może być okres ciąży, szczególnie okres okołoporodowy, gdy produkcji siary towarzyszy spadek we krwi miana przeciwciał swoistych dla różnych patogenów. Zostało to już dawno wykazane w przebiegu zakażenia wirusem białaczki bydła (Burridge i wsp., 1982) ale nie prowadzono jak dotąd tego typu badań w przypadku zakażenia SRLV. Stało się to tematem drugiego artykułu w moim jednotematycznym cyklu publikacji.

Obecność na rynku testów serologicznych wykrywających przeciwciała przeciwko różnym antygenom rodzi pytanie o wzajemną zgodność ich wyników. Przeprowadzone dotychczas badania wykazały, że wszystkie one charakteryzują się wysoką trafnością – czułość wynosi zwykle 80-90%, a swoistość przekracza zwykle 90% (Brinkhof i van Maanen, 2007; de Andres i wsp., 2005). Jednakże nie prowadzono jak dotąd badań bezpośrednio porównujących wyniki dostępnych testów komercyjnych uzyskane w populacjach o różnej prevalencji zakażenia. Dlatego było to tematem trzeciego artykułu w moim jednotematycznym cyklu publikacji.

Jedynie u 20-30% kóz zakażonych pojawiają się z czasem objawy kliniczne (Crawford i Adams, 1981). Choć nie jest jasne co odpowiada za podatność na ich wystąpienie, dotychczasowe badania wykazały, że kozy z klinicznie jawnymi zapaleniami stawów wykazują bardzo wysoki poziom przeciwciał przeciwko glikoproteinom osłonki wirusa (gp135, ang. surface antygen, SU oraz gp45, ang. transmembrane protein, TM). W szczególności wysoki poziom przeciwciał klasy IgG1 skierowanych przeciwko gp135 wydaje się dobrym wskaźnikiem rozwoju klinicznie jawnego zapalenia stawów. Wykazano to jak dotąd jedynie z zastosowaniem testów laboratoryjnych, przeznaczonych do celów naukowych, a nie badano tego zjawiska z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych testów ELISA swoiście wykrywających przeciwciała skierowane przeciwko glikoproteinie osłonki wirusa. Możliwość ich zastosowania stała się więc tematem czwartego artykułu w moim jednotematycznym cyklu publikacji.

Zakażenia wirusowe są jednym z wielu czynników mających wpływ na syntezę w wątrobie wysoce zróżnicowanej grupy białek nazywanych zbiorczo białkami ostrej fazy (ang. acute phase proteins, APP). Skutkiem zakażenia jest więc zmiana stężenia białek ostrej fazy – możliwy jest zarówno wzrost jak i spadek ich stężenia. Do podstawowych białek ostrej fazy u kóz zalicza się haptoglobinę (Hp) i amyloid surowiczy typu A (SAA) (González i wsp., 2008;

Rahman i wsp., 2010; Heller i Johns, 2015). W medycynie ludzkiej białka ostrej fazy znalazły zastosowanie jako nieswoiste markery stanu zapalnego (Gabay i Kushner, 1999). Wykazano również zmiany ich stężenia w przebiegu różnych chorób u zwierząt gospodarskich (Horadagoda i wsp., 2011; Jawor i Stefaniak, 2011), w tym u kóz (Hashemnia i wsp., 2011; Hosseini i wsp., 2015; Jeber i wsp., 2016), co spowodowało pojawienie się na rynku testów immunoenzymatycznych do określania stężenia Hp i SAA u tych zwierząt, choć testy te zarejestrowane są jedynie do celów naukowych a nie diagnostycznych. Ponieważ CAE przebiega z powolnie rozwijającym się stanem zapalnym pomiar stężenia białek ostrej fazy może być pomocny w diagnostyce, choć jedyne jak dotąd przeprowadzone badania wykazały tylko niewielki wzrost stężenia Hp u kóz zakażonych (Kaba i wsp., 2011). Badań na większą skalę jak dotąd nie przeprowadzono, co skłoniło mnie do podjęcia tego tematu w piątym artykule jednotematycznego cyklu publikacji.

### **Cel badań**

Badania przedstawione w publikacjach stanowiących omawiane osiągnięcie naukowe poświęcone były wpływowi zakażenia SRLV na humoralną odpowiedź immunologiczną i stężenia wybranych białek ostrej fazy u kóz, ze szczególnym uwzględnieniem praktycznego ich wykorzystania w rozpoznawaniu choroby.

Ich głównymi celami było:

1. Określenie zmian poziomu przeciwciał siarowych przeciwko SRLV i czasu przez jaki są one wykrywalne z użyciem różnych testów serologicznych u koźląt, które pobrały siarę od matek zakażonych SRLV.
2. Określenie zmian poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko różnym antygenom SRLV u kóz w przebiegu ciąży.
3. Określenie zgodność wyników uzyskiwanych za pomocą trzech testów serologicznych skierowanych przeciwko różnym antygenom SRLV i wpływu jaka prewalencja zakażenia SRLV w badanej populacji wywiera na zgodność wyników tych testów.
4. Porównanie wyników dwóch testów serologicznych opartych na różnych antygenach wirusowych u kóz zakażonych SRLV w zależności od występowania postaci klinicznej choroby.



5. Określenie wpływu zakażenia SRLV na stężenie dwóch głównych białek ostrej fazy u kóz (haptoglobiny i surowiczego amyloidu typu A) i ocena trafności testów immunoenzymatycznych przeznaczonych do ich ilościowego oznaczania w diagnostyce zakażenia SRLV.

Badania przedstawione w publikacjach stanowiących omawiane osiągnięcie naukowe zostały wykonane w ramach grantu z Narodowego Centrum Nauki pt. „Odpowiedź immunologiczna organizmu w przebiegu naturalnego zakażenia lentiwirusami małych przeżuwaczy” (nr 2013/09/B/NZ6/03514), którego kierownikiem był dr hab. Jarosław Kaba, a ja byłem głównym wykonawcą.

#### **Określenie zmian poziomu przeciwciał siarowych przeciwko SRLV i czasu przez jaki są one wykrywalne z użyciem różnych testów serologicznych u koźląt, które pobrały siarę od matek zakażonych SRLV**

W celu określenia dynamiki zmian stężenia przeciwciał siarowych u koźląt w pierwszych miesiącach po urodzeniu 41 koźląt poddano badaniu prospektywnemu. Badanie przeprowadzono w stadzie kóz należącym do Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Były to koźlęta urodzone przez kozy wykazujące od co najmniej roku obecność przeciwciał przeciwko SRLV. Natychmiast po urodzeniu pobrano im krew do badania poziomu przeciwciał, a następnie pozwolono pobrać siarę od matek. Kolejne pobrania krwi wykonywano co tydzień przez okres 6 miesięcy. Poziom przeciwciał określano z wykorzystaniem trzech komercyjnych testów ELISA opartych na zastosowaniu 3 różnych antygenów: pierwszym była mieszanina różnych antygenów wirusowych (test ELISA ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test; oznaczony jako wELISA), drugim był rekombinowany antygen zbudowany z glikoproteiny transbłonowej (TM) i białka kapsydu (CA, p28) (IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening; oznaczony jako TM/CA-ELISA), a trzecim była glikoproteina osłonki (Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit; oznaczony jako SU-ELISA). Poziom przeciwciał w surowicy definiowano jako miano przeciwciał (odwrotność najwyższego rozcieńczenia surowicy w którym wynik testu ELISA był jeszcze dodatni wg wartości granicznej podanej przez wytwórcę testu) w dwóch pierwszych testach oraz jako procent zahamowania reakcji barwnej w ostatnim teście ELISA.

Wszystkie koźłeta poza jednym były seroujemne przed pierwszym pobraniem siary. W wieku 1 tygodnia wszystkie koźłeta stały się serododatnie w wELISA, 39 koźłat (95%) w TM/CA-ELISA, a 35 koźłat (85%) w SU-ELISA. Przeciwciała siarowe spadły poniżej progu wykrywalności w wELISA do 15 tyg. po urodzeniu, a w SU-ELISA do 19 tyg. po urodzeniu – w obu testach mediana utrzymywania się przeciwciał wynosiła 8 tyg. W TM/CA-ELISA 5 koźłat było nadal serododatnich w wieku 6 miesięcy.

Wykazano, że poziom przeciwciał we krwi koźłęcia zmierzony w wieku 1 tyg. jest istotnie powiązany z czasem utrzymywania się przeciwciał siarowych. Pozwoliło to na stworzenie równań regresyjnych opartych na hierarchicznym modelu liniowym, pozwalających na przewidzenie przez jak długi czas obecne będą przeciwciała siarowe w oparciu o ich poziom w wieku 1 tyg. Niestety dokładność tego modelu nie przekracza  $\pm 4$  tygodni. Pomimo to wydaje się on być klinicznie użyteczny, ponieważ okres utrzymywania się przeciwciał siarowych może nakładać się na początek okresu czynnego wytwarzania przeciwciał przeciwko SRLV przez organizm koźłęcia w odpowiedzi na zakażenie. Możliwość przewidzenia maksymalnego czasu utrzymywania się przeciwciał siarowych pozwala z dużym prawdopodobieństwem określić rodzaj wykrytych w badaniu serologicznym koźłęcia przeciwciał.

Metodykę i wyniki badań opisano szczegółowo w publikacji:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. Decline of maternal antibodies to small ruminant lentivirus in goat kids. *Animal Science Journal* 2018; Jun 6. doi: 10.1111/asj.13038. (IF<sub>2017</sub> 1,402; MNiSW<sub>2016</sub> 30)

### **Określenie zmian poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko różnym antygenom SRLV u kóz w przebiegu ciąży**

W celu określenia zmian jakim podlega poziom przeciwciał skierowanych przeciwko SRLV u kóz podczas ciąży, przeprowadzono prospektywne badanie grupy 13 dorosłych kóz, utrzymywanych w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu. Kozy te przez przynajmniej rok przed rozpoczęciem badania wykazywały dodatnią reakcję w testach serologicznych w kierunku SRLV (mediana czasu który minął od serokonwersji równa 2 lata). Krew pobrano od kóz po raz pierwszy podczas stanówki i pobrania powtarzano co

miesiąc aż do miesiąca przed porodem – wtedy pobrano krew 2 tyg. przed wykotami, podczas wykotów, 2 tyg. po wykotach oraz 1, 2 i 3 miesiące po wykotach. Za każdym razem próbki surowicy poddawano badaniu serologicznemu z wykorzystaniem 3 testów ELISA opartych na zastosowaniu 3 różnych antygenów: pierwszym była mieszanina różnych antygenów wirusowych (test ELISA ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test; oznaczony jako wELISA), drugim był rekombinowany antygen zbudowany z glikoproteiny transbłonowej (TM) i białka kapsydu (CA, p28) (IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening; oznaczony jako TM/CA-ELISA), a trzecim była glikoproteina osłonki (Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit; oznaczony jako SU-ELISA). Poziom przeciwciał w surowicy definiowano jako miano przeciwciał (odwrotność najwyższego rozcieńczenia surowicy, w którym wynik testu ELISA był jeszcze dodatni wg wartości granicznej podanej przez wytwórcę testu) w dwóch pierwszych testach oraz jako procent zahamowania reakcji barwnej w ostatnim teście ELISA. Za istotną uważano jedynie co najmniej 4-krotną zmianę miana przeciwciał. Wykazano, że w porównaniu z poziomem podstawowym podczas stanówki poziom przeciwciał obniżył się istotnie podczas wykotów we wszystkich trzech testach ELISA. Obniżenie to obserwowano przez najdłuższy czas w teście SU-ELISA (istotnie obniżone przez cały ostatni miesiąc ciąży), a najkrócej w teście TM/CA-ELISA (tylko podczas wykotów). Zarówno w teście SU-ELISA jak i TM/CA-ELISA po dwie kozy uzyskały wyniki seroujemne podczas wykotów. Jedynie w teście wELISA wszystkie kozy pozostawały serododatnie przez cały okres ciąży. Co najmniej 4-krotny spadek miana przeciwciał podczas wykotów w porównaniu z okresem stanówki obserwowano u 4-6 kóz, w zależności od użytego testu. Jednak u żadnej kozy nie zaobserwowano takiego spadku we wszystkich trzech testach ELISA jednocześnie.

Badania potwierdziły, że okres zaawansowanej ciąży wiąże się z istotnym spadkiem poziomu przeciwciał skierowanych przeciwko SRLV. Może to prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych. Zastosowanie kombinacji 2-3 testów jednocześnie pozwala uniknąć takiego zagrożenia.

Metodykę i wyniki badań opisano szczegółowo w publikacji:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Witkowski L., Moroz A., Markowska-Daniel I., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. Fall in antibody titer to small ruminant lentivirus in the periparturient period in goats. *Small Ruminant Research* 2017;147:37-40; doi: 10.1016/j.smallrumres.2016.12.006. (IF<sub>2017</sub> 0,974; MNiSW<sub>2016</sub> 30)

## **Określenie zgodność wyników uzyskiwanych za pomocą trzech testów serologicznych skierowanych przeciwko różnym antygenom SRLV i wpływu jaki prewalencja zakażenia SRLV w badanej populacji wywiera na zgodność tych testów**

W celu określenia zgodności pomiędzy wynikami trzech różnych testów ELISA, porównaniu poddano wyniki badania surowic pochodzących od 865 dorosłych kóz (25 samców i 840 samic) z 12 stad. Stada liczyły od 19 do 146 zwierząt (mediana równa 78 osobników). Aby ocenić w jaki sposób prewalencja zakażenia wpływa na zgodność testów każde stado zakwalifikowano do jednej z trzech kategorii prewalencji: pierwsza kategoria obejmowała stada o wysokiej prewalencji wahającej się od 65% do 100% - stada takie były 3 i liczyły w sumie 326 dorosłych kóz; druga kategoria obejmowała stada o umiarkowanej prewalencji, która wynosiła od 12% do 45% - było 5 takich stad i liczyły one w sumie 281 kóz; trzecia kategoria obejmowała stada o niskiej prewalencji zakażenia SRLV, czyli od 0% do 8% i liczyła 258 kóz w 4 stadach.

Próbki surowicy badano 3 testami ELISA opartymi na zastosowaniu różnych antygenów: pierwszym była mieszanina różnych antygenów wirusowych (test ELISA ID Screen MVV-CAEV Indirect Screening test; oznaczony jako wELISA), drugim był rekombinowany antygen zbudowany z glikoproteiny transbłonowej (TM) i białka kapsydu (CA, p28) (IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening; oznaczony jako TM/CA-ELISA), a trzecim była glikoproteina osłonki (Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit; oznaczony jako SU-ELISA).

Zgodność testów ELISA określano z zastosowaniem 2 rodzajów obliczeń: klasycznego współczynnika kappa Cohena oraz opracowanego ok. 10 lat temu i dotychczas niewykorzystywanego w epidemiologii weterynaryjnej współczynnika AC1 Gweta (Gwet, 2008), który pozwolił na porównanie zgodności testów w różnych kategoriach prewalencji. Stosowany klasycznie współczynnik kappa Cohena, daje bardzo zaniżone wyniki w sytuacji gdy jeden rodzaj wyników porównywanych testów występuje znacznie rzadziej niż drugi czyli np. w sytuacji gdy badana jest zgodność porównywanych testów w populacji w której interesująca choroba występuje bardzo rzadko.

W sumie 414 kóz (47.9%) miało wynik dodatni w co najmniej jednym teście ELISA. Najwięcej wyników dodatnich uzyskano w teście wELISA (373, 43,1%), mniej w teście SU-ELISA (358, 41,4%), a najmniej w teście TM/CA-ELISA (353, 40,8%). Ogólna zgodność między testami była bardzo wysoka i nie różniła się istotnie między porównywanymi parami:

między testem wELISA i TM/CA-ELISA – kappa Cohena równa była 81,8% (CI 95%: 77,9%–85,7%), a AC1 Gweta 82,7% (CI 95%: 79,0%–86,4%); między testem wELISA i SU-ELISA odpowiednio 83,2% (CI 95%: 79,4%–86,9%) i 83,9% (CI 95%: 80,4%–87,5%); między testem TM/CA-ELISA i SU-ELISA odpowiednio 86,0% (CI 95%: 82,6%–89,5%) i 86,9% (CI 95%: 83,6%–90,1%). Jednakże zgodność między testami różniła się istotnie w kategoriach prewalencji zakażenia – była istotnie niższa w kategorii o umiarkowanej prewalencji choć nadal wykorzystywane współczynniki utrzymywały się w zakresie 60% - 80%, czyli zgodność była wysoka.

Badanie to pokazało na bardzo dużej próbie osobników, że dostępne na rynku testy serologiczne do diagnostyki zakażeń SRLV dają bardzo wysoce zgodne wyniki i mogą być w związku z tym stosowane wymiennie. Jedynie w przypadku gdy badane są osobniki pochodzące z populacji o umiarkowanej prewalencji zakażenia (w zakresie 10-50%) zgodność wyników testów jest niższa, choć nadal wysoka. W badaniu tym wykorzystałem, po raz pierwszy w opublikowanej dotychczas literaturze weterynaryjnej, nowy współczynnik do określania zgodności między testami o nazwie AC1 Gweta (Gwet, 2008) – jest on wolny od wad które silnie obciążają stosowany klasycznie współczynnik kappa Cohena i pozwala na wykonywanie rzetelnych analiz nawet w populacjach o bardzo nierównym rozłożeniu wyników testów.

Metodykę i wyniki badań opisano szczegółowo w publikacji:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Bagnicka W., Kaba J. Influence of true within-herd prevalence of small ruminant lentivirus infection in goats on agreement between serological immunoenzymatic tests. *Preventive Veterinary Medicine* 2017;144:75–80; doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.05.017. (IF<sub>2017</sub> 1,924; MNiSW<sub>2016</sub> 45)

### **Porównanie wyników dwóch testów serologicznych opartych na różnych antygenach u kóz zakażonych SRLV w zależności od występowania postaci klinicznej choroby**

W celu porównania wyników uzyskiwanych za pomocą dwóch różnych komercyjnych testów ELISA u kóz u których występuje lub nie postać kliniczna choroby badaniem objęto 312 kóz zakażonych SRLV – kozy te pochodziły ze stada w którym od ponad 20 lat zakażenie występuje u blisko 100% osobników, a ich status potwierdzono z zastosowaniem dwóch

testów serologicznych opartych na mieszaninie różnych antygenów SRLV – test jednofazowy stosowany w badaniach skriningowych (ID Screen MVV/CAEV indirect screening test) i dwufazowy test potwierdzający (ID Screen MVV/CAEV indirect confirmation test). Kozy te zostały zbadane klinicznie w spoczynku i w ruchu niezależnie przez dwóch lekarzy z tytułem europejskiego specjalisty zarządzania zdrowiem małych przeżuwaczy w celu wykrycia u nich wyniszczenia, kulawizny lub zapaleń stawów, w szczególności nadgarstkowych – najczęstszych klinicznych objawów wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz. 222 kozy (71,2%) wykazywały objawy kliniczne a 90 kóz (28,8%) było bezobjawowych. Następnie pochodzące od nich próbki surowicy zbadano dwoma innymi testami ELISA wykorzystującymi różne antygeny wirusa: pierwszy oparty był na rekombinowanym antygenie zbudowanym z glikoproteiny transbłonowej (TM) i białka kapsydu (CA, p28) (IDEXX MVV/CAEV p28 Ab Screening; oznaczony jako TM/CA-ELISA), a drugi na glikoproteinie osłonki (Small Ruminant Lentivirus Antibody Test Kit; oznaczony jako SU-ELISA).

Odpowiedź immunologiczna skierowana przeciwko obu rodzajom antygenów była istotnie silniejsza u kóz z objawami klinicznymi. Jednakże kozy bezobjawowe wykazywały istotnie słabszą odpowiedź immunologiczną w kierunku glikoproteiny osłonki niż antygenu rekombinowanemu TM/CA, podczas gdy u kóz z objawami klinicznymi obserwowano zjawisko odwrotne.

Badanie pokazało, że test SU-ELISA może być z powodzeniem wykorzystywany do wykrywania kóz z klinicznymi objawami zakażenia SRLV – pole pod krzywą ROC, będące miarą trafności testu diagnostycznego, wynosiło dla niego 90%. Możliwe było więc ustalenie optymalnej wartości granicznej tego testu, przy której jego czułość i swoistość wynosiły odpowiednio 87% i 84%. Ta wartość graniczna (wyrażona jako procent zahamowania reakcji barwnej) wynosiła 56% i była wyższa od wartości granicznej zalecanej przez wytwórcę testu do różnicowania kóz zakażonych SRLV i wolnych od zakażenia, równej 35%. Drugi z testów ELISA – TM/CA-ELISA – miał pole pod krzywą ROC istotnie niższe od testu SU-ELISA (równe 59%), co nie pozwoliło na uznanie go za równie użyteczny.

Badanie pokazało, że komercyjnie dostępny test serologiczny może być zastosowany do wykrywania kóz z objawami klinicznymi CAE. Wydaje się to mieć dwa potencjalne zastosowania. Po pierwsze, w badaniach dużych stad kóz pozwala na oszacowanie odsetka zwierząt z kliniczną postacią choroby bez konieczności przeprowadzania ich badania

klinicznego w spoczynku i w ruchu do czego potrzebny jest dodatkowy czas (przy dużych stadach ten czas jest odpowiednio długi) oraz doświadczenie w diagnostyce klinicznej małych przeżuwaczy. Po drugie, dostarcza obiektywnego, powtarzalnego i odtwarzalnego narzędzia do oceny prevalencji postaci klinicznej CAE w różnych populacjach kóz, którego dotychczas brakowało. Może to być użyteczne w epidemiologicznych badaniach porównawczych, szczególnie że uzyskanie informacji na temat występowania postaci klinicznej choroby nie wymaga żadnych dodatkowych czynności i kosztów poza zastosowaniem do interpretacji wyników jeszcze jednej wartości granicznej – procent zahamowania reakcji barwnej od 35% do 56% oznacza kozy zakażone SRLV bez objawów klinicznych, a >56% kozy zakażone SRLV z objawami klinicznymi choroby.

Metodykę i wyniki badań opisano szczegółowo w publikacji:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Moroz A., Mickiewicz M., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Bagnicka E., Kaba J. Use of two commercial caprine arthritis-encephalitis immunoenzymatic assays for screening of arthritic goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2018;30:36-41; doi: 10.1177/1040638717729397. (IF<sub>2017</sub> 1.219; MNiSW<sub>2016</sub> 30)

**Określenie wpływu zakażenia SRLV na stężenie dwóch głównych białek ostrej fazy u kóz (haptoglobiny i surowiczego amyloidu typu A) i ocena trafności testów immunoenzymatycznych przeznaczonych do ich ilościowego oznaczania w diagnostyce zakażenia SRLV**

W celu porównania stężeń haptoglobiny i surowiczego amyloidu typu A u kóz zakażonych i niezakażonych SRLV do badania zakwalifikowano 168 kóz. Kozy te zbadano serologicznie w kierunku zakażenia SRLV z zastosowaniem trzech testów serologicznych opartych na różnych antygenach i opisanych poprzednio. W celu osiągnięcia najwyższej możliwej trafności za zakażone uznano jedynie kozy, które otrzymały wynik dodatni we wszystkich 3 testach ELISA jednocześnie, a za niezakażone kozy z wynikiem ujemnym w trzech testach ELISA. Następnie kozy zakażone poddano badaniu klinicznemu w spoczynku i w ruchu, które przeprowadzone zostało niezależnie przez dwóch lekarzy z tytułem europejskiego specjalisty zarządzania zdrowiem małych przeżuwaczy w celu wykrycia u nich wyniszczenia, kulawizny lub zapaleń stawów, w szczególności nadgarstkowych – najczęstszych objawów klinicznych wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz. Na tej

podstawie kozy podzielono na 3 grupy – zakażone z objawami klinicznymi (68 kóz, 40.5%), zakażone bezobjawowe (23 kozy, 13.7%) i niezakażone (77, 45.8%). Następnie oznaczono poziom dwóch białek ostrej fazy w surowicy każdej z kóz z zastosowaniem testów immunoenzymatycznych, zarejestrowanych do ilościowego oznaczania haptoglobiny i amyloidu surowiczego typu A u kóz.

Badanie wykazało, że stężenia obu białek ostrej fazy były istotnie wyższe w grupie kóz zakażonych SRLV z objawami klinicznymi. Nie różniły się natomiast istotnie między kozami zakażonymi bezobjawowo i niezakażonymi.

Następnie określono trafność oznaczania haptoglobiny i amyloidu surowiczego typu A w identyfikacji kóz z postacią kliniczną CAE, analogicznie jak zrobiono to w pracy poświęconej dwóm testom ELISA w kierunku SRLV, opisanej w poprzednim punkcie. Oba białka ostrej fazy okazały się identyfikować kozy z objawami klinicznymi lepiej niż test oparty na wyborze losowym – ich pola pod krzywą ROC wynosiły 65% - 70% i były istotnie większe od 50%. Jednakże okazały się one mieć znacznie niższą trafność niż test SU-ELISA co nie uzasadnia ich rutynowego oznaczania w diagnostyce postaci klinicznej CAE.

Badanie wykazało, że pewien wzrost stężeń dwóch podstawowych białek ostrej fazy obserwuje się u kóz raczej nie w wyniku toczącego się subklinicznego zakażenia SRLV, a dopiero na skutek rozwinięcia się klinicznej postaci choroby. Wskazuje to na niską użyteczność pomiaru stężenia dwóch podstawowych białek ostrej fazy w diagnostyce CAE.

Metodykę i wyniki badań opisano szczegółowo w publikacji:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Stefaniak T., Bagnicka E., Kaba J. Haptoglobin and serum amyloid A in goats with clinical form of caprine arthritis-encephalitis. *Small Ruminant Research* 2017;156:73-77; doi: 10.1016/j.smallrumres.2017.09.013. (IF<sub>2017</sub> 0,974; MNiSW<sub>2016</sub> 30)

## **Wnioski**

Przeprowadzone badania epidemiologiczne poświęcone wpływowi zakażenia SRLV na humoralną odpowiedź immunologiczną i stężenia białek ostrej fazy u kóz, ze szczególnym uwzględnieniem praktycznego ich wykorzystania w rozpoznawaniu choroby, pozwalają na wyciągnięcie poniższych wniosków:



1. Przeciwciała siarowe utrzymują się u kózłat, które pobrały siarę od zakażonych matek przez okres do 5 miesięcy, co może być przyczyną występowania wyników fałszywie dodatnich w testach serologicznych.
2. W ostatnim miesiącu ciąży i okresie poporodowym dochodzi do istotnego spadku poziomu przeciwciał przeciwko SRLV co może być przyczyną występowania wyników fałszywie ujemnych w testach serologicznych.
3. Testy serologiczne do diagnostyki zakażenia SRLV u kóz oparte na różnych antygenach wirusa charakteryzują się bardzo wysoką zgodnością. Ich zgodność istotnie spada gdy stosuje się je w populacji kóz, w której prewalencja zakażenia SRLV jest umiarkowana. Jednak nawet w tym przypadku zgodność wyników testów pozostaje wysoka. Testy te mogą więc być wykorzystywane zamiennie.
4. Kozy zakażone SRLV, u których występują objawy kliniczne CAE mają istotnie wyższy poziom przeciwciał skierowanych przeciwko glikoproteinie osłonki wirusa niż kozy bezobjawowe. Zjawisko to może być wykorzystane w praktyce do wykrywania kóz z kliniczną postacią choroby z zastosowaniem komercyjnego testu serologicznego opartego na antygenie powierzchniowym SRLV. Stanowi on narzędzie diagnostyczne o wysokiej trafności.
5. Bezobjawowe zakażenie kóz SRLV nie powoduje istotnego wzrostu stężenia haptoglobiny i surowiczego amyloidu typu A.
6. Występowanie objawów klinicznych CAE związane jest z istotnym wzrostem stężeń haptoglobiny i surowiczego amyloidu typu A we krwi kóz. Oznaczanie stężeń tych białek ostrej fazy ma niższą trafność w rozpoznawaniu postaci klinicznej choroby niż diagnostyka serologiczna z wykorzystaniem testu ELISA opartego na antygenie powierzchniowym wirusa.

### **Piśmiennictwo**

Adams D.S., Klevjer-Anderson P., Carlson J.L., McGuire T.C., Gorham J.R. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am J Vet Res.* 1983;44:1670-1675.

de Andrés D., Klein D., Watt N.J., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Blacklaws B.A., Harkiss G.D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet Microbiol.* 2005;107:49-62.

Brinkhof J.M., Moll L., van Maanen C., Houwers D.J. Use of serology and polymerase chain reaction for the rapid eradication of small ruminant lentivirus infections from a sheep flock: a case report. *Res Vet Sci.* 2010;88:41-43.

Brinkhof J., van Maanen C. Evaluation of five enzyme-linked immunosorbent assays and an agar gel immunodiffusion test for detection of antibodies to small ruminant lentiviruses. *Clin Vaccine Immunol.* 2007;14:1210-1214

Burridge M.J., Thurmond M.C., Miller J.M., Schmerr M.J., Van Der Maaten M.J.. Fall in antibody titer to bovine leukemia virus in the periparturient period. *Can J Comp Med.* 1982;46:270-271.

Crawford T.B., Adams D.S. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. *J Am Vet Med Assoc.* 1981;178:713-719.

Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med.* 1999;340:448-454.

González F.H., Tecles F., Martínez-Subiela S., Tvarijonavičiute A., Soler L., Cerón J.J.. Acute phase protein response in goats. *J Vet Diagn Invest.* 2008;20:580-584.

Gwet, K.L. Computing inter-rater reliability and its variance in the presence of high agreement. *Br J Math Stat Psychol.* 2008;61:29-48.

Hashemnia M., Khodakaram-Tafti A., Razavi S.M., Nazifi S. Changing patterns of acute phase proteins and inflammatory mediators in experimental caprine coccidiosis. *Korean J Parasitol.* 2011;49:213-219.

Heller M.C., Johns J.L. Acute phase proteins in healthy goats: establishment of reference intervals. *J Vet Diagn Invest.* 2015;27:177-181.

Herrmann-Hoesing L.M. Diagnostic assays used to control small ruminant lentiviruses. *J Vet Diagn Invest.* 2010;22:843-855.

Horadagoda N.U., Knox K.M., Gibbs H.A., Reid S.W., Horadagoda A., Edwards S.E., Eckersall P.D. Acute phase proteins in cattle: discrimination between acute and chronic inflammation. *Vet Rec.* 1999;144:437-441.

Hosseini A., Namazi F., Oryan A., Nazifi S. Correlation between some hematological parameters, acute phase proteins and serum immunoglobulins in experimental caprine besnoitiosis. *J Parasit Dis.* 2015;39:155-161.

Jawor P., Stefaniak T. Acute phase proteins in cattle. In: Veas, F. (Ed.), *Acute Phase Proteins as Early Non-Specific Biomarkers of Human and Veterinary Diseases*. InTech(10.5772/1045). 2011. Available from: <http://www.intechopen.com/books/acute-phase-proteins-as-early-non-specific-biomarkers-of-human-and-veterinary-diseases/acute-phase-proteins-in-cattle>.

Jeber Z.K., MohdJin Z., Jesse F.F., Saharee A.A., Sabri J., Yusoff R., Wahid H. Influence of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection on level of acute phase proteins in goats. *BMC Vet Res.* 2016;12:48.

Kaba J., Stefaniak T., Bagnicka E., Czopowicz M. Haptoglobin in goats with caprine arthritis-encephalitis. *Cent Eur J Immunol.* 2011;36:76-78.

Lerondelle C., Fleury C., Vialard J. The mammary gland: target organ for infection with the caprine arthritis and encephalitis virus. *Ann Rech Vet.* 1989;20:57-63

McGuire T.C., O'Rourke K.I., Knowles D.P., Cheevers W.P. Caprine arthritis encephalitis lentivirus transmission and disease. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1990;160:61-75.

Panneum S., Rukkwamsuk T. Diagnosis of Caprine Arthritis Encephalitis Virus infection in dairy goats by ELISA, PCR and Viral Culture. *Pol J Vet Sci.* 2017;20:347-353.

Rimstad E., East N.E., Torten M., Higgins J., DeRock E., Pedersen N.C. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. *Am J Vet Res.* 1983;54:1858-1862.

Rowe J.D., East N.E., Thurmond M.C., Franti C.E., Pedersen NC. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. *Am J Vet Res.* 1992;53:2386-2395.

Rowe J.D., East N.E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1997;13:35-53.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

### a) Dorobek naukowy przed uzyskaniem stopnia doktora nauk weterynaryjnych

W roku 2001 rozpocząłem studia na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, które ukończyłem w 2007 roku. Po uzyskaniu dyplomu lekarza weterynarii, w 2007 roku rozpocząłem studia doktoranckie w zakresie weterynaryjnych nauk klinicznych na macierzystym Wydziale, w Zakładzie Chorób Zakaźnych, pod opieką prof. dr. hab. Tadeusza Frymusa. Początkowo moje zainteresowania dotyczyły chorób zakaźnych bydła, przede wszystkim diagnostyki wirusowej biegunki bydła i w tym kierunku planowałem prowadzić badania. Jednakże bliska współpraca z dr. Jarosławem Kabą i jego zespołem sprawiła, że dość szybko zainteresowałem się chorobami kóz oraz epidemiologią weterynaryjną. W tym czasie zespół pod kierownictwem dr. Kaby prowadził wieloletnie badania przekrojowe w populacji kóz w Polsce znajdujących się pod oceną użytkowości mlecznej. Uczestnicząc w tym badaniu miałem okazję zgromadzić kolekcję surowic oraz dane ankietowe, które stały się następnie podstawą mojej pracy doktorskiej. Jednocześnie konieczność wykonania badań serologicznych kilku tysięcy zgromadzonych wtedy surowic umożliwiła mi nauczanie się techniki immunoenzymatycznej, którą następnie wielokrotnie wykorzystywałem w swoich badaniach. Wtedy też, wraz z prof. Frymusem oraz dr. Kabą, ustaliliśmy że moja praca doktorska dotyczyć będzie epidemiologii zakażeń i inwazji pasożytniczych wywołujących zaburzenia rozrodu u kóz. Efektem pierwszych badań były dwie publikacje poświęcone temu tematowi:

**Czopowicz M.,** Kaba J., Szaluś-Jordanow O., Nowicki M., Witkowski L., Nowicka D., Frymus T. Prevalence of antibodies against *Chlamydophila abortus* and *Coxiella burnetii* in goat flocks in Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences 2010;13:175-179.

**Czopowicz M.,** Kaba J., Szaluś-Jordanow O., Witkowski L., Nowicki M., Frymus T. Serological evidence of lack of contact with caprine herpesvirus type 1 and bluetongue virus in goat population in Poland. Polish Journal of Veterinary Sciences 2010;13:709-711.

W roku 2010 odbyłem dwutygodniowy staż naukowy w International Trade Testing Section, Laboratory Services Department, Veterinary Laboratory Agency w Weybridge w Wielkiej Brytanii pod opieką dr. Charliego Dalleya, w czasie którego nauczyłem się podstaw diagnostyki serologicznej zakażeń leptospirami z zastosowaniem referencyjnej metody mikroaglutynacji oraz diagnostyki serologicznej zarażenia *Neospora caninum* testem immunofluorescencji. W trakcie stażu dzięki ogromnej pomocy moich gospodarzy zbadałem swoją kolekcję surowic czego efektem były kolejne dwie publikacje:

**Czopowicz M.**, Kaba J., Smith L., Szaluś-Jordanow O., Nowicki M., Witkowski L., Frymus T. Leptospiral antibodies in the breeding goat population of Poland. *Veterinary Record* 2011;169:230; doi: 10.1136/vr.d4403.

**Czopowicz M.**, Kaba J., Szaluś-Jordanow O., Nowicki M., Witkowski L., Frymus T. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in goats in Poland. *Veterinary Parasitology* 2011;178:339-341; doi: 10.1016/j.vetpar.2011.01.039.

Z kolei współpraca z prof. Horstem Schirrneierem z Federal Research Institute for Animal Health, Institute of Diagnostic Virology, Greifswald-Insel Riems w Niemczech pozwoliła mi zidentyfikować gatunek pestiwirusa odpowiedzialnego za zakażenia kóz w Polsce jako BVDV-1 co zostało opublikowane w artykule:

**Czopowicz M.**, Kaba J., Schirrneier H., Bagnicka E., Szaluś-Jordanow O., Nowicki M., Witkowski L., Frymus T. Serological evidence for BVDV-1 infection in goats in Poland - short communication. *Acta Veterinaria Hungarica* 2011;59:399-404; doi: 10.1556/AVet.2011.022.

Jednocześnie współpraca z dr. Kabą umożliwiła mi poznanie metod analizy epidemiologicznej i biostatystycznej, które bardzo szybko stały się jednym z moich głównych zainteresowań naukowych. Dalszą wiedzę dotyczącą analizy statystycznej danych zdobywałem podczas studiów podyplomowych w zakresie Systemów Informacyjnych i Analizy Danych, które odbyłem na Wydziale Zastosowań Informatyki i Matematyki, SGGW w latach 2011-2012 (świadczenie ukończenia nr 122/SIAD/2012) oraz podczas cyklu specjalistycznych kursów „Statystyka w medycynie” organizowanych przez firmę StatSoft Polska (certyfikat nr 101/2012/SwM). Zdobyte umiejętności pozwoliły mi stworzyć wieloczynnikowy model epidemiologiczny do oceny ryzyka utraty płodów w stadach kóz, który został opublikowany w artykule:

**Czopowicz M.**, Kaba J., Szaluś-Jordanow O., Nowicki M., Witkowski L., Frymus T. Multivariate model for the assessment of risk of fetal loss in goat herds. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2012;15:67-75.

Cykl powyższych sześciu artykułów stał się podstawą mojej pracy doktorskiej, której promotorem został dr hab. Jarosław Kaba, obronionej w styczniu 2013 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie.

Niezależnie od pracy nad doktoratem uczestniczyłem w badaniach epidemiologicznych nad występowaniem oraz czynnikami ryzyka rozprzestrzeniania się wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz (caprine arthritis-encephalitis, CAE), serowacującego zapalenia węzłów

chłonnych (caseous lymphadenitis, CLA) oraz choroby Morela, których wyniki opublikowane zostały w kilku artykułach, m.in.:

Kaba J., Nowicki M., Frymus T., Nowicka D., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Thrusfield M. Evaluation of the risk factors influencing the spread of caseous lymphadenitis in goat herds. Polish Journal of Veterinary Sciences 2011;14:231-237.

Kaba J., Bagnicka E., **Czopowicz M.**, Nowicki M., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O. Long-term study on the spread of caprine arthritis-encephalitis in a goat herd. Central European Journal of Immunology 2011;36:170-173.

Kaba J., **Czopowicz M.**, Ganter M., Nowicki M., Witkowski L., Nowicka D., Szaluś-Jordanow O. Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. Research in Veterinary Science 2013;94:225-227.

Szaluś-Jordanow O., Kaba J., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Nowicki M., Nowicka D., Stefańska I., Rzewuska M., Sobczak-Filipiak M., Binek M., Frymus T. Epidemiological features of Morel's disease in goats. Polish Journal of Veterinary Sciences 2010;13:437-445.

Szaluś-Jordanow O., Chrobak D., Pyrgiel M., Lutyńska A., Kaba J., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Kizerwetter-Świda M., Binek M., Frymus T., PFGE and AFLP genotyping of *Staphylococcus aureus* subsp. *anaerobius* isolated from goats with Morel's disease. Archives of Microbiology 2013;195:37-41; doi: 10.1007/s00203-012-0844-8.

Latem 2012 roku uczestniczyłem w badaniach epidemiologicznych realizowanych przez zespół dr. Kaby, które pozwoliły po raz pierwszy wykazać obecność zakażenia wirusem Schmallenberg w populacji kóz w Polsce, zaledwie rok po pojawieniu się tej choroby na świecie. Wyniki opublikowano w artykule:

Kaba J., **Czopowicz M.**, Witkowski L. Schmallenberg virus antibodies detected in Poland. Transboundary and Emerging Diseases 2013;60:1-3; doi: 10.1111/tbed.12039.

## **b) Dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora nauk weterynaryjnych**

Po obronie pracy doktorskiej zostałem zatrudniony w nowopowstałej Samodzielnej Pracowni Epidemiologii i Ekonomiki Weterynaryjnej, pod kierownictwem dr. hab. Jarosława Kaby, najpierw na stanowisku asystenta, a potem adiunkta naukowo-dydaktycznego. Moje zainteresowania naukowe rozwijały się dwukierunkowo. Po pierwsze kontynuowałem badania poświęcone chorobom zakaźnym kóz, w szczególności wirusowemu zapaleniu stawów i mózgu. W 2013 roku nasz zespół otrzymał w ramach konsorcjum z Instytutem Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu grant Narodowego Centrum Nauki (nr 2013/09/B/NZ6/03514) poświęcony odpowiedzi immunologicznej organizmu w przebiegu

naturalnego zakażenia lentiwirusami małych przeżuwaczy, w którym byłem jednym z dwojga (obok prof. dr hab. Emilii Bagnickiej z IGiHZ PAN) głównych wykonawców. Część badań wykonywanych w ramach tego grantu zostało opublikowanych jako jednotematyczny cykl publikacji, będący podstawą mojego wniosku habilitacyjnego. Ponadto badania wykonane w ramach grantu NCN weszły w skład pracy doktorskiej lek. wet. Doroty Nowickiej poświęconej wybranym aspektom diagnostyki i szerzenia się wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz oraz jego wpływowi na parametry technologiczne mleka, w której realizacji aktywnie uczestniczyłem. W badaniach tych przeprowadzono ocenę przydatności diagnostycznej testu ELISA – ID Screen® MVV-CAEV Indirect Screening ELISA w rozpoznawaniu zakażenia wirusem lentiwirusowym u kóz i wykazano że test ten charakteryzował się wysoką trafnością (powierzchnia pod krzywą ROC 98,8%, a dla podanej przez producenta wartości granicznej czułość testu 91,7%, a swoistość 98,9%). Oceniono też wpływ obecności serodatniego kozła na szerzenie się zakażenia SRLV w stadzie w epidemiologicznych badaniach przekrojowych. Zakażenie lentiwirusowi dotyczyło od 9,7% do 100% (mediana 60,1%) kóz w stadach, w których utrzymywano kozły serodatnie oraz od 3,4% do 100% (mediana 35,8%) kóz w stadach, w których kozły były seroujemne. Obecność serodatnich samców była niezależnym czynnikiem związanym z wyższą seroprewalencją zakażenia w stadzie. W badaniu wpływu zakażenia lentiwirusowego u kóz na wydajność produkcji sera wykazano, że produkcja sera u kóz zakażonych była niższa o 4,6 g na każdy 1 kg mleka. Wyniki badań zostały opublikowane w cyklu 3 publikacji:

Nowicka D., **Czopowicz M.**, Mickiewicz M., Szaluś-Jordanow O., Witkowski L., Bagnicka E., Kaba J. Diagnostic performance of ID Screen® MVV-CAEV Indirect Screening ELISA test in identifying SRLV-infected goats. Polish Journal of Veterinary Sciences 2014;17:501-506.

Nowicka D., **Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Witkowski L., Bagnicka E., Kaba J. Seropositive bucks and within-herd prevalence of small ruminant lentiwirus infection. Central European Journal of Immunology 2015;40:283-286; doi: 10.5114/ceji.2015.54587.

Nowicka D., **Czopowicz M.**, Bagnicka E., Rzewuska M., Strzałkowska N., Kaba J. Influence of small ruminant lentivirus infection on cheese yield in goats. Journal of Dairy Research 2015;82:102-106; doi: 10.1017/S0022029914000727.

Dodatkowo wykonane w ramach grantu NCN badania stanowią podstawę dwóch prac doktorskich: mgr Darii Reczyńskiej pt. „Ekspresja białek ostrej fazy i katelicyn w komórkach krwi i mleka kóz mlecznych w odpowiedzi na zakażenie lentiwirusem małych przeżuwaczy (SRLV)”, przewód doktorski otwarty w 2017 w Instytucie Genetyki i Hodowli

Zwierząt PAN w Jastrzębcu (promotor: prof. dr hab. Emilia Bagnicka) oraz lek. wet. Tomasza Nalberta pt. „Odpowiedź immunologiczna na naturalne zakażenie kózłąt lentiwirusem małych przeżuwaczy”, przewód doktorski otwarty w 2018 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie (promotor: dr hab. Jarosław Kaba, prof. nadzw.). W realizacji badań do obu prac doktorskich biorę aktywny udział i jestem ich promotorem pomocniczym.

W ramach grantu NCN prowadziłem badania poświęcone reakcji ostrej fazy u kóz. Część tych badań dotyczących reakcji ostrej fazy u kóz zakażonych lentiwirusem małych przeżuwaczy wchodzi w skład jednotematycznego cyklu publikacji opisanego przeze mnie wcześniej. Ponadto wykonałem badanie nad zachowaniem się dwóch podstawowych białek ostrej fazy, haptoglobiny (Hp) i surowiczego amyloidu typu A (SAA), u kóz w ciąży. Badanie pokazało, że począwszy od 2 miesiąca ciąży wzrasta stężenie SAA, osiągając szczytowy poziom w okresie okołoporodowym, podczas gdy stężenie Hp nie ulega zmianie. Wyniki opublikowano w artykule:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Stefaniak T., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. Acute-phase proteins in pregnant goats: A longitudinal study. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2017;29:814-819; doi: 10.1177/1040638717714295.

W celu określenia stężenia białek ostrej fazy u kóz stosowaliśmy testy immunoenzymatyczne, dostępne na rynku od dwóch producentów. Zdecydowałem się więc porównać stężenia SAA i Hp określone z wykorzystaniem tych dwóch testów. Pozwoliło to na wykazanie, że ich zgodność jest bardzo niska. Wyniki opublikowano w artykule:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Mickiewicz M., Moroz A., Witkowski L., Markowska-Daniel I., Reczyńska D., Bagnicka E., Kaba J. Agreement between commercial assays for haptoglobin and serum amyloid A in goats. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2017;59:65; doi: 10.1186/s13028-017-0333-9.

W 2017 roku otrzymałem grant KNOW „Charakterystyka profilu metabolicznego kóz zakażonych lentiwirusem małych przeżuwaczy i zastosowanie metabolomiki w diagnostyce wirusowego zapalenia stawów i mózgu kóz” (KNOW2016/SGGW/ESR3/01/3). Badania wykonane w ramach tego grantu jako pierwsze na świecie, dostarczyły informacji na temat stężeń dużej puli metabolitów w surowicy kóz, pokazując jednocześnie że zakażenie lentiwirusowe wywołuje jedynie niewielkie zmiany poziomów metabolitów u kóz. Artykuły opisujące uzyskane wyniki badań są obecnie w recenzji w czasopiśmie naukowym.



Drugim kierunkiem mojej aktywności naukowej jest epidemiologiczna i biostatystyczna analiza danych pochodzących z badań naukowych z zakresu weterynarii. W tej dziedzinie od wielu lat współpracuję z licznymi zespołami naukowymi. Uczestniczę w planowaniu badań oraz wykonuję analizy statystyczne i epidemiologiczne otrzymanych wyników. Są to między innymi badania z zakresu chorób zakaźnych, pasożytniczych i wewnętrznych bydła i kóz, chorób nowotworowych zwierząt towarzyszących oraz zagadnień związanych z fizjologią i patologią wysiłku u koni sportowych i wyścigowych.

#### 1. Epidemiologia chorób pasożytniczych bydła i kóz

Badania nad epidemiologią wybranych chorób pasożytniczych u bydła w Polsce prowadzone były przez zespół prof. Kaby w ramach europejskiego projektu “Innovative and sustainable strategies to mitigate the impact of global change on helminth infections in ruminants – Gloworm” (7. program ramowy, FP7-KBBE-2011-5, nr 288975) w latach 2012-2014. W badaniach tych wykonałem zaawansowane analizy wieloczynnikowe w zastosowaniu m.in. wieloczynnikowej regresji logistycznej i analizy ROC, a ich wyniki opublikowane zostały w trzech artykułach naukowych:

Kowalczyk S.J., **Czopowicz M.**, Weber C.N., Müller E., Nalbert T., Bereznowski A., Kaba J. Herd-level seroprevalence of *Fasciola hepatica* and *Ostertagia ostertagi* infection in dairy cattle population in the central and northeastern Poland. *BMC Veterinary Research* 2018;14:131. doi: 10.1186/s12917-018-1455-7.

Kowalczyk S.J., **Czopowicz M.**, Weber C.N., Müller E., Kaba J. Accuracy of a diagnostic model based on serum biochemical parameters in detecting cows at an increased risk of chronic fascioliasis. *Veterinary Parasitology* 2018;254:15-20; doi: 10.1016/j.vetpar.2018.02.038.

Kowalczyk S.J., **Czopowicz M.**, Weber C.N., Müller E., Witkowski L., Kaba J. Herd-level seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in central and northeastern Poland. *Acta Parasitologica* 2016;61:63-65; doi: 10.1515/ap-2016-0006.

Publikacje te stanowią podstawę pracy doktorskiej lek. wet. Sławomira Kowalczyka, której jestem promotorem pomocniczym.

Ponadto od 2015 roku prowadzone są przez nasz zespół intensywne badania poświęcone inwazjom pasożytniczym u kóz w Polsce, które pozwoliły m.in. na potwierdzenie

pierwszego w Polsce przypadku oporności nicieni żołądkowo-jelitowych na leki przeciwpasożytnicze z grupy benzimidazoli u kóz. Wyniki opublikowano w artykule:

Mickiewicz M., **Czopowicz M.**, Górski P., Kaba J. The first reported case of resistance of gastrointestinal nematodes to benzimidazole anthelmintic in goats in Poland. *Annals of Parasitology* 2017;63:317-322; doi: 10.17420/ap6304.118.

Prowadzone obecnie badania będą podstawą pracy doktorskiej lek. wet. Marcina Mickiewicza pt. „Epidemiologia inwazji lekoopornymi nicieniami żołądkowo-jelitowymi u kóz w Polsce”, której jestem promotorem pomocniczym.

## 2. Przyżyciowe metody oceny parametrów układu krążenia u kóz i ich zastosowanie w praktyce

Dzięki wieloletniej współpracy z hodowcami kóz nasz zespół mógł realizować badania poświęcone zastosowaniu zaawansowanych metod obrazowych i pomiarowych do oceny budowy i funkcjonowania serca kóz oraz pomiaru ciśnienia tętniczego krwi. W badaniach tych wykonywałem analizy statystyczne, które doprowadziły do obliczenia wartości referencyjnych dla pomiarów echokardiograficznych. Wykonałem także analizy powtarzalności pomiarów oraz analizy porównawcze inwazyjnych i nieinwazyjnych metod pomiaru ciśnienia tętniczego krwi u kóz, z zastosowaniem m.in. analizy Blanda-Altmana. Wyniki opublikowano w postaci jednotematycznego zbioru artykułów, który stanowi podstawę wniosku habilitacyjnego dr n. wet. Olgi Szaluś-Jordanow:

Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Mickiewicz M., Frymus T., Markowska-Daniel I., Bagnicka E., Kaba J. Reference intervals of echocardiographic measurements in healthy adult dairy goats. *PLoS One* 2017;12(8):e0183293, doi: 10.1371/journal.pone.0183293.

Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Moroz A., Mickiewicz M., Frymus T., Markowska-Daniel I., Bagnicka E., Kaba J. Change of heart dimensions and function during pregnancy in goats. *Research in Veterinary Science* 2018;118:351-356. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.03.005.

Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Moroz A., Mickiewicz M., Garncarz M., Bagnicka E., Frymus T., Kaba J. Comparison of oscillometric, Doppler and invasive blood pressure measurement in anesthetized goats. *PLoS One* 2018;13:e0197332. doi: 10.1371/journal.pone.0197332.

Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Świerk A., Szpinda O., Garncarz M., Mickiewicz M., Moroz A., Bagnicka E., Kaba J. Oscillometric and Doppler arterial blood pressure measurement in conscious goats. *Canadian Journal of Veterinary Research* 2018;82:244-248.

### 3. Epidemiologia chorób nowotworowych zwierząt towarzyszących

We współpracy z zespołem prof. dr. hab. Rafała Sapieryńskiego, z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW zajmuję się analizą epidemiologiczną występowania u zwierząt towarzyszących nowotworów (nowotwory gruczołu mlekowego, chłoniakomięsak, białaczka, mięsak związany z miejscem iniekcji i kostniakomięsak). W badaniach tych wykonuję i interpretuję wieloczynnikowe analizy epidemiologiczne w celu identyfikacji czynników ryzyka występowania nowotworów oraz analizy przeżycia z zastosowaniem metod jednoczynnikowych (m.in. Kaplana-Meyera) oraz wieloczynnikowych modeli proporcjonalnego hazardu Coxa. Jako specjalista chorób psów i kotów uczestniczę również w diagnostyce klinicznej pacjentów biorących udział w badaniach. Wyniki tych badań zostały jak dotąd opublikowane w kilku artykułach:

Dolka I., **Czopowicz M.**, Gruk-Jurka A., Wojtkowska A., Sapieryński R., Jurka P. Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS One* 2018;13:e0191595; doi: 10.1371/journal.pone.0191595.

Jankowska U., Jagielski D., **Czopowicz M.**, Sapieryński R. The animal-dependent risk factors in canine T-cell lymphomas. *Veterinary and Comparative Oncology* 2017;15:307-314. doi: 10.1111/vco.12164.

Sapieryński R., Huć T., **Czopowicz M.**, Jankowska U., Jagielski D., Kliczkowska-Klarowicz K. Acute leukemias in dogs: Analysis of 31 cases. *Medycyna Weterynaryjna* 2017;73:118-123

Sapieryński R., **Czopowicz M.** The animal-dependent risk factors in canine osteosarcomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2017;20:293–298; doi: 10.1515/pjvs-2017-0035

Kliczkowska K., Jankowska U., Jagielski D., **Czopowicz M.**, Sapieryński R. Epidemiological and morphological analysis of feline injection site sarcomas. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 2015;18:313–322; doi: 10.1515/pjvs-2015-0041.

Ponadto uczestniczę w badaniach nad różnymi aspektami zastosowania metod cytologicznych w rozpoznawaniu chorób nowotworowych. W badaniach tych zajmuję się m.in. analizą trafności i rzetelności metod diagnostycznych. Wyniki tych badań opublikowano w kilku artykułach:

Sapierzyński R., **Czopowicz M.**, Jagielski D. Metastatic lymphadenomegaly in dogs - cytological study. Polish Journal of Veterinary Sciences 2017;20:731-736; doi: 10.1515/pjvs-2017-0091

Sapierzyński R., **Czopowicz M.**, Ostrzeszewicz M. Factors affecting the diagnostic utility of canine and feline cytological samples. Journal of Small Animal Practice 2017;58:73-78; doi: 10.1111/jsap.12598.

Przeździecki R., **Czopowicz M.**, Sapierzyński R. Accuracy of routine cytology and immunocytochemistry in preoperative diagnosis of oral amelanotic melanomas in dogs. Veterinary Clinical Pathology 2015;44:597-604.

Przeździecki R., **Czopowicz M.**, Sapierzyński R. Cytomorphometry of serosal effusion in dogs. Polish Journal of Veterinary Sciences 2015;18:481-487; doi: 10.1515/pjvs-2015-0063.

#### 4. Wpływ wysiłku na parametry immunologiczne u koni sportowych i wyścigowych

Uczestniczę w badaniach dotyczących mechanizmu i znaczenia powysiłkowej reakcji ostrej fazy u koni wyścigowych prowadzonych przez zespół dr hab. Anny Cywińskiej z Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW. Prowadzone w zespole badania skupiają się głównie na znaczeniu powysiłkowej reakcji ostrej fazy w rozwoju chorób ortopedycznych oraz możliwości wykorzystania niektórych parametrów do dokładniejszej diagnostyki tych stanów. Wykonuję analizy biostatystyczne i epidemiologiczne. Ponadto uczestniczę w badaniach laboratoryjnych, co wynika to z mojego dużego doświadczenia w zakresie badań serologicznych i badań dotyczących białek ostrej fazy oraz zastosowania metody immunoenzymatycznej. Zagadnienia te stanowiły temat obronionej w 2017 roku pracy doktorskiej lek. wet. Agnieszki Turło, której wyniki opisano m.in. w publikacjach:

Turło A., Cywińska A., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Jaśkiewicz A., Winnicka A. Racing induces changes in the blood concentration of serum amyloid A in Thoroughbred racehorses. Journal of Equine Veterinary Science 2016;36:15-18; doi: /10.1016/j.jevs.2015.09.008.

Turło A., Cywińska A., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Niedźwiedź A., Słowikowska M., Borowicz H., Jaśkiewicz A., Winnicka A. The Effect of Different Types of Musculoskeletal Injuries on Blood Concentration of Serum Amyloid A in Thoroughbred Racehorses. PLoS One 2015;10(10):e0140673; doi: 10.1371/journal.pone.0140673.

Turło A., Cywińska A., **Czopowicz M.**, Witkowski L., Szarska E., Winnicka A. Post-exercise dynamics of serum amyloid A blood concentration in thoroughbred horses classified as

injured and non-injured after the race. *Research in Veterinary Science* 2015;100:223-225; doi: 10.1016/j.rvsc.2015.04.008.

Ponadto wykonuję analizy biostatystyczne i epidemiologiczne w badaniach poświęconych:

- epidemiologii chorób zakaźnych i pasożytniczych zwierząt wolno żyjących – dotychczasowe wyniki opublikowane w artykułach:

Witkowski L., **Czopowicz M.**, Nagy D.A., Potarniche A.V., Aoanei M.A., Imomov N., Mickiewicz M., Welz M., Szaluś-Jordanow O., Kaba J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild boars, red deer and roe deer in Poland. *Parasite* 2015;22:17; doi.org/10.1051/parasite/2015017.

Witkowski L., Rzewuska M., Cisek A.A., Chrobak-Chmiel D., Kizerwetter-Świda M., **Czopowicz M.**, Welz M., Kita J. Prevalence and genetic diversity of *Rhodococcus equi* in wild boars (*Sus scrofa*), roe deer (*Capreolus capreolus*) and red deer (*Cervus elaphus*) in Poland. *BMC Microbiology* 2015;15:110; doi: 10.1186/s12866-015-0445-1.

- diagnostyce i terapii chorób zakaźnych i inwazyjnych ptaków – dotychczasowe wyniki opublikowane w artykułach:

Dolka B., Chrobak-Chmiel D., **Czopowicz M.**, Szeleszczuk P. Characterization of pathogenic *Enterococcus cecorum* from different poultry groups: Broiler chickens, layers, turkeys, and waterfowl. *PLoS One* 2017;12(9):e0185199

Ledwoń A., Szeleszczuk P., **Czopowicz M.** Assessment of the efficacy of amphotericin B for reduction of *Macrorhabdus ornithogaster* shedding in budgerigars. *Medycyna Weterynaryjna* 2016;72:237-239

Ledwoń A., Dolka I., Dolka B., Cegiełkowska M., **Czopowicz M.**, Szeleszczuk P. Multidrug therapy of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* infection in experimentally inoculated budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Avian Pathology* 2015;44:470-474; doi: 10.1080/03079457.2015.1086973.

- procesom chorobowym zachodzącym w wątrobie psów pod wpływem stosowania glikokortykosteroidów oraz niedotlenienia i niedostatecznej podaży substancji odżywczych wywołanych nieprawidłowym ukrwieniem wątroby w przebiegu zespolenia wrotnego obocznego – dotychczasowe wyniki opublikowane w artykułach:

Sobczak-Filipiak M., Męcik-Kronenberg T., **Czopowicz M.**, Galanty M., Trębacz P., Frymus J., Badurek I., Szarek J. Lipogranulomas and pigment granulomas in livers of dogs with

portosystemic shunt. Polish Journal of Veterinary Sciences 2018;21:265-272; doi: 10.24425/119047.

Sobczak-Filipiak M., Szarek J., **Czopowicz M.**, Galanty M., Dolka I., Trębacz P., Frymus J., Lechowski R. Stellate cells in livers of dogs with portal vein hypoperfusion. Medycyna Weterynaryjna 2018;74:392-397; doi: 0.21521/mw.6017.

Sobczak-Filipiak M., Szarek J., **Czopowicz M.**, Mieczkowska J., Lechowski R. Hepatic stellate cells in the liver of dogs with steroid-induced hepatopathy. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 2014;58:273-276; doi: 10.2478/bvip-2014-0041

- epidemiologii chorób oczu u koni, jako wykonawca w granicie NCN nr 011/03/B/NZ6/04682 „Badanie czynników immunologicznych, genetycznych i zakaźnych w patogenezie nawracającego zapalenia błony naczyniowej oka u koni”, 2012–2016 – dotychczasowe wyniki opublikowane w artykule:

Paschalis-Trela K., Cywińska A., Trela J., **Czopowicz M.**, Kita J., Witkowski L. The prevalence of ocular diseases in Polish Arabian horses. BMC Veterinary Research 2017;13:319; doi: 10.1186/s12917-017-1252-8.

Od kilku lat jestem recenzentem uznanych polskich i zagranicznych czasopism z listy JCR m.in. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, BMC Veterinary Research, Epidemiology and Infection, Polish Journal of Life Sciences.

### **Działalność kliniczna i popularyzująca wiedzę**

Od czasu skończenia studiów jestem również praktykującym lekarzem weterynarii zajmującym się diagnostyką i leczeniem chorób psów, kotów oraz małych przeżuwaczy. Posiadam tytuł krajowego specjalisty chorób psów i kotów oraz europejskiego specjalisty zarządzania zdrowiem małych przeżuwaczy (Diplomate of the European College of Small Ruminant Health Management, Dip.ECSRHM).

Praktyka kliniczna pozwoliła mi na opublikowanie opisów kilku ciekawych przypadków klinicznych, w których rozpoznaniu i leczeniu brałem bezpośredni udział:

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Frymus T. Zolpidem poisoning in a cat. Australian Veterinary Journal 2010;59:399-404; doi: 10.1111/j.1751-0813.2010.00595.x.

**Czopowicz M.**, Szaluś-Jordanow O., Frymus T. Cerebral toxoplasmosis in a cat. Medycyna Weterynaryjna 2010;66:784-786.

Szaluś-Jordanow O., **Czopowicz M.**, Marczak B., Frymus T. Case of Addison's disease in a cat. Medycyna Weterynaryjna 2010;66:343-345.

Kaba J., **Czopowicz M.**, Sobczak-Filipiak M., Sapieryński R., Bonecka J. Niedrożność cewki moczowej u kozła wywołana kamicią szczawianową. *Życie Weterynaryjne* 2011;86: 797-799.

**Czopowicz M.**, Bielecki W., Garncarz M., Sapieryński R., Parzeniecka-Jaworska M., Kaba J. Atrial septal defect in a lamb. *Medycyna Weterynaryjna* 2013;69:633-636.

Szaluś-Jordanow O., Augustynowicz-Kopeć E., **Czopowicz M.**, Olkowski A., Łobaczewski A., Rzewuska M., Sapieryński R., Wiatr E., Garncarz M., Frymus T. Intracardiac tuberculomas caused by *Mycobacterium tuberculosis* in a dog. *BMC Veterinary Research* 2016;12:10; doi: 10.1186/s12917-016-0731-7.

Zajmuję się również popularyzacją wiedzy o chorobach zwierząt towarzyszących i małych przeżuwaczy jako współautor wielu publikacji popularnonaukowych oraz wykładowca na szkoleniach dla hodowców kotów oraz kóz:

- Seminarium dla Hodowców Kotów Rasowych, Pruszków, 25.04.2015 – wykład pt. „Choroby zakaźne kotów”.
- Seminarium dla Hodowców Kotów Rasowych, Warszawa, 27.11.2011 – wykłady pt. „FIP – zakaźne zapalenie otrzewnej kotów” oraz „Nowości w kocich szczepieniach”.
- Seminarium dla hodowców kóz, Turek, 17.02.2011 – wykłady pt. „Gorączka Q” oraz „Choroba niebieskiego języka”.

Byłem również tłumaczem dokumentu „Zalecenia do Szczepień Psów i Kotów”, opracowanego przez Zespół do Spraw Szczepień Światowego Stowarzyszenia Lekarzy Weterynarii Małych Zwierząt (WSAVA – World Small Animal Veterinary Association) w roku 2009 oraz 2016. Oba dokumenty pod polską redakcją prof. dr. hab. Tadeusza Frymusa.

### **Działalność dydaktyczna**

Od początku studiów doktoranckich jestem zaangażowany w nauczanie studentów na macierzystym Wydziale. Prowadzę zajęcia w ramach przedmiotów: „Biostatystyka i metody dokumentacji”, „Epidemiologia weterynaryjna” oraz „Choroby zakaźne zwierząt gospodarskich”, zarówno w języku polskim jak i angielskim. Jestem osobą prowadzącą dwa przedmioty: „Biostatystyka i metody dokumentacji” oraz „Veterinary epidemiology”. Przez kilka lat prowadziłem również zajęcia fakultatywne poświęcone chorobom małych przeżuwaczy. W latach 2012-2016 gościnnie prowadziłem ćwiczenia z przedmiotu „Biostatystyka i metody dokumentacji” dla studentów studiów anglojęzycznych na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Warszawa, 10.08.18

Michał Czopowicz

