

Prof. dr hab. Wojciech Szweda

Olsztyn, 22.04.2022 r.

Katedra Epizootiologii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

## RECENZJA

rozprawy doktorskiej **lek. wet. Szymona Porowskiego**

pt. „Przydatność wybranych immunostymulatorów w ograniczaniu występowania mieszanych zakażeń u świń, poprawie wskaźników produkcyjnych oraz skuteczności profilaktyki swoistej w kontekście do zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Kazimierza Tarasiuka, prof. UR w Krakowie (promotor) i dr Anny Szczotki-Bochniarz (promotor pomocniczy).

Podstawę formalną wykonania recenzji stanowi pismo Przewodniczącej Rady Dyscypliny Weterynaria prof. dr hab. Marty Kankofer z dnia 04.03.2022 r. (RD/Wet./531-8/2018), zgodnie z uchwałą Rady Dyscypliny Weterynaria Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie z dnia 24.02.2022 r. w sprawie powołania na recenzenta rozprawy.

Współczesna hodowla trzody chlewnej wymaga stałego doskonalenia metod i technik produkcyjnych. Dynamiczny wzrost i intensywność produkcji, powiększanie stad, nadmierne zagęszczenie pomieszczeń, duża rotacja świń reprodukcyjnych wpływająca na zróżnicowany poziom odporności zwierząt oraz błędy w zarządzaniu powodują w wielu fermach nasilanie problemów zdrowotnych, zmniejszanie efektów produkcyjnych oraz pogłębiające się trudności w diagnostyce, leczeniu i profilaktyce chorób. Rosnące znaczenie zyskują również zakażenia mieszane o złożonej, wieloczynnikowej etiologii, określane jako zespoły chorobowe, związane najczęściej z układami oddechowym i pokarmowym. Klasycznym przykładem jest zespół zaburzeń oddechowym świń (PRDC), w etiologii którego wymienia się szereg wirusów i bakterii oraz czynników natury środowiskowej, sanitarnej i organizacyjnej. Ostatnie działania

i zalecenia Komisji Europejskiej i Parlamentu Europejskiego, a także presja konsumentów, związane z zapewnieniem dobrostanu zwierzętom, ograniczaniem stosowania antybiotyków, polepszaniem jakości i bezpieczeństwa produktów zwierzęcych oraz wzrostem poziomu bioasekuracji ferm spowodowały konieczność poszukiwania i wdrażania alternatywnych metod poprawy zdrowotności zwierząt. Dlatego w medycynie weterynaryjnej obserwuje się powrót do stosowania preparatów stymulujących nieswoiście układ odpornościowy, zwłaszcza w chorobach multietiologicznych. W tę tendencję wpisują się badania wykonane w ramach recenzowanej rozprawy. Podjęcie tego tematu przez doktoranta, zwłaszcza w kontekście zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji w krajowych fermach świń, należy uznać za właściwe i aktualne, o dużym znaczeniu poznawczym oraz aplikacyjnym.

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska liczy 112 stron wydruku komputerowego i ma układ typowy dla tego typu opracowań, obejmujący: Wstęp, Cel pracy, Materiały i metody, Przebieg doświadczeń i wyniki badań, Dyskusję, Wnioski, Streszczenia w językach polskim i angielskim oraz Piśmiennictwo. Wstęp został poprzedzony wykazami używanych w tekście skrótów oraz tabel i rycin. Dokumentację stanowi 12 tabel i 22 ryciny, wkomponowane w tekst rozprawy.

W liczącym 14 stron wstępie, podzielonym w specyficzny sposób na podrozdziały, doktorant omówił znaczenie chowu trzody chlewnej, zmiany w liczebności pogłównia świń w Polsce w ostatnich latach oraz konieczność wdrażania alternatywnych procedur profilaktycznych celem utrzymania zdrowia świń wobec przepisów i działań ograniczających stosowanie antybiotyków. Następnie przedstawił organizację produkcji i systemy utrzymania świń w Polsce, scharakteryzował choroby o etiologii mieszanej występujące u świń oraz podstawowe zasady bioasekuracji. Rozdział ten kończy omówienie odporności nieswoistej i swoistej u świń oraz dostępnych immunostymulatorów, ze szczególnym uwzględnieniem Biotropiny i Lydium KLP.

Cel główny rozprawy został jasno sformułowany i dotyczył oceny skuteczności wybranych immunostymulatorów, stosowanych u świń, w poprawie wskaźników produkcyjnych stad oraz zwiększaniu efektywności profilaktyki swoistej w odniesieniu do wybranych, ważnych chorób trzody chlewnej. Cel podjęcia badań został szczegółowo uzasadniony, dlatego rozdział ten można było określić jako „Cel i uzasadnienie podjęcia badań”. Dodatkowo w tym rozdziale przedstawiono 4 etapy realizacji badań, które można potraktować raczej jako cele szczegółowe, w tym:

1. Ocena efektywności dwóch immunostymulatorów Lydium KLP i Biotropiny na podstawie analizy poziomu przeciwciał jako swoistej reakcji na podane szczepionki z jednoczesną stymulacją tymi biopreparatami.
2. Analiza wpływu badanych biopreparatów na efektywność immunoprofilaktyki swoistej kilku ważnych chorób świń – zespołu rozrodczo - oddechowego, grypy, mykoplazmowego zapalenia płuc, różycy i pleuropneumonii.
3. Opracowanie obiektywnych wskaźników przydanych do oceny skuteczności immunostymulatorów w odniesieniu do wybranych parametrów produkcyjnych.
4. Opracowanie założeń dobrej praktyki produkcyjnej oraz identyfikacja krytycznych punktów związanych z bioasekuracją celem udoskonalenia postępowania profilaktyczno - leczniczego w ochronie zdrowia świń przed wybranymi patogenami.

W rozdziale „Materiały i metody” doktorant opisał szczegółowo procedury badawcze dotyczące zarówno części eksperymentalnej - terenowej, jak i badań laboratoryjnych. Wszystkie procedury wykonano za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej ds. doświadczeń na zwierzętach w Lublinie. Badania terenowe wykonano w 10 fermach trzody chlewnej, zlokalizowanych w woj. wielkopolskim, mazowieckim, lubuskim i opolskim, różniących się wielkością stada podstawowego (80-900 loch), systemem produkcji, warunkami środowiskowymi, sposobem zarządzania, poziomem zabezpieczenia przeciwepidemiotycznego i statusem immunologicznym wobec wybranych patogenów. Opisowo i formie tabelarycznej przedstawiono charakterystykę ferm, rodzaje i terminy przeprowadzanych zabiegów lekarsko-weterynaryjnych oraz szczepień w poszczególnych grupach wiekowych, żywienie zwierząt oraz rodzaje pasz stosowanych w badanych fermach.

Doświadczenie zostało wykonane dwuetapowo. W etapie pierwszym w 4 fermach dokonano oceny wpływu immunostymulatorów na poziom humoralnej odpowiedzi immunologicznej po szczepieniu świń przeciw różycy (2 fermy) i równocześnie przeciw różycy i grypie (2 fermy). Do badań użyto łącznie 144 świń, po 36 w każdej z ferm, o m.c. ok. 45 kg, podzielonych na 3 grupy po 12 sztuk: pierwsza kontrolna, a w dwóch pozostałych zwierzętom podano jednorazowo Lydium KLP (Biowet Puławy) w dawce 2 ml/szt. *i.m.* lub Biotropinę (Biowet Drwalew) w dawce 5 ml /szt. *i.m.* Świnie wszystkich grup w dniu rozpoczęcia badań zaszczepiono komercyjnymi szczepionkami przeciw różycy (Ruvax, Merial, 2 ml/szt. *i.m.*) lub równocześnie przeciw różycy i grypie (Ruvax j.w. + Respiorc Flu3, IDT, 2 ml/szt. *i.m.*). W dniach 0, 21 i 42 pobierano krew do oceny poziomów przeciwciał dla *E. rhusiopathiae*, SIV, PRRSV i *Mhp*, przy użyciu komercyjnych testów ELISA, dla których przedstawiono

szczegółowe zasady obliczania i interpretacji wyników. Dodatkowo, poza odpornością humoralną, można było dokonać oceny odporności komórkowej.

W etapie drugim w 6 fermach określono wpływ podanych immunostymulatorów na niektóre, wybrane przez autora, wyniki produkcyjne, tj. przyrosty m.c., liczbę interwencji lekarskich oraz wskaźniki śmiertelności, z jednoczesną ich analizą w kontekście zróżnicowanego poziomu zabezpieczenia przeciwepizootycznego ferm. Do badań w tym etapie użyto łącznie 1159 świń, po 141-240 w każdej z ferm, podzielonych na 3 grupy po 47-80 sztuk: pierwsza kontrolna, a w dwóch pozostałych zwierzętom podano jednorazowo Lydium KLP w dawce 0,3 ml/szt *i.m.* lub Biotropinę w dawce 5 ml/szt *i.m.* Badania rozpoczęto w dniu odsadzenia prosiąt od loch i kontynuowano przez kolejne 47 dni rozpoczynając i kończąc indywidualnym ważeniem zwierząt. Rozdział ten kończy opis zastosowanych metod i programów statystycznych.

Obszerny, liczący 32 strony, rozdział „Przebieg doświadczeń i wyniki badań”, który można było zatytułować „Wyniki badań” lub „Wyniki”, obejmuje opisową prezentację wyników badań, dotyczących w części pierwszej oceny poziomów przeciwciał, kolejno dla *E. rhusiopathiae*, SIV, PRRSV i *Mhp*, w zależności od zastosowanych immunostymulatorów i poziomu bioasekuracji stad oraz w części drugiej ocenę dynamiki przyrostów m.c., wskaźników zachorowań i padnięć w grupach świń w zależności od zastosowanego immunostymulatora. Opis wyników został udokumentowany w postaci 21 rycin oraz 2 tabel umieszczonych w tekście tego rozdziału.

W liczącym 18 stron rozdziale „Dyskusja” doktorant dokonał, w oparciu o liczne pozycje piśmiennictwa, zarówno analitycznej, jak i krytycznej analizy wyników uzyskanych w badaniach własnych, w konfrontacji z wynikami uzyskanymi przez innych autorów. Rozdział ten stanowi również pewne podsumowanie przeprowadzonych badań w kontekście ich wartości naukowej, jak i praktycznej, służącej poprawie bioasekuracji ferm oraz stanu zdrowia i wskaźników produkcyjnych świń. Rozdział ten stanowi także dowód dogłębnej znajomości badanej problematyki, prowadzenia naukowej dyskusji w świetle podobnych badań realizowanych w innych krajach oraz umiejętności doboru odpowiednich pozycji piśmiennictwa.

Rozprawę kończy 5 syntetycznych wniosków, wskazujących generalnie na osiągnięcie zaplanowanych celów badawczych. Po wnioskach zamieszczono dwa streszczenia – w językach polskim i angielskim oraz wykaz 149 pozycji piśmiennictwa krajowego i zagranicznego.

Badania przeprowadzone przez doktoranta w ramach recenzowanej rozprawy, pracochłonne, wykonane w dużej części w warunkach terenowych, w 10 fermach świń rozlokowanych w różnych województwach, umożliwiły uzyskanie szeregu interesujących, cennych i oryginalnych wyników, które w znaczącym stopniu poszerzyły dotychczasową wiedzę w zakresie oceny przydatności immunostymulatorów Biotropina i Lydium KLP w ograniczaniu występowania zakażeń mieszanych u świń oraz poprawie wyników produkcyjnych i efektywności immunoprofilaktyki swoistej w fermach świń w kontekście zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji. Należy podkreślić, że uzyskane przez doktoranta wyniki są wartościowe zarówno w aspektach poznawczych, ale także w bardzo ważnych dla lekarzy weterynarii, sprawujących opiekę nad fermami, aspektach aplikacyjnych, umożliwiających ewentualne korekty programów ochrony zdrowia trzody chlewnej. Badania wykazały, że oba zastosowane immunostymulatory Biotropina i Lydium KLP nie wpływają w istotny sposób na odporność humoralną mierzoną wzrostem poziomu swoistych przeciwciał w przypadku równoczesnego podawania ze szczepionkami przeciw różycy lub przeciw różycy i grypie świń. Jednocześnie stwierdzono, że równoczesne szczepienie przeciw różycy i grypie może generować lepszą odporność poszczepienną przeciw grypie. Ta obserwacja wpisuje się w schemat Hennessena ilustrujący interakcje w szczepionkach złożonych, zgodnie z którym odporność przeciwwirusowa jest wzmacniana, natomiast aktywność uodporniająca antygeny bakteryjnego jest osłabiona. W badaniach potwierdzono znany fakt, że podawanie preparatów immunostymulujących, poprzez działanie bodźcowe, wzmacnia odporność nieswoistą, co przekłada się na poprawę wyników produkcyjnych stad świń. Celem lepszego udokumentowania tego zjawiska można było dokonać oznaczenia kilku wskaźników odporności nieswoistej, a nie opierać się wyłącznie na parametrach produkcyjnych. Ważnym osiągnięciem doktoranta, zwłaszcza wobec aktualnej presji na poprawę bioasekuracji ferm, było wykazanie, że zwiększenie poziomów bioasekuracji zewnętrznej i wewnętrznej może wpływać pozytywnie na poszczepienną odpowiedź układu immunologicznego świń. Przy okazji tych badań dowiedziono, że produkcja prosiąt w cyklu otwartym, w stosunku do cyklu zamkniętego, ogranicza możliwości utrzymywania się i krążenia PRRSV w stadzie, co przekłada się również na poprawę efektywności szczepień przeciw PRRS.

Recenzowana rozprawa, z uwagi na aktualnie ważną aplikacyjnie tematykę badawczą, wnosi pewne nowe elementy do nauki i praktyki lekarsko-weterynaryjnej oraz poszerza wiedzę z tego zakresu, została wykonana metodycznie poprawnie, zgodnie z przyjętymi założeniami, na dużym materiale badawczym, z zastosowaniem klasycznych dla tego typu badań metod i technik badawczych, zarówno terenowych, jak i laboratoryjnych. Praca ta może stanowić

cenne źródło wiedzy dla lekarzy praktyków, służącej poprawie programów profilaktycznych, stanu zdrowia świń oraz wyników produkcyjnych ferm trzody chlewnej.

Szczegółowa analiza rozprawy ujawniła jednak pewne niedociągnięcia, również takie o charakterze dyskusyjnym, które z pozycji recenzenta zobowiązany jestem przedstawić:

1. W tytule rozprawy należało użyć określenia „... w kontekście zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji” zamiast „... w kontekście do zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji”. Zamiast określenia „profilaktyka swoista” proponuję używać określenia „immunoprofilaktyka swoista” dla szczepionek (prawidłowo na str. 30) oraz „immunoprofilaktyka nieswoista” dla immunostymulatorów.
2. Wnioski, poza 1 i 3, są w mojej ocenie zbyt ostrożne, aczkolwiek doktorant zastrzegł w dyskusji, i słusznie, że wskazane są dalsze badania mechanizmów i kierunków działań dotyczących stosowania immunostymulatorów dla poprawy odporności przeciwwakażnej zwierząt. Określenia użyte we wnioskach – „wydaje się”, „może wpłynąć”, „może pozytywnie wpływać”, „może przekładać się korzystnie” rzeczywiście sugerują potrzebę dalszych badań i potwierdzenia uzyskanych wyników. We wniosku pierwszym należałoby określić, że chodzi o szczepionki przeciw różycy oraz przeciw różycy i grypie.
3. Wyjaśnienia wymaga spełnienie podpunktu 2.2.3 (str. 30), określonego jako etap realizacji badań, a dotyczącego opracowania obiektywnych wskaźników, przydatnych do oceny skuteczności immunostymulatorów w odniesieniu do wybranych parametrów produkcyjnych.
4. Proponuję rozgraniczyć parametry produkcyjne w postaci średniej m.c. na początku i końcu doświadczenia, czy przyrostów m.c. od wskaźników stanu zdrowia w postaci liczby interwencji lekarskich i wskaźnika śmiertelności.
5. W podrozdziale 4.5.1 (str. 77) dotyczącym oceny bioasekuracji wewnętrznej i zewnętrznej w fermach wyliczono jedynie punkty, jakie uzyskały w ocenie poszczególne fermy, natomiast warto byłoby również wskazać, które elementy bioasekuracji stanowiły punkty krytyczne celem ich poprawy, co wynika z podpunktu 2.2.4. na str. 30.
6. Należy rozważyć zmianę formy prezentacji wyników na rycinach, tzn. na rycinie przedstawić wyniki badań w trzech terminach w jednej fermie zamiast wyników w jednym terminie w trzech fermach. Na Ryc. 15-21 proponuję zachować układ tytułu jak na Ryc. 4-7 oraz 13.
7. W tekście pracy autor niepotrzebnie ponownie tłumaczy znaczenie skrótów przedstawionych w wykazie.

8. Należy pamiętać, że szczepimy zawsze przeciw chorobie, a nie przeciw drobnoustrojowi, np. przeciw pleuropneumonii świń a nie przeciw *App* (Tab. 3), przeciw PCVD a nie przeciw PCV2 (Tab. 4).
9. Dynamiki przyrostów m.c. nie oceniano w czasie 47 dni stosowania biopreparatów, ponieważ podano je jednokrotnie na początku doświadczenia (str. 31).
10. Proponuję ujednoczenie używanych zamiennie określeń „poziom przeciwciał”, „stężenie przeciwciał”, „koncentracja przeciwciał”.
11. W przypadku numeracji pozycji w wykazie piśmiennictwa podajemy w tekście tylko numery, a w przypadku używania w tekście nazwisk autorów przy dwóch podajemy oba nazwiska, a przy trzech i więcej nazwisko pierwszego autora z dopiskiem i „wsp”.
12. Sugeruję poprawę niektórych określeń:
  - str. 20 - „zarazkami chorobotwórczymi, najczęściej wirusowymi” na „zarazkami chorobotwórczymi, najczęściej wirusami”
  - str. 27 – „*E. insidiosa*” na „*E. rhusiopathiae*”,
  - str. 43 - „surowica krwi” na „surowica”,
  - str. 43 – „obr./min.” na „x g”,
  - str. 65 (Ryc. 17) – „wirus PRRSV” na „PRRSV”.

Wyszczególnione uwagi o charakterze krytycznym, porządkowym oraz polemicznym są przedstawione doktorantowi pod rozwagę, natomiast nie umniejszają wartości recenzowanej rozprawy i nie wpływają w sposób istotny na jej pozytywną ocenę.

We wniosku końcowym stwierdzam, że rozprawa doktorska pt. „Przydatność wybranych immunostymulatorów w ograniczaniu występowania mieszanych zakażeń u świń, poprawie wskaźników produkcyjnych oraz skuteczności profilaktyki swoistej w kontekście do zróżnicowanego przestrzegania zasad bioasekuracji” odpowiada ustawowym wymagom stawianym rozprawom doktorskim, określonym w art. 13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r., o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65 poz. 595 z późn. zm.) w zw. z art. 179 ust. 3 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018 r. poz 1669) i przedkładam Radzie Dyscypliny Weterynarii Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie wnioski o dopuszczenie lek. wet. Szymona Pomorskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego

Prof. dr hab. Wojciech Szveda